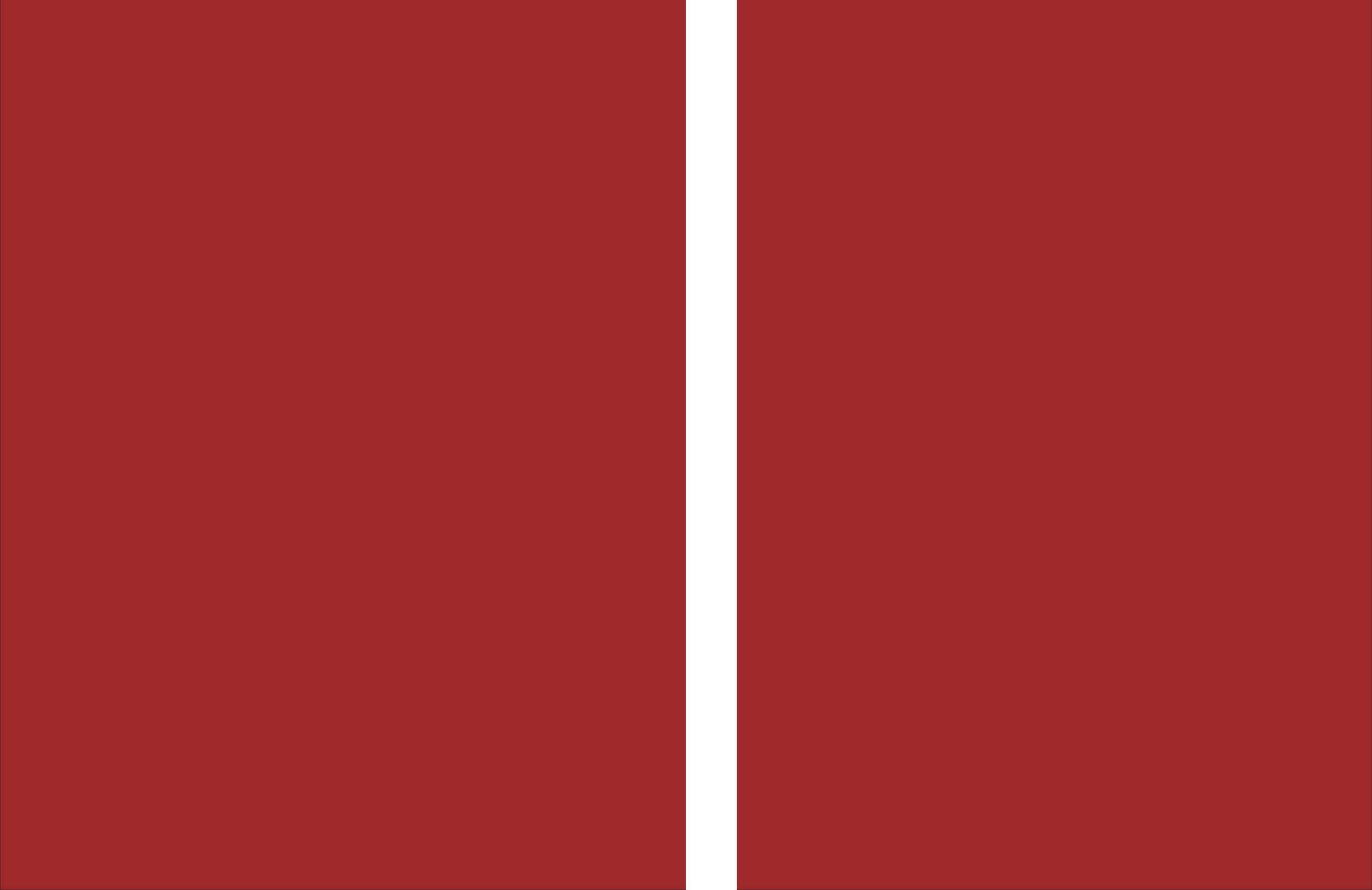


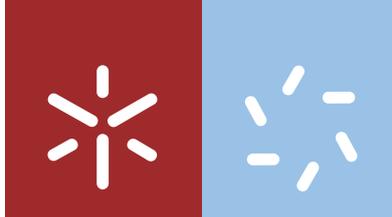


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Sofia dos Santos Vila-Chã

**Síntese de derivados de imidazole e triazole
como inibidores da atividade antifúngica**





Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Sofia dos Santos Vila-Chã

Síntese de derivados de imidazole e triazole como inibidores da atividade antifúngica

Tese de Doutoramento
Doutoramento em Química Aplicada

Trabalho efetuado sob a orientação da
Doutora Alice Maria Esteves Dias
e do
Doutor Armando Albino Dias Venâncio

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

[Esta é a mais restritiva das nossas seis licenças principais, só permitindo que outros façam download dos seus trabalhos e os compartilhem desde que lhe sejam atribuídos a si os devidos créditos, mas sem que possam alterá-los de nenhuma forma ou utilizá-los para fins comerciais.]

Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores. À Doutora Alice Maria Dias do Departamento de Química, pela formação sólida e rigorosa que me prestou durante os trabalhos de investigação e pelo gosto e motivação que transmitiu por esta área de conhecimento. Agradeço ao Doutor Armando Venâncio do Departamento de Engenharia Biológica, pela disponibilidade que demonstrou para receber uma aluna de uma área afim e por me permitir conquistar autonomia através da partilha de conhecimentos. Foi um processo de aprendizagem sereno e consistente pelo qual estou muito grata.

Agradeço a todos os colegas de trabalho que partilharam laboratório comigo e a todos os técnicos que permitiram que os trabalhos decorressem da melhor forma.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Resumo

Síntese de derivados de imidazole e triazole como inibidores da atividade fúngica

A contaminação de colheitas e alimentos por fungos é um problema com implicações críticas para o meio ambiente e para a economia. O facto da maioria dos fungicidas existentes apresentarem problemas de elevada toxicidade e reduzida eficácia torna premente o desenvolvimento de novas estruturas capazes de inibir o crescimento dos fungos ou a produção de micotoxinas. O trabalho de investigação descrito nesta tese teve como principais linhas de orientação a exploração de caminhos sintéticos para a obtenção de novas estruturas heterocíclicas com base nos núcleos de imidazole ou triazole e a avaliação da atividade antifúngica dos produtos obtidos.

Os trabalhos de síntese foram iniciados com a preparação dos 5-amino-1*H*-imidazole-4-carbimidoilnitrilos como reagentes de partida para a obtenção dos (5-amino-1*H*-imidazole-4-(ciano)metileno)carbamatos de etilo, intermediários chave nas vias sintéticas utilizadas. A partir da reação deste intermediário com hidrazina foi possível obter novas estruturas de imidazolil triazoles. Também foram sintetizadas estruturas de triazolopurinas, resultantes da condensação dos imidazolil triazoles com ortoformiato de etilo. A reação do mesmo intermediário com hidroxilamina levou à obtenção de imidazolil oxadiazoles que reagiram com ortoformiato de etilo para dar oxadiazolopurinas. A reatividade do carbamato de partida com hidrazinas aromáticas permitiu a obtenção de novos imidazolil *N*-aril-triazoles que foram também convertidos em *N*-aril triazolopurinas por reação com ortoformiato de etilo. A investigação da reatividade do carbamato de partida com hidrazidas resultou, não só na obtenção de estruturas de imidazolil *N*-acil-triazoles, como também, na formação de *N*-acilamino purinas e de triazolopurinas. O estudo da reação do mesmo carbamato com aminas primárias conduziu à síntese de amidinas aciladas intermediárias que foram convertidas em isoguaninas substituídas em N-1 ou em N-6, dependendo das condições reacionais utilizadas.

A seleção dos compostos para avaliação da potencial atividade biológica em ensaios *in vitro* teve como critérios a analogia estrutural com os fungicidas descritos na literatura e a solubilidade dos compostos. Foram utilizados dois métodos, a medição do crescimento radial (método em meio sólido), e o teste da resazurina (método em meio líquido). Identificaram-se moléculas inibidoras do crescimento do fungo, quer numa fase inicial do crescimento, quer durante todo o período de incubação, que se revelaram como compostos promissores para ensaios *in vivo*.

Palavras-chave: antifúngicos; imidazoles; isoguaninas; triazoles; triazolopurinas

Abstract

Synthesis of imidazole and triazole derivatives as inhibitors of fungal activity

The contamination of crops and food by fungi is a ubiquitous problem with critical implications for the environment and economy. Most existing fungicides raise several concerns regarding, for example, their toxicity and inefficiency over time, what calls for the development of new chemical structures that are capable of efficiently suppress fungal growth or mycotoxin production. The research work reported in this thesis contributes to this endeavor. Synthetic pathways were explored to obtain heterocyclic structures that are potential candidates for fungicides and the biological (antifungal) activity of this new structures was evaluated.

The synthesis work started with the preparation of 5-amino-1*H*-imidazole-4-carbimidoyl nitriles as starting reagents for obtaining intermediate (5-amino-1*H*-imidazole-4-(cyano)methylene) carbamates, which are key in the synthetic pathways used. From the reaction of this intermediate with hydrazine it was possible to obtain new structures of imidazolyl triazoles. Triazolopurine structures were also synthesized resulting from the condensation of imidazolyl triazoles with ethyl orthoformate. The reaction of the same intermediate with hydroxylamine led to imidazolyl oxadiazoles which reacted with ethyl orthoformate to give oxadiazolopurines. Reactivity of the starting carbamate with aromatic hydrazines yielded new imidazolyl *N*-aryl triazoles which were converted also to *N*-aryl triazolopurines by reaction with ethyl orthoformate. The investigation of the reactivity of the starting carbamate with hydrazides resulted not only in the imidazolyl *N*-acyl triazole structures but also in the formation of *N*-acylamino purines and triazolopurines. The study of the reaction of the same carbamate with primary amines led to the synthesis of intermediate acylated amidines that were converted to *N*-1 or *N*-6 substituted isoguanines, depending on the reaction conditions.

For the selection of compounds for evaluation of potential biological activity *in vitro* assays was based on two criteria: the structural analogy with the fungicides described in the literature and the solubility of the compounds. Two methods were used: radial growth measurement (solid medium method) and resazurin test (liquid medium method). Fungi growth inhibitory molecules have been identified, either at an early stage of growth or throughout the incubation period, which have shown to be promising compounds for *in vivo* assays.

Keywords: antifungals; imidazoles; isoguanines; triazoles; triazolopurines

Índice

Agradecimentos	III
Resumo	V
Abstract	VI
Abreviaturas	XI
Índice de figuras	XIII
Índice de tabelas	XVI
Índice de esquemas	XIX
Introdução	1
Referências	10
Capítulo 1 – Reações de síntese de reagentes de partida	13
1.1 Síntese de 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo.....	15
1.1.1. Caracterização dos 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilos 1.1	16
1.1.2. Proposta mecanística para a síntese do 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo 1.1	17
1.2. Síntese de imidazolil cianometilenocarbamatos.....	17
1.2.1. Caracterização dos imidazolil cianometilenocarbamatos 1.2	19
1.2.2. Estabilidade da estrutura 1.2 em tubo de RMN	22
1.2.3. Proposta mecanística para a síntese do imidazolil cianometilenocarbamatos 1.2	22
1.3. Conclusões	23
1.4. Parte experimental	24
1.4.1 Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles 1.1	24
1.4.2 Síntese de imidazolil cianometilenocarbamatos 1.2	26
Referências	30
Capítulo 2 - Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazina e hidroxilamina e posterior ciclização	31
2.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazina e hidroxilamina	32
2.1.1. Síntese de imidazolil triazoles	32
2.1.1.1. Caracterização dos imidazolil triazoles 2.1.1	34
2.1.2. Isolamento do intermediário na síntese do imidazolil triazole	36
2.1.2.1. Caracterização do intermediário do imidazolil triazole 2.1.0	38
2.1.2.2 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil triazole 2.1.1	40
2.1.3 Síntese de imidazolil oxadiazoles	41
2.1.3.1 Caracterização dos imidazolil oxadiazoles 2.1.3	43
2.1.3.2 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil oxadiazole 2.1.3	46

2.2 Reação de imidazolil triazoles e de imidazolil oxadiazoles com ortoformiato de etilo	47
2.2.1 Síntese de triazolopurinas	47
2.2.1.1 Caracterização das triazolopurinas 2.2.1	49
2.2.1.2 Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 2.2.1	50
2.2.2 Síntese de oxadiazolopurinas e respetivo intermediário	51
2.2.2.1 Caracterização das oxadiazolopurinas 2.2.2 e respetivo intermediário 2.2.0	53
2.2.2.2 Proposta mecanística para a síntese de oxadiazolopurinas 2.2.2 e respetivo intermediário 2.2.0	57
2.3 Conclusões	58
2.4 Parte Experimental	59
2.4.1 Síntese de imidazolil triazoles	59
2.4.2 Síntese de imidazolil oxadiazoles	60
2.4.3 Síntese de triazolopurinas	62
2.4.4 Síntese de oxadiazolopurinas	63
Capítulo 3 - Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazinas aromáticas e posterior ciclização	65
3.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazinas aromáticas	66
3.1.1. Síntese de imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles e respetivo intermediário	66
3.1.1.1. Caracterização dos imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1 e respetivo intermediário 3.0	69
3.1.1.2 Estudo cinético em tubo de RMN	74
3.1.1.3 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil <i>N</i> -aril-triazole 3.1	77
3.2 Reação de imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles com TEOF	78
3.2.1 Síntese de triazolopurinas 3.2	78
3.2.1.1 Caracterização das triazolopurinas 3.2	80
3.2.1.2 Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 3.2	82
3.3 Conclusões	83
3.4 Parte experimental	84
3.4.1 Síntese de imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1	84
3.4.2 Síntese de triazolopurinas 3.2	88
Capítulo 4 - Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos 1.2 com hidrazidas e posterior ciclização	91
4.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazidas	92
4.1.1. Síntese de imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles e respetivos intermediários	93
4.1.1.1. Caracterização dos imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1 e respetivos intermediários 4.0.1	96
4.1.2. Síntese de isoguaninas	101
4.1.2.1. Caracterização das isoguaninas 4.1.2 e respetivo intermediário 4.0.2	105

4.1.2.2 Estudo cinético em tubo de RMN	108
4.1.2.3 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil <i>N</i> -acil-triazole 4.1.1 e das isoguaninas 4.1.2	110
4.1.3. Síntese de triazolopurinas	113
4.1.3.1. Caracterização da triazolopurina 4.1.3	115
4.1.3.2 Proposta mecanística para a síntese das triazolopurinas 4.1.3	118
4.2 Reação de imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1 com TEOF	118
4.2.1. Caracterização das triazolopurinas 4.2	119
4.2.2 Proposta mecanística para a síntese das triazolopurinas 4.2	121
4.3 Conclusões	122
4.4 Parte experimental	123
4.4.1 Síntese de imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1	123
4.4.2 Síntese de isoguaninas 4.1.2	126
4.4.3 Síntese de triazolopurinas 4.1.3	128
Capítulo 5 - Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com aminas primárias	133
5.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com aminas primárias	134
5.1.1. Síntese de amidinas aciladas	134
5.1.1.1. Caracterização das amidinas aciladas 5.1	136
5.1.1.2 Proposta mecanística para a síntese das amidinas aciladas 5.1	141
5.2. Reação de síntese de isoguaninas	141
5.2.1. Síntese de isoguaninas a partir de amidinas aciladas	142
5.2.2. Síntese de isoguaninas a partir de imidazolil cianometilenocarbamatos.....	148
5.2.3. Conversão de isoguaninas <i>N</i> -substituídas por isoguaninas <i>N</i> -substituídas	149
5.2.4. Separação de misturas de isoguaninas	151
5.3. Caracterização das isoguaninas	153
5.3.1 Caracterização das isoguaninas 5.2.1	153
5.3.2. Caracterização das isoguaninas 5.2.2	159
5.3.3 Estudos cinéticos em tubo de RMN	163
5.3.3.1 Reação de 5.1.1 em meio neutro	163
5.3.3.2 Reação de 5.1.3 em meio ácido	164
5.3.3.3 Reação de 5.1.4 em meio neutro	166
5.3.4 Proposta mecanística para a síntese das isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	167
5.4 Conclusões	170
5.5 Parte experimental	171
5.5.1 Síntese de amidinas aciladas 5.1	171

5.5.2 Síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	175
5.5.3 Conversão de isoguaninas 5.2.1 em 5.2.2	182
5.5.4 Separação de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	184
Referências	185
Capítulo 6 - Avaliação da atividade antifúngica	187
6.1 Metodologia e recursos	188
6.1.1. Metodologia	188
6.1.2. Material biológico	189
6.2 Testes de atividade antifúngica	190
6.2.1. Testes em meio sólido – taxa de crescimento radial	190
6.2.1.1 DMSO	191
6.2.1.2 Ácido cafeico e ácido gálico	192
6.2.1.3 Imidazolil triazoles 3.1.1 , 3.1.2 , 3.1.3 e 3.1.5	199
6.2.1.4 Amidina 1.0.3 e imidazolil triazole 3.1.4	205
6.2.1.5 Imidazolil triazole 2.1.1.2 e derivados de isoguaninas 5.2.2.2 e 5.2.2.3	210
6.2.1.6 Imidazole 1.1.2 e oxadiazole 2.1.3.2	216
6.2.1.7 Imidazolil triazoles 4.1.1.3 e 4.1.1.7	220
6.2.1.8 Imidazolil triazole 4.1.1.9	224
6.2.1.9 Conclusão – testes em meio sólido	227
6.2.2. Testes em meio líquido – teste da resazurina	229
6.2.2.1 Imidazoles 1.2.5 e 5.1.10	230
6.2.2.2 Oxadiazole 2.1.3.3 e imidazolil triazole 4.1.1.8	231
6.2.2.3 Imidazole 1.1.6	233
6.2.2.4 Imidazole 1.1.6 e imidazolil triazole 4.1.1.9	234
6.2.2.5 Imidazolil triazoles 4.1.1.1 , 4.1.1.8 e 2.1.1.1 , oxadiazole 2.1.3.1 e triazolopurina 4.1.3.1	235
6.2.2.6 Conclusão – testes em meio líquido	237
6.3 Conclusões	240
Referências	241
Conclusão	243

Abreviatura	Nome Completo
Abs(0)	Absorvância no instante inicial
Abs(t)	Absorvância no instante t
ACN	Acetonitrilo
AE	Análise elementar
AF	Aflatoxina
cat.	Catálise
DAMN	Diaminomaleonitrilo
DBU	1,8-Diazabicycloundec-7-eno
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
DMSO- <i>d</i> ₆	Sulfóxido de dimetilo deuterado
eq	equivalente
Et ₃ N	Trietilamina
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
HMBC	<i>Heteroatom Multiple Bond Correlation</i> (Técnica bidimensional de espectroscopia de RMN)
HMQC	<i>Heteroatom Multiple Quantum Correlation</i> (Técnica bidimensional de espectroscopia de RMN)
HMRS [M+1] ⁺	<i>High Resolution Mass Spectroscopy</i>
IV	Infravermelho
MEA	<i>Malt Extract Agar</i>
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
MUM	Micoteca da Universidade do Minho
MW	Micro-ondas
OTA	Ocratoxina
p.f.	Ponto de fusão
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
ppm	Partes por milhão

RMN	Espetroscopia de ressonância magnética e nuclear
ta	Temperatura ambiente
TEOF	Ortoformiato de etilo
TFA	Ácido trifluoracético
THF	Tetra-hidrofurano
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i> (cromatografia em camada fina)
YES	<i>Yeast Extract Agar</i>
2F	Segunda fração

Índice de figuras

Figura 0.1 - Estrutura de alguns fungicidas comerciais com núcleo de imidazole	2
Figura 0.2 - Estrutura de alguns azoles antifúngicos	3
Figura 0.3 - Estruturas de imidazoles 4-carboxamida e 4-carboxamidrazona descritos como antifúngicos	3
Figura 1.1 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas 1.2.2a	22
Figura 2.1 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas 2.1.3	46
Figura 2.2 - Correlações registadas em HMBC para a estrutura 2.2.0.1	55
Figura 2.3 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas 2.2.2	57
Figura 3.1 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas 1.2.1 , 3.0.3 e 3.1.3	75
Figura 3.2 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas 3.0.3a, 3.0.3aa e 3.0.3bb	75
Figura 3.3 - Gráfico que traduz a evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos componentes na reação de 1.2.1 com (trifluorometil)fenil-hidrazina em tubo de RMN	76
Figura 4.1 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas 4.0.1	97
Figura 4.2 - Desvios de ^1H RMN em ppm para as estruturas 1.2.1 , 4.0.1.3 , 4.0.2.3 , 4.1.1.3 e 4.1.2.3	109
Figura 4.3 - Gráfico que traduz a evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na reação de 1.2.1 com hidrazina acética a 80°C em tubo de RMN	110
Figura 5.1 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas 5.1	140
Figura 5.2 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas 5.2.1	157
Figura 5.3 - Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada 5.1.1 em meio neutro....	163
Figura 5.4 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos presentes na evolução de 5.1.1 em meio neutro e em tubo de RMN	164
Figura 5.5 - Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada 5.1.3 em meio ácido	165
Figura 5.6 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na evolução de 5.1.3 em meio ácido em tubo de RMN	165
Figura 5.7 - Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada 5.1.4 em meio neutro .	166
Figura 5.8 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para a estrutura 5.2.0.3a	166
Figura 5.9 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na evolução de 5.1.4 em meio neutro em tubo de RMN	167
Figura 6.1 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da concentração de DMSO.	192
Figura 6.2 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido cafeico 10 mM e ácido gálico 10 mM dissolvidos em 1% de DMSO	193
Figura 6.3 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO	194
Figura 6.4 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO	195
Figura 6.5 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido gálico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO	197

Figura 6.6 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de ácido gálico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO	197
Figura 6.7 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.1 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	200
Figura 6.8 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	200
Figura 6.9 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	201
Figura 6.10 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.5 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	201
Figura 6.11 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 3.1.1 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	202
Figura 6.12 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 3.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	203
Figura 6.13 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 3.1.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	203
Figura 6.14 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 3.1.5 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	204
Figura 6.15 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 1.0.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	206
Figura 6.16 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.4 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	206
Figura 6.17 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 1.0.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	207
Figura 6.18 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 3.1.4 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	208
Figura 6.19 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 1.0.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	208
Figura 6.20 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 3.1.4 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	209
Figura 6.21 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 2.1.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	211
Figura 6.22 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 5.2.2.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	212
Figura 6.23 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 5.2.2.3 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	213
Figura 6.24 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 2.1.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	213
Figura 6.25 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 5.2.2.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	214
Figura 6.26 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 5.2.2.3 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	214
Figura 6.27 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 1.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	217
Figura 6.28 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 2.1.3.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	217
Figura 6.29 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 1.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	218

Figura 6.30 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 2.1.3.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	218
Figura 6.31 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 1.1.2 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	219
Figura 6.32 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 4.1.1.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	221
Figura 6.33 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 4.1.1.7 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	222
Figura 6.34 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 4.1.1.3 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	223
Figura 6.35 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 4.1.1.7 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO	223
Figura 6.36 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, 4.1.1.9 50 mM e 100 mM dissolvido em 1% de DMSO	225
Figura 6.37 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de 4.1.1.9 50 mM e 100 mM dissolvido em 1% de DMSO	226
Figura 6.38 - Estruturas dos imidazolil triazoles 3.1.1 , 3.1.2 , 3.1.3 , 3.1.4 e 3.1.5 avaliados como potenciais antifúngicos	227
Figura 6.39 - Estruturas dos imidazolil triazoles 4.1.1.3 , 4.1.1.7 e 4.1.1.9 avaliados como potenciais antifúngicos	228
Figura 6.40 - Estruturas do imidazole 1.1.2 , do imidazolil triazole 2.1.1.2 e do oxadiazole 2.1.3.2 avaliados como potenciais antifúngicos	228
Figura 6.41 - Placa logo após a adição de resazurina aos poços de teste	229
Figura 6.42 - Placa 23 horas após a adição de resazurina aos poços de teste	229
Figura 6.43 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES e para os imidazoles 1.2.5 e 5.1.10 10,1 mg/mL	231
Figura 6.44 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, oxadiazole 2.1.3.3 10,1 mg/mL e imidazolil triazole 4.1.1.8 10,1 mg/mL	232
Figura 6.45 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1% e imidazole 1.1.6 5,05 mg/mL e 10,1 mg/mL	233
Figura 6.46 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, imidazole 1.1.6 1 mg/mL e 2,5 mg/mL e imidazolil triazole 4.1.1.9 2,5 mg/mL e 5,05 mg/mL	235
Figura 6.47 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, imidazolil triazoles 4.1.1.1 , 4.1.1.8 e 2.1.1.1 10,1 mg/mL, oxadiazole 2.1.3.1 10,1 mg/mL e triazolopurina 4.1.3.1 10,1 mg/mL	237
Figura 6.48 - Estruturas do imidazole 1.1.4 , do imidazolil triazole 4.1.1.9 e do oxadiazole 2.1.3.3	238
Figura 6.49 - Estruturas dos imidazolil triazoles 4.1.1.1 e 4.1.1.8	238
Figura 6.50 - Estruturas do imidazolil triazole 2.1.1.1 e do oxadiazole 2.1.3.1	239
Figura 6.51 - Estrutura da triazolopurina 4.1.3.1	239
Figura 6.52 - Estruturas dos imidazoles 1.2.5 e 5.1.10	240

Índice de tabelas

Tabela 1.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazoles 1.1	16
Tabela 1.2 - Condições experimentais para a síntese de <i>N</i> -etoxicarbonil imidazoles 1.2	18
Tabela 1.3 - Dados físicos e analíticos para os <i>N</i> -etoxicarbonil imidazoles 1.2	19
Tabela 1.4 - Dados de ¹ H RMN do <i>N</i> -etoxicarbonil imidazole 1.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	20
Tabela 1.5 - Dados de ¹³ C RMN do <i>N</i> -etoxicarbonil imidazole 1.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	21
Tabela 2.1 - Condições experimentais para a síntese do imidazolil triazole 2.1.1 a partir da reação do imidazole 1.2 com hidrazina mono-hidratada	33
Tabela 2.2 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil triazoles 2.1.1	34
Tabela 2.3 - Dados de ¹ H RMN e IV dos imidazolil triazoles 2.1.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	35
Tabela 2.4 - Dados de ¹³ C RMN dos imidazolil triazoles 2.1.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	35
Tabela 2.5 - Condições experimentais para a síntese do imidazolil triazole 2.1.1 e do respectivo intermediário 2.1.0	37
Tabela 2.6 - Dados de ¹ H RMN e IV do intermediário 2.1.0 (DMSO- <i>d</i> ₆)	38
Tabela 2.7 - Dados de ¹³ C RMN do intermediário 2.1.0 (DMSO- <i>d</i> ₆)	39
Tabela 2.8 - Condições experimentais para a síntese dos imidazolil oxadiazoles 2.1.3	41
Tabela 2.9 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil oxadiazoles 2.1.3	44
Tabela 2.10 - Dados de ¹ H RMN e IV dos imidazolil oxadiazoles 2.1.3 (DMSO- <i>d</i> ₆)	44
Tabela 2.11 - Dados de ¹³ C RMN dos imidazolil oxadiazoles 2.1.3 (DMSO- <i>d</i> ₆)	45
Tabela 2.12 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas 2.2.1	48
Tabela 2.13 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas 2.2.1	49
Tabela 2.14 - Dados de ¹ H RMN e IV das triazolopurinas 2.2.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	49
Tabela 2.15 - Dados de ¹³ C RMN das triazolopurinas 2.2.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	50
Tabela 2.16 - Condições experimentais para a síntese dos oxodiazolopurinas 2.2.2 e respectivo intermediário 2.2.0	52
Tabela 2.17 - Dados de ¹ H RMN e IV do intermediário da oxodiazolopurina 2.2.0 (DMSO- <i>d</i> ₆) ..	54
Tabela 2.18 - Dados de ¹³ C RMN do intermediário da oxodiazolopurina 2.2.0 (DMSO- <i>d</i> ₆)	54
Tabela 2.19 - Dados físicos e analíticos para os oxodiazolopurinas 2.2.2	55
Tabela 2.20 - Dados de ¹ H RMN e IV dos oxodiazolopurinas 2.2.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	56
Tabela 2.21 - Dados de ¹³ C RMN dos oxodiazolopurinas 2.2.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	56
Tabela 3.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1	68
Tabela 3.2 - Dados de ¹ H RMN do intermediário dos imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1 (DMSO- <i>d</i> ₆) .	70
Tabela 3.3 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1	70
Tabela 3.4 - Dados de ¹ H RMN e IV dos imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	71
Tabela 3.5 - Dados de ¹³ C RMN dos imidazolil <i>N</i> -aril-triazoles 3.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	73

Tabela 3.6 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas 3.2	79
Tabela 3.7 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas 3.2	80
Tabela 3.8 - Dados de ¹ H RMN e IV das triazolopurinas 3.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	80
Tabela 3.9 - Dados de ¹³ C RMN das triazolopurinas 3.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	81
Tabela 4.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1	94
Tabela 4.2 - Dados de ¹ H RMN dos intermediários acilados 4.0.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	96
Tabela 4.3 - Dados de ¹³ C RMN dos intermediários acilados 4.0.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	97
Tabela 4.4 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1	98
Tabela 4.5 - Dados de ¹ H RMN e IV dos imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	99
Tabela 4.6 - Dados de ¹³ C RMN dos imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	100
Tabela 4.7 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas 4.1.2	102
Tabela 4.8 - Dados de ¹ H RMN do intermediário 4.0.2.3 (DMSO- <i>d</i> ₆)	105
Tabela 4.9 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas 4.1.2	106
Tabela 4.10 - Dados de ¹ H RMN e IV das isoguaninas 4.1.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	106
Tabela 4.11 - Dados de ¹³ C RMN das isoguaninas 4.1.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	107
Tabela 4.12 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas 4.1.3	114
Tabela 4.13 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas 4.1.3	115
Tabela 4.14 - Dados de ¹ H RMN e IV das triazolopurinas 4.1.3 (DMSO- <i>d</i> ₆)	116
Tabela 4.15 - Dados de ¹³ C RMN das triazolopurinas 4.1.3 (DMSO- <i>d</i> ₆)	117
Tabela 4.16 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas 4.2	119
Tabela 4.17 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas 4.2	120
Tabela 4.18 - Dados de ¹ H RMN e IV das triazolopurinas 4.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	120
Tabela 4.19 - Dados de ¹³ C RMN das triazolopurinas 4.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	121
Tabela 5.1 - Condições experimentais para a síntese de amidinas aciladas 5.1	135
Tabela 5.2 - Dados físicos e analíticos para as amidinas aciladas 5.1	137
Tabela 5.3 - Dados de ¹ H RMN e IV das amidinas aciladas 5.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	138
Tabela 5.4 - Dados de ¹³ C RMN das amidinas aciladas 5.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	139
Tabela 5.5 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2 a partir de 5.1	143
Tabela 5.6 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2 a partir de imidazole 1.2	149
Tabela 5.7 - Condições experimentais para a conversão de isoguaninas 5.2.1 em 5.2.2	150
Tabela 5.8 - Condições experimentais para a separação de isoguaninas 5.2.1 a partir de misturas de 5.2.1 + 5.2.2	152
Tabela 5.9 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas 5.2.1	153
Tabela 5.10 - Dados de ¹ H RMN e IV para as isoguaninas 5.2.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	154

Tabela 5.11 - Dados de ¹³ C RMN para as isoguaninas 5.2.1 (DMSO- <i>d</i> ₆)	156
Tabela 5.12 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) de 5.2.1.6	158
Tabela 5.13 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas 5.2.2	159
Tabela 5.14 - Dados de ¹ H RMN e IV para as isoguaninas 5.2.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	160
Tabela 5.15 - Dados de ¹³ C RMN para as isoguaninas 5.2.2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	162
Tabela 6.1 - Estrutura do DMSO, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	191
Tabela 6.2 - Estrutura do ácido cafeico e do ácido gálico, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	193
Tabela 6.3 - Determinação do <i>lag time</i> para PDA, DMSO 1% e ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,996)	196
Tabela 6.4 - Estrutura dos imidazolil triazoles 3.1.1 , 3.1.2 , 3.1.3 e 3.1.5 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	199
Tabela 6.5 - Determinação do <i>lag time</i> para PDA, DMSO 1%, 3.1.1 , 3.1.2 , 3.1.3 e 3.1.5 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,993)	204
Tabela 6.6 - Estrutura da amidina 1.0.3 e do imidazolil triazole 3.1.4 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	205
Tabela 6.7 - Determinação do <i>lag time</i> para YES, DMSO 1%, 1.0.3 e 3.1.4 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,993)	210
Tabela 6.8 - Estrutura do imidazolil triazole 2.1.1.2 e derivados de isoguaninas 5.2.2.2 e 5.2.2.3 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	211
Tabela 6.9 - Determinação do <i>lag time</i> para PDA, DMSO 1%, 2.1.1.2 , 5.2.2.2 e 5.2.2.3 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,992)	215
Tabela 6.10 - Estrutura do imidazole 1.1.2 e do oxadiazole 2.1.3.2 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	216
Tabela 6.11 - Determinação do <i>lag time</i> para YES, DMSO 1%, 1.1.2 e 2.1.3.2 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,993)	220
Tabela 6.12 - Estrutura dos imidazolil triazoles 4.1.1.3 e 4.1.1.7 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	221
Tabela 6.13 - Determinação do <i>lag time</i> para YES, DMSO 1%, 4.1.1.3 e 4.1.1.7 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,993)	224
Tabela 6.14 - Estrutura do imidazolil triazole 4.1.1.9 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	225
Tabela 6.15 - Determinação do <i>lag time</i> para YES, DMSO 1% e 4.1.1.9 dissolvidos em 1% de DMSO (R ² > 0,927)	226
Tabela 6.16 - Estrutura dos imidazole 1.2.5 e 5.1.10 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	230
Tabela 6.17 - Estrutura do oxadiazole 2.1.3.3 e do imidazolil triazole 4.1.1.8 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	232
Tabela 6.18 - Estrutura do imidazole 1.1.6 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	233
Tabela 6.19 - Estrutura do imidazole 1.1.6 e do imidazolil triazole 4.1.1.9 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	234
Tabela 6.20 - Estrutura dos imidazolil triazoles 4.1.1.1 , 4.1.1.8 e 2.1.1.1 , do oxadiazole 2.1.3.1 e da triazolopurina 4.1.3.1 , concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica	236

Índice de esquemas

Esquema 0.1 - Síntese de purinas a partir de ácido úrico	4
Esquema 0.2 - Síntese de purinas a partir de precursores acíclicos.....	5
Esquema 0.3 - Síntese de purinas a partir do anel de pirimidina	5
Esquema 0.4 - Síntese de derivados de purinas a partir de imidazole	5
Esquema 0.5 - Síntese de purinas a partir de purinas ativadas.....	6
Esquema 0.6 - Síntese de 9-arilpurinas.....	6
Esquema 0.7 - Síntese de 9-arilpurinas assistida por micro-ondas.....	6
Esquema 0.8 - N-9 arilação de purina com ácidos borónicos	7
Esquema 0.9 – Síntese dos reagentes de partida 1.1 e 1.2	7
Esquema 0.10 – Síntese dos imidazole 5.1 e dos imidazolil triazoles 2.1.1	8
Esquema 0.11 – Síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	8
Esquema 0.12 – Síntese de imidazolil triazoles, imidazolil oxadiazoles, triazolopurinas e pirimidopirimidinas	9
Esquema 0.13 – Síntese de imidazolil triazoles, purinas e triazolopurinas	9
Esquema 1.1 - Síntese de imidato e dos imidazoles 1.1 e 1.2	14
Esquema 1.2 - Síntese de 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo 1.1.1 a 1.1.6	15
Esquema 1.3 - Proposta mecanística para a síntese de imidazoles 1.1	17
Esquema 1.4 - Síntese de N-tetoxicarbonil imidazole 1.2.1 a 1.2.7	17
Esquema 1.5 - Evolução da estrutura 1.2.2 em tubo de RMN.....	22
Esquema 1.6 - Proposta mecanística para a síntese de N-tetoxicarbonil imidazoles 1.2	23
Esquema 2.1 - Síntese de imidazolil triazoles 2.1.1 e de imidazolil oxadiazoles 2.1.3	32
Esquema 2.2 - Síntese de imidazolil triazoles de 2.1.1.1 a 2.1.1.3	33
Esquema 2.3 - Síntese de imidazolil triazoles 2.1.1.1 e respetivo intermediário 2.1.0.1	36
Esquema 2.4 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil triazoles 2.1.1	40
Esquema 2.5 - Síntese de imidazolil oxadiazoles 2.1.3.1 a 2.1.3.4	41
Esquema 2.6 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil oxadiazoles 2.1.3	46
Esquema 2.7 - Síntese de estruturas tricíclicas 2.2.1 e 2.2.2	47
Esquema 2.8 - Síntese de triazolopurinas 2.2.1.1 e 2.2.1.2	48
Esquema 2.9 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 2.2.1	51
Esquema 2.10 - Síntese de oxadiazolopurinas 2.2.2.1 e 2.2.2.2	52
Esquema 2.11 - Proposta mecanística para a obtenção de oxadiazolopurinas 2.2.2	57
Esquema 3.1 - Síntese de imidazolil N-aril-triazoles 3.1	66
Esquema 3.2 - Síntese de imidazolil 2-aril-3-carbonil-1,2,4-triazoles 3.1.1 a 3.1.9 e do intermediário 3.0.3	67
Esquema 3.3 - Reação de imidazole 1.2.1 com trifluorometil-hidrazina em tubo de RMN	74

Esquema 3.4 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil triazoles 3.1	77
Esquema 3.5 - Síntese das triazolopurinas 3.2	78
Esquema 3.6 - Síntese de triazolopurinas de 3.2.1 a 3.2.4	79
Esquema 3.7 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 3.2	82
Esquema 4.1 - Síntese de imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1 , de isoguaninas 4.1.2 e de 1,2,4-triazolopurinas 4.1.3	92
Esquema 4.2 - Síntese dos imidazolil <i>N</i> -acil-triazoles 4.1.1.1 a 4.1.1.9	93
Esquema 4.3 - Síntese das isoguaninas 4.1.2.1 a 4.1.2.6	102
Esquema 4.4 - Reação de imidazole 1.2.1 com hidrazida acética em tubo de RMN.....	108
Esquema 4.5 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil triazoles 4.1.1 e de isoguaninas 4.1.2	112
Esquema 4.6 - Síntese de triazolopurinas 4.1.3.1 a 4.1.3.6	113
Esquema 4.7 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 4.1.3	118
Esquema 4.8 - Síntese de triazolopurina 4.2.1	119
Esquema 4.9 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas 4.2	121
Esquema 5.1 - Síntese de amidinas aciladas 5.1	134
Esquema 5.2 - Síntese de amidinas aciladas de 5.1.1 a 5.1.8	135
Esquema 5.3 - Proposta mecanística para a síntese de amidinas aciladas 5.1	141
Esquema 5.4 - Síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2 a partir das amidinas aciladas 5.1	141
Esquema 5.5 - Síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2 a partir do imidazole 1.2	142
Esquema 5.6 - Conversão de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	142
Esquema 5.7 - Síntese de isoguaninas de 5.2.1 e 5.2.2	143
Esquema 5.8 - Síntese de isoguaninas 5.2.1.3 e 5.2.1.9 a 5.2.1.12 e de 5.2.2.3 , 5.2.2.11 e 5.2.2.12	148
Esquema 5.9 - Conversão de isoguaninas 5.2.1 em isoguaninas 5.2.2	150
Esquema 5.10 - Separação de misturas de 5.2.1 e 5.2.2	152
Esquema 5.11 - Proposta mecanística para a síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2	168
Esquema 5.12 - Proposta mecanística para a conversão de isoguaninas 5.2.1 em 5.2.2	169

Artigos publicados

1. Dias, A. M., Cabral, I., Vila-Chã, A. S., Costa, D. S., Proença, M. F., *The synthesis of 6-amidino-2-oxopurine revisited: new evidence for the reaction mechanism*, European Journal of Organic Chemistry, 1925 – 1934 (2007).
2. Dias, A. M., Cabral, I., Vila-Chã, A. S., Proença, M. F., *A versatile synthetic approach to isoguanine derivatives*, Synlett, 8, 1231 – 1234 (2007).
3. Dias, A. M., Cabral, I., Vila-Chã, A. S., Cunha, D. P., Senhorães, N., Nobre, S., Sousa, C. E., Proença, M. F., *A Facile One-Pot Synthesis of 3-Imidazolyl 1,2,4-Triazoles and 1,2,4-Oxadiazolones*, Synlett, 18, 2792 – 2796 (2010).
4. Dias, A. M., Cabral, I., Vila-Chã, A. S., Costa, A. L., Cunha, D. P., Senhorães, N., Proença, M. F., *Versatile synthesis of 5-aminoimidazole-4-carboxylic acid derivatives*, Synlett, 18, 2675 – 2680 (2011).
5. Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A. S., Pereira, M., Venâncio, A., *Micotoxinas detectadas em produtos alimentícios em Portugal: revisão*, Revista Bio Ciências, 2, 5-31 (2012).
6. Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A. S., Pereira, M., Venâncio, A., *A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition 63, 249 – 265 (2016).

INTRODUÇÃO

Este plano de trabalhos desenvolveu-se tendo como foco duas questões de fundo. O desenho e o desenvolvimento de estratégias de síntese de novos compostos heterocíclicos e a avaliação dos compostos como potenciais inibidores da atividade fúngica.

A síntese de novas estruturas com potencial atividade antifúngica continua a ser uma área de trabalho importante com diferentes motivações. Uma delas prende-se com o facto de ser possível avaliar a atividade biológica dos compostos e de compreender a relevância das estruturas moleculares na ação antifúngica [1]. A compreensão dos mecanismos envolvidos na biossíntese e na interferência que os compostos sintetizados podem ter no crescimento do fungo revela-se muito oportuno para o desenvolvimento de fármacos mais potentes e seletivos [2]. Para além dos testes *in vitro* e *in vivo*, podem ser também efetuados testes de simulação computacional e, dessa forma, enriquecer a base de conhecimento e de informação adquirida sobre a ação das moléculas no percurso de crescimento do fungo e de produção das micotoxinas [3, 4]. Por outro lado, tem sido investigada a combinação de fungicidas sintéticos com produtos naturais, particularmente óleos essenciais, de modo a obter efeitos sinérgicos [5, 6]. Para além destes contornos que sustentam a oportunidade de continuar a investigar a atividade biológica de compostos sintéticos é possível, em simultâneo, desenvolver novas estratégias de síntese e compreender novos mecanismos e condições experimentais relevantes, quer para a síntese de compostos com potencial atividade antifúngica, como para a síntese de outras moléculas com diferentes aplicações químicas e biológicas.

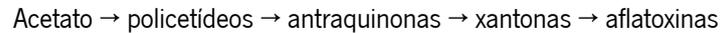
As moléculas sintetizadas devem então constituir a possibilidade de se produzir um inibidor. Este deve ser capaz de impedir a produção de micotoxinas em condições favoráveis para a síntese destes metabolitos secundários. A acumulação de micotoxinas em todo o mundo é um tema de grande relevância e estão a ser levadas a cabo medidas para evitar a proliferação destes metabolitos sobre as culturas, para que se impeça a deterioração dos alimentos [7]. Mas, em alguns casos, a prevenção da produção de micotoxinas está também relacionada com o crescimento de fungos e ambos os aspetos devem ser considerados.

Existem fungos em quase todas as regiões e sob diversos ambientes. Têm um papel crucial em muitos processos biológicos, como a decomposição da matéria orgânica e a transferência de nutrientes do solo para as plantas. Podem causar infeções primárias e o crescimento em hospedeiros animais é chamado de micose.

As micotoxinas, compostos de baixo peso molecular, são produzidas a partir de um ou mais metabolitos primários [8] e a exposição a estes metabolitos secundários pode causar micotoxicoses. Os fungos *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* são os géneros mais relevantes no que diz respeito à síntese de micotoxinas.

Os *Aspergillus* são fungos que afetam a cadeia alimentar, por esta razão o seu controlo e deteção é de grande relevância. Estes fungos são produtores de micotoxinas conhecidas, como as aflatoxinas (AFS) ou a ocratoxina A (OTA) [9]. Entre as espécies produtoras de aflatoxinas, o *Aspergillus flavus* e o *Aspergillus parasiticus* são os que têm maior importância agrícola e económica.

As aflatoxinas são derivados de difuranocumarinas e existem quase 18 tipos diferentes de AF. A ação da AF em humanos e animais é bem conhecida, mas a biossíntese e os mecanismos envolvidos ainda não estão bem compreendidos. As aflatoxinas são metabolitos secundários derivados de policetídeos que são produzidos de acordo com a seguinte via [10]:



A OTA é um possível agente cancerígeno para o homem, nefrotóxico, genotóxico, teratogênico e imunossupressor [11]. As fumonisinas são produzidas principalmente por espécies *Fusarium* e, em menor quantidade, por *Aspergillus negros*, sendo relatada a existência de cerca de 53 fumonisinas diferentes [12].

Os compostos referidos na literatura como antifúngicos constituíram a base da investigação realizada. Com esse conhecimento, foram testadas e projetadas moléculas novas e promissoras para interromper ou, pelo menos, interferir no metabolismo de crescimento dos fungos e da produção de micotoxinas.

Os inibidores já conhecidos apresentam diferentes estruturas químicas que sugerem diferentes formas de agir na atividade dos fungos [13]. Relativamente aos compostos heterocíclicos, atualmente compreende-se a forma como estes atuam enquanto inibidores da atividade fúngica. Estas moléculas são reconhecidas pelas suas vastas aplicações biológicas, nomeadamente os que integram imidazoles, como por exemplo, os compostos apresentados na figura 0.1. Imidazoles e seus derivados têm sido reportados por apresentarem atividade anticancerígena, antimicrobiana e, principalmente, antifúngica [14].

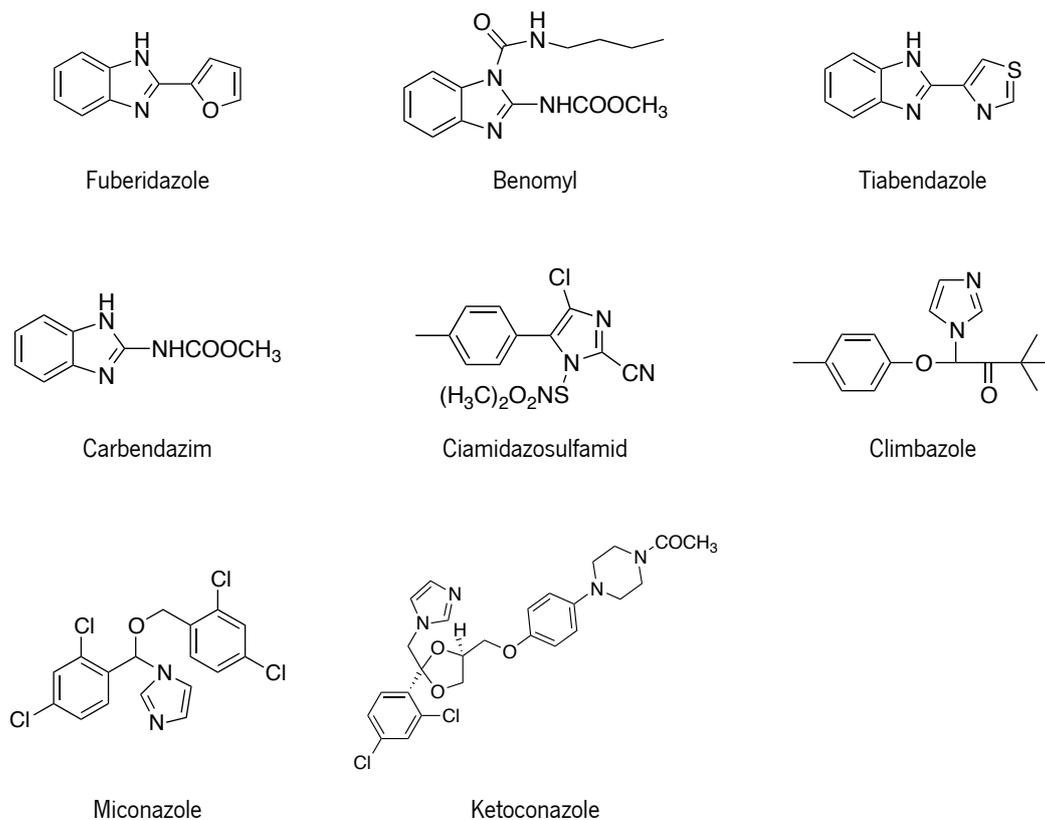


Figura 0.1 - Estrutura de alguns fungicidas comerciais com núcleo de imidazole

As estruturas que incorporam triazoles foram também, desde há muito, identificadas como moléculas que inibem a produção de esteroides por fungos. Compostos como o itraconazole, o fluconazole ou o voriconazole (figura 0.2) interferem num passo-chave da síntese do ergosterol, molécula que se encontra nas membranas celulares dos fungos [15].

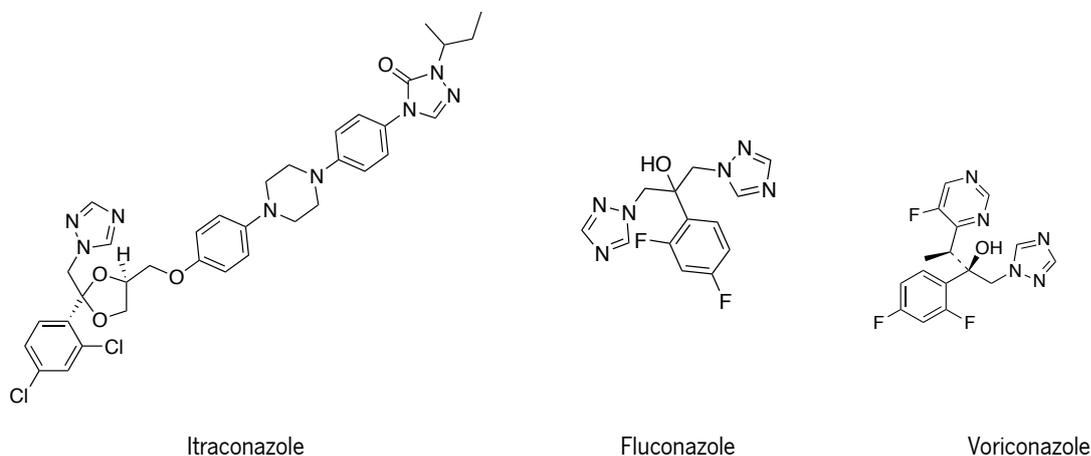


Figura 0.2 - Estrutura de alguns azoles antifúngicos

Alguns destes compostos foram largamente utilizados como antifúngicos, tendo, no entanto, apresentado alguns problemas relacionados com elevada toxicidade, problemas de resistência à droga e de farmacocinética. A síntese de novos compostos que se apresentam mais eficientes reveste-se de extrema importância na procura por inibidores do crescimento de fungos e da produção de micotoxinas [16, 17, 18, 19, 20]. A analogia a compostos de referência, como o fluconazole ou o itraconazole, constitui uma mais valia no cumprimento do objetivo de produção de antifúngicos e no desenho da síntese pretendida [21, 22].

Dois tipos de imidazoles substituídos em C-4 com unidades de carboxamida e carboxamidrazona são reportados como potentes antifúngicos [14, 23]. Tendo em conta que o grupo 5-Me e 5-NH₂ são considerados bioisósteros, a analogia estrutural destas duas famílias de compostos revela a potencialidade antifúngica deste tipo de imidazoles tornando-os bons compostos *lead* no planeamento de novos antifúngicos (figura 0.3).

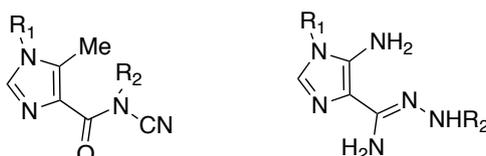


Figura 0.3 - Estruturas de imidazoles 4-carboxamida e 4-carboxamidrazono descritos como antifúngicos

Os objetivos propostos para este trabalho envolveram a síntese de derivados de imidazole e triazole como potenciais agentes antifúngicos.

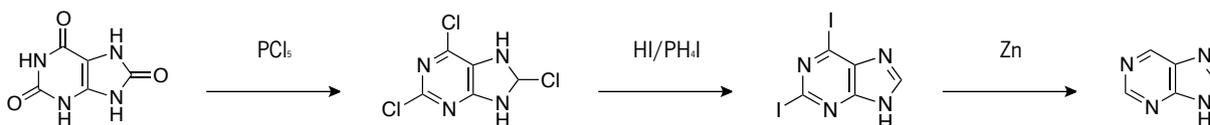
Para o desenho dos novos compostos com potencial atividade antifúngica foi tida em conta a analogia estrutural com os compostos representados na figura 0.3. Assim, foi mantido o esqueleto do 5-aminoimidazole em todas as moléculas alvo deste projeto, quer em análogos acíclicos, quer em análogos cíclicos do tipo purina. Atendendo ao facto de uma unidade de amidrazona presente em C-4 conferir atividade antifúngica a este esqueleto, foram previstos novos imidazoles que incorporam 4-carboxamidrazonas e 4-[1,2,4]-triazoles como unidades bioequivalentes, integradas em sistemas heterocíclicos ligados ou fundidos.

Síntese de triazoles

Um dos métodos mais usados para a síntese de 1,2,4-triazoles e 1,2,4-oxadiazoles, parte de *N*-acil-amidrazonas e de *O*-acil-amidoximas [24]. No entanto, verifica-se que estes procedimentos requerem temperaturas elevadas e/ou tempos de reação longos e conduzem a rendimentos baixos [24, 25, 26, 27]. Outros procedimentos descritos requerem temperatura ambiente, mas utilizam reagentes tóxicos ou de difícil acesso, como o acetato de mercúrio [24] ou o benzoato de prata [28]. Para a síntese de 5-(5-aminoimidazole)-1,2,4-triazoles estão descritos dois métodos. Um que implica a abertura de um anel de triazolopurinas e um outro que parte da reação de 5-amino-4-cianoimidazoles com ortoformiato de etilo, seguida de condensação com hidrazinas e hidrazidas a temperaturas elevadas [29]. No trabalho descrito nesta tese foram desenvolvidas vias sintéticas alternativas para a síntese de imidazolil triazoles e imidazolil oxadiazoles que partem de reagentes de partida fáceis de obter e utilizam condições reacionais muito suaves.

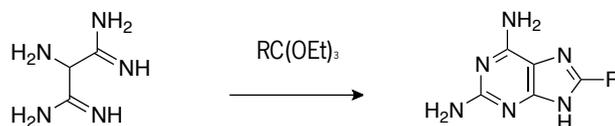
Síntese de purinas

A importância e o interesse químico e biológico do anel de purina já são conhecidos desde o final do século XIX e encontram-se publicadas diferentes abordagens sintéticas para a obtenção desta classe de compostos. A primeira síntese de purinas reporta a 1889 por Emil Fischer. O método partia do ácido úrico que, por reação com PCl_5 , dava origem a 2,6,8-tricloropurina. Partindo desta tricloropurina, foi sintetizada a 2,6-diiodopurina com recurso a HI e a PH_4I , que depois sofre redução por ação do zinco (esquema 0.1) [30].



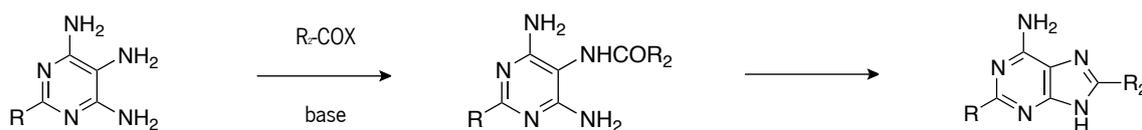
Esquema 0.1 – Síntese de purinas a partir de ácido úrico

Ao longo dos tempos foram publicados diferentes métodos e estratégias sintéticas para a síntese de purinas. Um dos métodos publicados parte de precursores acíclicos, através da reação do aminomalononitrilo com orto ésteres (esquemas 0.2) [31].



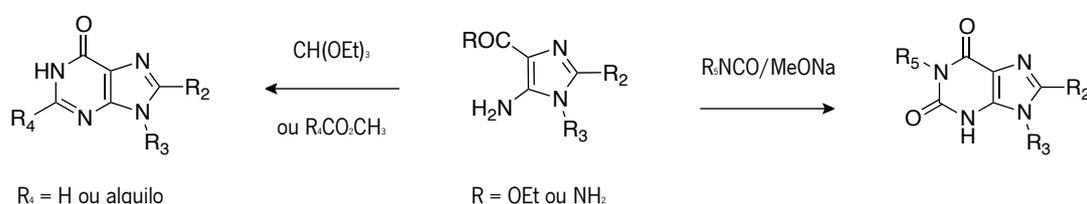
Esquema 0.2 – Síntese de purinas a partir de precursores acíclicos

Outro método recorre à *N*-acilação de diaminopirimidinas seguindo-se uma ciclização intramolecular do intermediário *N*-acilado para obtenção de adeninas 2,8-dissubstituídas. Este método parte de reagentes fáceis de obter, mas apresenta algumas restrições na incorporação de substituintes complexos no anel de purina (esquema 0.3) [30].



Esquema 0.3 – Síntese de purinas a partir do anel de pirimidina

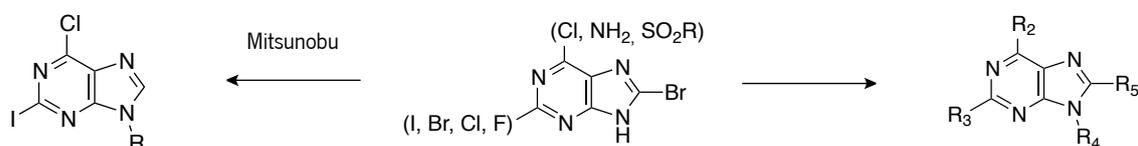
Os métodos que partem de derivados de imidazole recorrem à condensação de derivados de 5-amino-4-etoxicarbonilimidazoles com isocianatos ou com ortoformiatos ou derivados de éster que permitem a introdução de substituintes alquilo ou H em C-2. Este método apresenta como principal desvantagem o facto dos reagentes serem instáveis e oxidarem quando estão em contacto com o ar (esquema 0.4) [32].



Esquema 0.4 – Síntese de derivados de purinas a partir de imidazoles

A síntese de purinas a partir de purinas ativadas tem sido o método mais utilizado para obtenção de derivados de purina. Estes métodos envolvem substituições nucleofílicas aromáticas, acoplamento com catalisadores metálicos,

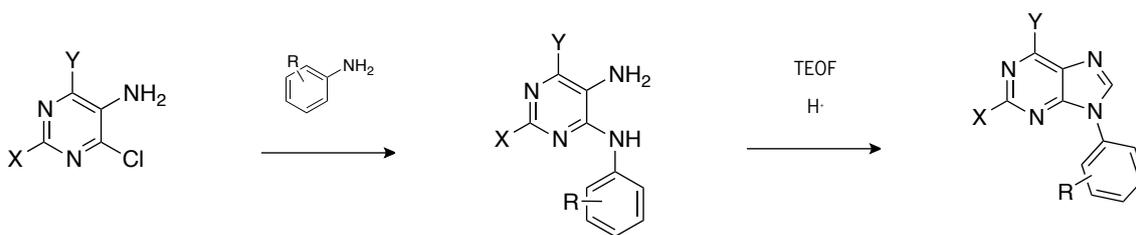
alquilações e acilações, sendo que o método desenvolvido por Mitsunobu é altamente seletivo para a alquilação em N-9. No entanto, estes métodos recorrem a reagentes com elevado custo (esquema 0.5) [30].



Esquema 0.5 – Síntese de purinas a partir de purinas ativadas

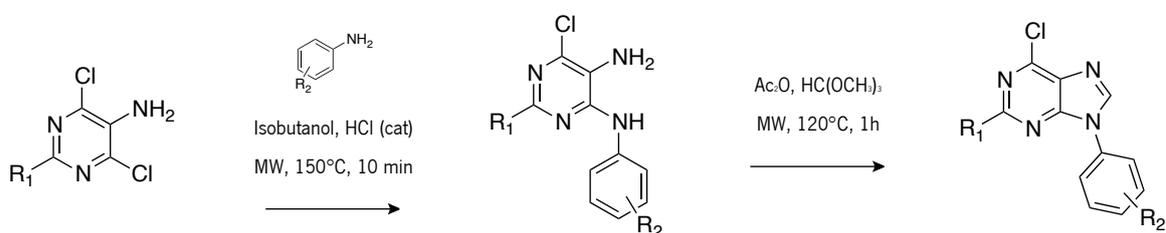
Através da análise dos vários métodos que já foram descritos, a 9-alquilação de purinas é facilmente conseguida, mas a introdução de grupo arílicos não é tão simples. Nas fontes bibliográficas encontram-se alguns dos métodos mais utilizados para a introdução de substituintes arílicos no anel de purina.

- Reação de uma amina aromática com cloropirimidinas, seguida de uma ciclização intramolecular (esquema 0.6) [33].



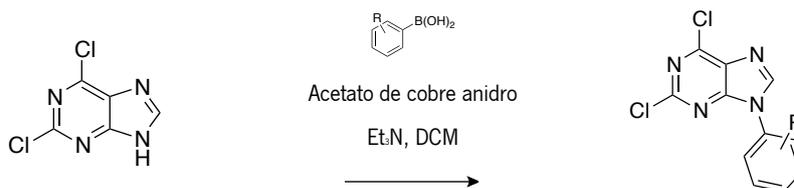
Esquema 0.6 – Síntese de 9-arilpurinas

Foi possível otimizar este método com recurso a reações assistidas por micro-ondas (esquema 0.7) [34].



Esquema 0.7 – Síntese de 9-arilpurinas assistida por micro-ondas

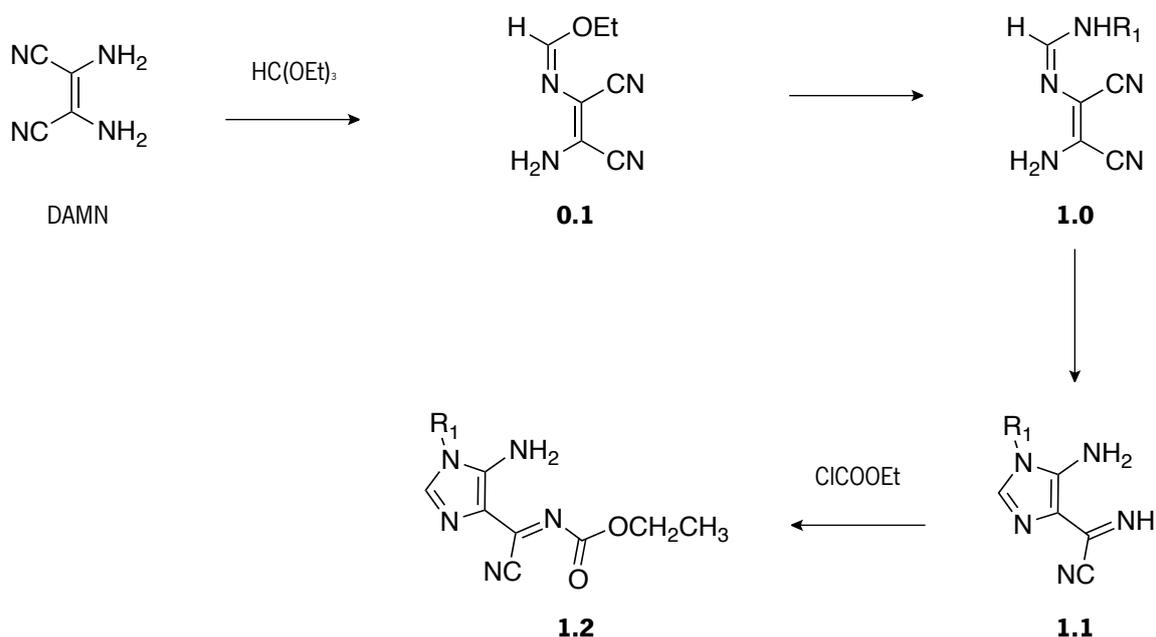
- N-arilação de cloropurinas (esquema 0.8) [35].



Esquema 0.8 – N-9 arilação de purina com ácidos borônicos

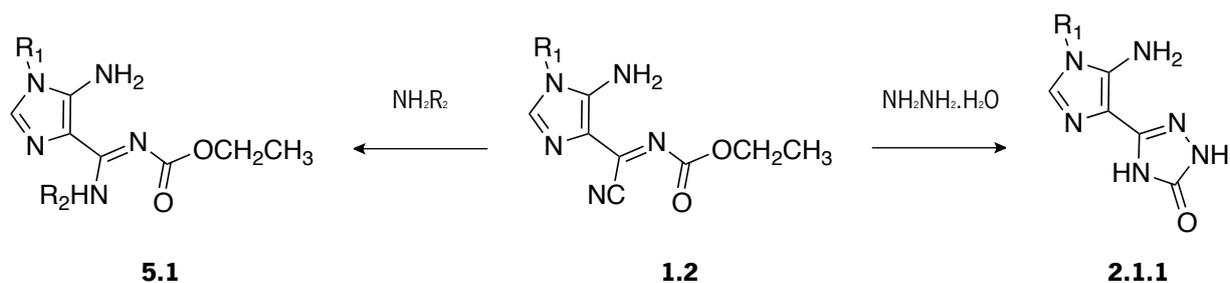
Os métodos de síntese de purinas desenvolvidos no grupo de investigação onde este trabalho foi realizado envolvem estratégias mais simples, igualmente seletivas e com recursos menos dispendiosos [36, 37, 38].

Nestes métodos os reagentes de partida utilizados para a síntese das novas estruturas heterocíclicas não são obtidos comercialmente, sendo por isso necessário sintetizá-los. Os imidazoles **1.1** e **1.2** são os intermediários chave para as estratégias sintéticas utilizadas. Estes são obtidos através da utilização de métodos que partem do diaminomaleonitrilo, DAMN, de acordo com o esquema 0.9 [37, 39].



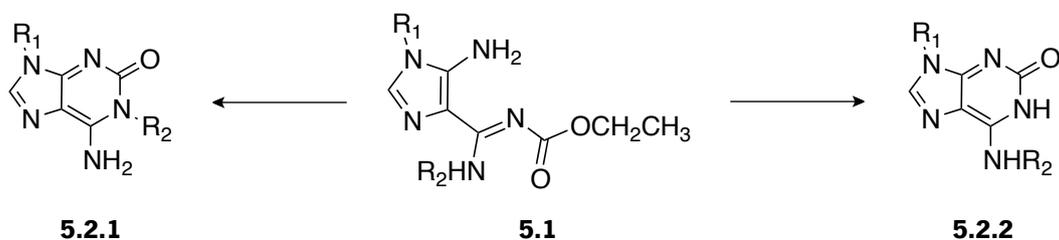
Esquema 0.9 – Síntese dos reagentes de partida **1.1** e **1.2**

Os resultados obtidos nesta tese, em conjunto com resultados obtidos em trabalho anterior do grupo de investigação demonstraram que o intermediário chave **1.2** reage facilmente com hidrazina mono-hidratada, conduzindo à síntese de 5-aminoimidazolil 1,2,4-triazoles **2.1.1** (esquema 0.10) [40].



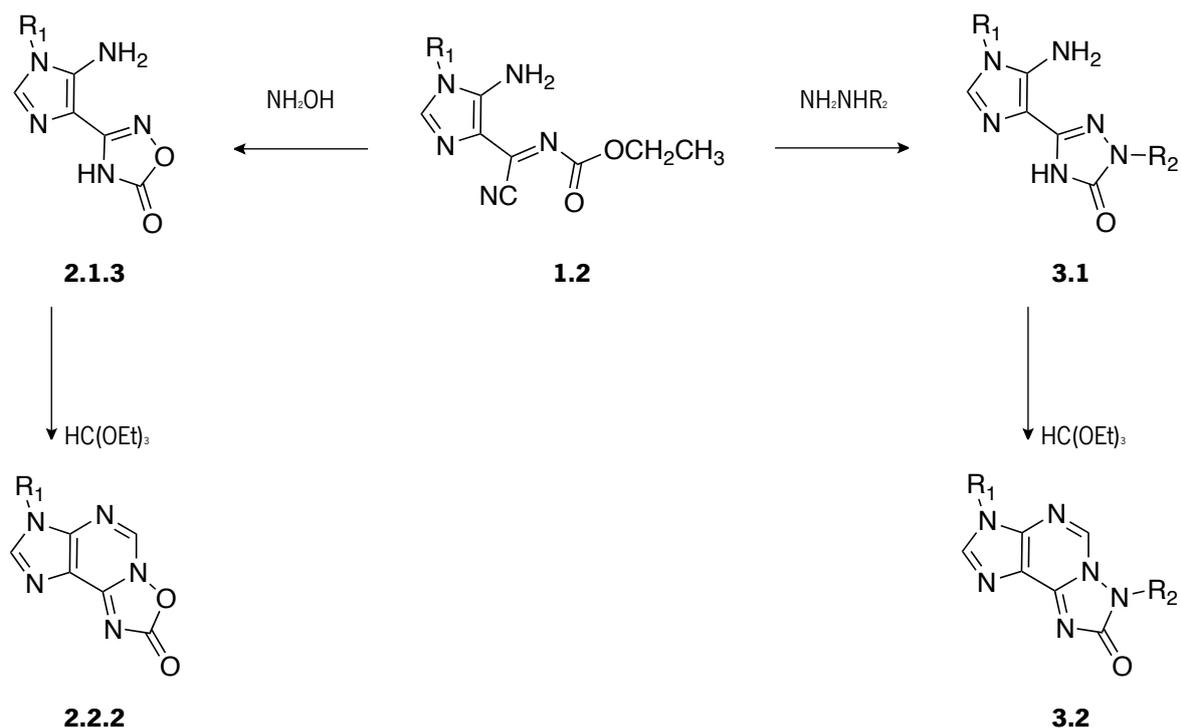
Esquema 0.10 – Síntese dos imidazole **5.1** e dos imidazolil triazoles **2.1.1**

Também foi investigada a reatividade dos mesmos intermediários **1.2** com aminas que conduziu à obtenção seletiva das amidinas **5.1** (esquema 0.10) [37]. Quando submetidas a condições de refluxo, estas amidinas evoluem para misturas de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** (esquema 0.11).



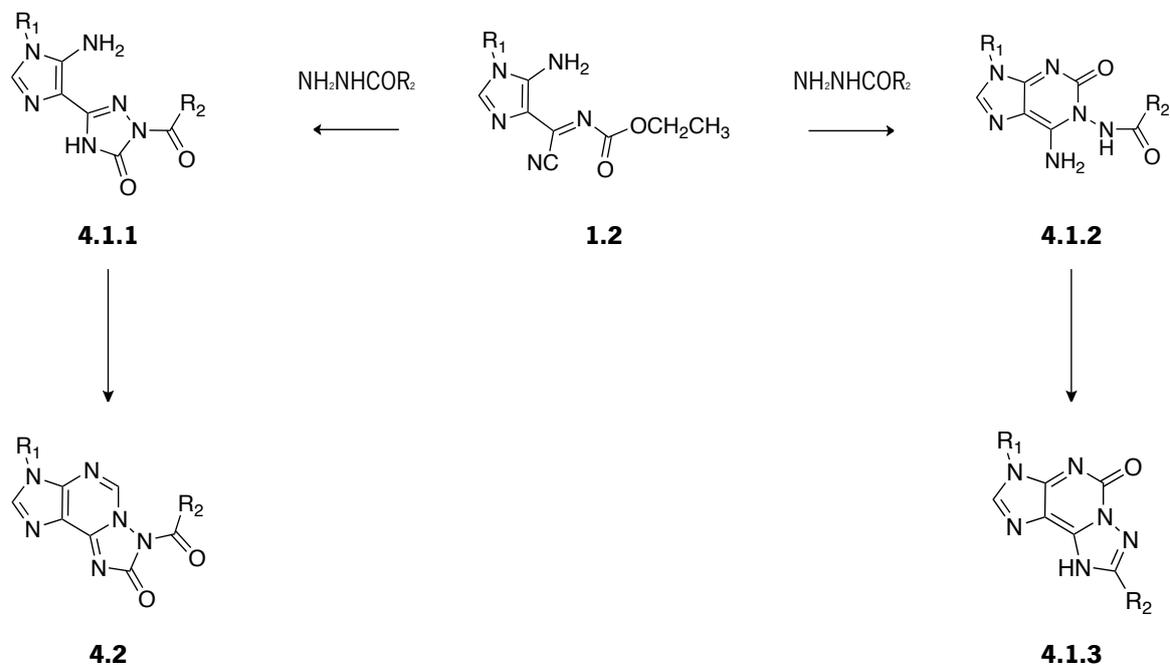
Esquema 0.11 – Síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2**

Dando continuidade aos estudos prévios de reatividade dos intermediários chave **1.2**, a reação destes com hidrazinas substituídas conduziu à síntese de derivados de 1,2,4-triazoles **3.1** que foram posteriormente convertidos nos sistemas tricíclicos **3.2**, por condensação com ortoformiato de etilo. A reação com hidroxilamina também permitiu gerar os correspondentes derivados de 1,2,4-oxadiazole **2.1.3** e **2.2.2**, que se trata de uma unidade bioequivalente do anel de 1,2,4-triazole (esquema 0.12).



Esquema 0.12 – Síntese de imidazolil triazoles, imidazolil oxadiazoles, triazolopurinas e pirimidopirimidinas

Neste trabalho foi ainda investigada a reatividade do intermediário **1.2** com hidrazidas em diferentes condições experimentais que conduziu à obtenção das estruturas **4.1.1**, **4.1.2**, **4.1.3** e **4.2** (esquema 0.13).



Esquema 0.13 – Síntese de imidazolil triazoles, purinas e triazolopurinas

Os compostos novos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectroscopia de massa.

A fim de desenvolver com sucesso este projeto, foram usados os recursos biológicos disponíveis na Micoteca da Universidade do Minho (MUM). Metodologias analíticas foram necessárias para monitorizar o crescimento dos fungos (crescimento radial e método da resazurina) e a atividade antifúngica dos compostos sintetizados foi avaliada em diferentes concentrações [41].

Referências

- [1] Guilherme, F. D. et al, *Journal of Molecular Structure*, 1184, 349-356 (2019).
- [2] Geißel, B. et al, *Nature Communications*, 9, 3098 (2018).
- [3] Zhang, Y. et al, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29, 1345-1349 (2019).
- [4] Mol, G. P. S., Aruldas, D., Joe, I. H., Balachandran, S., Anuf, A. R., George, J., *Journal of Molecular Structure*, 1176, 226-237 (2019).
- [5] Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H., Ozogul, F., *Food Bioscience*, 25, 28-31 (2018).
- [6] Pinto, E., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., *Molecules*, 22, 1595-1606 (2017).
- [7] Paterson, R. R. M., Lima, N., *Molecular Clinical and Environmental Toxicology*, 2, 31-63 (2010).
- [8] Bennett, J. W., Klich, M. A., *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 497-516 (2003).
- [9] Venâncio, A., Paterson, R., *The Challenge of Mycotoxins*, in McElhatton, A. and Marshall, R. J., *Food safety: A practical and case study approach*, 24-47, Springer, New York (2007).
- [10] Wilkinson, J. R., Abbas, H. K., *Toxin Reviews*, 27, 227-260 (2008).
- [11] Bouras, N., Mathieu, F., Coppel, Y., Strelkov, S. E., Lebrhi A., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8920-8927 (2007).
- [12] Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O., Thrane, U., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9727-9732 (2007).

- [13] Holmes, R. A., Boston, R. S., Payne, G. A., *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 559-572 (2008).
- [14] Yang, W., Li, Jing, Li, Jun, Chen, Q., Yang, G., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 1455-1458 (2012).
- [15] Na, Y., Borgne, M., Pagniez, F., Le Baut, G., Le Pape, P., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38, 75-87 (2003).
- [16] Nelson, R., Kesternicha, V., Pérez-Fehrmann, M., Salazar, F., Marcourt, L., Christen, P., Godoy, P., *Journal of Chemical Research*, 38, 549–552 (2014).
- [17] He, X., Jiang, Y., Zhang, Y., Wu, S., Dong, G., Liu, N., Liu, Y., Yao, J., Miao, Z., Wang, Y., Zhang, W., Sheng, C., *Medicinal Chemistry Communications*, 6, 653–664 (2015).
- [18] Zhang, H., Wei, J., Kumar, K. V., Rasheed, S., Zhou, C., *Medical Chemistry Research*, 24, 182–196 (2015).
- [19] Rybak, J. M., Fortwendel, J. R., Rogers, P. D., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74, 835 – 842 (2019).
- [20] Lee, H., Lee, D., G., *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1771-1781 (2018).
- [21] Zambrano-Huerta A. et al, *Medicinal Chemistry Research*, 28, 571–579 (2019).
- [22] Kamboj, V. K., Kapoor, A., Jain, S., *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 56, 1376-1382 (2019).
- [23] Ribeiro, A. I., Gabriel, C., Cerqueira, F., Maia, M., Pinto, E., Sousa, J. C., Medeiros, R., Proença, M. F., Dias, A. M., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24, 4699–4702 (2014).
- [24] Moulin, A., Bibian, M., Blayo, A. -L., El Habnoui, S., Martinez, J., Fehrentz, J. -A., *Chem Rev.*, 110, 1809 (2010).
- [25] Yeung, K., -S., Farkas, M., E., Kadow, J., F., Meanwell, N. A., *Tetrahedron Lett*, 46, 3429 (2005).
- [26] Amarasinghe, K., K., D., Maier, M., B., Srivastava, A., Graya, J. L., *Tetrahedron Lett*, 47, 3629 (2006).
- [27] Katritzky, A., R., Khashab, N., M., Kirichenko, N., Singh, A., *Journal of Organic Chemistry*, 71, 9051 (2006).
- [28] Bibian, M., Blayo, A., -L., Moulin, A., Martinez, J., Fehrentz, J. -A., *Tetrahedron Lett.*, 51, 1660 (2010).

- [29] Okamura, T., Kurogi, Y., *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 3703 (2002).
- [30] M. Legraverend, D. S. Grierson, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, 14, 3987
- [31] A. R. Katritzky, C. W. Rees, *J. Heterocycl. Chem.*, 5, 568.
- [32] A. Katritzky, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 1984, 5, 499
- [33] A. Bakkestuen, L. Gundersen, *Tetrahedron Lett.*, 2004, 44, 3359.
- [34] L. Aguado, M. J. Camarasa, MJ Pérez-Pérez, *J. Comb. Chem.*, 2009, 11, 210.
- [35] S. Ding, N. S. Gray, Q. Ding, P. G. Schultz, *Tetrahedron Lett.*, 2001, 42, 8751.
- [36] Booth, B. L., Dias, A. M., Proença, M. F., *Journal of Chemical Society, Perkin Trans. I*, 2119 – 2126 (1992).
- [37] Dias, A.M., Vila-Chã, A. S., Cabral, I.M. Proença, M.F., *Synlett*, 1231-1233 (2007).
- [38] Booth, B. L., Cabral, I. M., Dias, A. M., Freitas, A. P., Beja, A. M. M., Proença, M. F., Silva, M. R., *Journal of Chemical Society, Perkin Trans. I*, 1241 – 1251 (2001).
- [39] Alves, M. J., Booth, B. L., Proença, M. F., *Journal of Chemical Society, Perkin Trans. I*, 1705 (1990).
- [40] Dias, A. M., Cabral, I. M., Vila-Chã, A. S., Cunha, D., Senhorães, N., Nobre, S., Sousa, C., Proença, M. F., *Synlett*, 2792-2796 (2010).
- [41] Abrunhosa, L., Costa, M., Areias, F., Venâncio, A., Proença, F., *Journal of Industry Microbiology and Biotechnology*, 34, 787-792 (2007).

CAPÍTULO 1.

REAÇÕES DE SÍNTESE DE REAGENTES DE PARTIDA

1 REAÇÕES DE SÍNTESE DE REAGENTES DE PARTIDA

1.1 Síntese de 5-amino-1 *H*imidazole-4-carbimidoilnitrilo

1.2 Síntese de imidazolil cianometilenocarbamatos

1.3 Conclusões

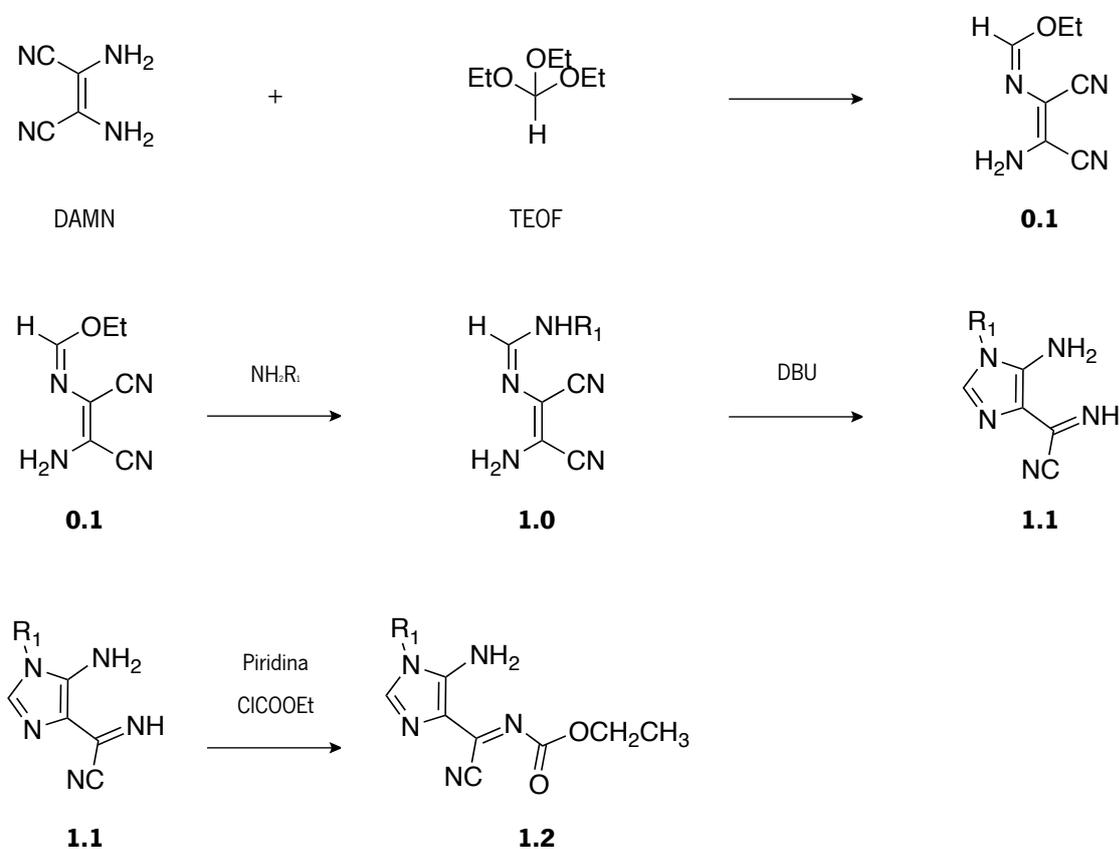
1.4 Parte experimental

Referências

1. REAÇÕES DE SÍNTESE DE REAGENTES DE PARTIDA

O trabalho descrito nos próximos capítulos tem como reagente de partida o *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** e esta molécula é sintetizada a partir dos imidazoles **1.1**.

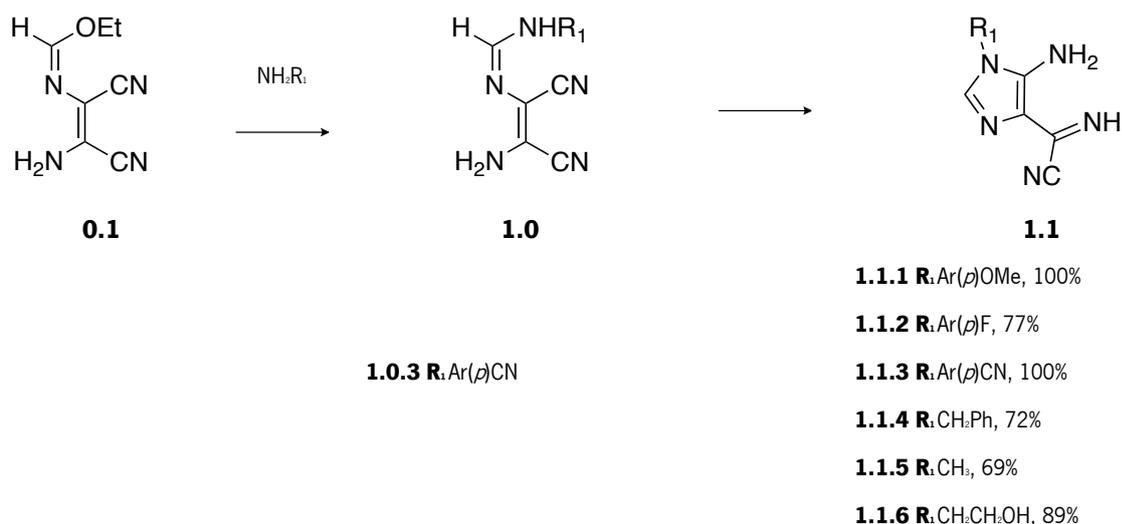
Os imidazoles **1.1** são largamente sintetizados no grupo de investigação a partir das *N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formamidinas **1.0**. Estas amidinas são sintetizadas por reação do imidato **0.1** [1] com aminas e sofrem posterior ciclização para formar os 5-amino-4-cianoformimidimidazoles **1.1**. Os *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** formam-se através da reação de **1.1** com piridina e cloroformiato de etilo [2, 3] (esquema 1.1).



Esquema 1.1 - Síntese de imidato **0.1** e dos imidazoles **1.1** e **1.2**

1.1 Síntese de 5-amino-1*H*-imidazole-4-carbimidoilnitrilo

A síntese destas estruturas encontra-se bastante desenvolvida no grupo de investigação e permite obter inúmeras moléculas através da utilização de diferentes aminas primárias, tanto alifáticas como aromáticas (esquema 1.2).



Esquema 1.2 – Síntese de 5-amino-1*H*-imidazol-4-carbimidoilnitrilo **1.1.1** a **1.1.6**

Na tabela 1.1 estão descritas as reações que permitiram obter os imidazoles necessários para preparar o reagente de partida dos trabalhos de investigação desenvolvidos, os *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2**. As reações de obtenção dos imidazoles **1.1** acontecem com rendimentos bons ou muito bons e com tempos de reação bastante satisfatórios. Na tabela estão descritas duas formas de sintetizar as estruturas **1.1**. Um método no qual a reação parte do imidato e acontece sem se isolar a amidina (uma reação em duas etapas) e o método no qual a amidina é isolada, utilizando o sólido para a reação seguinte de ciclização intramolecular. Optou-se pelo segundo método para a síntese do imidazole **1.1.3** para se obter melhores rendimentos.

Tabela 1.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazoles **1.1**

Entrada	R ₁	mmol RP	mmol NH ₂ R ₁	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	42,4	52,0	i) EtOH (20,0 mL), cloreto de anilíneo (cat.), ta, 18 h ii) EtOH (10,0 mL), DBU (7 gotas), ta, 18 h	1.1.1	100
2	Ar(<i>p</i>)F	42,6	42,6	i) EtOH (20,0 mL), cloreto de anilíneo (cat.), ta, 18 h ii) EtOH (10,0 mL), DBU (7 gotas), ta, 18 h	1.1.2	77
3	Ar(<i>p</i>)CN	7,44	7,79	i) EtOH (15,0 mL), cloreto de anilíneo (cat.), ta, 4 dias ii) EtOH (14,0 mL), DBU (7 gotas), ta, 1h20min	1.0.3 1.1.3	100 100
4	CH ₂ Ph	12,2	30,5	i) EtOH (2,0 mL), cloreto de anilíneo (cat.), ta, 40 min ii) Éter de petróleo (3,0 mL), EtOH (1,0 mL), DBU (5 gotas), ta, 6 h	1.1.4	72
5	CH ₃	23,3	34,9	i) EtOH (8,0 mL), ta, 1 h ii) EtOH (6,0 mL), DBU (3 gotas), 4°C, 18 h	1.1.5	69
6	CH ₂ CH ₂ OH	10,6	15,8	i) EtOAc (20,0 mL), cloreto de anilíneo (cat.), 4°C, 6 h ii) DBU (2 gotas), 4°C, 10 h	1.1.6	89

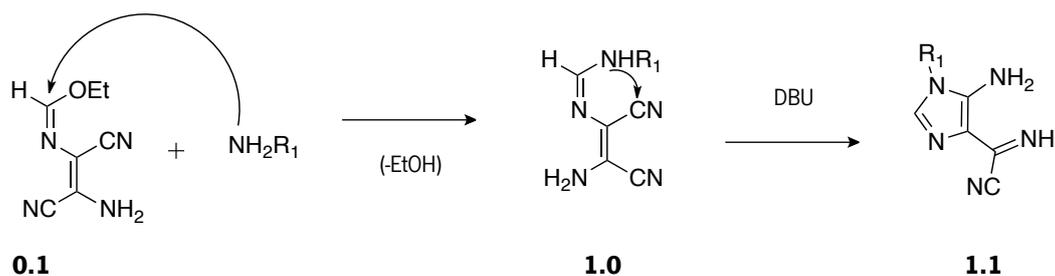
No método de uma reação em duas etapas aguarda-se que, por TLC, haja indicação de que o reagente de partida tenha sido consumido para se proceder à adição do DBU. No primeiro passo destas reações é utilizado o cloreto de anilíneo como catalisador, com exceção da entrada 5, cuja incorporação da amina se apresenta muito rápida. O recurso a temperaturas mais baixas (entradas 5 e 6) acontece para minimizar a degradação dos produtos da reação.

1.1.1. Caracterização dos 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidonitrilos **1.1**

Os imidazoles **1.1** foram caracterizados por ¹H RMN e por IV, tendo sido comparados com amostras padrão previamente sintetizadas.

1.1.2. Proposta mecanística para a síntese do 5-amino-1*H*-imidazole-4-carbimidoilnitrito **1.1**

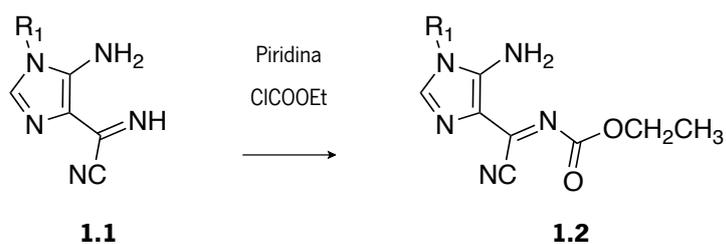
O mecanismo proposto para a síntese dos imidazoles **1.1** tem início com o ataque nucleofílico da amina primária ao carbono ligado ao grupo etoxilo do imidato, seguindo-se depois a libertação de etanol para originar a amidina **1.0**. A ciclização intramolecular acontece na presença de base que promove o ataque nucleofílico do nitrogénio da amidina ao carbono do grupo ciano, como se descreve no esquema 1.3.



Esquema 1.3 - Proposta mecanística para a síntese de imidazoles **1.1**

1.2. Síntese de imidazolil cianometilenocarbamatos

A preparação dos *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** exigiu diversos ensaios para otimizar as condições experimentais para cada um dos produtos, uma vez que os resultados mostraram variações para os diferentes substituintes.



1.2.1 R:Ar(*p*)OMe, 96%

1.2.2 R:Ar(*p*)F, 88%

1.2.3 R:Ar(*p*)CN, 86%

1.2.4 R:CH₂Ph, 58%

1.2.5 R:CH₃, 100%

1.2.6 R:CH₂CH₂OH, 26%

Esquema 1.4 – Síntese de *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2.1** a **1.2.6**

Na tabela 1.2 estão descritas as condições que se revelaram mais eficientes. Todas as reações descritas aconteceram na presença de 1,5 equivalentes de piridina e 1,2 equivalentes de cloroformiato de etilo. A adição lenta e as temperaturas baixas foram essenciais para evitar a formação de produtos secundários não desejados.

Tabela 1.2 - Condições experimentais para a síntese de *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2**

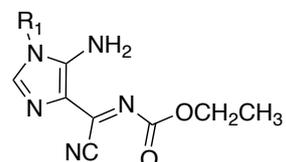
Entrada	R _i	mmol RP	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	2,07	ACN (30,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), 0°C, 1h5min	1.2.1	96
2	Ar(<i>p</i>)F	10,4	ACN (100,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), 0°C, adição, 4°C, 1h30min	1.2.2	88
3	Ar(<i>p</i>)CN	5,17	ACN seco (45,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), 0°C, 7 h	1.2.3	86
4	CH ₂ Ph	1,70	ACN (7,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), 0°C, 1h30min, 4°C, 2 dias	1.2.4	58
5	CH ₃	1,28	ACN (20,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), 0°C, 1h5min	1.2.5	100
6	CH ₂ CH ₂ OH	8,94	ACN (50,0 mL), piridina (1,5 eq), ClCOOEt (1,2 eq.), -15°C, adição, 4°C, 2h30min Evaporação, DCM (40,0 mL), 4°C, 18 h	1.2.6	26

Os rendimentos foram bons ou muito bons, com exceção da reação indicada na entrada 6, na qual o rendimento foi baixo. Para este substituinte encontraram-se dificuldades acrescidas decorrentes da acilação competitiva no grupo OH do substituinte CH₂CH₂OH. Para aumentar a seletividade da *N*-acilação, realizou-se a reação a -15° C. No entanto, não foi possível evitar completamente a formação do produto diacilado e foi necessário recorrer a uma purificação da mistura reacional por cromatografia em *flash* para isolar o produto *N*-acilado **1.2.6** puro.

1.2.1. Caracterização dos imidazolil cianometilenocarbamatos **1.2**

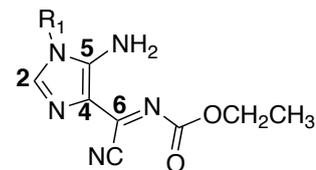
A caracterização das diferentes estruturas **1.2** foi feita através da determinação do ponto de fusão e da determinação da composição química dos compostos (tabela 1.3).

Tabela 1.3 - Dados físicos e analíticos para os *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2**



Produto	R ₁	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	139 - 140	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₃	57,40; 4,90; 22,40 (57,50; 4,83; 22,35)
1.2.2	Ar(<i>p</i>)F	178 - 179	C ₁₄ H ₁₂ N ₃ FO ₂	55,76; 3,92; 23,12 (55,81; 4,01; 23,25)
1.2.3	Ar(<i>p</i>)CN	190 - 192	C ₁₅ H ₁₂ N ₆ O ₂	58,25; 4,28; 27,17 (58,44; 3,92; 27,26)
1.2.4	CH ₂ Ph	162 - 163	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂	60,37; 4,88; 23,69 (60,60; 5,09; 25,56)
1.2.5	CH ₃	148 - 149	C ₉ H ₁₁ N ₃ O ₂	46,62; 5,13; 31,84 (46,86; 5,01; 31,66)
1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH	138 - 141	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₃	47,72; 5,01; 27,61 (47,78; 5,20; 27,94)

Os dados físicos e analíticos apresentados na tabela 1.3 confirmam as estruturas propostas para estes compostos, assim como os espectros de ¹H RMN, cuja informação foi sintetizada na tabela 1.4.

Tabela 1.4 - Dados de ^1H RMN do *N*-etoxicarbonilimidazole **1.2** ($\text{DMSO}-d_6$)

Prod.	R ₁	H-2	NH ₂	OCH ₂ CH ₃	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	7,66 (1H, s)	8,08 (2H, sl)	4,16 (2H; q; 7,0 Hz) 1,25 (3H; t; 7,0 Hz)	7,46 (2H; d; 9,0 Hz) 7,14 (2H; d; 9,0 Hz) 3,88 (3H, s)	3396 m, 3231 m, 2222 f, 1665 i, 1629 i
1.2.2	Ar(<i>p</i>)F	7,69 (1H, s)	8,11 (2H, sl)	4,16 (2H; q; 7,0 Hz) 1,25 (3H; t; 7,0 Hz)	7,61 (2H; dd; <i>J</i> =8,8 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz) 7,46 (2H; t; <i>J</i> =8,8 Hz)	3382 m, 3265 f, 2221 f, 1682 i, 1630 i
1.2.3	Ar(<i>p</i>)CN	7,77 (1H, s)	8,22 (2H, sl)	4,16 (2H; q; 7,0 Hz) 1,25 (3H; t; 7,0 Hz)	8,12 (2H; d; 8,8 Hz) 7,78 (2H; d; 8,8 Hz)	3378 m, 2231 m, 1732 f, 1686 i, 1633 i
1.2.4	CH ₂ Ph	7,63 (1H, s)	8,21 (2H, sl)	4,16 (2H; q; 7,0 Hz) 1,24 (3H; t; 7,0 Hz)	7,38 (2H; t; 7,2 Hz) 7,31 (1H; t; 7,2 Hz) 7,24 (2H; d; 7,2 Hz) 5,19 (2H, s)	3305 m, 3272 m, 3064 f, 3031 f, 2221 f, 1706 i, 1636 f, 1581 i
1.2.5	CH ₃	7,48 (1H, s)	8,09 (2H, sl)	4,15 (2H; q; 7,0 Hz) 1,24 (3H; t; 7,0 Hz)	3,45 (3H, s)	3544 m, 2220 f, 1687 i, 1651 i
1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH	7,48 (1H, s)	8,20 (2H, sl)	4,15 (2H; q; 7,0 Hz) 1,25 (3H; t; 7,0 Hz)	3,95 (2H; t; 5,0 Hz) 3,63 (2H; t; 5,0 Hz) 5,20 (<1H, sl)	3332 m, 3225 m, 3163 m, 3068 f, 1665 m, 1648 m, 1641 i

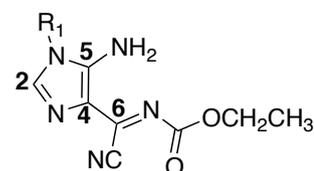
Os sinais observados através da ressonância magnética nuclear de ^1H revelam um padrão constante para as diferentes estruturas isoladas, o que permite consolidar a atribuição da estrutura proposta. O átomo de hidrogénio ligado ao carbono 2 do anel de imidazole surge em desvios entre δ 7,48 e 7,77 ppm. Este intervalo reflete a diferente natureza do substituinte R₁, sendo o desvio mais alto correspondente ao substituinte com um efeito retirador mais efetivo, o Ar(*p*)CN, e o desvio mais baixo correspondente à situação contrária, o CH₃. Os dois prótons do grupo 5-NH₂ aparecem em sinais largos com desvios entre δ 8,08 e 8,22 ppm. O grupo etoxilo praticamente não apresenta variações relativas ao substituinte em R₁, surgindo consistentemente como um quarteto a δ 4,15 e 4,16 ppm e um tripleto a δ 1,24 e 1,25 ppm. Os sinais dos substituintes R₂ surgem a desvios consistentes com estruturas previamente caracterizadas e análogas a estas.

Nos espetros de infravermelho identifica-se uma banda de fraca intensidade entre 2220 e 2231 cm⁻¹ que corresponde ao grupo ciano, sendo particularmente identificativo deste tipo de estruturas. Por outro lado,

a presença de uma banda entre 1630 e 1687 cm^{-1} que não se encontrava na estrutura precursora **1.1**, confirma a presença do grupo funcional carbamato.

Finalmente os dados de espectroscopia de ^{13}C RMN registados na tabela 1.5 e os espectros de correlação entre os átomos de carbono e de hidrogénio permitiram comprovar a estrutura atribuída a este composto.

Tabela 1.5 - Dados de ^{13}C RMN do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2**
(DMSO- d_6)

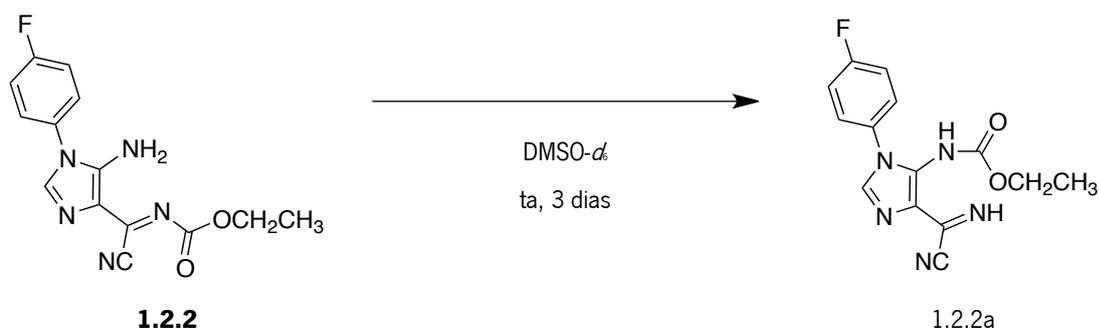


Prod.	R ₁	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	CN	OCH ₂ CH ₃	R ₁
1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	138,20	120,40	150,80	137,90	160,99	111,70	61,70 14,21	159,80; 126,20 125,30; 115,11 55,62
1.2.2	Ar(<i>p</i>)F	138,95	120,73	150,61	137,83	160,91	111,61	61,78 14,22	162,24 (d;245,0 Hz); 116,90 (d;23,0 Hz) 128,39 (d;9,0 Hz); 129,10 (d;3,0 Hz)
1.2.3	Ar(<i>p</i>)CN	137,22	120,73	150,05	137,93	160,80	111,81	61,90 14,24	136,83; 134,20 126,51; 118,10; 115,05
1.2.4	CH ₂ Ph	138,06	120,81	150,50	137,73	161,11	111,66	61,68 14,25	135,59; 128,79 127,86; 127,11 45,84
1.2.5	CH ₃	138,90	121,30	151,50	137,51	161,24	111,89	61,66 14,32	29,60
1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH	139,00	121,42	151,20	137,46	161,21	111,90	61,61 12,32	45,81; 58,70

O carbono 2 apresenta sinais consistentes entre δ 137 e 139 ppm, intervalo característico deste tipo de derivados de imidazole e a mesma consistência se verifica para os restantes carbonos da molécula. Para os carbonos que integram o anel de imidazole registam-se sinais entre δ 120 e 121 ppm e entre δ 150 e 151 ppm atribuídos a C-4 e C-5, respetivamente. O carbono 6, ligado ao anel de imidazole em C-4, regista sinais à volta dos δ 138 ppm e o carbono do grupo ciano à volta de δ 112 ppm. O grupo etoxilo surge com um padrão reprodutível entre δ 62 ppm e δ 12 ppm. Os desvios observados para os diferentes substituintes em R₁ são consistentes com outras estruturas que incorporam as mesmas unidades.

1.2.2. Estabilidade da estrutura **1.2** em tubo de RMN

A estabilidade deste tipo de estruturas foi avaliada em tubo de RMN. Para o efeito, preparou-se uma solução da estrutura **1.2.2** em DMSO- d_6 (esquema 1.5).



Esquema 1.5 – Evolução da estrutura **1.2.2** em tubo de RMN

Realizou-se um espectro de ^1H RMN que foi repetido 3 dias depois. Verificou-se que houve uma evolução resultante da migração do grupo etoxicarbonilo do nitrogénio imínico para o nitrogénio do grupo 5-amino do anel de imidazole (figura 1.1).

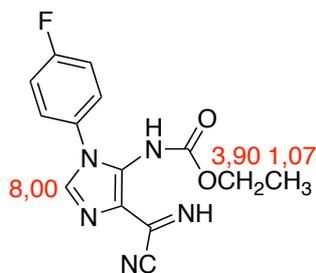
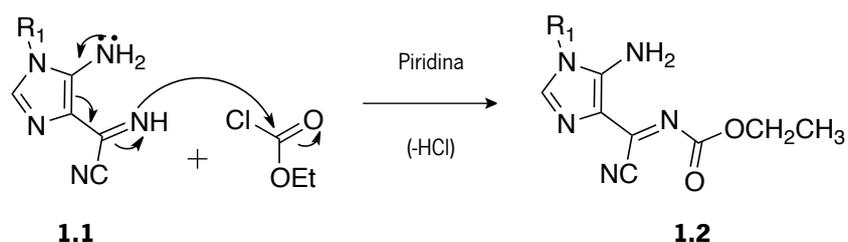


Figura 1.1 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para a estrutura **1.2.2a**

1.2.3. Proposta mecanística para a síntese do imidazolil cianometilenocarbamatos **1.2**

A síntese destes imidazoles acontece por condensação do grupo etoxicarbonilo do cloroformiato de etilo com o nitrogénio do grupo imínico do imidazole **1.1** e na presença de piridina, que vai ativar o ataque nucleofílico e captar o HCl, como está descrito no esquema 1.6.



Esquema 1.6 - Proposta mecanística para a síntese de *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2**

1.3. Conclusões

Neste capítulo foram preparados os imidazoles **1.1** com diversos substituintes em N-1 por um processo que envolve três etapas. Estes compostos foram posteriormente convertidos nos *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** por reação com cloroformiato de etilo.

As reações de síntese dos imidazoles **1.1** com substituintes arilo decorreram com rendimento bons ou muito bons e em condições experimentais bastante reprodutíveis. No entanto, a introdução de substituintes alquílicos exigiu que se investisse no desenvolvimento de condições reacionais otimizadas, particularmente para o substituinte hidroxialquílo, uma vez que este produto é mais instável.

É de salientar a quantidade de novas estruturas preparadas que contribuiu para a diversidade estrutural dos produtos obtidos ao longo deste trabalho, ajudando também a provar a generalidade dos métodos de síntese.

1.4. Parte experimental

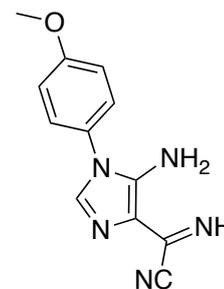
1.4.1 Síntese de 5-amino-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1**

Procedimento geral

Uma mistura reacional de **imidato 0.1** com aminas ou aminoálcoois (1,0 a 3,7 eq) em etanol ou acetato de etilo e catálise de cloreto de anilíneo (exceto para $R_2=CH_3$) foi deixada sob agitação. (Isolou-se a amidina para **1.1.3** e **1.1.7**) Adicionou-se DBU (2 a 7 gotas) e a mistura reacional continuou sob agitação. O produto isolado foi identificado como sendo **1.1**.

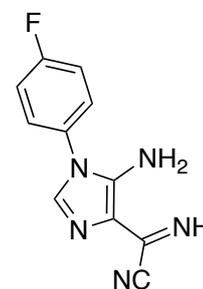
5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.1**

A uma suspensão de imidato **0.1** (6,96 g; 42,4 mmol) em etanol (20 mL) foi adicionada *p*-anisidina (6,39 g; 52 mmol) e uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente. Dezoito horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (7 gotas) e mais etanol (10 mL). Dezoito horas depois, o sólido bege foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.1** (10,2 g; 42,4 mmol; 100 %).



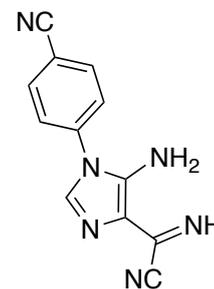
5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.2**

A uma suspensão de imidato **0.1** (6,99 g; 42,6 mmol) em etanol (20 mL) foi adicionada *p*-fluoranilina (4,08 mL; 42,6 mmol) e uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente. Dezoito horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (7 gotas) e mais etanol (10 mL). Dezoito horas depois, o sólido cinza foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.2** (7,50 g; 32,8 mmol; 77 %).



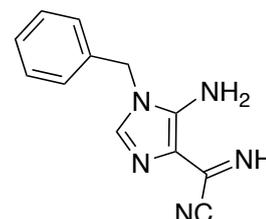
5-amino-1-(4-cianofenil)-1Himidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.3**

A uma suspensão de imidato **0.1** (1,22 g; 7,44 mmol) em etanol (15 mL) foi adicionada 4-aminobenzonitrilo (0,92 g; 7,79 mmol) e uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente. Quatro dias após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e isolou-se a amidina **1.0.3** (1,27 g; 5,38 mmol; 72 %). Esta amidina foi suspensa em etanol (14 mL) adicionou-se DBU (7 gotas) e deixou-se a mistura sob agitação à temperatura ambiente. Uma hora e 20 minutos depois, o sólido bege foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.3** (1,27 g; 5,38 mmol; 100 %).



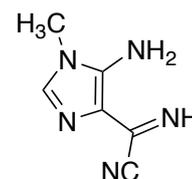
5-amino-1-benzil-1Himidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.4**

A uma quantidade de imidato **0.1** (2,00 g; 12,2 mmol) foi adicionada benzilamina (3,34 mL; 30,5 mmol) e uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente. Quarenta minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (5 gotas), éter de petróleo (3 mL) e etanol (1 mL). Seis horas depois, o sólido bege foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.4** (1,96 g; 8,72 mmol; 72 %).



5-amino-1-metil-1Himidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.5**

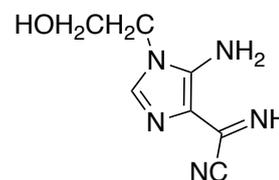
A uma suspensão de imidato **0.1** (3,82 g; 23,3 mmol) em etanol (8 mL) em banho de gelo foi adicionada metilamina (1,20 mL; 34,9 mmol). Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente. Uma hora após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (3 gotas) e mais etanol (6 mL). Deixou-se a mistura sob agitação a 4°C. Dezoito



horas depois, o sólido bege foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.5** (2,40 g; 16,1 mmol; 69 %).

5-amino-1-(2-hidroxietil)-1H-imidazole-4-carbimidoilnitrilo **1.1.6**

A uma suspensão de imidato **0.1** (1,73 g; 10,5 mmol) em acetato de etilo (20 mL) em banho de gelo foi adicionada etanolamina (0,96 mL; 15,9 mmol) e uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação a 4°C. Seis horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (2 gotas). Dez horas depois, o sólido bege foi filtrado e lavado com acetato de etilo, etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.1.6** (1,68 g; 9,39 mmol; 89 %).



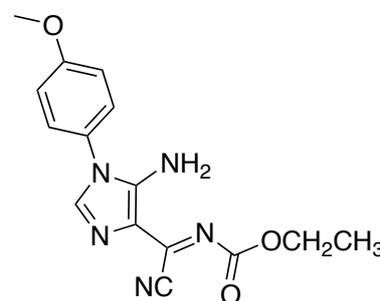
1.4.2 Síntese de imidazolil cianometilenocarbamatos 1.2

Procedimento geral

Uma mistura reacional de **1.1** com piridina (1,5 eq) e cloroformiato de etilo (1,2 eq), em acetonitrilo ou etanol, foi deixada sob agitação a 0°C ou a 4°C. O produto isolado foi identificado como sendo **1.2**.

((5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.1**

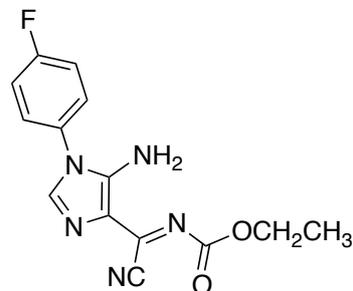
A uma suspensão de **1.1.1** (0,50 g; 2,07 mmol) em acetonitrilo (30 mL) em banho de gelo foi adicionada piridina (0,25 mL; 3,13 mmol) e cloroformiato de etilo (0,24 mL; 2,50 mmol) muito lentamente. Deixou-se a mistura reacional sob agitação a 0°C. A suspensão inicial deu lugar a uma suspensão amarela, depois a uma solução castanha clara da qual precipitou sólido amarelo. Uma hora e 5 minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com diclorometano frio e éter



etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.1** (0,62 g; 1,98 mmol; 96 %).

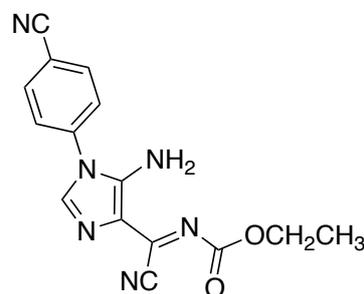
((5-amino-1-(4-fluorofenil)-1Himidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.2**

A uma suspensão de **1.1.2** (2,38 g; 10,4 mmol) em acetonitrilo (100 mL) em banho de gelo foi adicionada piridina (1,26 mL; 15,6 mmol) e cloroformiato de etilo (1,20 mL; 12,5 mmol) muito lentamente. Deixou-se a mistura reacional sob agitação a 4°C. A suspensão inicial deu lugar a uma suspensão amarela. Uma hora e 30 minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com diclorometano frio e éteretílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.2** (2,78 g; 9,17 mmol; 88 %).



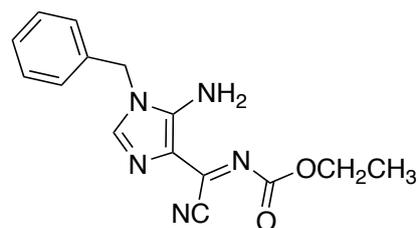
((5-amino-1-(4-cyanofenil)-1Himidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.3**

A uma suspensão de **1.1.3** (1,22 g; 5,17 mmol) em acetonitrilo seco (45 mL) em banho de gelo foi adicionada piridina (0,62 mL; 7,73 mmol) e cloroformiato de etilo (0,59 mL; 6,18 mmol) muito lentamente. A suspensão inicial deu lugar a uma suspensão amarela. Sete horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éteretílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.3** (1,37 g; 4,45 mmol; 86 %).



((5-amino-1-benzil-1Himidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.4**

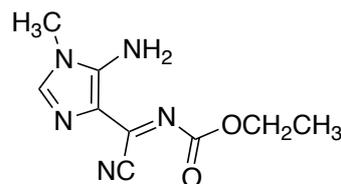
A uma suspensão de **1.1.4** (0,38 g; 1,69 mmol) em acetonitrilo (7 mL) em banho de gelo foi adicionada piridina (0,20 mL; 2,53 mmol) e cloroformiato de etilo (0,19 mL; 2,03 mmol) muito lentamente. A suspensão inicial deu lugar a uma solução e foi deixada sob agitação a 0°C durante 1 hora e 30 minutos e a 4°C



durante 2 dias. Durante este período começou a precipitar sólido. Por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.4** (0,29 g; 0,98 mmol; 58 %).

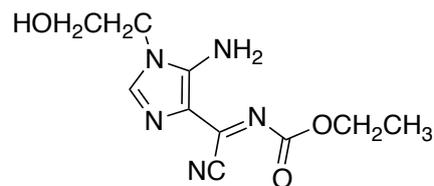
((5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.5**

A uma suspensão de **1.1.5** (0,19 g; 1,28 mmol) em acetonitrilo (20 mL) em banho de gelo foi adicionada piridina (0,16 mL; 1,94 mmol) e cloroformiato de etilo (0,15 mL; 1,55 mmol) muito lentamente. A suspensão inicial deu lugar a uma solução e foi deixada sob agitação a 0°C. Uma hora e 5 minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a solução até se obter um óleo do qual precipitou sólido. Adicionou-se éter etílico e o sólido amarelo foi filtrado e lavado com diclorometano frio e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.5** (0,28 g; 1,28 mmol; 100 %).



((5-amino-1-(2-hidroxietil)-1H-imidazol-4-il)(ciano)metileno)carbamato de etilo **1.2.6**

A uma suspensão de **1.1.6** (1,60 g; 8,94 mmol) em acetonitrilo (50 mL), a -15°C e sob corrente de azoto, foi adicionada piridina (1,08 mL; 13,4 mmol) e cloroformiato de etilo (1,02 mL; 10,7 mmol) muito lentamente. Deixou-se a mistura reacional sob agitação a 4°C. A suspensão inicial deu lugar a uma solução. Duas horas e 30 minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Adicionou-se sílica à solução e evaporou-se o solvente. Colocou-se a amostra sólida sobre uma coluna de sílica e recolheram-se soluções após passagem de éter de petróleo, éter etílico, diclorometano, acetato de etilo e acetona sob vácuo. Concentrou-se a solução de acetona e obteve-se um óleo do qual precipitou



sólido. O sólido amarelo foi filtrado e lavado com diclorometano frio e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **1.2.6** (0,58 g; 2,31 mmol; 26 %).

Referências

[1] D. W. Woodward; U.S. Pat., 2 534 331, 1950.

[2] Alves, M. J., Booth, B. L., Proença, M. F., Journal Chemical of Society Perkin Trans. I, 1705 (1990).

[3] Dias, A.M., Vila-Chã, A. S., Cabral, I.M. Proença, M.F., Synlett, 1231-1233 (2007).

CAPÍTULO 2.

REAÇÃO DE METOXCARBONIL IMIDAZOLES COM HIDRAZINA E HIDROXILAMINA E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

2. REAÇÃO DE METOXCARBONIL IMIDAZOLES COM HIDRAZINA E HIDROXILAMINA E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

2.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazina e hidroxilamina

2.1.1. Síntese de imidazolil triazoles

2.1.2. Isolamento do intermediário na síntese do imidazolil triazole

2.1.3. Síntese de imidazolil oxadiazoles

2.2. Reação de imidazolil triazoles e de imidazolil oxadiazoles com ortoformiato de etilo

2.2.1. Síntese de triazolopurinas

2.2.2. Síntese de oxadiazolopurinas e respectivo intermediário

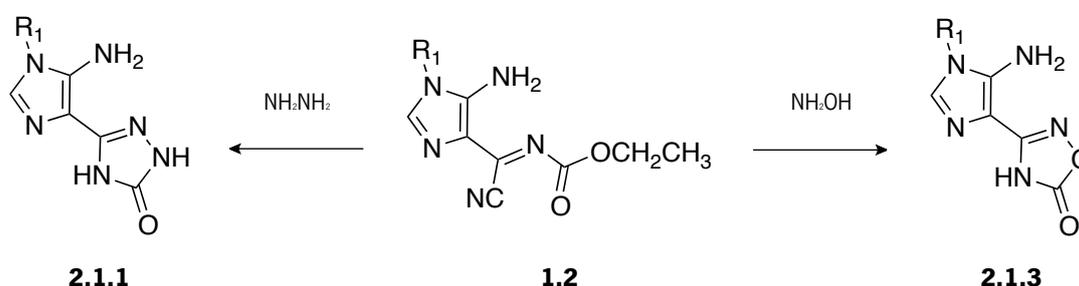
2.3. Conclusões

2.4. Parte experimental

2. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM HIDRAZINA E HIDROXILAMINA E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

2.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazina e hidroxilamina

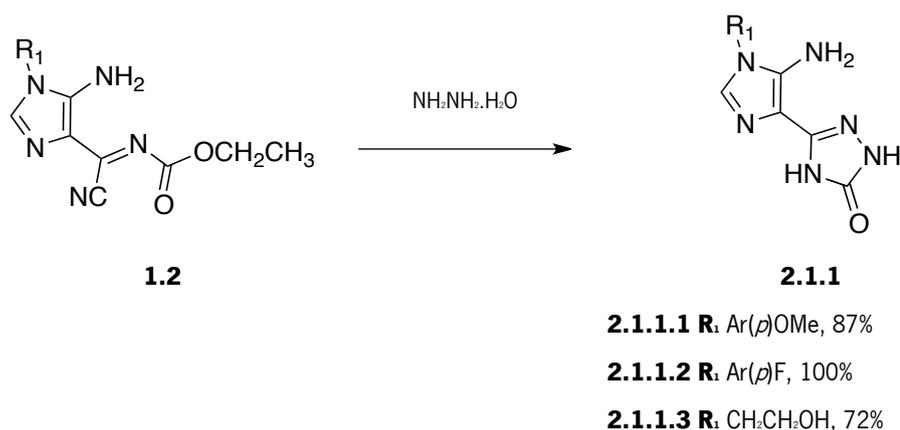
Foi avaliada a reatividade do reagente de partida **1.2** com hidrazina e hidroxilamina. Estudos preliminares indicavam que estes nucleófilos, quando neutralizados, podem substituir o grupo ciano, com posterior ciclização intramolecular, dando origem ao imidazolil triazole **2.1.1** e ao imidazolil oxadiazole **2.1.3** (esquema 2.1).



Esquema 2.1 – Síntese de imidazolil triazoles **2.1.1** e de imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

2.1.1. Síntese de imidazolil triazoles

O imidazolil triazole **2.1.1** foi obtido a partir da reação do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** com hidrazina mono-hidratada ou com hidrazina na forma de cloreto. As reações de **1.2** com a hidrazina mono-hidratada foram muito rápidas e permitiram isolar diretamente os imidazolil triazoles com rendimentos muito bons ou mesmo excelentes, como se pode verificar no esquema 2.2.



Esquema 2.2 – Síntese de imidazolil triazoles de 2.1.1.1 a 2.1.1.3

Na tabela 2.1 estão descritas as condições reacionais utilizadas para a reação do imidazole **1.2** com a hidrazina mono-hidratada. A reação com esta hidrazina em etanol foi bastante eficiente porque este solvente permite a precipitação do imidazolil triazole, conduzindo à obtenção do produto final puro e em pouco tempo, mesmo quando a reação acontece em banho de gelo. Tentou-se acompanhar a reação em tubo por ¹H RMN, mas no espectro de próton verificou-se que a formação do triazole foi imediata, observando-se apenas a libertação de etanol.

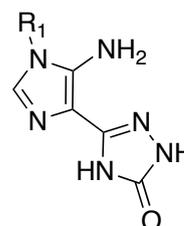
Tabela 2.1 - Condições experimentais para a síntese do imidazolil triazole **2.1.1** a partir da reação do imidazole **1.2** com hidrazina mono-hidratada

Entrada	R ₁	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	1,29	2,57	EtOH (4,5 mL), 0°C, 20 min	2.1.1.1	87
2	Ar(<i>p</i>)F	0,50	1,00	EtOH (3,0 mL), 0°C, 40 min	2.1.1.2	100
3	CH ₂ CH ₂ OH	0,39	0,78	EtOH (4,0 mL), 0°C, 2h30 min, 4°C, 14 h	2.1.1.3	72

2.1.1.1. Caracterização dos imidazolil triazoles **2.1.1**

O imidazolil triazole **2.1.1** foi sintetizado com três substituintes distintos em N-1, evidenciando a reprodutibilidade da reação do imidazole com a hidrazina mono-hidratada. Os três compostos foram devidamente caracterizados e identificados e os dados físicos e analíticos estão registados na tabela 2.2.

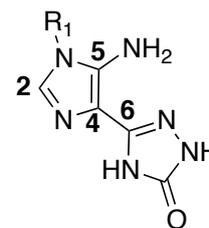
Tabela 2.2 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil triazoles **2.1.1**



Produto	R _i	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
2.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	>316 ^{a)}	C ₁₂ H ₁₂ N ₆ O ₂	52,75; 4,60; 30,88 (52,94; 4,44; 30,87)
2.1.1.2	Ar(<i>p</i>)F	>324 ^{a)}	C ₁₁ H ₉ N ₆ FO	260,0825 ^{b)} (260,0822)
2.1.1.3	CH ₂ CH ₂ OH	>290 ^{a)}	C ₇ H ₁₀ N ₆ O ₂ · 1/4H ₂ O	39,63; 5,10; 38,95 (39,16; 4,93; 39,14)

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺

Na tabela 2.3 é possível analisar os dados de ¹H RMN que permitem identificar cada uma das espécies isoladas, assim como os dados obtidos por IV.

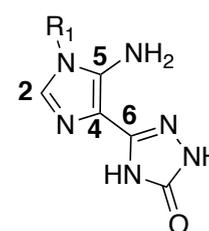
Tabela 2.3 - Dados de ^1H RMN e IV dos triazoles **2.1.1**(DMSO- d_6)

Prod.	R ₁	H-2	NH ₂	NH	NH	R ₁	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	7,39 (1H, s)	5,22 (2H, s)	11,20 (1H, s)	11,57 (1H, s)	7,42 (2H; d; 8,7 Hz) 7,08 (2H; d; 8,7 Hz) 3,81 (3H; s; OMe)	3428 f, 3331 f, 3102 m, 1715 i, 1634 i
2.1.1.2	Ar(<i>p</i>)F	7,46 (1H, s)	5,29 (2H, s)	9,54 (1H, sl)	11,18 (1H, sl)	7,57 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz) 7,40 (2H; t; <i>J</i> =9,0 Hz)	3434 m, 3402 m, 3338 m, 3316 m, 3110 i, 1908 f, 1710 i, 1633 i, 1596 m, 1569 m
2.1.1.3	CH ₂ CH ₂ OH	7,19 (1H, s)	5,26 (2H, s)	10,40 (1H, sl)	11,08 (1H, sl)	3,87 (2H; t; 5,1 Hz) 3,63 (2H; t; 5,1 Hz) 5,06 (1H, sl)	3392 i, 3312 i, 3314 i, 1689 i, 1634 i

O próton ligado a C-2 apresenta-se na forma de singlete estreito entre δ 7,19 e 7,46 ppm e o grupo 5-NH₂ surge como singlete a integrar para dois prótons de δ 5,22 a 5,29 ppm. As ligeiras variações nos sinais atribuídos aos prótons NH devem-se à possibilidade de diferentes formas tautoméricas.

O grupo carbonilo é facilmente detetado no espectro de IV com bandas intensas entre 1689 e 1715 cm⁻¹.

Os resultados da análise do espectro de ^{13}C RMN são apresentados na tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Dados de ^{13}C RMN dos imidazolil triazoles **2.1.1** (DMSO- d_6)

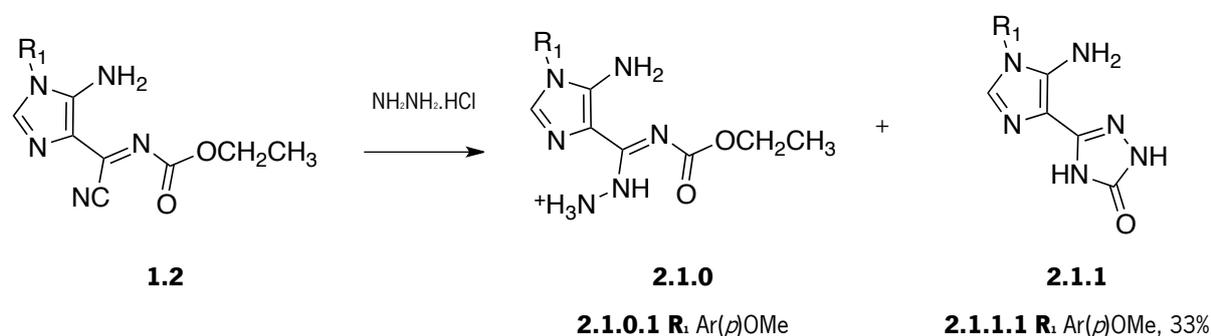
Produto	R ₁	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	R ₁
2.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	131,01	108,10	137,91	144,32	155,66	159,00 (C _p); 114,97 (C _m) 126,36 (C _d); 127,34 (C _l) 55,53 (OMe)
2.1.1.2	Ar(<i>p</i>)F	131,00	108,43	137,74	144,23	155,64	160,21 (d; 242,0 Hz) (C _p), 116,53 (d; 17,1 Hz) (C _m), 127,05 (d; 6,5 Hz) (C _d), 130,90 (d; 1,2 Hz) (C _l)

Produto	R ₁	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	R ₁
2.1.1.3	CH ₂ CH ₂ OH	131,50	107,64	138,21	144,65	155,78	59,92 (CH ₂ O) 45,66 (CH ₂ N)

Na tabela 2.4 nota-se um padrão reprodutível entre os sinais obtidos para as três espécies isoladas. Os sinais mostram-se consistentes entre si e são característicos de estruturas de imidazole. Para além disso, as correlações obtidas permitiram propor com segurança a estrutura proposta para o triazole **2.1.1**. Com base nos espectros de HMBC foi possível confirmar que o C-2 apresenta sinais entre δ 131 e 132 ppm, o C-4 surge por volta dos δ 108 ppm, o C-5 por volta dos δ 138 ppm e o C-6 entre δ 144 e 145 ppm. Para o carbono do grupo carbonilo registam-se sinais por volta de δ 156 ppm.

2.1.2. Isolamento do intermediário na síntese do imidazolil triazole

Nas reações testadas com o sal de cloreto de hidrazina, a condensação foi mais lenta e foi isolado um intermediário que foi caracterizado e identificado como **2.1.0** (esquema 2.3).



Esquema 2.3 – Síntese de imidazolil triazoles **2.1.1.1** e respetivo intermediário **2.1.0.1**

Apesar das condições descritas na tabela 2.5 mostrarem reações demoradas e de baixo rendimento, esta abordagem foi importante porque permitiu desvendar o mecanismo reacional envolvido na síntese do triazole **2.1.1**.

Tabela 2.5 - Condições experimentais para a síntese do imidazolil triazole **2.1.1** e do respetivo intermediário **2.1.0**

Entrada	R _i	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η ^{a)} (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	0,38	0,47	EtOH/H ₂ O (3,0 mL:0,5 mL), 0°C, 1 h, ta, 2 dias	2.1.0.1 (66%) + 2.1.1.1 (34%)	3
2	Ar(<i>p</i>)OMe	0,35	0,88	DCM/H ₂ O (7,0 mL:1,0 mL), ta, 13 dias;	1.2.1 (67%) + 2.1.0.1 (33%)	-
3	Ar(<i>p</i>)OMe	0,31	0,75	DMF/H ₂ O (2,0 mL:0,5 mL), 0°C, 2 dias, ta, 5 dias	2.1.0.1 (52%) + 2.1.1.1 (48%)	6
4	Ar(<i>p</i>)OMe	0,45	0,88	DMF/H ₂ O (0,6 mL:0,6 mL), 21°C, 7 dias	2.1.0.1 (39%) + 2.1.1.1 (61%)	2
5	Ar(<i>p</i>)OMe	1,05	1,17	i) EtOH/H ₂ O (4,0 mL:1,0 mL), 30-40°C, 3 dias (1F) ii) Solução-mãe, EtOH (10,0 mL), Et ₃ N (2 eq), 40°C, 9 dias (2F)	2.1.0.1 (77%) + 2.1.1.1 (23%) (1F) 2.1.1.1 (2F)	33
6	Ar(<i>p</i>)OMe	0,48	0,58	MeOH (2,0 mL), ta, 3 dias	2.1.0.1 (79%) + 2.1.1.1 (21%)	6

a) Rendimento calculado com base na quantidade de produto 2.1.1 obtido

Na tentativa de encontrar o melhor solvente para esta reação avaliou-se a solubilidade da hidrazina na forma de sal, NH₂NH₂.HCl, e percebeu-se que este sólido apenas se dissolve totalmente em água, que é pouco solúvel em EtOH, MeOH ou DMF e que é praticamente insolúvel em DCM. Uma vez que o imidazole de partida não é solúvel em água, recorre-se à utilização de misturas de água com diferentes solventes. As reações mostraram-se lentas e foram isoladas misturas compostas pelo imidazolil triazole **2.1.1** e por um outro produto ao qual foi atribuída a estrutura **2.1.0**. A análise da mistura obtida por ¹H RMN demonstrou que a proporção de imidazolil triazole na mistura isolada foi maior nos ensaios em que foi utilizada uma maior quantidade de água (entrada 4). Quando foram utilizadas misturas de água e etanol, ou apenas metanol, o intermediário **2.1.0** apresentou-se como o componente maioritário da mistura isolada. Na entrada 4, a presença de mais água na mistura reacional poderá estar a favorecer o equilíbrio dos sais de amónio com as correspondentes formas neutras de **2.1.1**, e, conseqüentemente, levar à formação de maior quantidade de triazole.

Na entrada 2 descreve-se uma reação que aconteceu em duas fases. Da fase orgânica apenas se recolheu reagente de partida e da fase aquosa recolheu-se uma mistura de reagente de partida e de

intermediário. Neste ensaio, a reduzida solubilidade do $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$ na mistura impediu a reação de se completar. No entanto, apesar do reagente de partida **1.2** ser muito pouco solúvel em água, ainda foi possível isolar uma pequena porção de intermediário **2.1.0.1**.

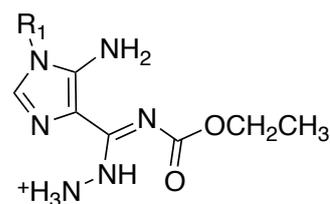
Na entrada 5, após isolamento da primeira fração por filtração, procedeu-se à adição de 2 equivalentes de Et_3N à solução-mãe, a qual deveria conter intermediário e o imidazolil triazole que não foram isolados na primeira fração. Com base neste teste, pode inferir-se que o facto de apenas se ter isolado triazole na segunda fração é uma prova de que a base neutralizou o intermediário, permitindo o ataque nucleofílico ao grupo carbonilo e respetiva ciclização intramolecular. Esta hipótese foi comprovada fazendo a adição de DBU à mistura sólida obtida na primeira fração desta reação, uma vez que conduziu à conversão do intermediário em imidazolil triazole.

Na entrada 6 a reação aconteceu unicamente em MeOH que, apesar de pouco dissolver a hidrazina, permitiu a ocorrência da substituição do grupo ciano, não se obtendo, no entanto, uma proporção significativa de triazole.

2.1.2.1. Caracterização do intermediário do imidazolil triazole **2.1.0**

A partir das misturas de intermediário e imidazolil triazole que foram obtidas, foi possível caracterizar por ^1H RMN e ^{13}C RMN a estrutura **2.1.0.1**, assim como a estrutura obtida por posterior ciclização intramolecular, o imidazolil triazole **2.1.1.1**.

Tabela 2.6 - Dados de ^1H RMN e IV do intermediário **2.1.0** (DMSO- d_6)



Prod.	R ₁	H-2	NH ₂	NH	OCH ₂ CH ₃	R ₁	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.1.0.1	Ar(<i>p</i>)OMe	7,26 (1H, s)	5,95 (2H, s)	8,94 (1H, s)	4,00 (2H; q; 7,2 Hz) 1,15 (3H; t; 7,2 Hz)	7,42 (2H; d; 8,7 Hz) 7,12 (2H; d; 9,0 Hz) 3,82 (3H; s; OMe)	a)

a) a amostra corresponde a uma mistura

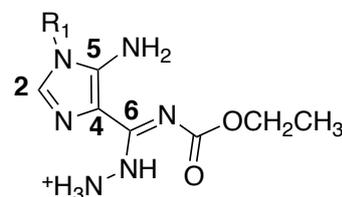
Uma vez que o imidazolil triazole **2.1.1.1** foi isolado puro por um outro método, os seus dados de caracterização por RMN permitiram identificar nestas misturas os sinais pertencentes à estrutura de triazole e foi fácil reconhecer os sinais de ^1H e de ^{13}C RMN referentes à estrutura **2.1.0.1**. Por se tratar de uma mistura, o intermediário **2.1.0.1** não foi caracterizado por IV, AE ou pf.

Os dados da tabela 2.6 traduzem os sinais característicos de um imidazole, com um sinal do protão H-2 a surgir como singleto a δ 7,26 ppm. Identifica-se outro singleto, que também integra para um protão, a δ 8,94 ppm atribuído a um protão NH que deve estar ligado por pontes de hidrogénio ao átomo de oxigénio do grupo carbonilo. Observa-se ainda um terceiro singleto, a δ 5,94 ppm, que integra para dois protões, tendo sido atribuído ao grupo 5-NH₂. Os sinais do grupo etoxilo que evidenciam a presença de uma espécie anterior à ciclização, surgem na forma de um quarteto que integra para dois protões a δ 4,00 ppm e de um tripleto que integra para três protões a δ 1,15 ppm, atribuídos aos sinais de CH₂ e CH₃, respetivamente. O substituinte em N-1 surge na forma de dois dupletos para os protões aromáticos a δ 7,42 e 7,12 ppm e de um singleto a δ 3,82 ppm que integra para três protões, correspondentes ao grupo metoxilo em posição *para*. Os restantes protões NH, por serem muito acídicos, não são visíveis no espetro.

Na tabela 2.7 são apresentados os desvios químicos resultantes da análise do espetro de ^{13}C RMN e respetivas correlações.

Tabela 2.7 - Dados de ^{13}C RMN do intermediário

2.1.0 (DMSO-*d*₆)

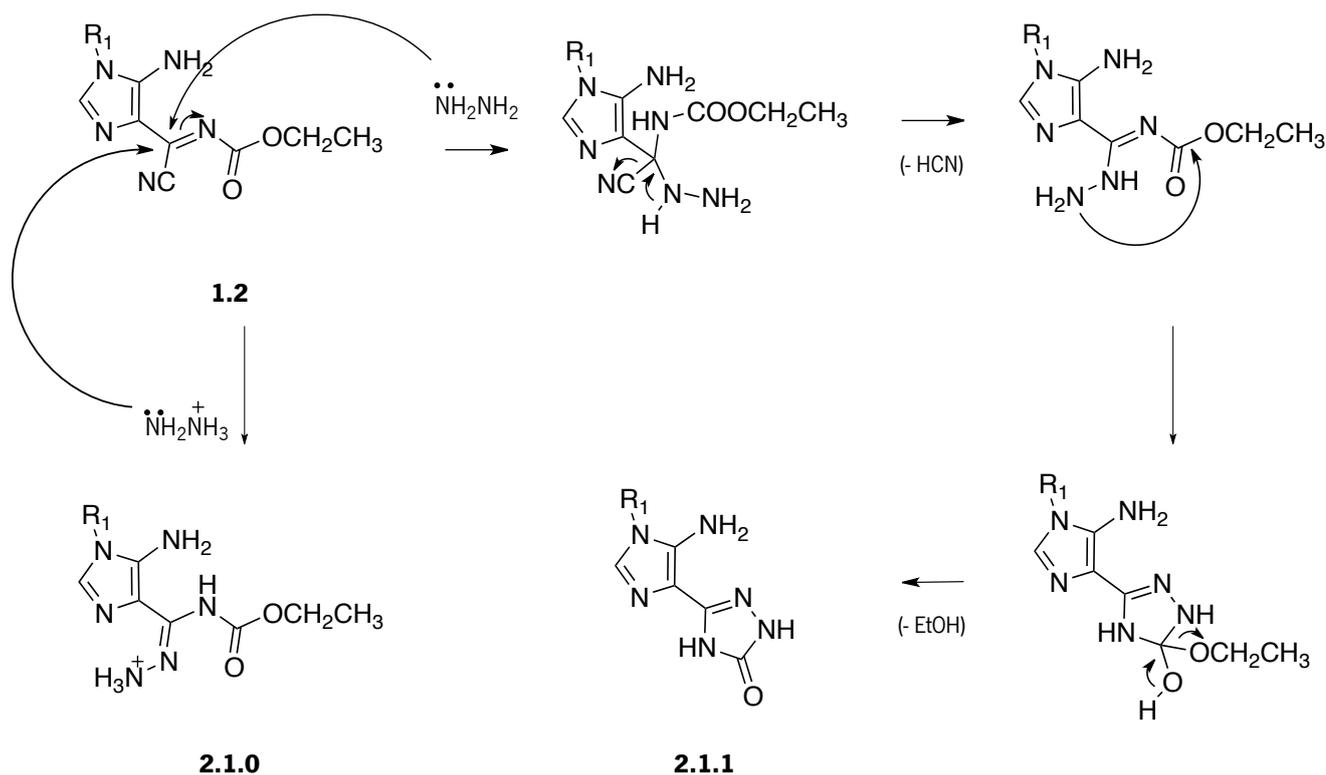


Prod.	R _i	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	OCH ₂ CH ₃	R _i
2.1.0.1	Ar(<i>p</i>)OMe	130,09	114,03	141,07	160,86	153,21	60,29 14,44	158,9 (C <i>p</i>); 114,9 (C <i>m</i>) 127,6 (C <i>d</i>); 127,3 (C <i>j</i>) 55,5 (OMe)

Os sinais dos carbonos que constituem o anel de imidazole C-2, C-4 e C-5, surgem a δ 131 ppm, δ 114 ppm e δ 141 ppm, respetivamente. O carbono 6 surge a δ 161 ppm e o carbono do grupo carbonilo a δ 153 ppm.

2.1.2.2 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil triazole **2.1.1**

Os testes efetuados nas reações entre o *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** e a hidrazina na forma de sal foram fundamentais no entendimento da reatividade destas estruturas. O facto de ter sido possível criar condições que permitiram o isolamento e a identificação do intermediário **2.1.0** contribuíram para a construção da proposta de mecanismo que está subjacente à síntese dos triazoles **2.1.1**.



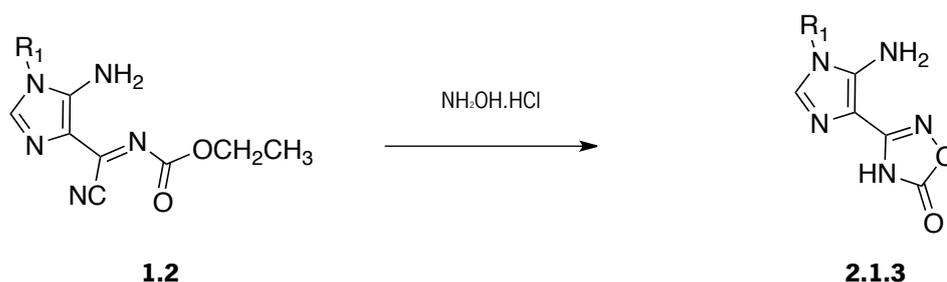
Esquema 2.4 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil triazoles **2.1.1**

Assim, no esquema 2.4 propõe-se um mecanismo para esta reação que começa com o ataque nucleofílico da hidrazina ao grupo ciano e é seguida de libertação de cianeto de hidrogénio. A ciclização intramolecular acontece posteriormente, mas apenas quando a espécie intermediária se encontra na forma neutra. Uma evidência relevante para sustentar esta hipótese foi obtida quando se repetiu o espetro de ^1H RMN de uma mistura de intermediário **2.1.0.1** (66%) e imidazolil triazole **2.1.1.1** (34%) após 10 dias e depois, novamente, após 1 mês, pois verificou-se que a proporção entre intermediário e imidazolil triazole se manteve constante. Assim, presume-se que a ciclização intramolecular só acontece quando o intermediário **2.1.0** é neutralizado. A ciclização ocorre por ataque nucleofílico do grupo amino

livre da hidrazina ao carbono carbonílico, com formação de um intermediário tetraédrico que evolui para **2.1.1** por eliminação de etanol.

2.1.3 Síntese de imidazolil oxadiazoles

A reatividade do cloreto de hidroxilamónio com o imidazole **1.2** foi avaliada e testada no sentido de se confirmar a possibilidade de substituição do grupo ciano, com posterior ciclização intramolecular, à semelhança da reatividade demonstrada pela hidrazina.



2.1.3.1 R₁: Ar(*p*)OMe, 100%

2.1.3.2 R₁: Ar(*p*)F, 92%

2.1.3.3 R₁: CH₂CH₂OH, 54%

Esquema 2.5 – Síntese de imidazolil oxadiazoles **2.1.3.1** a **2.1.3.4**

Para o efeito, combinaram-se os imidazole **1.2** com NH₂OH.HCl na presença de base. As condições em que decorreram estas reações apresentam-se resumidas na tabela 2.8.

Tabela 2.8 - Condições experimentais para a síntese dos imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

Entrada	R ₁	mmol RP	mmol hidroxilamina	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	0,35	1,29	DCM (3,0 mL), KOH (1M, 1,0 eq), ta, 3 dias, H ₂ O e DCM antes da filtração	2.1.3.1	11
2	Ar(<i>p</i>)OMe	0,35	1,15	DCM (7,0 mL), KOH (1M, 3,2 eq), H ₂ O (0,5 mL), ta, 3 dias	2.1.3.1	83
3	Ar(<i>p</i>)OMe	1,85	5,76	DCM (18,0 mL), KOH (1M, 3,1 eq), ta, 2 dias	2.1.3.1	100

Entrada	R_i	mmol RP	mmol hidroxilamina	Condições	Produto	η (%)
4	Ar(<i>p</i>)OMe	0,35	1,15	H ₂ O (2,0 mL), EtOH (1,0 mL), KOH (1M, 3,3 eq), ta, 6 dias	2.1.3.1	74
5	Ar(<i>p</i>)OMe	0,48	1,44	ACN (3,0 mL), Et ₃ N (4,1 eq), ta, 18 h	2.1.3.1	90
6	Ar(<i>p</i>)F	0,76	1,58	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (2,3 eq), ta, 1 dia e 17 h	2.1.3.2 (2F - sal)	45
7	Ar(<i>p</i>)F	0,66	1,73	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 3 dias	2.1.3.2	70
8	Ar(<i>p</i>)F	0,83	2,01	EtOH (3,5 mL), Et ₃ N (3,1 eq), ta, 19 h	2.1.3.2	51
9	Ar(<i>p</i>)F	0,79	1,73	ACN (2,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 1 dia e 18 h	2.1.3.2	92
10	Ar(<i>p</i>)F	0,76	1,15	ACN (3,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 22 h	2.1.3.2	50
11	Ar(<i>p</i>)F	1,23	2,45	ACN (2,0 mL), Et ₃ N (3,1 eq), ta, 3 dias	2.1.3.2	63
12	CH ₂ CH ₂ OH	0,26	0,29	ACN (5,0 mL), Et ₃ N (1,1 eq), ta, 3 dias	2.1.3.3	54

Uma vez que a hidroxilamina é utilizada na sua forma de sal, foi necessário selecionar a base e criar condições para que a reação tivesse lugar. As reações descritas nas entradas de 1 a 3 aconteceram em duas fases, uma vez que foi utilizada solução aquosa de KOH 1M e o solvente utilizado foi o DCM. Apesar do produto obtido ser insolúvel em água, as reações que decorreram nestas condições foram demoradas. Possivelmente, o tempo de reação estava condicionado pela baixa solubilidade do imidazole de partida em água. No entanto, o rendimento obtido para estas condições melhorou à medida que se foi aumentando o número de equivalentes de hidroxilamina e de base e foi possível isolar o produto com um rendimento de 100% (entrada 3).

As condições testadas na entrada 4, que envolveram a utilização de uma mistura de H₂O e EtOH como solventes, não resolveram a questão do tempo, tendo a reação demorado seis dias a acontecer. Novamente, o facto de o imidazole de partida ser insolúvel em água pode ter determinado um tempo acima do esperado para a reação. No entanto, a pequena porção de EtOH adicionado contribuiu para que a reação acontecesse, mas com menor rendimento, uma vez que o produto é parcialmente solúvel neste solvente.

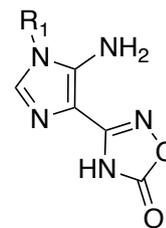
As condições descritas na entrada 5 correspondem a uma otimização dos resultados anteriores, com a reação a acontecer em apenas dezoito horas e com bom rendimento. O uso de ACN como solvente, no qual o reagente de partida é apenas parcialmente solúvel e que faz precipitar o produto, foi determinante, assim como a utilização de uma base orgânica, a Et₃N.

No estudo da reatividade da hidroxilamina com o imidazole substituído em N-1 com o grupo aromático Ar(*p*)F manteve-se a mesma abordagem. Os diferentes valores obtidos para o rendimento das diferentes reações devem estar relacionados com a lavagem efetuada ao sólido recolhido. A preocupação em dissolver o cloreto de trietilamónio formado levou à utilização de solventes de lavagem mais polares, tal como o EtOH, que solubilizou parte do oxadiazole. Na entrada 8 foi avaliada a possibilidade de utilizar o EtOH como solvente, de forma a manter o sal de trietilamónio em solução, e também porque se trata de um solvente mais inócuo do que o ACN. No entanto, houve evidências de que a escolha do ACN permite a obtenção de melhores resultados, o que pode dever-se ao facto de o produto ser mais solúvel em EtOH. A avaliação das condições experimentais para obtenção do imidazolil oxadiazole **2.1.3.3** (R_i=CH₂CH₂OH) apresentou problemas adicionais pelo facto do produto ser muito solúvel. Verificou-se, em particular, uma dificuldade acrescida na lavagem do sólido recolhido, uma vez que não foi fácil encontrar o solvente ideal para a solubilização seletiva do sal. Partiu-se para a tentativa de utilização de um menor número de equivalentes de base em relação aos utilizados nas reações com outros substituintes (entrada 12), no sentido de minimizar os problemas criados na lavagem dos sólidos recolhidos, mas esta alteração condicionou o rendimento obtido.

2.1.3.1 Caracterização dos imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

A obtenção de oxadiazoles **2.1.3** puros permitiu caracterizar e identificar os compostos isolados. Da tabela 2.9 constam os dados físicos e analíticos obtidos para as moléculas sintetizadas. Apenas o composto **2.1.3.1** fundiu sem apresentar sinais de degradação. Os restantes oxadiazoles escurecem e degradam antes de ser possível observar a mudança de estado físico.

Tabela 2.9 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

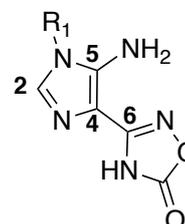


Prod.	R ₁	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
2.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe	261-264	C ₁₂ H ₁₁ N ₅ O ₃	52,85; 4,13; 25,57 (52,75; 4,06; 25,63)
2.1.3.2	Ar(<i>p</i>)F	> 254 ^{a)}	C ₁₁ H ₈ N ₅ FO ₂	c)
2.1.3.3	CH ₂ CH ₂ OH	> 199 ^{a)}	C ₇ H ₈ N ₅ O ₃	212,0789 ^{b)} (212,0784)

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺; c) AE pendente (aparelho em manutenção)

A tabela 2.10 evidencia um padrão de dados espectroscópicos que fundamenta a atribuição das estruturas propostas.

Tabela 2.10 - Dados de ¹H RMN e IV dos imidazolil oxadiazoles **2.1.3** (DMSO-*d*₆)



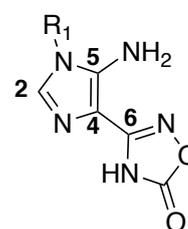
Prod.	R ₁	H-2	NH ₂	NH	R ₁	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe	7,49 (1H, s)	5,46 (2H, s)	13,0-10,0 (1H, sl)	7,42 (2H; d; 8,7 Hz) 7,11 (2H; d; 9,0 Hz) 3,81 (3H; s; OMe)	3414 f, 3317 f, 3128 f, 1787 i, 1633 m, 1619 m, 1605 m, 1576 f, 1524 m, 1509 f
2.1.3.2	Ar(<i>p</i>)F	7,54 (1H, s)	5,56 (2H, s)	13,0-10,5 (1H, sl)	7,56 (2H; dd; <i>J</i> _F =9,0 Hz; <i>J</i> _H = 4,8 Hz H _o) 7,41 (2H; t; 8,7 Hz H _m)	3419 m, 3324 i, 3124 i, 2763 m, 1796 i, 1727 f, 1635 i, 1615 i, 1604 i, 1519 i, 1507 i
2.1.3.3	CH ₂ CH ₂ OH	7,28 (1H, s)	5,59 (2H, s)	10,40 (1H, sl)	3,90 (2H; t; 5,4 Hz) 3,62 (2H; t; 5,4 Hz) 5,06 (1H, sl)	3446 i, 3357 i, 3196 f, 3114 m, 2727 m, 1743 i, 1638 i, 1604 i, 1581 m, 1518 f

O próton ligado a C-2 surge como sinal característico do anel de imidazole, entre δ 7,28 e 7,54 ppm, na forma de singleto com integração correspondente a um próton. O grupo 5-NH₂ também apresenta sinais muito parecidos para as quatro estruturas e foi identificado pela integração para dois prótons de um singleto entre δ 5,46 e 5,56 ppm. Para o próton NH do anel de oxadiazole o sinal é largo, comprovando a possibilidade de diferentes formas tautoméricas. Os sinais registados para os substituintes em N-1 são concordantes em desvios químicos e integração com os prótons que os constituem.

É possível complementar esta informação com os dados obtidos através da análise de ¹³C RMN e respetivas correlações.

Tabela 2.11 - Dados de ¹³C RMN dos imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

(DMSO-*d*₆)



Produto	R ₁	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	R ₁
2.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe	132,66	103,15	140,73	155,33	159,54	159,30 (C _p), 114,96 (C _m) 126,78(C _d), 126,75 (C _l) 55,56 (OMe)
2.1.3.2	Ar(<i>p</i>)F	132,50	103,58	140,60	155,54	159,90	161,75 (d; 244,0 Hz) (C _p), 116,67 (d; 22,9 Hz) (C _m), 127,68 (d; 8,9 Hz) (C _d), 130,49 (d; 2,6 Hz) (C _l)
2.1.3.3	CH ₂ CH ₂ OH	132,06	102,69	140,99	155,40	159,57	59,55 (CH ₂ O) 45,67 (CH ₂ N)

O sinal relativo ao carbono C-2 do anel de imidazole encontra-se entre δ 132 - 133 ppm para as estruturas caracterizadas. Ainda no anel de imidazole é possível identificar C-5 e C-4 nos intervalos de δ 102 - 104 ppm e por volta de δ 141 ppm, respetivamente. O carbono do anel de oxadiazole ligado ao imidazole apresenta desvios químicos por volta de δ 155 ppm e o carbono do grupo carbonilo surge por volta de δ 159 ppm. Os sinais registados foram atribuídos aos carbonos respetivos, por intermédio das correlações registadas na figura 2.1.

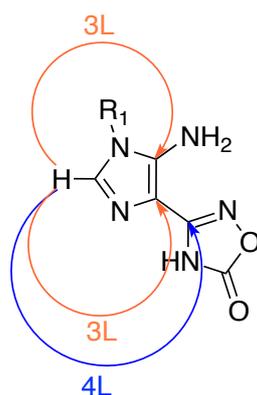
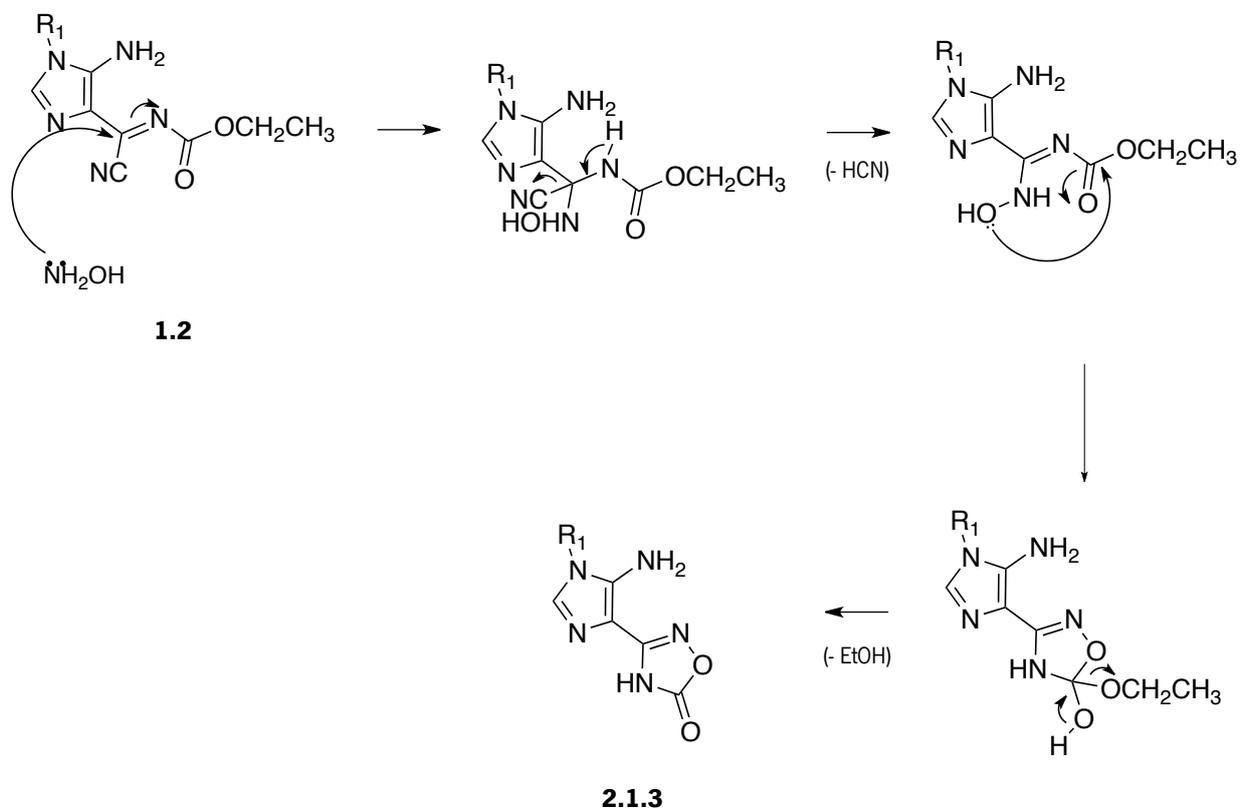


Figura 2.1 – Correlações registadas em HMBC para as estruturas **2.1.3**

2.1.3.2 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil oxadiazole **2.1.3**

A reação entre o imidazole **1.2** e a hidroxilamina é equivalente à reação entre o mesmo reagente de partida e a hidrazina. Após identificação da estrutura do produto fundamentada com os dados da caracterização, é possível desenhar o mecanismo envolvido na sua obtenção (esquema 2.6).

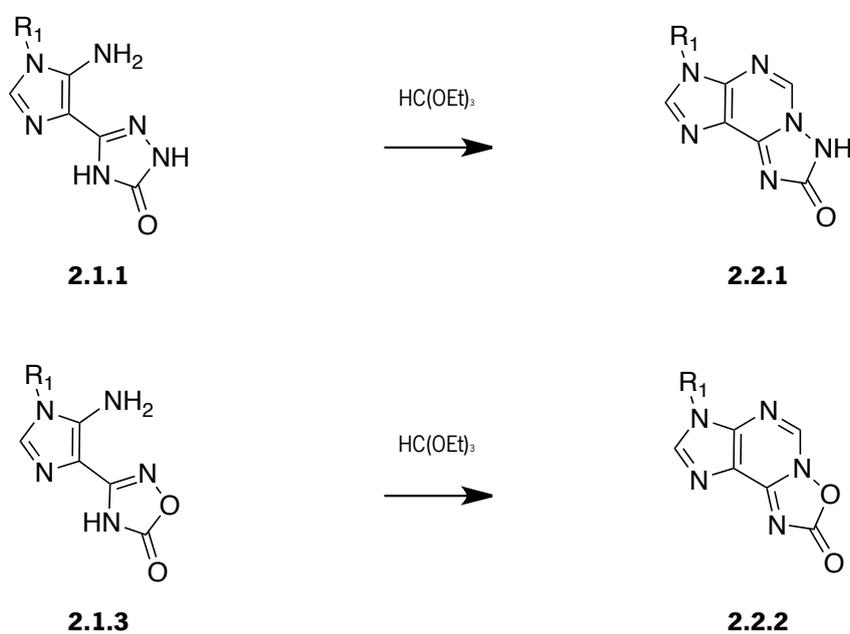


Esquema 2.6 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil oxadiazoles **2.1.3**

O esquema reproduz o mecanismo proposto para a obtenção de imidazolil triazoles, uma vez que a reatividade apresentada é semelhante. Assim, o grupo ciano é substituído gerando um intermediário que sofre a ciclização intramolecular com liberação de etanol.

2.2 Reação de imidazolil triazoles e de imidazolil oxadiazoles com ortoformiato de etilo

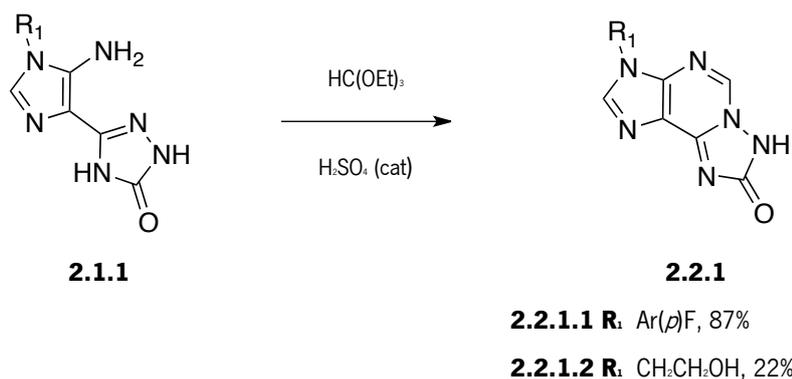
A formação de estruturas com três anéis fundidos foi testada através da condensação dos triazoles e dos oxadiazoles com ortoformiato de etilo (TEOF). Assim, a síntese destas estruturas foi estudada a partir dos triazoles **2.1.1** e dos oxadiazoles **2.1.3** (esquema 2.7).



Esquema 2.7 - Síntese de estruturas tricíclicas **2.2.1** e **2.2.2**

2.2.1 Síntese de triazolopurinas

A síntese de sistemas de triazolopurinas foi avaliada utilizando as condições necessárias para que ocorresse a condensação do grupo amino dos imidazolil triazoles **2.1.1** com o TEOF.



Esquema 2.8 – Síntese de triazolopurinas **2.2.1.1** e **2.2.1.2**

A escolha das melhores condições para a síntese destes heterociclos, registadas na tabela 2.12, foi feita tendo como ponto de partida trabalho anteriormente desenvolvido no grupo de investigação no qual os trabalhos decorreram.

Tabela 2.12 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas **2.2.1**

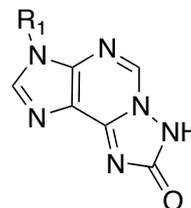
Entrada	R:	mmol RP	mmol HC(OEt) ₃	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)F	0,38	2,30	ACN (3,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 45 min	2.2.1.1	87
2	CH ₂ CH ₂ OH	0,23	1,42	ACN (2,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 1 d	2.2.1.2	22

Na entrada 1 foi possível a obtenção do produto **2.2.1.1** com um bom rendimento e num curto intervalo de tempo. Nesta reação verificou-se que quando os reagentes foram combinados na presença de H₂SO₄, a mistura reacional passa por solução, dando lugar a uma grande quantidade de sólido suspenso. Na entrada 2, a mistura reacional também passa por solução, mas o sólido só precipita após um dia de reação e em quantidades muito reduzidas. Este resultado pode ser justificado pelo facto deste produto ser muito solúvel devido à presença do substituinte 2-hidroxietilo e esse fator condiciona o rendimento obtido.

2.2.1.1 Caracterização das triazolopurinas **2.2.1**

Os compostos **2.2.1.1** e **2.2.1.2** foram isolados e identificados por diferentes técnicas analíticas e espectroscópicas, comprovando a estrutura proposta.

Tabela 2.13 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas **2.2.1**

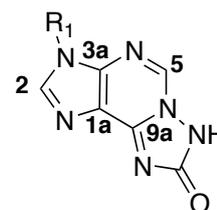


Produto	R _i	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores (calculados) C; H; N (%)	obtidos
2.2.1.1	Ar(<i>p</i>)F	>236 ^{a)}	C ₁₂ H ₇ N ₆ O	271,0743 ^{b)} (271,0744)	
2.2.1.2	CH ₂ CH ₂ OH	>230 ^{a)}	C ₈ H ₆ N ₆ O ₂	221,0782 ^{b)} (221,0787)	

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺

Os compostos isolados degradam antes de mudarem de estado físico e apresentam uma análise elementar condizente com a fórmula química correspondente. Os dados obtidos por ¹H RMN estão registados na tabela 2.14.

Tabela 2.14 - Dados de ¹H RMN e IV das triazolopurinas **2.2.1** (DMSO-*d*₆)

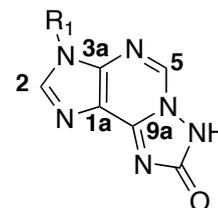


Prod.	R _i	H-2	NH	H-5	R _i	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.2.1.1	Ar(<i>p</i>)F	8,59 (1H, s)	12,50 (1H, s)	8,65 (1H, s)	7,81 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,7 Hz <i>H_a</i>) 7,47 (2H; t; 8,9 Hz; <i>H_m</i>)	3189 m 3062 m 1750 i, 1736 i, 1729 i, 1697 f, 1677 m, 1656 i, 1561 f, 1517 i
2.2.1.2	CH ₂ CH ₂ OH	8,17 (1H, s)	12,30 (1H, s)	8,61 (1H, s)	4,26 (2H; t; 5,4 Hz) 3,74 (2H; t; 5,4 Hz) 5,06 (1H, sl)	3211 i, 2081 f, 1732 i, 1699 i, 1656 i, 1556 m, 1509 m

As diferenças verificadas nos sinais referentes ao próton ligado a C-2 do anel de imidazole, δ 8,17 – 8,59 ppm, estão relacionadas com o substituinte presente em N-1. Assim, nota-se o efeito retirador do anel substituído na posição *para* pelo flúor. Deteta-se ainda o sinal de um próton muito ácido a δ 12,30 – 12,50 ppm, correspondente ao próton NH do anel de triazole que se encontra muito desprotegido. No espetro de IV destaca-se o sinal forte, característico do grupo carbonilo, entre 1729 e 1732 cm^{-1} .

Na tabela 2.15 estão os registos obtidos para os dados espectroscópicos de ^{13}C RMN.

Tabela 2.15 - Dados de ^{13}C RMN das triazolopurinas **2.2.1** ($\text{DMSO}-d_6$)

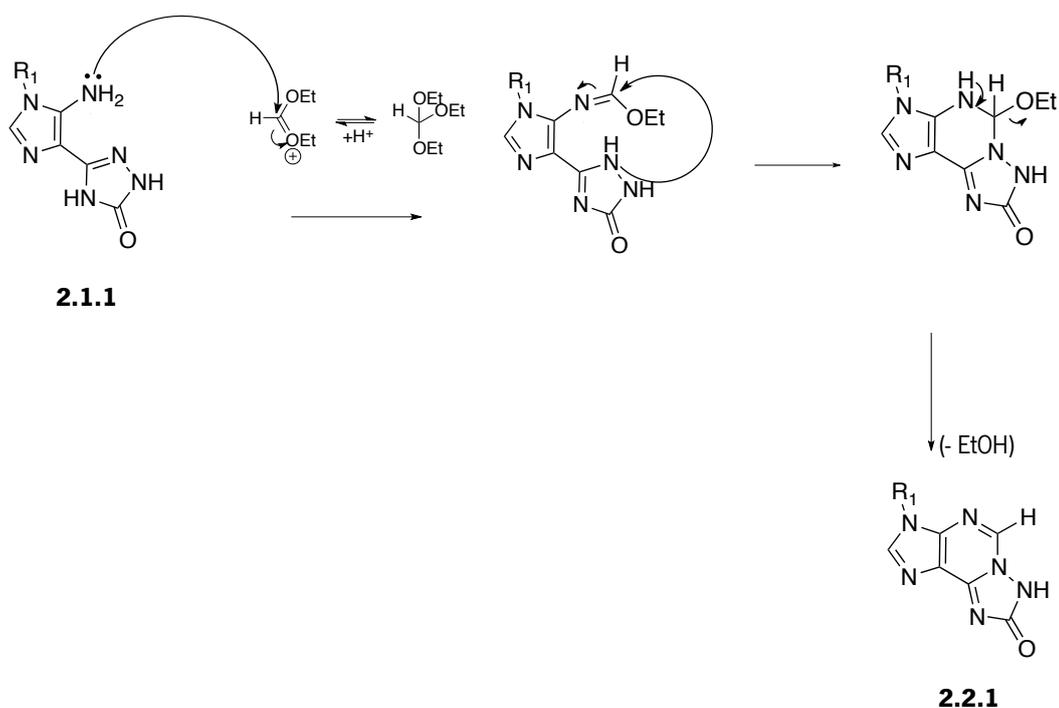


Prod.	R ₁	C-2	C-3a	C-1a	C-9a	C-5	C=O	R ¹
2.2.1.1	Ar(<i>p</i>)F	140,48	140,06	119,90	137,72	137,12	149,12	161,59 (d; 244,28 Hz) (C <i>p</i>) 116,49 (d; 22,28 Hz) (C <i>m</i>) 126,57 (d; 8,9 Hz) (C <i>o</i>) 130,58 (d; 2,6 Hz) (C <i>l</i>)
2.2.1.2	CH ₂ CH ₂ OH	141,49	140,15	118,93	137,97	136,21	149,15	59,50 (CH ₂ O) 46,46 (CH ₂ N)

Através da comparação entre os dados observados e dados de referência foi possível confirmar as estruturas propostas. As correlações observadas permitiram fazer as atribuições, sendo que os sinais entre δ 140 - 141 ppm correspondem a C-2, C-3a encontra-se por volta de δ 140 ppm, C-1a entre δ 119 - 120 ppm e C-9a e C-5 são detetados entre δ 136 - 138 ppm, respetivamente. O grupo carbonilo apresenta um sinal característico a δ 149 ppm para as duas estruturas identificadas.

2.2.1.2 Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **2.2.1**

A síntese das estruturas tricíclicas **2.2.1** resulta da condensação do grupo amino dos triazoles com TEOF, de acordo com a proposta apresentada no esquema 2.9.

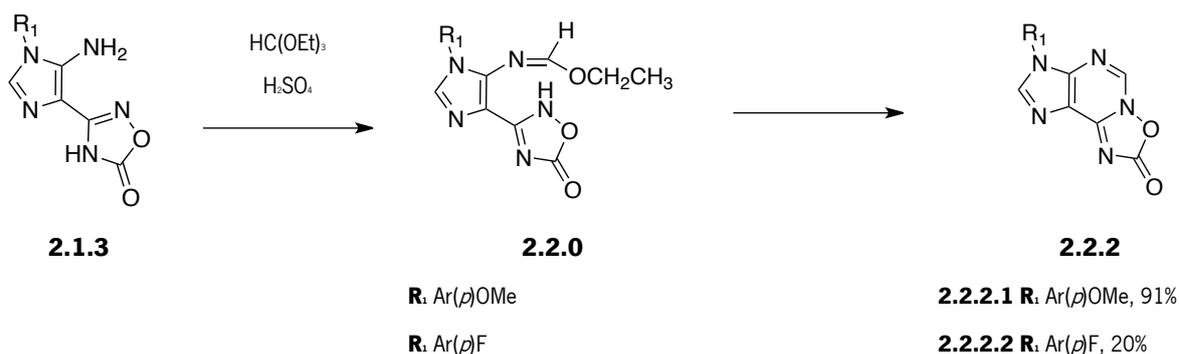


Esquema 2.9 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **2.2.1**

Nesta proposta sugere-se que a reação tenha início com o ataque nucleofílico do azoto ligado à posição 5 do anel de imidazole ao TEOF. De seguida, o grupo imidato do intermediário formado permite a ciclização intramolecular com libertação de etanol. A catálise ácida ativa o TEOF, facilitando o ataque nucleofílico do grupo amina. Para além disso, também favorece a ciclização intramolecular, facilitando a eliminação de etanol. As espécies que se vão formando até à estrutura tricíclica são detetadas por TLC.

2.2.2 Síntese de oxadiazolopurinas e respetivo intermediário

Reproduzindo a estratégia sintética para a obtenção das estruturas tricíclicas **2.2.1**, foi avaliada a possibilidade de produzir oxadiazolopurinas através do mesmo método, promovendo a condensação do átomo de nitrogénio da unidade de imidazole com TEOF através da catálise com H_2SO_4 . Neste percurso de síntese foi possível identificar as estruturas intermédias **2.2.0** (esquema 2.10).



Esquema 2.10 – Síntese de oxadiazolopurinas **2.2.2.1** e **2.2.2.2**

Apesar de se ter verificado a formação da oxadiazolopurina nos primeiros ensaios, a solubilidade do reagente de partida condicionou a eficácia da síntese.

Na entrada 1 descrita na tabela 2.16 partiu-se do oxadiazole **2.1.3** ($R_1 = \text{Ar}(p)\text{OMe}$) e utilizaram-se condições reacionais equivalentes às utilizadas para a síntese dos triciclos **2.2.1**. Uma vez que a monitorização da reação por TLC não foi muito fácil, a reação foi interrompida antes de todo o reagente de partida se esgotar e obteve-se uma mistura de reagente de partida com produto. Na preparação do TLC foi necessário solubilizar a mistura reacional com DMF, o que condicionou a interpretação do mesmo.

Tabela 2.16 - Condições experimentais para a síntese dos oxadiazolopurinas **2.2.2** e respetivo intermediário **2.2.0**

Entrada	R ₁	mmol RP	mmol HC(OEt) ₃	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	0,37	1,48	ACN (5,0 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 4 dias	2.1.3.1 (1F) 2.1.3.1 e 2.2.2.1 (2F)	19
2	Ar(<i>p</i>)OMe	0,88	7,02	ACN (10,0 mL), DMF (0,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 16 dias, 40° C, 6 dias	2.2.0.1 (1F) 2.2.0.1 e 2.2.2.1 (2F) 2.2.2.1 (3F) 2.2.2.1 e 2.2.0.1 (4F)	40
3	Ar(<i>p</i>)OMe	0,70	4,12	ACN (10,0 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 21 d	2.2.2.1	91
4	Ar(<i>p</i>)F	0,38	2,43	ACN (2,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 4 d	2.2.0.2	20
5	Ar(<i>p</i>)F	0,42	6,62	ACN (2,0 mL), DMF (0,5 mL), H ₂ SO ₄ (2 gotas), refluxo, 7 dias	2.2.2.2	17
6	Ar(<i>p</i>)F	0,38	3,04	ACN (2,0 mL), DMF (0,6 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), refluxo, 3 d; DBU (catálise, 0,005 mL), refluxo, 6 h	2.2.2.2	a)

a) Sólido recolhido suficiente para ¹H RMN

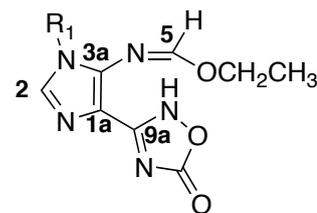
Na tentativa de promover a solubilidade do reagente de partida adicionou-se uma pequena porção de DMF à reação descrita na entrada 2. Os sólidos isolados nas diferentes frações não revelaram a presença de reagente de partida, no entanto, permitiram isolar um composto que foi identificado como um intermediário. Apesar da possibilidade de isolar um intermediário, estas condições não corresponderam às expectativas. Tendo como objetivo diminuir o tempo de reação, colocou-se a mistura reacional num banho a 40°C e este aumento de temperatura fez com que a mistura reacional começasse a apresentar alguns sinais de degradação. As melhores condições foram conseguidas quando se manteve a mistura reacional à temperatura ambiente tempo suficiente para que a ciclização intramolecular completasse, registando-se um rendimento de 90% (entrada 3).

Reproduziram-se as condições para outro imidazolil oxadiazole ($R_1 = Ar(p)F$). Os tempos de reação para a obtenção das estruturas **2.2.2.2** foram mais curtos, no entanto, foi necessário recorrer a temperaturas mais elevadas, uma vez que à temperatura ambiente (entrada 4) apenas foi possível recolher o composto intermediário. Com este reagente de partida também foi necessário recorrer à DMF para promover a solubilidade, mas, ainda assim, e mesmo com as temperaturas mais altas, o rendimento de obtenção de produto **2.2.2.2** foi baixo. Esta dificuldade não foi ultrapassada após outros ensaios preliminares, uma vez que os problemas de solubilidade do reagente de partida e do produto não foram solucionados. Na entrada 6 tentou-se diminuir o tempo de reação com a adição de DBU, no entanto a adição desta quantidade catalítica fez com que a mistura reacional começasse a escurecer e a degradar. Por esse motivo, apenas foi possível recolher uma quantidade de sólido suficiente para obtenção de espectro de 1H RMN.

2.2.2.1 Caracterização das oxadiazolopurinas **2.2.2** e respetivo intermediário **2.2.0**

As reações descritas na entrada 2 e na entrada 4 permitiram isolar e caracterizar o intermediário **2.2.0**. Assim, a estrutura proposta para este composto ficou determinada com segurança.

Tabela 2.17 - Dados de ^1H RMN e IV do intermediário da oxidiazolopurina **2.2.0** ($\text{DMSO}-d_6$)

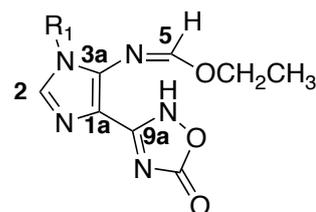


Prod.	R ₁	H-2	H-5	OCH ₂ CH ₃	NH	R ₁	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.2.0.1	Ar(<i>p</i>)OMe	8,01 (1H, s)	8,37 (1H, s)	4,15 (2H; q; 7,2 Hz) 1,21 (3H; t; 7,1 Hz)	12,63 (1H, sl)	7,42 (2H; d; 9,0 Hz H <i>d</i>) 7,06 (2H; d; 9,0 Hz H <i>m</i>) 3,80 (3H; s; OMe)	3124 m, 1784 i, 1774 i, 1689 f, 1652 f, 1596 m, 1588 m, 1518 i
2.2.0.2	Ar(<i>p</i>)F	8,01 (1H, s)	8,40 (1H, s)	4,15 (2H; q; 7,2 Hz) 1,23 (3H; t; 7,2 Hz)	12,60 (1H, sl)	7,58 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>a</i>) <i>J</i> =4,8Hz H <i>d</i>) 7,39 (2H; t; 9,0 Hz; H <i>m</i>)	

a) a amostra corresponde a uma mistura

Nos registos da tabela 2.17 são detetados os singletos com integração para um protão a δ 8,01 ppm e entre δ 8,37 - 8,40 ppm, que correspondem aos protões ligados a C-2 do anel de imidazole e a C-5, respetivamente. Os sinais atribuídos ao grupo etoxilo apresentam-se consistentes nas duas espécies, assim como o protão ácido com um sinal largo a integrar para um protão entre δ 12,60 - 12,63 ppm. A análise por ^{13}C RMN foi efetuada apenas para a estrutura **2.2.0.1**, uma vez que a quantidade de intermediário **2.2.0.2** obtida era residual.

Tabela 2.18 - Dados de ^{13}C RMN do intermediário da oxidiazolopurina **2.2.0** ($\text{DMSO}-d_6$)



Prod.	R ₁	C-2	C-3a	C-1a	C-9a	C-5	C=O	OCH ₂ CH ₃	R ₁
2.2.0.1	Ar(<i>p</i>)OMe	135,83	138,71	111,01	154,67	162,48	159,42	62,99 13,82	158,97 (C <i>p</i>), 114,35 (C <i>m</i>) 126,59(C <i>d</i>), 127,41 (C <i>l</i>) 55,50 (OMe)
2.2.0.2	Ar(<i>p</i>)F	a)	a)						

a) A amostra corresponde a uma mistura com proporção de 2.2.2.2 muito reduzida não sendo possível caracterizar por ^{13}C

A atribuição dos sinais na estrutura intermediária encontra semelhanças em sinais típicos para estruturas deste tipo. O carbono da posição 2 a δ 136 ppm foi identificado através da correlação direta do protão.

Através das correlações obtidas para H-2 a três ligações é possível identificar os sinais observados para C-1a e C-3a a δ 111 e 139 ppm, respectivamente. Os carbonos do grupo etoxilo e do grupo imino também evidenciaram algumas correlações que permitiram identificar os outros sinais, nomeadamente, C-5 a δ 162 ppm e os carbonos do grupo etoxilo a δ 63 - 14 ppm.

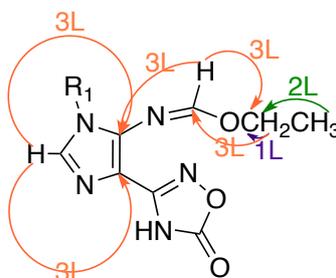
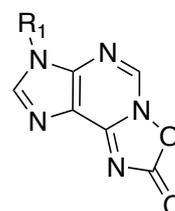


Figura 2.2 - Correlações registadas em HMBC para a estrutura **2.2.0.1**

As estruturas de três anéis fundidos isoladas foram identificadas de acordo com os dados das tabelas 2.19, 2.20 e 2.21.

Tabela 2.19 - Dados físicos e analíticos para os oxadiazolopurinas **2.2.2**

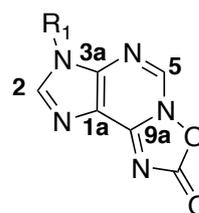


Prod.	R ₁	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
2.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	>238 ^{a)}	C ₁₃ H ₉ N ₅ O ₃	55,14; 3,12; 24,55 (55,13; 3,20; 24,73)

a) Ocorre degradação

A estrutura proposta foi confirmada por ¹H RMN e por ¹³C RMN.

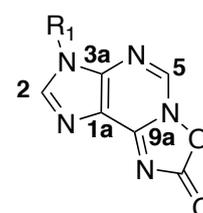
Tabela 2.20 - Dados de ^1H RMN e IV dos oxadiazolopurinas **2.2.2** (DMSO- d_6)



Prod.	R ₁	H-2	H-5	R ₁	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
2.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	8,63 (1H, s)	8,72 (1H, s)	7,63 (2H; d; 9,0 Hz) 7,17 (2H; d; 9,0 Hz) 3,84 (3H; s; OMe)	3138 m, 3002 i, 2726 f, 2527 f, 2277 f, 1988 f, 1910 f, 1784 i, 1722 f, 1660 m, 1615 f, 1558 m, 1517 i
2.2.2.2	Ar(<i>p</i>)F	8,19 (1H, s)	8,52 (1H, s)	7,89 (2H; dd; $J=5,1$ Hz; $J=4,8$ Hz H α) 7,42 (2H; t; 8,7 Hz; H m)	3192 i, 1713 m, 1662 f, 1609 f, 1570 f, 1520 i

A presença do próton H-5, surgindo como um sinal que integra apenas para um próton a δ 8,72 e 8,52 ppm, assim como o desvio do sinal do próton do anel de imidazole para valores mais elevados relativamente ao reagente de partida, revela o aumento do efeito retirador da nova estrutura de três anéis fundidos. O espectro de infravermelho também permite reconhecer o grupo carbonilo pela observação de uma banda intensa a 1784 cm⁻¹ e 1713 cm⁻¹.

Tabela 2.21 - Dados de ^{13}C RMN dos oxadiazolopurinas **2.2.2** (DMSO- d_6)



Produto	R ₁	C-2	C-3a	C-1a	C-9a	C-5	C=O	R ₁
2.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	141,80	141,55	115,86	148,42	137,76	153,23	159,42 (C p); 114,79 (C m) 125,94(C d); 126,52 (C l) 55,61 (OMe)

As correlações obtidas (figura 2.3), quer por HMQC como por HMBC, foram determinantes na atribuição dos sinais registados no espectro de ^{13}C RMN resumidos na tabela 2.21.

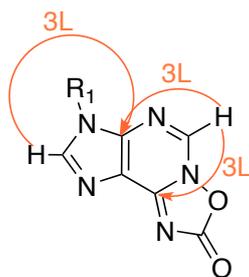
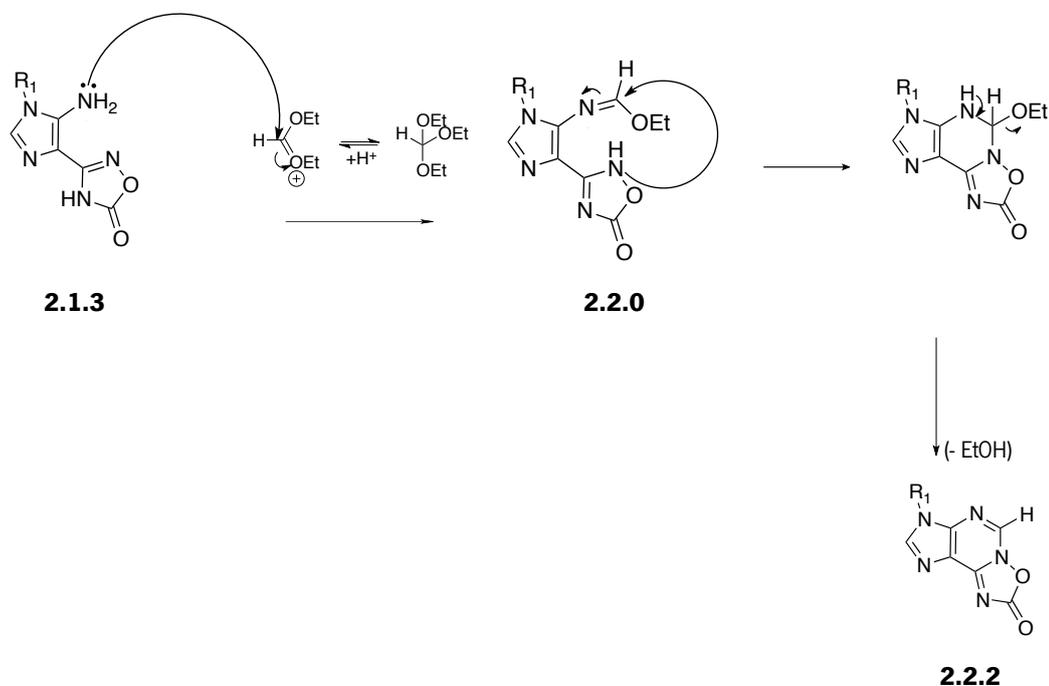


Figura 2.3 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas **2.2.2**

2.2.2.2 Proposta mecanística para a síntese de oxadiazolopurinas **2.2.2** e respetivo intermediário **2.2.0**

A proposta apresentada no esquema 2.11 é análoga à que foi descrita para a síntese de triazolopurinas **2.2.1**, uma vez que a reatividade dos compostos é a mesma.



Esquema 2.11 - Proposta mecanística para a obtenção de oxadiazolopurinas **2.2.2**

O facto de ter sido possível analisar por espectroscopia dois intermediários com diferentes substituintes na posição N-1 permitiu consolidar a proposta da estrutura final e do mecanismo da síntese dos compostos triciclos. A reação tem início com a condensação do grupo 5-NH₂ do anel de imidazole com o TEOF. A ciclização intramolecular acontece e, com a libertação de uma molécula de etanol, obtém-se a estrutura **2.2.2**.

2.3 Conclusões

Neste capítulo evidenciou-se o potencial reativo dos *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** com hidrazina e com hidroxilamina. O estudo da reatividade desta estrutura com hidrazina na sua forma neutra e de sal permitiu o estudo das condições reacionais favoráveis ao desenvolvimento de novas abordagens de síntese para a obtenção de imidazolil triazoles e imidazolil oxadiazoles.

Com base nestes resultados foi possível, não só desenvolver um método eficiente para a obtenção de triazoles e oxadiazoles como também, a partir destes, sintetizar estruturas de três anéis fundidos, as triazolopurinas e as oxadiazolopurinas por condensação com TEOF. No estudo da condensação dos imidazolil oxadiazoles com TEOF conseguimos ainda isolar intermediários que confirmaram as propostas mecanísticas apresentadas.

2.4 Parte Experimental

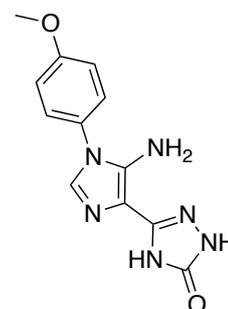
2.4.1 Síntese de imidazolil triazoles

Procedimento geral

A uma suspensão de **1.2** em etanol (2 a 4,5 mL), a 0°C, adicionou-se a hidrazina mono-hidratada (2 eq), sob agitação. O sólido amarelo inicial deu lugar a um outro sólido de cor mais clara e houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O produto foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.1.1**.

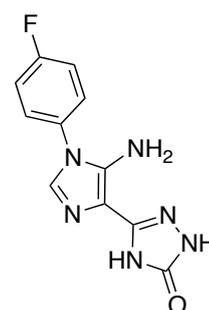
5-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1H-1,2,4-triazol-3(2H)-ona **2.1.1.1**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,40 g; 1,29 mmol) em etanol (2 mL), a 0°C, adicionou-se a hidrazina mono-hidratada (0,13 mL; 0,13 g; 2,57 mmol) sob agitação. Formou-se uma suspensão de cor creme. O produto foi isolado 20 minutos depois e foi identificado como sendo **2.1.1.1** (0,32 g; 1,12 mmol; 87 %).



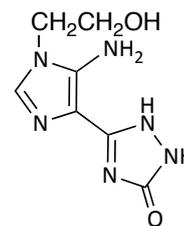
5-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-1H-1,2,4-triazol-3(2H)-ona **2.1.1.2**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,15 g; 0,50 mmol) em etanol (3 mL), a 0°C, adicionou-se a hidrazina mono-hidratada (0,05 mL; 0,05 g; 1,00 mmol) sob agitação. Formou-se uma suspensão de cor branca. O produto foi isolado 40 minutos depois e foi identificado como sendo **2.1.1.2** (0,13 g; 0,50 mmol; 100 %).



5-(5-amino-1-(2-hidroxietil)-1H-imidazol-4-il)-1H-1,2,4-triazol-3(2H)-ona **2.1.1.3**

A uma suspensão de **1.2.3** (0,10 g; 0,39 mmol) em etanol (4 mL), a 0°C, adicionou-se a hidrazina mono-hidratada (0,04 mL; 0,04 g; 1,78 mmol) sob agitação. A solução inicial deu lugar, imediatamente, a uma suspensão de cor bege. Decorridas 2 horas e 30 minutos, a suspensão foi colocada, sob agitação, a 4° C. O produto foi isolado 14 horas depois e foi identificado como sendo **2.1.1.3** (0,06 g; 0,28 mmol; 72 %).



2.4.2 Síntese de imidazolil oxadiazoles

Procedimento geral

A uma suspensão de cloreto de hidroxilamônio (1,1 a 3 eq) em acetonitrilo (2 a 3 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se trietilamina (1,1 a 4,1 eq) sob agitação. A esta suspensão adicionou-se o reagente **1.2**. O sólido amarelo inicial deu lugar a um outro sólido de cor mais clara e houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O produto foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.1.3**.

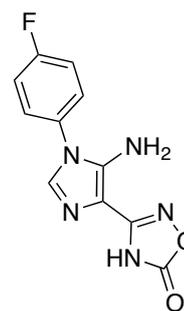
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona **2.1.3.1**

A uma suspensão de cloreto de hidroxilamônio (3 eq) em acetonitrilo (3 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se trietilamina (4,1 eq) sob agitação. A esta suspensão adicionou-se o reagente **1.2.1** (0,15 g; 0,48 mmol). O sólido amarelo inicial deu lugar a uma solução amarela e depois a um outro sólido amarelo mais claro e houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O produto foi isolado 18 horas depois e foi identificado como sendo **2.1.3.1** (0,11 g; 0,43 mmol; 90 %).



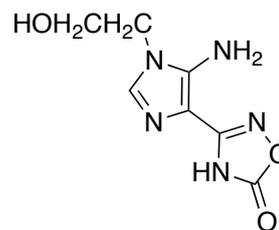
3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona **2.1.3.2**

A uma suspensão de cloreto de hidroxilamônio (2,1 eq) em acetonitrilo (2 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se trietilamina (3 eq) sob agitação. A esta suspensão adicionou-se o reagente **1.2.2** (0,24 g; 0,79 mmol). O sólido amarelo inicial deu lugar a um outro sólido esbranquiçado e houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O produto foi isolado 1 dia e 18 horas depois e foi identificado como sendo **2.1.3.2** (0,19 g; 0,73 mmol; 92 %).



3-(5-amino-1-(2-hydroxiethyl)-1H-imidazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5(4H)-ona **2.1.3.3**

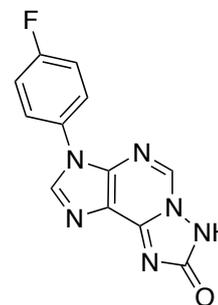
A uma suspensão de cloreto de hidroxilamônio (1,1 eq) em acetonitrilo (3 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se trietilamina (1,1 eq) sob agitação. A esta suspensão adicionou-se o reagente **1.2.3** (0,08 g; 0,26 mmol). O sólido amarelo inicial deu lugar a um outro sólido amarelo mais claro e houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O produto foi isolado 3 dias depois e foi identificado como sendo **2.1.3.3** (0,03 g; 0,14 mmol; 54 %).



2.4.3 Síntese de triazolopurinas

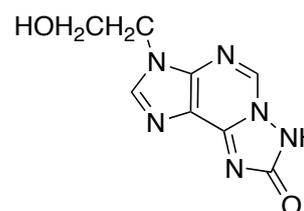
3-(4-fluorofenil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*h*]purin-8(7*H*)-ona **2.2.1.1**

A uma suspensão de **2.1.1.2** (0,10 g; 0,38 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se o ortoformiato de etilo (0,38 mL; 0,34 g; 2,30 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico, sob agitação. A suspensão inicial solubilizou-se parcialmente e, após 30 minutos, a solução deu lugar a uma suspensão branca. Decorridos 45 minutos desde o início da reação, houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.2.1.1** (0,09 g; 0,33 mmol; 87 %).



3-(2-hidroxietil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*h*]purin-8(7*H*)-ona **2.2.1.2**

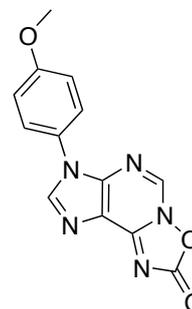
A uma suspensão de **2.1.1.3** (0,05 g; 0,23 mmol) em acetonitrilo (2,5 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se o ortoformiato de etilo (0,24 mL; 0,21 g; 1,42 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico, sob agitação. A suspensão inicial solubilizou-se parcialmente e, após 1 hora e 30 minutos, a solução deu lugar a uma solução esverdeada a partir da qual se começou a formar uma suspensão cinza. Decorrido um dia desde o início da reação, houve evidências, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido cinza foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.2.1.2** (0,01 g; 0,05 mmol; 22 %).



2.4.4 Síntese de oxadiazolopurinas

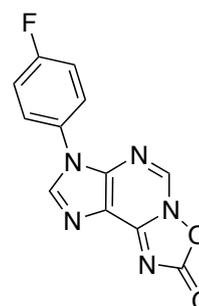
7-(4-metoxifenil)-[1,2,4]oxadiazolo[3,2-*i*]purin-2(7*H*)-ona **2.2.2.1**

A uma suspensão de **2.1.3.1** (0,19 g; 0,70 mmol) em acetonitrilo (10 mL), à temperatura ambiente, adicionou-se o ortoformiato de etilo (0,69 mL; 0,61 g; 4,12 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico, sob agitação. Decorridos 21 dias, houve evidência, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.2.2.1** (0,18 g; 0,64 mmol; 91 %).



7-(4-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazolo[3,2-*i*]purin-2(7*H*)-ona **2.2.2.2**

A uma suspensão de **2.1.3.2** (0,11 g; 0,42 mmol) em acetonitrilo (2 mL), sob refluxo, adicionou-se o ortoformiato de etilo (0,55 mL; 0,49 g; 3,31 mmol) e duas gotas de ácido sulfúrico, sob agitação. A suspensão deu lugar a uma solução laranja da qual precipitou um sólido branco após 2 dias. Decorridos 3 dias desde o início da reação, adicionou-se dimetilformamida (0,5 mL) e mais trietilortoformiato (0,55 mL; 0,49 g; 3,31 mmol). Decorridos 4 dias houve evidência, por TLC, de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido castanho claro foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **2.2.3.2** (0,02 g; 0,07 mmol; 17 %).



CAPÍTULO 3.

REAÇÃO DE *N*-ETOXICARBONIL IMIDAZOLES COM HIDRAZINAS AROMÁTICAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

3. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM HIDRAZINAS AROMÁTICAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

3.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazinas aromáticas

3.1.1. Síntese de imidazolil *N*-aril-triazoles e respectivo intermediário

3.2. Reação de imidazolil *N*-aril-triazoles com TEOF

3.2.1. Síntese de triazolopurinas

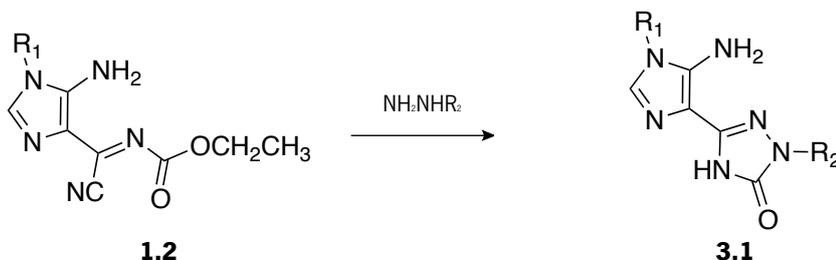
3.3. Conclusões

3.4. Parte experimental

3. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM HIDRAZINAS AROMÁTICAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

3.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazinas aromáticas

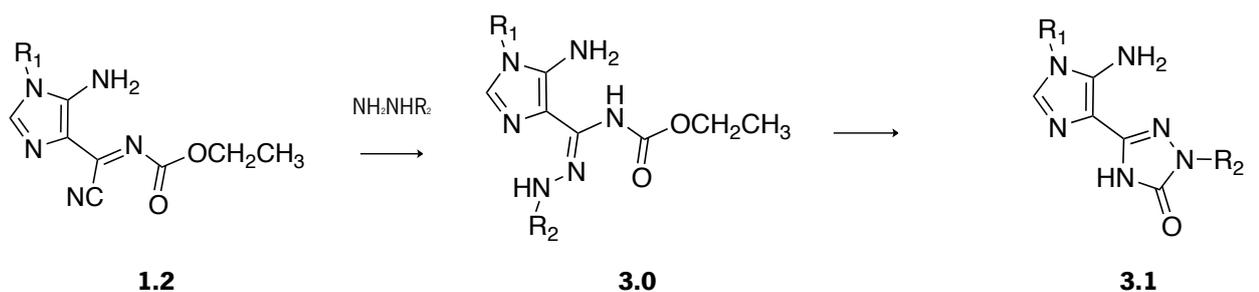
A reatividade do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** foi anteriormente testada com a hidrazina não-substituída e com a hidroxilamina. Desse trabalho foi possível concluir que o grupo acilo no nitrogênio imínico do grupo cianoformimidoilo ativa o ataque nucleofílico ao carbono ligado a C-4 do anel de imidazole, com consequente eliminação de HCN. Esta abordagem sintética foi seguidamente estudada e avaliada para a reação de **1.2** com hidrazinas aromáticas, tendo em vista a obtenção de estruturas de imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1**.



Esquema 3.1 - Síntese de imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1**

3.1.1. Síntese de imidazolil *N*-aril-triazoles e respetivo intermediário

Partindo de diferentes *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** e hidrazinas aromáticas na presença de base foi possível preparar uma série de imidazolil triazoles com um grupo arílico em N-2 do anel de triazole (esquema 3.2). Para além disso, foi ainda possível isolar um produto ao qual foi atribuído a estrutura **3.0** que corresponde ao intermediário do processo.



3.0.3 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ar(*p*)CF₃

3.1.1 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ar(*p*)OMe, 92%

3.1.2 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ar(*p*)F, 83%

3.1.3 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ar(*p*)CF₃, 64%

3.1.4 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ph, 63%

3.1.5 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : Ar(*p*)COOH, 66%

3.1.6 R_1 : Ar(*p*)F; R_2 : Ar(*p*)OMe, 76%

3.1.7 R_1 : Ar(*p*)F; R_2 : Ar(*p*)F, 52%

3.1.8 R_1 : CH₂CH₂OH; R_2 : Ar(*p*)OMe, 35%

3.1.9 R_1 : CH₂CH₂OH; R_2 : Ar(*p*)F, 25%

Esquema 3.2 – Síntese de imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1.1** a **3.1.9** e do intermediário **3.0.3**

Na tentativa de encontrar as melhores condições para estas sínteses foram ensaiadas condições experimentais diversificadas. Na tabela 3.1 encontram-se resumidas as melhores condições reacionais para a síntese de várias estruturas diferentemente substituídas em N-1 do anel de imidazole por reação com diferentes hidrazinas aromáticas.

As condições apresentadas traduzem os ensaios que conduziram a melhores resultados numa análise de rendimento *vs* tempo de reação. A obtenção destas estruturas requer, na maioria dos casos, meio básico, o qual foi otimizado recorrendo à adição de trietilamina.

Tabela 3.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	1,69	2,00	ACN (10,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 2 h 30 min	3.1.1	92
2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	0,80	0,86	ACN (60,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), refluxo, 7 h 30 min	3.1.2	83
3	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)CF ₃	0,64	0,70	i) EtOH (3,0 mL), ta, 2 dias; ii) 1F + solução-mãe, Et ₃ N (3,0 eq), ta, 13 dias	3.0.3 (1F) 3.1.3 (1F')	64
4	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,83	1,66	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (2,0 eq), ta, 2 h 30 min	3.1.4	63
5	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)COOH	0,35	0,39	DMF (1,5 mL), ta, 6 h; 4 °C, 29 h; ta, 2 dias	3.1.5	66
6	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)OMe	0,90	0,97	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 7 dias	3.1.6	76
7	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)F	0,66	0,74	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 17 dias	3.1.7	52
8	CH ₂ CH ₂ OH	Ar(<i>p</i>)OMe	0,46	0,50	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (2,5 eq), ta, 13 dias	3.1.8	35
9	CH ₂ CH ₂ OH	Ar(<i>p</i>)F	0,40	0,43	ACN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 11 dias	3.1.9	25

Numa fase inicial, o imidazolil triazole **3.1.1** foi obtido na presença de KOH (1,2 eq). Esse ensaio preliminar permitiu recolher o produto pretendido, mas o tempo de reação foi muito longo (vinte e cinco dias) e o rendimento muito baixo, provavelmente como consequência de degradação associada ao tempo de reação. A abordagem que permitiu rendimentos mais elevados e melhores tempos de reação foi conseguida na presença de trietilamina, como se comprova pelo tempo de reação para a obtenção do composto **3.1.1**, que foi reduzido de vinte e cinco dias para duas horas e meia com um rendimento de 92% (entrada 1). Com base nestes resultados, estas condições foram reproduzidas para a reação do reagente de partida **1.2** com outras hidrazinas aromáticas.

Na síntese do produto **3.1.2** (entrada 3) recorreu-se a refluxo para diminuir o tempo de reação, uma vez que à temperatura ambiente a reação demorava dois dias. Desta forma, e sem comprometer a estabilidade do produto, foi possível reduzir o tempo de reação para sete horas e meia.

Na entrada 3 está descrita a reação que permitiu isolar e identificar o intermediário **3.0**. A reação aconteceu em dois momentos. Na primeira parte a reação decorreu na ausência de base e o produto, que precipitou após dois dias de reação à temperatura ambiente, foi caracterizado como sendo a estrutura **3.0.3**. Deu-se continuidade à reação e, com a adição de base, foi possível obter o produto **3.1.1** que deve ter resultado resultante da ciclização intramolecular do intermediário **3.0.3**.

Uma situação semelhante à relatada para a entrada 1 encontra-se na entrada 4. Foi possível sintetizar o composto **3.1.4** com um tempo de reação muito curto, apesar do rendimento ter sido mais baixo do que o esperado, porque se perdeu algum composto na lavagem necessária para garantir que o produto não estava contaminado com sal de trietilamônio.

Para o grupo de imidazolil triazoles substituídos em N-1 por Ar(*p*)OMe, apenas a reação com a hidrazina benzoica não precisou de meio básico (entrada 5). Com as outras hidrazinas, após se ter verificado que os testes realizados com ACN e EtOH na presença de trietilamina conduziram a tempos de reação de vinte e dezoito dias, respectivamente, surgiu a necessidade de recorrer a DMF. Apesar da DMF trazer alguns problemas na precipitação do produto, consideramos ser esta a abordagem mais eficiente porque resolvia os problemas de solubilidade dos reagentes de partida, nomeadamente da hidrazina.

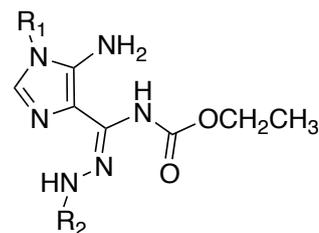
Para avaliar a reprodutibilidade das condições reacionais testadas para outros substituintes na posição 1 do anel de imidazole, foram sintetizados os compostos de **3.1.6** a **3.1.9** com recurso à utilização de ACN como solvente e à trietilamina para promover o meio básico.

A análise global dos resultados permite concluir que as reações com hidrazinas substituídas com grupo eletrodadores conduziram a tempos de reação mais longos, embora no caso de Ar(*p*)F o efeito seja menos evidente.

3.1.1.1. Caracterização dos imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1** e respetivo intermediário **3.0**

O isolamento do intermediário **3.0.3** na ausência de base permitiu sustentar a proposta mecanística que será apresentada. Essa estrutura foi devidamente caracterizada por ¹H RMN e os dados obtidos são apresentados na tabela 3.2.

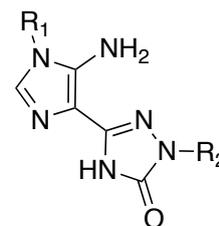
Tabela 3.2 - Dados de ^1H RMN do intermediário dos imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1** ($\text{DMSO}-d_6$)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	NH	OCH ₂ CH ₃	R ₁	R ₂
3.0.3	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)CF ₃	7,29 (1H, s)	5,51 (2H, s)	8,84 (1H, s)	9,62 (1H, s)	4,06 (2H; q; 7,5 Hz) 1,20 (3H; t; 7,2 Hz)	7,44 (2H; d; 8,7 Hz, Hd) 7,11 (2H; d; 8,7 Hz, Hm) 3,82 (3H; s; OMe)	7,87 (2H; d; 9,0 Hz Hd) 9,0 Hz Hd) 6,99 (2H; d; 9,0 Hz Hm)

Os imidazolil triazoles **3.1** sintetizadas foram identificadas e caracterizadas por ponto de fusão e análise elementar (tabela 3.3).

Tabela 3.3 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1**



Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
3.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	257,1-259,0	C ₁₉ H ₁₈ N ₆ O ₃	60,31; 4,80; 22,21 (60,64; 4,81; 22,19)
3.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	292,8-294,3	C ₁₈ H ₁₅ N ₆ FO ₂	59,02; 4,09; 22,95 (59,06; 4,09; 22,95)
3.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)CF ₃	>319 ^{a)}	C ₁₉ H ₁₅ N ₆ F ₃ O ₂	54,78; 3,57; 19,88 (54,81; 3,61; 20,19)
3.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	>243 ^{a)}	C ₁₈ H ₁₆ N ₆ O ₂ .1/4H ₂ O	61,69; 4,71; 23,55 (61,27; 4,71; 23,82)
3.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)COOH	>299,8 ^{a)}	C ₁₉ H ₁₆ N ₆ O ₄	393,1311 ^{b)} (393,1316)
3.1.6	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)OMe	>290 ^{a)}	C ₁₈ H ₁₅ N ₆ FO ₂	59,00; 4,11; 22,68 (59,02; 4,09; 22,95)

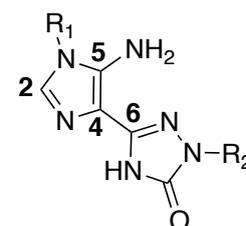
Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
3.1.7	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)F	>290 ^{a)}	C ₁₇ H ₁₂ N ₆ F ₂ O	57,43; 3,25; 23,88 (57,62; 3,39; 23,73)
3.1.8	CH ₂ CH ₂ OH	Ar(<i>p</i>)OMe	>258 ^{a)}	C ₁₄ H ₁₆ N ₆ O ₃	317,1362 ^{b)} (317,1351)
3.1.9	CH ₂ CH ₂ OH	Ar(<i>p</i>)F	>254 ^{a)}	C ₁₃ H ₁₆ N ₆ FO ₂ .9/13 H ₂ O	49,30; 4,32; 25,96 (49,30; 4,55; 26,55)

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺

Os dados de ponto de fusão mostraram que algumas das estruturas degradam antes da mudança de estado físico. As análises elementares permitiram confirmar as proporções relativas dos diferentes elementos químicos presentes em cada uma das moléculas.

Na tabela 3.4 são apresentados os dados espectroscópicos obtidos por ¹H RMN e IV.

Tabela 3.4 - Dados de ¹H RMN e IV dos imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1** (DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
3.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	7,44	5,44	12,08	7,44 (2H; d; 8,7 Hz, H _d)	7,87 (2H; d; 9,0 Hz, H _d)	3449 f, 3343 f,
	Ar(<i>p</i>)OMe	(1H, s)	(2H, s)	(1H, s)	7,11 (2H; d; 8,7 Hz, H _m) 3,81 (3H; s; OMe)	6,99 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,75 (3H; s; OMe)	3115 m, 3050 m, 2755 f, 1711 i, 1638 i, 1605 m
3.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe	7,44	5,49	12,18	7,45 (2H; d; 9,0 Hz, H _d)	8,02 (2H; dd; <i>J</i> =9,6 Hz;	3444 f, 3341 f,
	Ar(<i>p</i>)F	(1H, s)	(2H, s)	(1H, sl)	7,12 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,82 (3H; s; OMe)	<i>J</i> =5,0 Hz, H _d) 7,99 (2H; t; 9,0 Hz, H _d)	3118 m, 1716 i, 1640 m, 1609 m
3.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe	7,46	5,58	12,34	7,46 (2H; d; 8,7 Hz, H _d)	8,26 (2H; d; 8,4 Hz, H _d)	3441 m, 3324 m,
	Ar(<i>p</i>)CF ₃	(1H, s)	(2H, s)	(1H, sl)	7,12 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,82 (3H; s; OMe)	7,78 (2H; t; 9,0 Hz, H _m)	3110 m, 1719 i, 1615 i
3.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe	7,45	5,48	12,20	7,45 (2H; d; 9,0 Hz)	8,00 (2H; d; 7,5 Hz)	3427 m, 3330 m,
	Ph	(1H, s)	(2H, s)	(1H, s)	7,12 (2H; d; 8,7 Hz) 3,81 (3H; s; OMe)	7,41 (2H; t; 8,4 Hz) 7,15 (1H; t; 7,2 Hz)	3102 m, 1715 i, 1633 i
3.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe	7,46	5,57	11,8-	7,45 (2H; d; 9,0 Hz, H _d)	8,16 (2H; d; 9,0 Hz, H _d)	3397 f, 3119 m,
	Ar(<i>p</i>)COOH	(1H, s)	(2H, s)	12,8 (1H, sl)	7,12 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,81 (3H; s; OMe)	7,26 (2H; d; 9,0 Hz, H _m)	1726 i, 1693 m, 1636 m, 1606 i
3.1.6	Ar(<i>p</i>)F	7,51	5,53	12,09	7,60 (2H; dd; <i>J</i> =9,3 Hz;	7,88 (2H; d; 9,3 Hz, H _d)	3378 f, 3297 f,
	Ar(<i>p</i>)OMe	(1H, s)	(2H, s)	(1H, sl)	<i>J</i> =4,8 Hz, H _d) 7,43 (2H; t; 9,3 Hz, H _m)	6,99 (2H; d; 9,6 Hz, H _m) 3,76 (3H; s; OMe)	3118 m, 1711 i, 1636 m, 1592 f

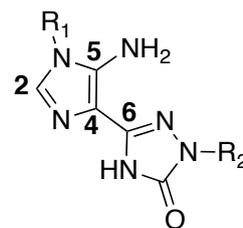
Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
3.1.7	Ar(<i>p</i>)F Ar(<i>p</i>)F	7,51 (1H, sl)	5,58 (2H, s)	12,12 (1H, sl)	7,60 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =5,1 Hz, H _o) 7,43 (2H; t; 8,7 Hz, H _m)	8,04 (2H; dd; <i>J</i> =9,3Hz; <i>J</i> =5,0 Hz, H _o) 7,26 (2H; t; 9,3 Hz, H _m)	3332 f, 3278 f, 3111 m, 1701 i, 1659 m, 1589 f
3.1.8	CH ₂ CH ₂ OH Ar(<i>p</i>)OMe	7,26 (1H, s)	5,54 (2H, sl)	11,97 (1H, sl)	3,93 (2H; t; 5,1 Hz) 3,65 (2H; t; 5,1 Hz) 5,10 (1H; sl; OH)	7,90 (2H; d; 9,3 Hz) 6,98 (2H; d; 9,3 Hz) 3,75 (3H; s)	3445 f, 3342 m, 3106 f, 1681 i, 1635 i, 1605 m
3.1.9	CH ₂ CH ₂ OH Ar(<i>p</i>)F	7,26 (1H, s)	5,58 (2H, sl)	12,04 (1H, sl)	3,93 (2H; t; 5,0 Hz) 3,66 (2H; t; 5,0 Hz) 5,11 (1H; sl; OH)	8,05 (2H; dd; <i>J</i> =8,9 Hz, <i>J</i> =5,0 Hz, H _o) 7,25 (2H; t; 8,9 Hz, H _m)	3425 f, 3336 m, 3107 f, 1681 i, 1629 m, 1602 m

Nos vários compostos isolados e caracterizados por ¹H RMN é possível detetar um padrão reprodutível de alguns sinais. O sinal do protão ligado ao carbono 2 do anel de imidazole apresenta-se como singlete entre δ 7,26 e 7,51 ppm que integra para um protão. Pode verificar-se que os desvios químicos destes sinais são influenciados pelos substituintes em N-1, surgindo a δ 7,26 ppm para as estruturas **3.1.8** e **3.1.9** substituídas em N-1 pelo grupo CH₂CH₂OH, δ 7,44 a 7,46 ppm para as estruturas **3.1.1** a **3.1.5** substituídas em N-1 pelo grupo aromático Ar(*p*)OMe, e δ 7,51 ppm para os outros imidazolil triazoles **3.1.6** e **3.1.7** substituídos com Ar(*p*)F. A mesma reprodutibilidade nos sinais é encontrada para o grupo NH₂ da posição 5 do anel do imidazole, com singletos a integrar para dois protões no intervalo δ 5,44 a 5,58 ppm. O protão ácido do anel de triazole surge com sinais largos e desvios químicos mais elevados entre (δ 11,97 e 12,80 ppm). Este protão pode estabelecer ligações por pontes de hidrogénio que contribuem para a desproteção dos sinais. Os sinais atribuídos aos substituintes são concordantes entre as várias estruturas isoladas.

Na análise dos espectros de IV regista-se a presença da banda intensa, característica do grupo carbonilo, entre 1681 e 1726 cm⁻¹.

A caracterização por ¹³C RMN permitiu a recolha de mais dados que confirmam as estruturas **3.1**, tal como foram previstas (tabela 3.5).

Tabela 3.5 - Dados de ^{13}C RMN dos imidazolil *N*-aril-triazoles **3.1** (DMSO-*d*₆)



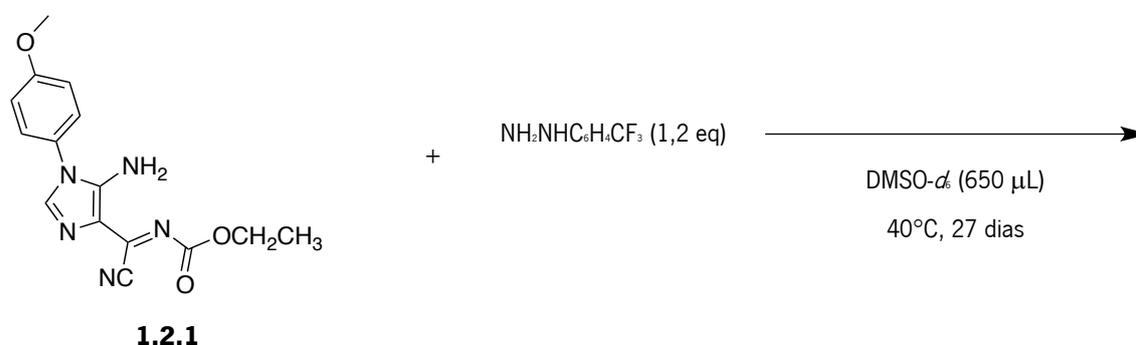
Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	R ₁	R ₂
3.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)OMe	131,56	106,92	139,02	143,64	152,02	159,17 (C <i>p</i>), 114,99 (C <i>m</i>), 126,58 (C <i>d</i>), 127,24 (C <i>l</i>), 55,59 (OMe)	159,17 (C <i>p</i>), 114,99 (C <i>m</i>), 126,58 (C <i>d</i>), 127,24 (C <i>l</i>), 55,50 (OMe)
3.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)F	131,64	106,62	139,27	144,02	152,12	159,18 (C <i>p</i>), 114,98 (C <i>m</i>) 126,60 (C <i>d</i>), 127,18 (C <i>l</i>) 55,58 (OMe)	158,69 (d; 239,4 Hz) (C <i>p</i>), 115,56 (d; 22,6 Hz) (C <i>m</i>), 119,34 (d; 7,7 Hz) (C <i>d</i>), 134,69 (C <i>l</i>)
3.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)CF ₃	131,77	106,26	139,67	144,72	152,35	159,17 (C <i>p</i>), 114,95 (C <i>m</i>) 126,60 (C <i>d</i>), 127,10 (C <i>l</i>) 55,58 (OMe)	123,81 (q; 32,0 Hz) (C <i>p</i>), 126,20 (q; 3,5 Hz) (C <i>m</i>), 117,13 (C <i>d</i>), 141,20 (C <i>l</i>) 124,37 (q; 268,3 Hz) (CF ₃)
3.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	131,6	106,7	138,2	144,0	152,0	159,1 (C <i>p</i>), 114,9 (C <i>m</i>), 126,5 (C <i>d</i>), 126,7 (C <i>l</i>) 55,5 (OMe)	139,2; 128,9 124,1; 117,4
3.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)COOH	131,78	106,34	139,64	144,65	152,36	159,20 (C <i>p</i>), 114,99 (C <i>m</i>), 126,63 (C <i>d</i>), 127,13 (C <i>l</i>) 55,58 (OMe)	125,78 (C <i>p</i>), 116,59 (C <i>m</i>), 130,47 (C <i>d</i>), 105,78 (C <i>l</i>) 166,97 (COOH)
3.1.6	Ar(<i>p</i>)F Ar(<i>p</i>)OMe	131,45	107,15	138,84	143,84	151,94	161,59 (d; 243,9Hz) (C <i>p</i>), 116,63 (d; 22,9) (C <i>m</i>), 127,36 (d; 8,9Hz) (C <i>d</i>), 130,93 (C <i>l</i>)	155,98 (C <i>p</i>), 114,02 (C <i>m</i>), 119,28 (C <i>d</i>), 131,58 (C <i>l</i>) 55,27 (OMe)
3.1.7	Ar(<i>p</i>)F Ar(<i>p</i>)F	131,55	106,86	139,14	143,91	152,10	161,63 (d; 244,1Hz) (C <i>p</i>), 116,66 (d; 22,6) (C <i>m</i>), 127,43 (d; 8,9Hz) (C <i>d</i>), 130,89 (C <i>l</i>)	158,67 (d; 239,4 Hz) (C <i>p</i>), 115,54 (d; 21,9 Hz) (C <i>m</i>), 119,34 (d; 7,7 Hz) (C <i>d</i>), 134,67 (C <i>l</i>)
3.1.8	CH ₂ CH ₂ OH Ar(<i>p</i>)OMe	131,92	106,46	139,29	143,80	152,97	59,82 (CH ₂ O), 45,63(CH ₂ N)	159,86 (C <i>p</i>), 113,96 (C <i>m</i>) 119,17 (C <i>d</i>), 131,72 (C <i>l</i>) 55,27 (OMe)
3.1.9	CH ₂ CH ₂ OH Ar(<i>p</i>)F	132,03	106,20	139,59	144,22	152,13	59,82 (CH ₂ O), 45,64(CH ₂ N)	158,61 (d; 239,1 Hz) (C <i>p</i>), 115,48 (d; 22,3 Hz) (C <i>m</i>), 119,26 (d; 7,7 Hz) (C <i>d</i>), 131,72 (C <i>l</i>)

Os sinais detetados comparam com estruturas análogas, o que permitiu atribuir os sinais a cada um dos carbonos correspondentes. Essas atribuições foram comprovadas pelas correlações observadas por HMQC e por HMBC. O pico atribuído ao carbono da posição 2 do anel de imidazole surge a cerca de

δ 132 ppm. Os sinais de C-4 e C-5, também do anel de imidazole, confirmam posições relativas típicas deste tipo de estrutura, surgindo a intervalos entre δ 106 e 107 ppm e δ 139 e 140 ppm, respetivamente. O sinal do carbono da posição 6 do anel de 1,2,4-triazole apresenta um desvio entre δ 144 e 145 ppm e o carbono do grupo carbonilo surge entre δ 152 e 153 ppm.

3.1.1.2 Estudo cinético em tubo de RMN

Na tentativa de investigar este tipo de reações, realizou-se um estudo por ^1H RMN da evolução das espécies intervenientes, combinando em tubo de RMN e à temperatura de 40°C o imidazole **1.2.1** e trifluorometil-hidrazina.



Esquema 3.3 – Reação de imidazole **1.2.1** com trifluorometil-hidrazina em tubo de RMN

O conhecimento prévio dos principais sinais registados para ^1H RMN do reagente de partida (**1.2.1**), do intermediário isolado (**3.0.3**) e do imidazolil triazole (**3.1.3**) foram determinantes na dedução dos caminhos sintéticos (figura 3.1).

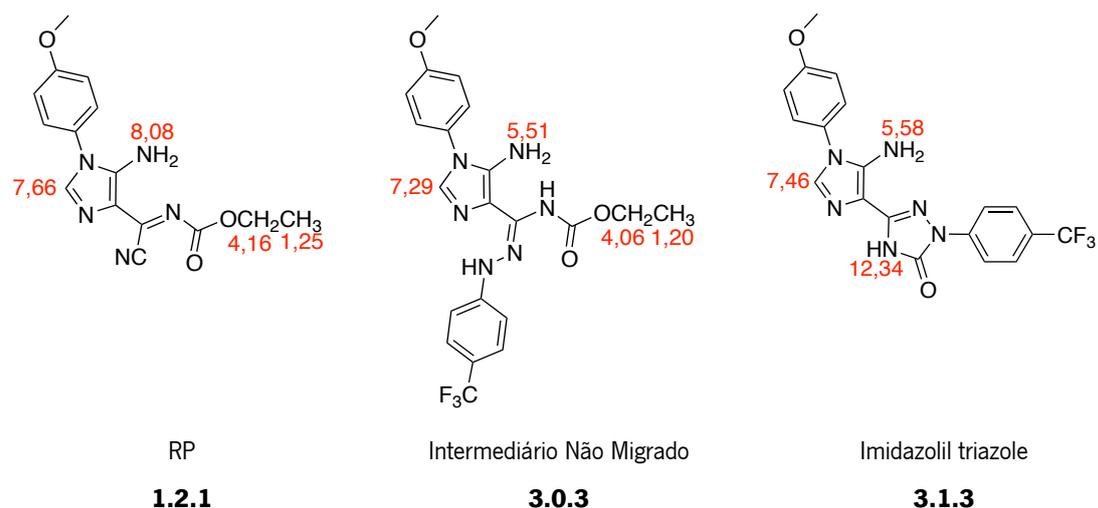


Figura 3.1 – Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas **1.2.1**, **3.0.3** e **3.1.3** (tabelas 1.4, 3.2 e 3.4)

Através da análise dos espectros realizados em intervalos de tempo regulares, para além destas estruturas já referidas, foi possível identificar outros compostos que evidenciaram novos caminhos sintéticos para explorar. Verificou-se, nomeadamente, a formação de um isómero de 3.0.3 no qual o grupo etoxicarbonilo deverá ter migrado para o nitrogénio ligado a C-5 do anel de imidazole (ver secção 1.2.2 – Capítulo 1), cuja estrutura foi identificada como 3.0.3a. Observou-se também um tautómero desta estrutura, identificado como 3.0.3a'. Para além destes intermediários, foi possível identificar os compostos resultantes da ciclização destas estruturas intermediárias migradas, as purinas 3.0.3aa e 3.0.3ab.

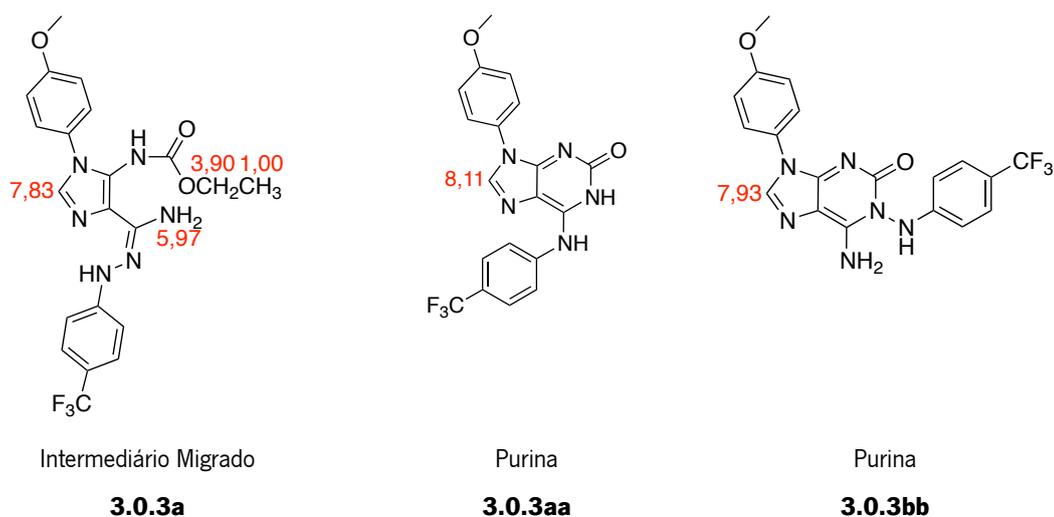


Figura 3.2 – Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas 3.0.3a, 3.0.3aa e 3.0.3bb

Após leitura dos vinte espectros recolhidos ao longo de 27 dias foi possível construir o gráfico no qual se podem ler as proporções relativas dos diferentes compostos ao longo do tempo de reação (figura 3.3).

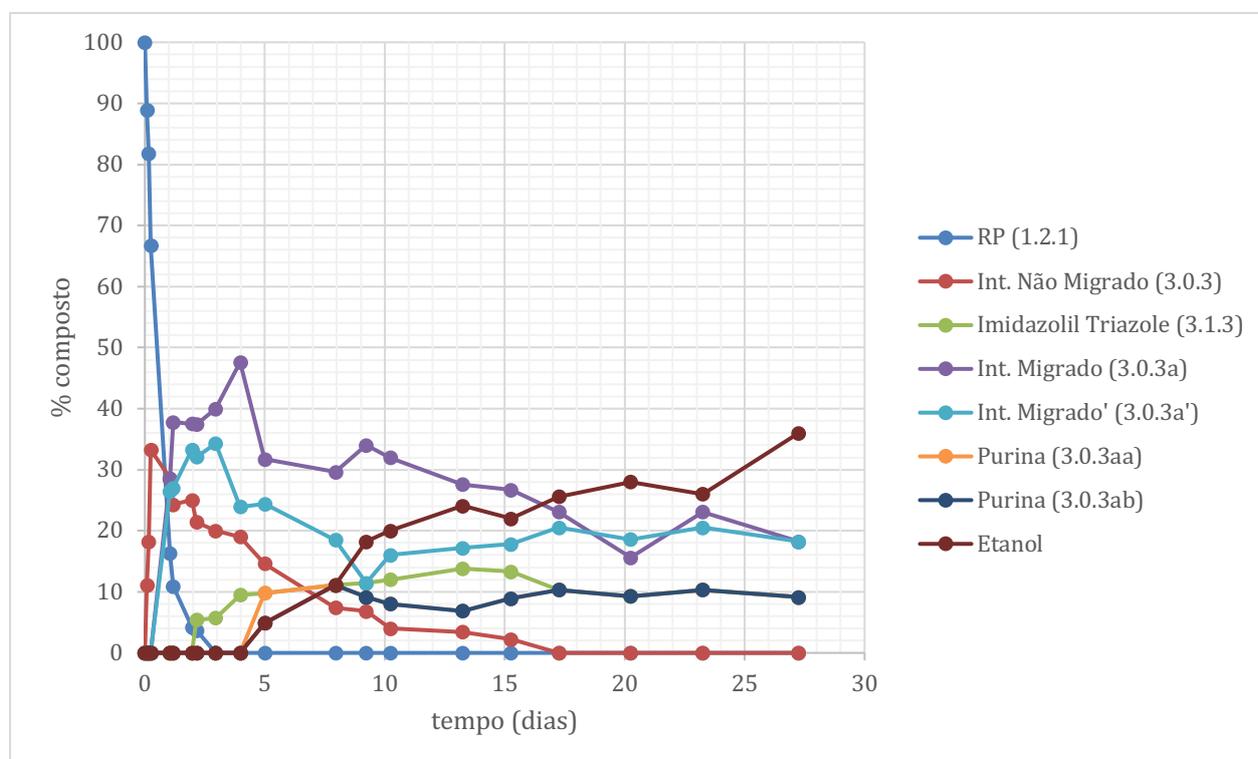


Figura 3.3 - Gráfico que traduz a evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos componentes na reação de **1.2.1** com (trifluorometil)fenil-hidrazina em tubo de RMN

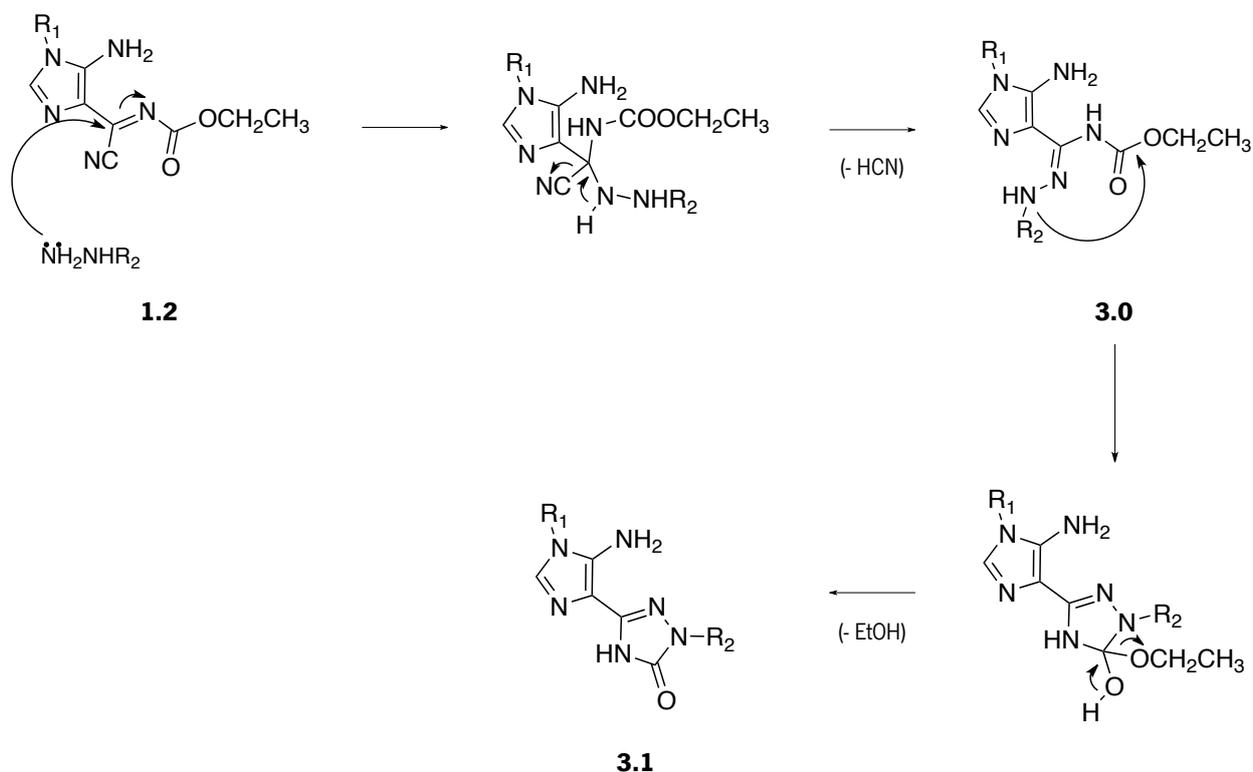
Pela análise do gráfico observa-se que o primeiro composto que se forma é o intermediário não migrado **3.0.3**. Este composto e o reagente de partida são os únicos componentes no meio reacional até se começar a detetar a presença de vestígios de imidazolil triazole **3.1.3** e de intermediário migrado (3.0.3a) e respetivo tautómero (3.0.3a'). É também neste momento, cerca de 6 horas após o início de reação, que se observa formação de etanol, mas numa quantidade vestigial que não é mensurável. A presença de imidazolil triazole **3.1.3** passa a ser quantificável logo após a proporção de intermediário não migrado ser máxima. A partir deste instante, verifica-se uma diminuição do intermediário não migrado e um aumento da proporção de imidazolil triazole até um valor que passa a ser constante a partir do décimo sexto dia, momento no qual o intermediário não migrado se esgota. Esta relação permite observar uma condição que relaciona o consumo de **3.0.3** com a formação do triazole **3.1.3**.

A formação das estruturas migradas, 3.0.3a e 3.0.3a', acontece de forma residual a partir da sexta hora de reação, momento no qual a formação da estrutura não migrada atinge a sua proporção máxima e momento a partir do qual se esgota a hidrazina no meio reacional. A estrutura migrada terá origem na

migração do grupo etoxicarbonilo para o nitrogénio ligado a C-5 do anel de imidazole do reagente de partida **1.2.1**. A proporção destas estruturas migradas mantém-se estável até que se verifica a conversão destes intermediários nas purinas 3.0.3aa e 3.0.3ab. Este processo é acompanhado pelo aumento da proporção de etanol no meio reacional. Cerca de 17 dias após o início da reação, as quantidades relativas das purinas são constantes no tempo, assim como as quantidades relativas das estruturas migradas. Este estudo cinético, que decorre a uma temperatura mais elevada do que as reações relatadas na tabela 3.1, revela possibilidades sintéticas diferentes das que acontecem à temperatura ambiente, uma vez que a temperatura mais elevada parece favorecer a formação de estruturas migradas e de purinas. No entanto, a temperatura não é suficiente para que a ciclização dos intermediários migrados aconteça na totalidade.

3.1.1.3 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil *N*-aril-triazole **3.1**

O caminho sintético de obtenção dos imidazolil triazoles **3.1** que consta do esquema 3.4 foi comprovado através da caracterização do intermediário **3.0**.

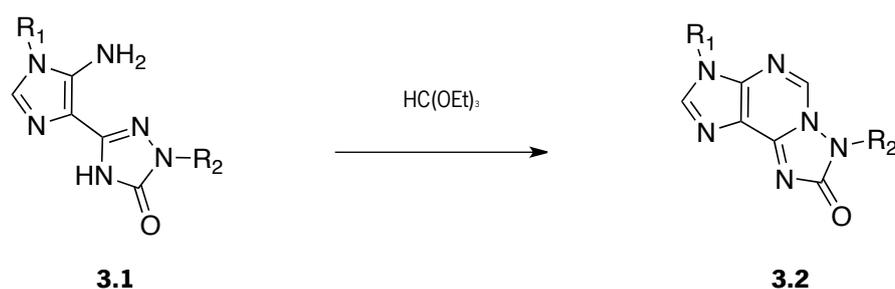


Esquema 3.4 - Proposta mecanística para a síntese de imidazolil triazoles **3.1**

Por adição de base ao intermediário **3.0**, este evoluiu para o composto **3.1**, o que comprova que a estrutura **3.0** é um intermediário da reação de obtenção de imidazolil triazoles. Com base nestes resultados foi possível propor o mecanismo apresentado no esquema 3.4. A reação tem início com a substituição do grupo ciano à qual se segue ciclização intramolecular, que envolve o átomo de nitrogênio substituído da hidrazina e o grupo etoxicarbonil, com liberação de uma molécula de EtOH.

3.2 Reação de imidazolil *N*-aril-triazoles com TEOF

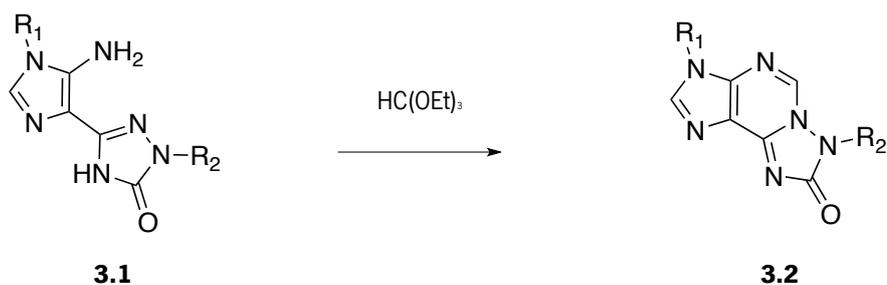
À semelhança da abordagem descrita no capítulo 2, foi avaliada a reatividade dos imidazolil triazoles **3.1** com TEOF para sintetizar estruturas com três anéis fundidos. A obtenção de estruturas deste tipo tinha sido possível a partir de imidazolil triazoles não substituídos e, desta forma, decidiu-se verificar se a reatividade destes triazoles substituídos em N-2 era equivalente à que tinha sido observada anteriormente (esquema 3.5).



Esquema 3.5 - Síntese das triazolopurinas **3.2**

3.2.1 Síntese de triazolopurinas **3.2**

A reação dos imidazolil triazoles **3.1** com TEOF conduziu à obtenção das triazolopurinas **3.2** apresentadas no esquema 3.6. As condições reacionais escolhidas para esta síntese tiveram como base os ensaios otimizados para estruturas equivalentes.



3.2.1 R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ Ar(*p*)OMe, 82%

3.2.2 R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ Ar(*p*)F, 90%

3.2.3 R₁ Ar(*p*)F; R₂ Ar(*p*)OMe, 75%

3.2.4 R₁ Ar(*p*)F; R₂ Ar(*p*)F, 79%

Esquema 3.6 – Síntese de triazolopurinas de **3.2.1** a **3.2.4**

As melhores condições reacionais ensaiadas estão registadas na tabela 3.6 e correspondem às que já tinham sido utilizadas na síntese de estruturas deste tipo.

Tabela 3.6 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas **3.2**

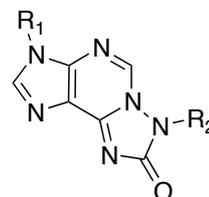
Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol HC(OEt) ₃	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	0,66	2,64	ACN (10,0 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 5 dias	3.2.1	82
2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	0,30	1,80	ACN (3,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 3 dias	3.2.2	90
3	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)OMe	0,36	2,13	ACN (3,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 3 dias	3.2.3	75
4	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)F	0,28	1,69	ACN (3,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 17 h	3.2.4	79

As reações aconteceram à temperatura ambiente, em presença de catálise ácida, e demoraram entre 17 horas a 5 dias. Os rendimentos obtidos foram bons e os sólidos obtidos estavam puros.

3.2.1.1 Caracterização das triazolopurinas **3.2**

Os sólidos isolados foram caracterizados e verificou-se que os dados obtidos através das diferentes técnicas utilizadas correspondiam aos dados de referência para estruturas parecidas.

Tabela 3.7 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas **3.2**

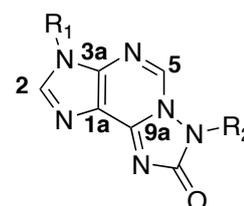


Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
3.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	> 287 ^{a)}	C ₂₀ H ₁₆ N ₆ O ₃	b)
3.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	> 286 ^{a)}	C ₁₉ H ₁₄ N ₆ FO ₂	b)
3.2.3	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)OMe	> 274 ^{a)}	C ₁₉ H ₁₄ N ₆ FO ₂	b)
3.2.4	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)F	> 305 ^{a)}	C ₁₈ H ₁₀ N ₆ F ₂ O	b)

a) Ocorre degradação; b) AE pendente (aparelho em manutenção)

A tabela 3.8 resume os desvios identificados por ¹H RMN e a tabela 3.9 para ¹³C RMN.

Tabela 3.8 - Dados de ¹H RMN e IV das triazolopurinas **3.2** (DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ / R ₂	H-2	H-5	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
3.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	8,61	8,77	7,69 (2H; d; 9,0 Hz)	7,96 (2H; d; 9,0 Hz)	3101 m, 1811 f, 1740 m, 1719 i, 1661 i, 1591 f, 1545 m, 1523 i, 1512 i
	Ar(<i>p</i>)OMe	(1H, s)	(1H, s)	7,12 (2H; d; 9,0 Hz) 3,84 (3H; s; OMe)	7,18 (2H; d; 9,0 Hz) 3,80 (3H; s; OMe)	
3.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe	8,62	8,80	7,69 (2H; d; 9,0 Hz)	8,09 (2H; dd; <i>J</i> =9,3 Hz; <i>J</i> =5,0 Hz, H _o) 7,43 (2H; t; 9,0 Hz, H _m)	3102 m, 1816 f, 1745 i, 1732 i, 1664 i, 1603 m, 1548 m, 1523 i, 1506 i
	Ar(<i>p</i>)F	(1H, s)	(1H, s)	7,19 (2H; d; 9,0 Hz) 3,84 (3H; s; OMe)		
3.2.3	Ar(<i>p</i>)F	8,67	8,79	7,88 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =5,0 Hz, H _o)	7,94 (2H; d; 9,3 Hz)	3112 m, 3087 m, 3033 m, 1809 f, 1747 m, 1729 i, 1652 i, 1591 f, 1547 f, 1522 i, 1513 i
	Ar(<i>p</i>)OMe	(1H, s)	(1H, s)	7,50 (2H; t; 9,0 Hz, H _m)	7,11 (2H; d; 9,3 Hz) 3,80 (3H; s; OMe)	

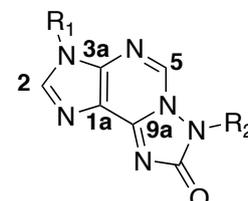
Prod.	R ₁ / R ₂	H-2	H-5	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
3.2.4	Ar(<i>p</i>)F Ar(<i>p</i>)F	8,68 (1H, s)	8,82 (1H, s)	7,84 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =5,0 Hz, Hd) 7,50 (2H; t; 9,0 Hz, Hm)	8,09 (2H; dd; <i>J</i> =9,6 Hz; <i>J</i> =5,0 Hz, Hd) 7,40 (2H; t; 9,0 Hz, Hm)	3103 m, 1884 f, 1866 f, 1745 m, 1718 i, 1665 m, 1605 m, 1550 m, 1519 i, 1510 i

Os sinais obtidos para os prótons da posição 2 do anel de imidazole surgem como singletos entre δ 8,61 e 8,68 ppm, com integração para um próton. Na forma de singlete e com integração para um próton, surgem também os sinais relativos ao próton na posição 5 do anel de purina com desvios entre δ 8,77 e 8,82 ppm. Os dados registados para os substituintes em N-1 do anel de imidazole são concordantes com os sinais identificados para estruturas de três ciclos fundidos, assim como são expectáveis os dados registados para os substituintes R₂.

Os sinais fortes detetados no espetro de IV entre 1718 e 1732 cm⁻¹ confirmam a presença do grupo carbonilo no anel de triazole.

Não foi possível caracterizar as estruturas **3.2.1** a **3.2.3** por ¹³C RMN, uma vez que não foi possível solubilizar as quantidades necessárias para a preparação da amostra. No entanto, foi possível caracterizar o composto **3.2.4**, o que permitiu validar as estruturas propostas (tabela 3.9).

Tabela 3.9 - Dados de ¹³C RMN das triazolopurinas **3.2** (DMSO-*d*₆)



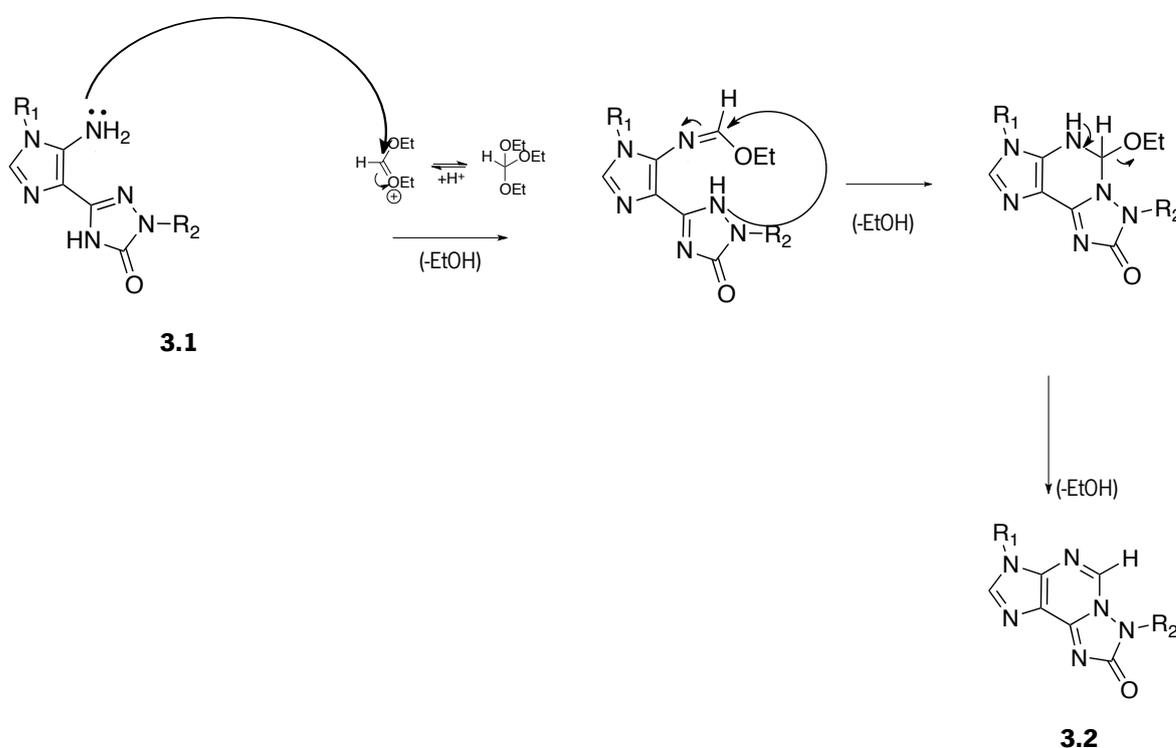
Prod.	R ₁	R ₂	C-2	C-3a	C-1a	C-9a	C-5	C=O	R ₁	R ₂
3.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	a)	a)						
3.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	a)	a)						
3.2.3	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)OMe	a)	a)						
3.2.4	Ar(<i>p</i>)F	Ar(<i>p</i>)F	141,15	140,84	119,08	137,40	137,27	145,92	161,70 (d; 240,3 Hz) (C <i>p</i>) 116,57 (d; 23,1 Hz) (C <i>m</i>) 126,64 (d; 8,9Hz) (C <i>d</i>) 130,44 (d; 2,6 Hz) (C <i>l</i>)	159,76 (d; 240,4 Hz) (C <i>p</i>), 116,12 (d; 22,9) (C <i>m</i>) 121,06 (d; 8,3 Hz) (C <i>d</i>), 133,76 (d; 2,6 Hz) (C <i>l</i>)

a) muito insolúvel na escala de ¹³C RMN

O carbono da posição 2 do anel de imidazole surge a δ 142 ppm e os sinais para C-3a, C-1a, C-9a e C-5 são observados a δ 141, 119, 137 e 137 ppm, respectivamente. Ainda foi possível atribuir os sinais para os substituintes através das correlações encontradas por HMQC e HMBC.

3.2.1.2 Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **3.2**

O mecanismo apresentado para a obtenção destas estruturas no esquema 3.7 tem correspondência com os que foram apresentados no capítulo 2 para a síntese de estruturas análogas de três anéis fundidos e a partir da mesma estratégia sintética.



Esquema 3.7 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **3.2**

A síntese da triazolopurina **3.2** acontece por condensação do grupo amino com TEOF, seguida da ciclização intramolecular com liberação de etanol..

3.3 Conclusões

Com base nos resultados referidos no capítulo anterior, foi possível explorar a reatividade do *N*-etoxicarbonilimidazole **1.2** com hidrazinas aromáticas para a obtenção de novas estruturas de imidazolil triazoles e triazolopurinas. A diversidade de compostos obtidos demonstra a reprodutibilidade das reações e valida o método de síntese destes produtos.

3.4 Parte experimental

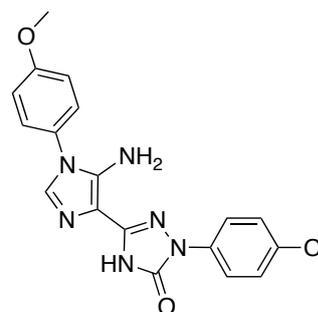
3.4.1 Síntese de imidazolil triazoles 3.1

Procedimento geral

À hidrazina substituída adicionou-se trietilamina (2,0 a 3,0 eq), excepto para **3.1.5**, em acetonitrilo (3,5 mL a 10 mL) ou DMF (1,5 mL). À mistura reacional adicionou-se o reagente **1.2** e deixou-se sob agitação à temperatura ambiente ou sob refluxo (**3.1.2**) entre duas horas e trinta e minutos a dezassete dias. O produto isolado foi lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico.

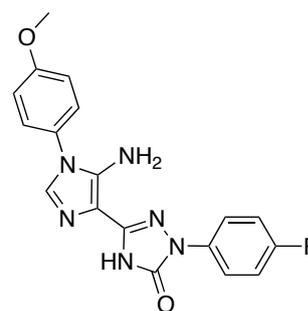
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.1**

A uma suspensão de sal de cloreto de *p*-metoxifenil-hidrazina (0,35 g; 2,00 mmol) em acetonitrilo (10 mL) foi adicionada trietilamina (0,70 mL; 5,07 mmol) e a suspensão passou de rosa claro a bege. De seguida, adicionou-se **1.2.1** (0,53 g; 1,69 mmol) e a suspensão, que ficou amarela-torrada, foi colocada no banho de ultrassons durante alguns minutos. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e duas horas e meia depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.1** (0,59 g; 1,56 mmol; 92 %).



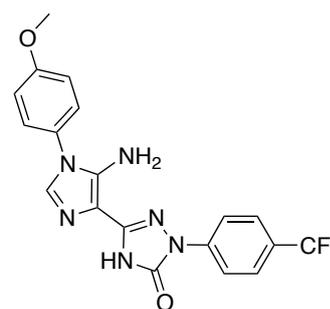
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.2**

A uma suspensão de sal de cloreto de 4-fluorofenil-hidrazina (0,14 g; 0,86 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada trietilamina (0,33 ml; 2,40 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.1** (0,25 g; 0,80 mmol) e a solução foi deixada sob refluxo em agitação. Cerca de trinta minutos depois começou a precipitar um sólido branco e fofo. Após sete horas e meia, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.2** (0,24 g; 0,66 mmol; 83 %).



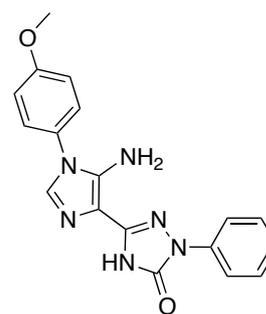
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.3**

A uma suspensão amarela de **1.2.1** (0,20 g; 0,64 mmol) em etanol (3 mL) adicionou-se a (trifluorometil)fenil-hidrazina (0,12 g; 0,70 mmol). Deixou-se a mistura reacional sob agitação à temperatura ambiente e, após um dia, a cor da suspensão havia-se alterado para bege. Ao fim de dois dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido laranja foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo uma mistura de dois compostos que foram identificados como sendo **3.1.3** e o respetivo intermediário **3.0.3**. A primeira fração recolhida foi adicionada à solução-mãe juntamente com três equivalentes de trietilamina (0,26 ml; 1,92 mmol) e deixada sob agitação à temperatura ambiente. Ao fim de treze dias sob agitação à temperatura ambiente apenas se observava uma mancha no TLC. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.3** (0,17 g; 0,41 mmol; 64 %).



3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-1-fenil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.4**

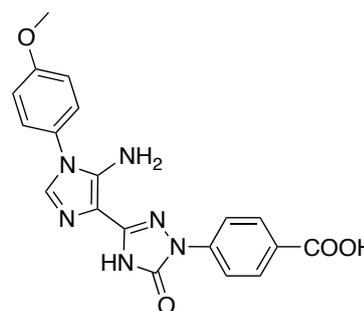
A uma suspensão de fenil-hidrazina (0,18 g; 1,66 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada trietilamina (0,23 mL; 1,66 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.1** (0,26 g; 0,83 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Após duas horas e meia, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido rosa claro foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.4** (0,18 g; 0,52 mmol; 63 %).



ácido 4-(3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)benzóico

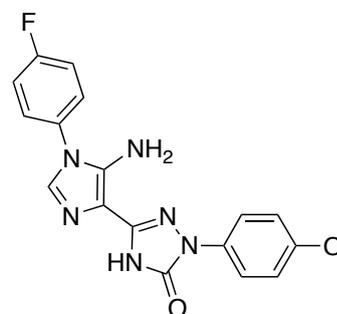
3.1.5

A uma solução de **1.2.1** (0,11 g; 0,35 mmol) em DMF (1,5 ml) adicionou-se a hidrazina benzoica (0,06 g; 0,39 mmol) e deixou-se a solução avermelhada sob agitação à temperatura ambiente. Duas horas depois começou a precipitar um sólido esbranquiçado. Após três dias do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido cinzento claro foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.5** (0,09 g, 0,23 mmol, 66 %).



3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.6**

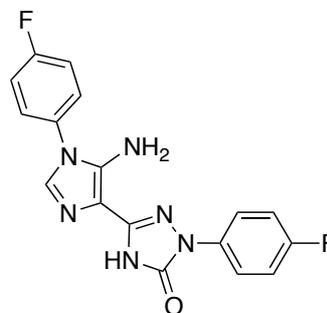
A uma suspensão de sal de cloreto de *p*-metoxifenil-hidrazina (0,17 g; 0,97 mmol) em acetonitrilo (3,5 ml) foi adicionada trietilamina (0,37 ml; 2,70 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.2** (0,27 g; 0,90 mmol) e a suspensão amarela-torrada foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Após um dia a suspensão começou a ficar esbranquiçada, e seis dias e meio depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco



foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.6** (0,25 g; 0,68 mmol; 76 %).

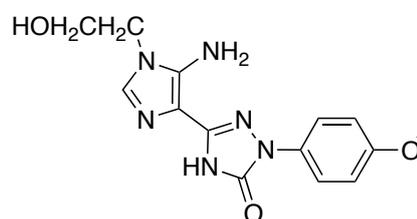
3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.7**

A uma suspensão de sal de cloreto de 4-fluorofenil-hidrazina (0,12 g; 0,74 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada trietilamina (0,27 mL; 1,98 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.2** (0,20 g; 0,66 mmol) e a suspensão amarela foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Após dezassete dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege claro foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.7** (0,12 g; 0,34 mmol; 52 %).



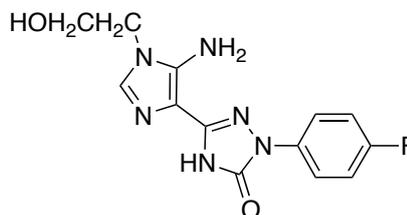
3-(5-amino-1-(2-hidroxietil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.8**

A uma suspensão de sal de cloreto de *p*-metoxifenil-hidrazina (0,08 g; 0,46 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada trietilamina (0,16 mL; 1,15 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.3** (0,12 g; 0,48 mmol) e em instantes a suspensão deu lugar a uma solução ligeiramente avermelhada que foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Após três dias começou aparecer um sólido claro em suspensão, e treze dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege claro foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.8** (0,05 g; 0,16 mmol; 35 %).



3-(5-amino-1-(2-hidroxi-etil)-1H-imidazol-4-il)-1-(4-fluorofenil)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **3.1.9**

A uma suspensão de sal de cloreto de 4-fluorofenil-hidrazina (0,07 g; 0,43 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada trietilamina (0,17 ml; 1,20 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.3** (0,10 g; 0,40 mmol) e em instantes a suspensão, que foi deixada sob agitação à temperatura ambiente, deu lugar a uma solução. Após cerca de quatro horas começou a aparecer um sólido claro e depois de onze dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido rosa claro foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.1.9** (0,03 g; 0,10 mmol; 25 %).



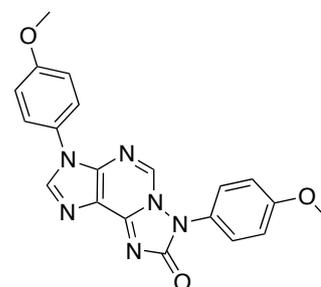
3.4.2 Síntese de triazolopurinas 3.2

Procedimento geral

A uma suspensão de **3.1** em acetonitrilo (3,5 a 10 mL) sob agitação à temperatura ambiente foi adicionado ortoformiato de etilo (4,0 a 6,0 eq) e uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Após dezassete horas a cinco dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico.

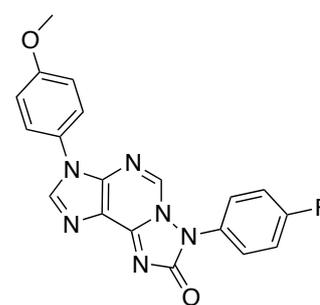
3,7-bis(4-metoxifenil)-3H-[1,2,4]triazolo[5,1-i]purin-8(7H)-ona **3.2.1**

A uma suspensão de **3.1.1** (0,25 g; 0,66 mmol) em acetonitrilo (10 mL) sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados ortoformiato de etilo (0,44 mL; 2,64 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Após cinco dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo, etanol e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.2.1** (0,21 g; 0,54 mmol; 82 %).



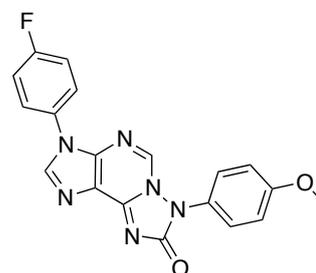
7-(4-fluorofenil)-3-(4-metoxifenil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-8(7*H*)-ona **3.2.2**

A uma suspensão de **3.2.2** (0,11 g; 0,30 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados ortoformiato de etilo (0,30 ml; 1,80 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Após três dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.2.2** (0,10 g; 0,27 mmol; 90 %).



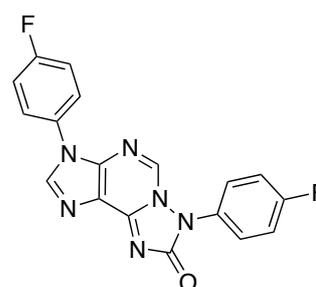
3-(4-fluorofenil)-7-(4-metoxifenil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-8(7*H*)-ona **3.2.3**

A uma suspensão de **3.1.6** (0,13 g; 0,36 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados ortoformiato de etilo (0,35 ml; 2,13 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Após três dias, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.2.3** (0,10 g; 0,27 mmol; 75 %).



3,7-bis(4-fluorofenil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-8(7*H*)-ona **3.2.4**

A uma suspensão de **3.1.7** (0,10 g; 0,28 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) sob agitação à temperatura ambiente foram adicionados ortoformiato de etilo (0,28 ml; 1,69 mmol) e uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Após cerca de dois minutos a suspensão bege clara inicial foi ficando levemente rosa e cinco minutos depois passou tudo a solução dessa cor. Em instantes começou a aparecer um sólido branco e fofo em suspensão e após dezassete horas do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **3.2.4** (0,08 g; 0,22 mmol; 79 %).



CAPÍTULO 4.

REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM HIDRAZIDAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

4. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM HIDRAZIDAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

4.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazidas

4.1.1. Síntese de imidazolil *N*-acil-triazoles e respectivos intermediários

4.1.2. Síntese de isoguaninas

4.1.3. Síntese de triazolopurinas

4.2. Reação de imidazolil triazoles com TEOF

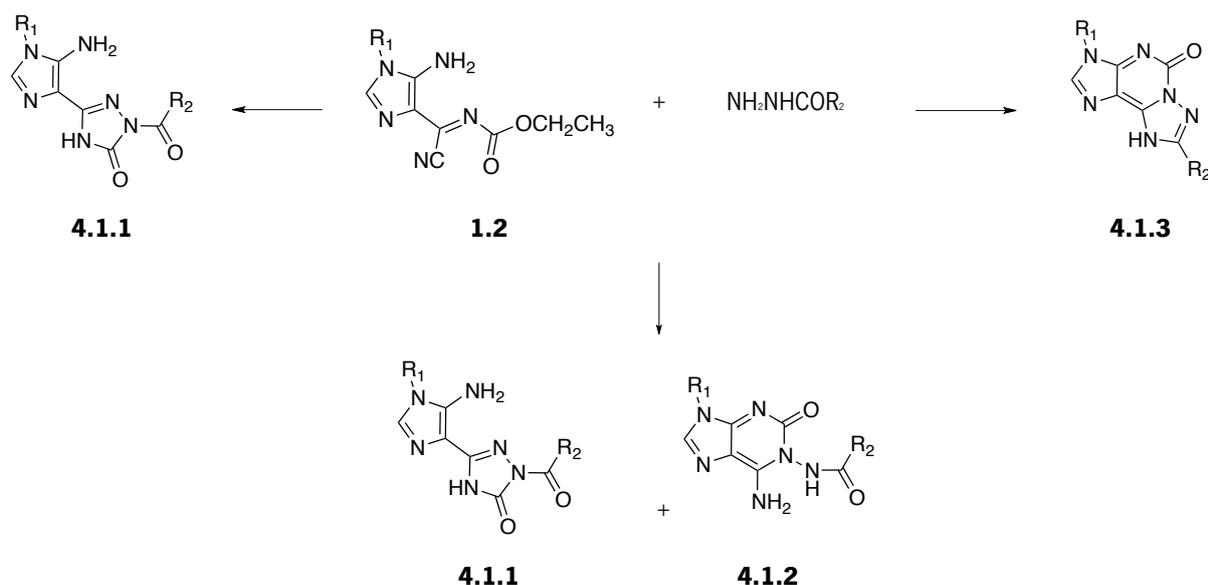
4.3. Conclusões

4.4. Parte experimental

4. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS 1.2 COM HIDRAZIDAS E POSTERIOR CICLIZAÇÃO

4.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com hidrazidas

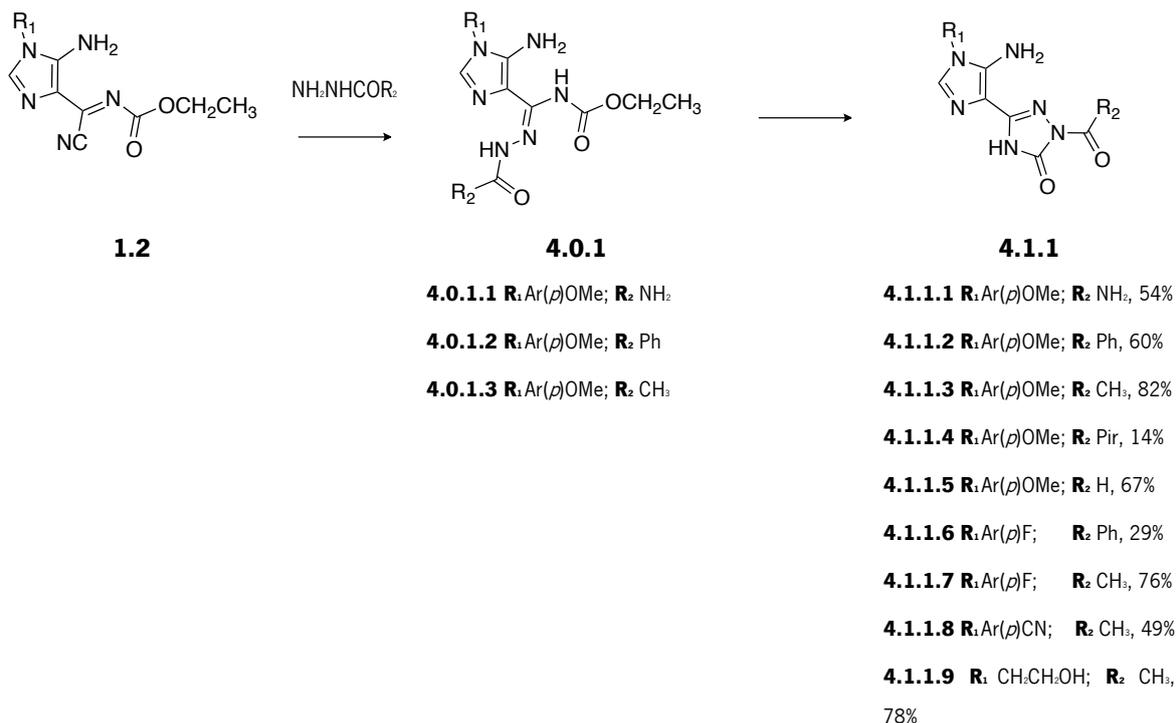
Dando continuidade ao estudo da reatividade do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2**, e após conhecimento sintético adquirido através do trabalho descrito nos capítulos anteriores, foi avaliada a reatividade do imidazole **1.2** com hidrazidas. Este trabalho implicou abordagens distintas e diversificadas, em função dos diferentes produtos obtidos para diferentes condições reacionais. Nestes estudos confirmou-se também a possibilidade do ataque nucleofílico de hidrazidas ao carbono ligado a C-4 do anel de imidazole e posterior ciclização para obtenção de imidazolil triazoles **4.1.1**. Foi também possível promover a formação de isoguaninas **4.1.2** e de estruturas tricíclicas **4.1.3**, dependendo do composto do meio reacional e da temperatura a que decorrem as reações (esquema 4.1).



Esquema 4.1 - Síntese de imidazolil *N*-acyl-triazoles **4.1.1**, de isoguaninas **4.1.2** e de 1,2,4-triazolopurinas **4.1.3**

4.1.1. Síntese de imidazolil *N*-acil-triazoles e respetivos intermediários

A introdução de um grupo acilo em N-2 do triazole foi possível através da reação do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** com hidrazidas. Durante os diferentes testes efetuados foi possível isolar o intermediário **4.0.1**, como está descrito no esquema 4.2. Foram avaliadas as condições experimentais que permitiram isolar as estruturas **4.1.1**, nomeadamente a composição do meio e a temperatura.



Esquema 4.2 – Síntese dos imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1.1** a **4.1.1.9**

Na tabela 4.1 estão descritas as melhores condições reacionais e alguns testes que revelaram interesse para o estudo do mecanismo da reação. Estas condições são as que revelam mais interesse no estudo do mecanismo e da reatividade dos reagentes e incluem as reações que permitiram a obtenção de melhores resultados, quer na razão de produto obtido, quer em tempo de reação.

Tabela 4.1 - Condições experimentais para a síntese de imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η ^{el} (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	0,35	0,36	CH ₃ CN (5,0 mL), Et ₃ N (45 eq), ta, 3 dias	4.1.1.1	54
2	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	1,69	1,85	CH ₃ CN (5,0 mL), Et ₃ N (2,0 eq), ta, 3 dias	4.0.1.1 + 4.1.1.1 (53% + 47%)	42
3	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	0,36	0,40	DMF/H ₂ O (4,0:1,0 mL), K ₂ CO ₃ (1,1 eq), ta, 20 dias	4.1.1.1	46
4	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,43	0,47	DMF (0,5 mL), ta, 3 dias	4.0.1.2	38
5	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	1,48	1,63	i) CH ₃ CN/EtOH (4,0:2,0 mL), ta, 11 dias ii) Solução-mãe, CH ₃ CN (2,0 mL), DBU (1 gota), ta, 1 mês	4.1.1.2 + 2.1.1.1 (88% + 12%)	51
6	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,48	0,52	i) EtOH (3,0 mL), Et ₃ N (4,0 eq), ta, 5 dias ii) 40°C, 1 dia	4.1.1.2 + 2.1.1.1 (72% + 28%)	33
7	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,67	0,73	CH ₃ CN seco (8,0 mL), DBU (1 gota), refluxo, 6h30 min	4.1.1.2 + 2.1.1.1 (72% + 28%)	60
8	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,82	0,91	CH ₃ CN (5,0 mL), ta, 15 dias	4.0.1.3 + 4.1.1.3 (77% + 23%)	58
9	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	1,41	1,56	CH ₃ CN (5,0 mL), ta, 1 mês	4.0.1.3 + 4.1.1.3 (76% + 24%)	58
10	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,74	0,81	CH ₃ CN (3,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 7 dias	4.1.1.3	82
11	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	0,42	0,44	CH ₃ CN (3,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 6 dias	4.1.1.4 + 2.1.1.1 (23% + 77%)	15
12	Ar(<i>p</i>)OMe	H	0,48	0,53	CH ₃ CN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 3 dias	4.1.1.5 + 2.1.1.1 (64% + 36%)	38
13	Ar(<i>p</i>)OMe	H	0,48	0,53	CH ₃ CN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), 8,5° C, 2 dias	4.1.1.5 + 2.1.1.1 (85% + 15%)	67
14	Ar(<i>p</i>)F	Ph	0,86	0,95	CH ₃ CN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 1 mês e 24 dias	4.1.1.6 + 2.1.1.2 (40% + 60%)	29
15	Ar(<i>p</i>)F	CH ₃	0,70	0,81	CH ₃ CN (3,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 1 dia	4.1.1.7	76

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η ^{al} (%)
16	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	0,39	0,41	CH ₃ CN (3,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 8 dias	4.1.1.8	49
17	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	0,36	0,41	CH ₃ CN (3,5 mL), Et ₃ N (3,0 eq), ta, 2 dias e meio	4.1.1.9	78

a) O rendimento foi calculado com base na quantidade de imidazolil *N*-acil-triazole **4.1.1**.

O estudo com hidrazinas deu indicação de que o meio básico seria necessário para que a reação acontecesse. Esse foi o meio escolhido para a maioria das reações, no entanto, nas entradas 4, 8 e 9 foi avaliada a possibilidade da reação ter início sem a adição de base. Verificou-se, nos três casos, que o ataque nucleofílico da hidrazina ao carbono ligado a C-4 do anel de imidazole acontecia, uma vez que se identificaram as estruturas **4.0.1.2** e **4.0.1.3** como compostos intermediários da reação de síntese dos triazoles. No caso das entradas 8 e 9, para a reação de **1.2.1** com a hidrazina acética, a reação evoluiu para a estrutura **4.1.1.3**, mas não foi possível observar a conversão da totalidade do intermediário em triazole, mesmo com tempos de reação bastante longos. No caso da hidrazida benzoica, entrada 4, a síntese de triazole não chegou a acontecer e a obtenção da estrutura **4.1.1.2** apenas aconteceu quando se adicionou base ao meio reacional (entrada 5). Esta reação teve início sem adição de base, mas uma vez que por TLC não se verificava a formação do triazole, adicionou-se uma quantidade catalítica de DBU. Esta alteração permitiu a formação de **4.1.1.2** mas, em simultâneo, observou-se a formação da estrutura **2.1.1.1**, produto da clivagem do grupo acilo ligado a *N*-2 do anel de triazole. Na tentativa de evitar a formação de **2.1.1.1**, optou-se por uma base mais fraca, a trietilamina, que evidenciava bons resultados noutros ensaios. Na entrada 6 verifica-se que o recurso a esta base não foi suficiente para que se verificasse a ciclização intramolecular completa, que só se observou com o aumento da temperatura para os 40° C. Ainda assim, a obtenção de produto clivado foi inevitável, tal como aconteceu a temperaturas mais elevadas, mesmo utilizando condições anidras e diminuindo o tempo da reação, na tentativa de evitar o produto indesejado (entrada 7).

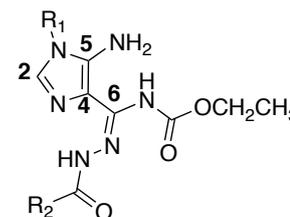
O efeito do substituinte R₂ revela-se determinante na obtenção de imidazolil triazoles **2.1.1**, pois a facilidade de clivagem do acilo depende da natureza do grupo abandonante que se forma. Assim, verifica-se que quando R₂ = NH₂ ou CH₃, não se identifica a formação de **2.1.1**, até mesmo quando se recorre a meio aquoso para dissolução da base utilizada (entrada 3). A estabilidade de **4.1.1.3** foi testada num refluxo em DMSO e verificou-se que, mesmo após uma hora, não se observava a formação da estrutura clivada, isolando-se o reagente de partida.

4.1.1.1. Caracterização dos imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1** e respetivos intermediários **4.0.1**

Os intermediários **4.0.1.1** e **4.0.1.3** foram identificados em misturas com o triazole e, apesar do intermediário **4.0.1.2** ter sido isolado sozinho, não foi possível proceder à caracterização por IV ou AE, uma vez que a amostra estava contaminada com DMF. Estas estruturas **4.0.1.1**, **4.0.1.2** e **4.0.1.3** foram caracterizadas por ¹H RMN e os dados estão registados na tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Dados de ¹H RMN dos intermediários acilados **4.1.1**

(DMSO-*d*₆)

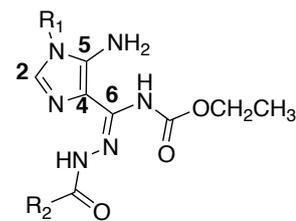


Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	NH	OCH ₂ CH ₃	R ₁	R ₂
4.0.1.1 1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	7,22 (1H, s)	6,24 (2H, s)	8,66 (1H, s)	8,82 (1H, s)	4,07 (2H; q; 6,9 Hz) 1,20 (3H; t; 6,9 Hz)	7,39 (2H; d; 9,0 Hz <i>H</i> _d) 7,11 (2H; d; 8,7 Hz, <i>H</i> _m) 3,80 (3H; s; OMe)	5,51 (2H, s)
4.0.1.2 2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	7,31 (1H, s)	6,18 (2H, s)	9,36 (1H, s)	11,0 (1H, s)	4,18 (2H; q; 6,9 Hz) 1,25 (3H; t; 7,1 Hz)	7,42 (2H; d; 8,7 Hz <i>H</i> _d) 7,12 (2H; d; 8,7 Hz, <i>H</i> _m) 3,81 (3H; s; OMe)	7,83 (2H; d; 6,9 Hz) 7,54 (1H, m) 7,48 (2H, m)
4.0.1.3 3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	7,25 (1H, s)	6,00 (2H, s)	8,91 (1H, s)	10,32 (1H, s)	4,08 (2H; q; 6,9 Hz) 1,21 (3H; t; 7,1 Hz)	7,39 (2H; d; 9,0 Hz <i>H</i> _d) 7,10 (2H; d; 8,7 Hz, <i>H</i> _m) 3,81 (3H; s; OMe)	1,94 (3H, s)

Na tabela 4.2 destaca-se a presença de um padrão constante para o sinal do protão ligado ao carbono 2 do anel de imidazole, que se apresenta como singlete entre δ 7,22 e 7,31 ppm. A mesma reprodutibilidade é encontrada para os sinais dos dois protões do grupo NH₂ ligado ao carbono 5 do anel de imidazole, que apresentam desvios entre δ 6,00 e 6,24 ppm. Os sinais mais altos correspondem aos protões NH da unidade amidrazona representada ou, eventualmente, a uma forma tautomérica desta unidade.

Foi possível confirmar as estruturas propostas através da caracterização por ¹³C RMN (tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Dados de ^{13}C RMN dos intermediários acilados **4.0.1** (DMSO- d_6)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O OCH ₂ CH R ₂	C=O R ₂	R ₁	R ₂
4.0.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	129,47	113,76	138,26	134,85	153,76 61,67 14,29	143,95	158,89 (C <i>p</i>), 126,29 (C <i>d</i>), 55,51 (OMe)	114,91 (C <i>m</i>), 127,58 (C <i>i</i>)
4.0.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	129,86	112,30	140,68	139,91	154,02 60,82 14,41	161,94	158,97 (C <i>p</i>), 126,24 (C <i>d</i>), 55,52 (OMe)	114,94 (C <i>m</i>) 128,57 (C <i>i</i>) 127,11; 133,66
4.0.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	129,58	113,71	139,91	138,29	153,44 60,85 14,36	164,66	158,87 (C <i>p</i>), 126,09 (C <i>d</i>), 55,52 (OMe)	114,91 (C <i>m</i>) 127,55 (C <i>i</i>) 21,46

Através de correlações obtidas por HMQC e HMBC foi possível confirmar a atribuição das estruturas apresentadas como intermediários.

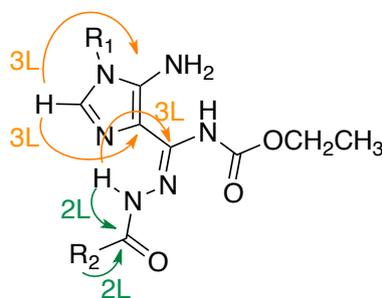


Figura 4.1 - Correlações registadas em HMBC para as estruturas **4.0.1**

Os carbonos do anel de imidazole apresentam sinais característicos, verificando-se que o sinal do carbono 2 surge por volta de δ 129 ppm. O hidrogénio ligado a este carbono correlaciona com C-4 e com C-5 a duas ligações e com C-2 a uma ligação. Assim, o sinal do carbono 4 está entre δ 112 e 113 ppm e o do carbono 5 entre δ 138 e 140 ppm. O sinal do carbono ligado ao anel de imidazole em C-4 apresenta desvios químicos entre δ 134 e 139 ppm. O protão ligado ao nitrogénio da unidade de hidrazida incorporada estabelece correlações a duas ligações com este carbono e a três ligações com o carbono do grupo carbonilo ligado a R₂. O sinal do carbono deste grupo carbonilo observado a δ 144

ppm para **4.0.1.1** e entre δ 162 e 165 ppm para **4.0.1.2** e **4.0.1.3**, é confirmado pela correlação a duas ligações dos hidrogénios dos substituintes em R₂.

As estruturas **4.1.1** foram igualmente identificadas e caracterizadas para comprovação das propostas apresentadas e os dados físicos e analíticos estão registados na tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Dados físicos e analíticos para os imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1**



Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
4.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	>298 ^{a)}	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₃	49,21; 4,24; 31,02 (49,52; 4,13; 31,11)
4.1.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	c)	C ₁₉ H ₁₆ N ₆ FO ₂	c)
4.1.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	>258 ^{a)}	C ₁₄ H ₁₄ N ₆ O ₃	53,72; 4,50; 26,45 (53,50; 4,45; 26,75)
4.1.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	c)	C ₁₈ H ₁₅ N ₇ O ₃	c)
4.1.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe	H	c)	C ₁₃ H ₁₂ N ₆ O ₃	c)
4.1.1.6	Ar(<i>p</i>)F	Ph	c)	C ₁₈ H ₁₃ N ₆ FO ₂	c)
4.1.1.7	Ar(<i>p</i>)F	CH ₃	>315 ^{a)}	C ₁₃ H ₁₁ N ₆ FO ₂ ·0,18H ₂ O	51,10; 3,64; 27,75 (51,66; 3,64; 27,81)
4.1.1.8	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	>291 ^{a)}	C ₁₄ H ₁₁ N ₇ O ₂	d)
4.1.1.9	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	264,3- 267,9	C ₉ H ₁₂ N ₆ O ₃	253,1055 ^{b)} (253,1049)

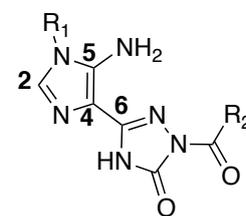
a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺; c) A amostra corresponde a uma mistura; d) AE pendente (aparelho em manutenção)

O facto da clivagem do grupo acilo ter acontecido em quase todas as situações levou ao isolamento de misturas, o que não permitiu a caracterização de alguns imidazolil triazoles por determinação do ponto

de fusão ou por análise elementar. Ainda assim, foi possível a caracterização por ^1H , ^{13}C RMN e correlações por HMQC e HMBC e os resultados estão apresentados na tabela 4.5 e na tabela 4.6.

Tabela 4.5 - Dados de ^1H RMN e IV dos imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1**

(DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
4.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	7,44 (1H, s)	5,62 (2H, s)	12,80 – 11,20 (1H, sl)	7,44 (2H; d; 8,1 Hz <i>H_d</i>) 7,11 (2H; d; 8,7 Hz, <i>H_m</i>) 3,81 (3H; s; OMe)	7,68 (1H, s) 7,41 (1H, s)	3584 m, 3376 i, 3308 i, 3224 i, 3112 i, 2748 i, 2046 i, 1907 f, 1746 i, 1717 i, 1632 i, 1604 i, 1576 i, 1520 i
4.1.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	7,46 (1H, s)	5,48 (2H, s)	12,37 (1H, sl)	7,42 (2H; d; 9,0 Hz <i>H_d</i>) 7,12 (2H; d; 9,0 Hz, <i>H_m</i>) 3,80 (3H; s; OMe)	7,81 (2H; d; <i>H_d</i>) 7,59 (1H; t; 7,5 Hz, <i>H_p</i>) 7,47 (2H; t; 7,5 Hz, <i>H_m</i>)	a)
4.1.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	7,45 (1H, s)	5,61 (2H, s)	12,31 (1H, sl)	7,43 (2H; d; 8,7 Hz <i>H_d</i>) 7,12 (2H; d; 9,0 Hz, <i>H_m</i>) 3,82 (3H; s; OMe)	2,46 (3H, s)	3414 i, 3288 i, 3183 m, 3145 m, 3110 i, 2741 m, 2048 f, 1893 f, 1741 i, 1703 i, 1617 i, 1576 m, 1522 m
4.1.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe Pir	7,47 (1H, s)	5,48 (2H, s)	12,42 (1H, s)	7,42 (2H; d; 9,0 Hz) 7,11 (2H; d; 9,0 Hz) 3,81 (3H; s; OMe)	8,79 (2H; d; 6,0 Hz) 7,81 (2H; d; 6,3 Hz)	a)
4.1.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe H	7,48 (1H, s)	5,68 (2H, s)	12,46 (1H, sl)	7,42 (2H; d; 9,0 Hz <i>H_d</i>) 7,12 (2H; d; 8,7 Hz, <i>H_m</i>) 3,81 (3H; s; OMe)	8,93 (1H, s)	a)
4.1.1.6	Ar(<i>p</i>)F Ph	7,47 (1H, s)	5,57 (2H, s)	12,38 (1H, sl)	7,56 (2H; dd; <i>J</i> =8,7 Hz; <i>J</i> =5,1 Hz <i>H_d</i>) 7,40 (2H; t; 9,0 Hz <i>H_m</i>)	7,92 (2H; d; 7,2 Hz, <i>H_d</i>) 7,80 (2H; t; 7,2 Hz, <i>H_m</i>) 7,60 (1H; m)	a)
4.1.1.7	Ar(<i>p</i>)F CH ₃	7,51 (1H, sl)	5,70 (2H, s)	12,31 (1H, sl)	7,58 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz <i>H_d</i>) 7,43 (2H; t; 8,9 Hz <i>H_m</i>)	2,47 (3H, s)	3414 m, 3285 i, 3181 f, 3152 f, 3108 i, 2773 m, 2744 m, 2683 m, 1903 f, 1756 i, 1698 i, 1660 f, 1600 i, 1578 m, 1521 m
4.1.1.8	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	7,65 (1H, s)	5,84 (2H, s)	.	8,08 (2H; d; 6,6 Hz <i>H_d</i>) 7,78 (2H; d; 6,6 Hz <i>H_m</i>)	2,47 (3H, s)	3417 m, 3292 m, 3107 m, 2231 f, 1753 i, 1696 i, 1617 i
4.1.1.9	CH ₂ CH ₂ OH CH ₃	7,25 (1H, s)	5,65 (2H, sl)	12,15 (1H, sl)	3,91 (2H; t; 5,1 Hz) 3,64 (2H; t; 5,1 Hz) 5,00 (1H; sl; OH)	2,45 (3H; s)	3369 m, 3303 f, 3110 f, 1743 i, 1689 i, 1628 m, 1610 m, 1585 f

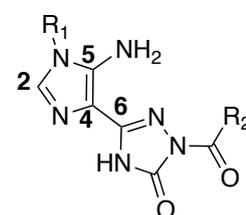
a) A amostra corresponde a uma mistura

Os sinais registados para os produtos identificados reproduzem um padrão entre elas e a confiança na proposta de estruturas apresentada é corroborada pelo facto deste padrão ser análogo àquele que se registou para os imidazolil triazoles **3.1**. Para o protão ligado a C-2 do anel de imidazole os sinais singlete a integrar para um protão estão entre δ 7,25 e 7,51 ppm. O singlete relativo aos dois protões do grupo NH₂ apresenta desvios químicos entre δ 5,48 e 5,69 ppm e o singlete do protão ácido no anel de triazole apresenta desvios químicos por volta dos δ 12 ppm. Os restantes dados registados para os substituintes são consistentes com outras estruturas sintetizadas com os mesmos substituintes.

Na análise do espetro de IV dos compostos que foram obtidos puros são identificados a bandas intensas correspondentes aos grupos carbonilo entre 1698 e 1756 cm⁻¹.

Tabela 4.6 - Dados de ¹³C RMN dos imidazolil *N*-acil-triazoles

4.1.1.1 (DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	C=O R ₂	R ₁	R ₂
4.1.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	131,63	105,79	140,02	144,00	152,94	149,82	159,21 (<i>Cp</i>) 114,99 (<i>Cm</i>) 126,67 (<i>Cd</i>) 127,09 (<i>Cl</i>) 55,59 (OMe)	-
4.1.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	131,97	105,82	140,47	145,70	152,33	165,10	159,19 (<i>Cp</i>) 114,95 (<i>Cm</i>) 126,50 (<i>Cd</i>) 126,92 (<i>Cl</i>) 55,56 (OMe)	132,11 (<i>d</i>) (<i>Cp</i>) 127,83 (<i>d</i>) (<i>Cm</i>) 129,49 (<i>d</i>) (<i>Cd</i>) 133,39 (<i>C</i>)
4.1.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	b)							
4.1.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe Pir	a)							
4.1.1.5	Ar(<i>p</i>)OMe H	a)							
4.1.1.6	Ar(<i>p</i>)F Ph	a)							
4.1.1.7	Ar(<i>p</i>)F CH ₃	131,85	105,95	140,36	145,67	152,57	165,87	161,68 (<i>d</i> ; 243,9 Hz) (<i>Cp</i>) 116,70 (<i>d</i> ; 22,9 Hz) (<i>Cm</i>) 127,42 (<i>d</i> ; 8,9 Hz) (<i>Cd</i>) 130,66 (<i>d</i> ; 2,7 Hz) (<i>Cl</i>)	23,47

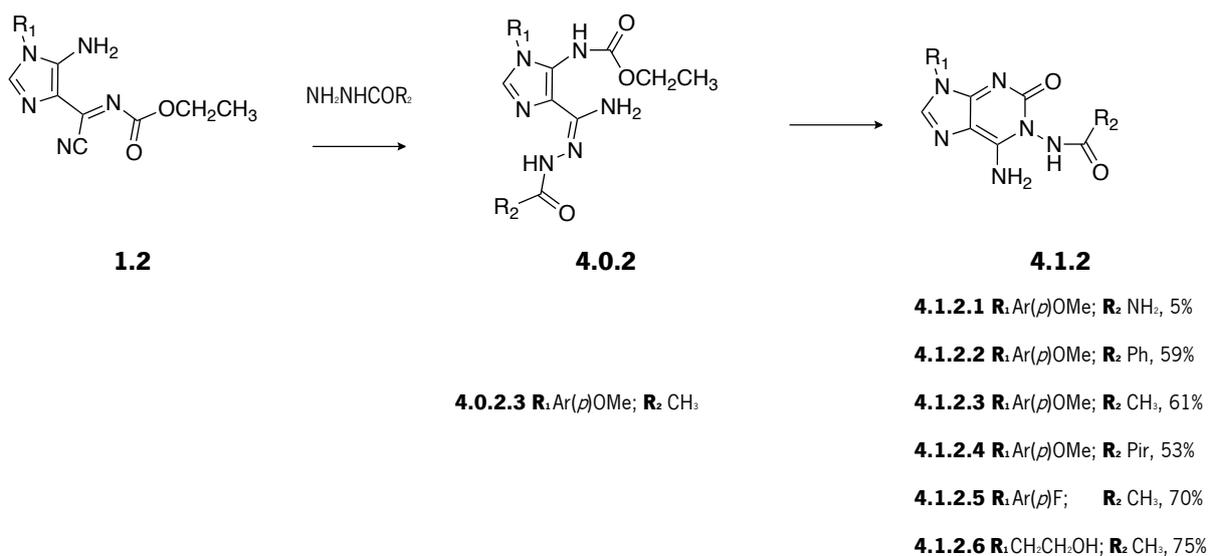
Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	C=O R ₂	R ₁	R ₂
4.1.1.8	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	b)							
4.1.1.9	CH ₂ CH ₂ OH CH ₃	132,38	105,37	140,71	145,76	152,45	165,90	59,59 (CH ₂ O), 45,61(CH ₂ N)	23,48

a) A amostra corresponde a uma mistura; b) Muito insolúvel na escala de ¹³C RMN

A análise dos sinais encontrados por ¹³C RMN também revela um padrão condizente com o que foi identificado para as estruturas **3.1**. Nas estruturas que foi possível caracterizar por HMQC e HMBC, observaram-se sinais entre δ 131 e 132 ppm para o carbono 2 do anel de imidazole. Os carbonos 4 e 5 apresentam, respetivamente, sinais por volta dos δ 105 e dos 140 ppm. O carbono identificado com a numeração 6 apresenta sinais entre δ 144 e 145 ppm, enquanto que o grupo carbonilo do anel de triazole apresenta sinais por volta dos δ 152 ppm e o grupo carbonilo exterior ao anel apresenta desvios químicos entre os δ 145 e 165 ppm.

4.1.2. Síntese de isoguaninas

O estudo da reatividade dos imidazoles **1.2** com hidrazidas permitiu desvendar caminhos sintéticos intimamente relacionados com a temperatura a que as reações decorrem. Apesar de ser um caminho sintético que se revela pouco seletivo na maioria dos casos, a análise da influência da temperatura na reatividade destes compostos mostrou uma via alternativa na qual se observa a migração do grupo etoxicarbonilo ligado ao nitrogénio imínico para se ligar ao nitrogénio do grupo 5-amino do anel de imidazole.



Esquema 4.3 – Síntese das isoguaninas 4.1.2.1 a 4.1.2.6

O isolamento das isoguaninas **4.1.2** exigiu a realização de vários testes, dos quais se destacam os que se encontram na tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas **4.1.2**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η ^{a)} (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	0,61	0,63	CH ₃ CN (6,0 mL), Et ₃ N (3,0 eq), refluxo, 5 h	4.1.1.1 + 2.1.1.1 + 4.1.2.1 (61%+26%+13%) 1F Et₃N.HCl 2F	5
2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,80	0,88	CH ₃ CN seco (6,0 mL), refluxo, 9h30 min	4.1.2.2	59
3	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,70	0,77	EtOH (10,0 mL), refluxo, 2 h	4.1.2.2	13
4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,95	1,05	EtOH (8,0 mL), refluxo, 1 h	4.1.1.3 1F 4.0.1.3 + 4.0.2.3 (54% + 46%) 2F 4.0.2.3 + 4.1.2.3 (92% + 8%) 3F	1

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazina	Condições	Produto	η ^{a)} (%)
5	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	1,07	1,17	EtOH (60,0 mL), refluxo, 7h30 min	4.1.2.3 + 4.1.1.3 (62% + 38%) 1F 4.0.2.3 + 4.1.2.3 (27% + 73%) 2F	61
6	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,58	0,64	EtOH (70,0 mL), refluxo, 2 dias	4.1.2.3 + 4.1.1.3 (83% + 17%) 1F 4.1.2.3 2F, 3F, 4F	34
7	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,50	0,55	CH ₃ CN (70,0 mL), refluxo, 6h30 min	4.1.2.3 + 4.1.1.3 (88% + 12%) 1F 4.0.2.3 + 4.1.2.3 + 4.1.1.3 (4% + 77% + 19%) 2F	47
8	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,92	1,01	CH ₃ CN (70,0 mL), refluxo, 3 dias e meio	4.1.2.3 + 4.1.1.3 (72% + 28%)	61
9	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	0,90	0,99	CH ₃ CN (70,0 mL), refluxo, 8 h	4.1.2.4	53
10	Ar(<i>p</i>)F	CH ₃	0,63	0,68	CH ₃ CN (70,0 mL), refluxo, 2 dias	4.1.2.5 + 4.1.1.5 (95% + 5%)	67
11	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	0,32	0,41	CH ₃ CN (65,0 mL), refluxo, 14 h	4.1.2.6 + 4.1.1.6 (87% + 13%)	75

a) Rendimento calculado com base na quantidade de produto **4.1.2** obtido.

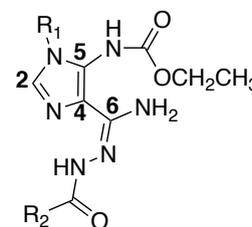
Nos ensaios realizados com o cloridrato de semi-carbazida (R₂ = NH₂) foi necessário fazer uma neutralização prévia em meio básico, uma vez que a hidrazida foi utilizada na forma de sal. A obtenção da isoguanina **4.1.2.1** aconteceu numa proporção residual quando o refluxo teve a duração de 5 h (entrada 1). Esta reação foi interrompida quando, por TLC, se verificou que não havia reagente de partida, no entanto, era possível observar mais do que uma mancha que indicava a obtenção de uma mistura. Neste caso a utilização de base favoreceu o caminho da formação do triazole e infere-se que a temperatura elevada pelo refluxo é responsável pela clivagem do grupo acilo e consequente formação de **2.1.1.1**. Na reação de **1.2.1** com hidrazida benzoica (entradas 2 e 3), verifica-se que a síntese da purina **4.1.2.2** foi seletiva. Neste caso não se usou base e, apesar das temperaturas elevadas, não se registou a formação dos imidazolil triazoles. A escolha do solvente não afetou a seletividade, mas revelou-se essencial na recuperação do produto precipitado. Apesar da reação ter sido mais rápida em etanol, o

produto foi mais solúvel neste meio e o rendimento foi mais baixo. Também foi possível encontrar esta seletividade na reação com a hidrazida $R_2 = \text{Pir}$. As condições foram parecidas, tendo-se recorrido a um maior volume de solvente, uma vez que se colocava em questão se a quantidade de solvente poderia definir o caminho sintético da reação. Assim, conclui-se que o volume de solvente não foi um fator determinante, uma vez que, tanto para volumes menores (entrada 2) como para volumes maiores (entrada 9) isola-se apenas o produto pretendido. Na entrada 4 está descrita uma reação que, apesar de apresentar um rendimento sem significado, foi uma reação essencial na percepção do mecanismo da reação. Na tentativa de isolar os intermediários da reação, este ensaio foi interrompido logo que por TLC se detetou a ausência de reagente de partida. Na primeira fração apenas se recolheu o imidazolil triazole **4.1.1.3**, uma vez que este tipo de compostos tem uma solubilidade inferior à dos intermediários. Nas duas últimas frações foi possível isolar o intermediário **4.0.2.3** juntamente com o intermediário **4.0.1.3**, identificado na secção anterior. Verifica-se uma proporção significativa de intermediário **4.0.2.3**, em relação aos resultados obtidos nas entradas 5 e 7, possivelmente porque esta reação foi interrompida apenas após uma hora do início do refluxo, enquanto que nas outras duas as reações estiveram sob refluxo durante 7h30 min e 6h30 min, respetivamente. Na entrada 5, apesar de ter havido um aumento do aumento do tempo de refluxo e do volume de etanol permitiram ainda isolar o intermediário **4.0.2.3**, embora numa proporção muito menor. No entanto, já não se isola o intermediário **4.0.1.3**, uma vez que este deve ter-se convertido totalmente em **4.1.1.3**, confirmando que o triazole é o produto cinético da reação. Estes resultados demonstram que a ausência do meio básico não promove a formação do imidazolil triazole **2.1.1.1** e nem mesmo as temperaturas elevadas fazem com que se verifique a clivagem do grupo acilo, como aconteceu nas reações com a semi-carbazida. Verifica-se ainda que o aumento do volume de solvente e de tempo de refluxo (entrada 6) permitiram obter uma proporção superior de purina. Apesar do rendimento ser inferior ao da entrada 5, uma vez que a solubilidade do imidazolil triazole é mais baixa, pode admitir-se que a isoguanina poderá ter ficado em solução. Quando se analisam as entradas 7 e 8, no que se refere ao tempo de reação, verifica-se que após 6,5 horas de reação ainda se identifica a presença do intermediário **4.0.2.3**, mas após 3 dias e meio de reação apenas é isolada uma mistura de **4.1.2.3** e **4.1.1.3**. Relativamente ao efeito do solvente, verifica-se que o recurso ao ACN permitiu a obtenção de proporções de isoguanina superiores, mas, ainda assim, o caminho de síntese da isoguanina $R_2 = \text{CH}_3$ não foi seletivo. O mesmo se verificou quando $R_1 = \text{Ar}(p)\text{F}$ ou $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ nas entradas 10 e 11.

4.1.2.1. Caracterização das isoguaninas **4.1.2** e respetivo intermediário **4.0.2**

O intermediário **4.0.2.3** isolado nas reações que decorreram com a hidrazida acética foi caracterizado por espectroscopia de ^1H RMN e os dados obtidos estão resumidos na tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Dados de ^1H RMN do intermediário **4.0.2.3** (DMSO- d_6)

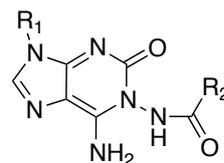


Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	NH	OCH ₂ CH ₃	R ₁	R ₂
4.0.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	7,82 (1H, s)	6,16 (2H, s)	9,58 (1H, s)	8,71 (1H, sl)	3,92 (2H; q; 6,6 Hz) 1,21 (3H; t; 7,2 Hz)	7,39 (2H; d; 8,7 Hz, H d) 7,10 (2H; d; 9,0 Hz, H m) 3,80 (3H; s; OMe)	2,03 (3H, s)

A estrutura foi identificada numa mistura com o intermediário **4.0.1.3** previamente identificado. O sinal do protão ligado a C-2 é registado a δ 7,82 ppm e o sinal registado a δ 6,16 ppm integra para os dois protões do grupo NH₂. Verifica-se a presença de um singlete a δ 9,58 ppm, que poderá corresponder ao protão N-H ligado a C-5 do anel de imidazole. Este desvio mais alto poderá indicar uma eventual ligação por ponte de hidrogénio ao nitrogénio ligado a C-6.

Não foi possível caracterizar esta estrutura por AE, pf ou IV, uma vez que foi obtida numa mistura com outra estrutura conhecida e com vestígios de outras espécies detetadas na linha de base. A complexidade da mistura não permitiu a caracterização por ^{13}C RMN.

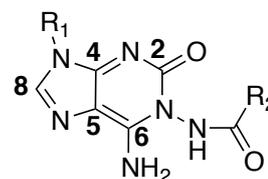
As isoguaninas **4.1.2** isoladas puras foram completamente caracterizadas por ponto de fusão e análise elementar, cujos dados estão apresentados na tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas**4.1.2**

Produto	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores (calculados) C; H; N (%)	obtidos
4.1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	NH ₂	c)	C ₁₃ H ₁₃ N ₆ O ₃	c)	
4.1.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	267,5 – 269,1	C ₁₉ H ₁₆ N ₆ O ₃ ·0,33H ₂ O	59,70; 4,22; 21,78 (59,70; 4,36; 21,99)	
4.1.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	>288 ^{a)}	C ₁₄ H ₁₄ N ₆ O ₃ ·0,37H ₂ O	52,38; 4,49; 26,21 (52,39; 4,60; 26,19)	
4.1.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	>267 ^{a)}	C ₁₈ H ₁₅ N ₆ O ₃ ·0,44H ₂ O	56,11; 4,27; 25,30 (56,11; 4,13; 25,46)	
4.1.2.5	Ar(<i>p</i>)F	CH ₃	c)	C ₁₃ H ₁₁ N ₆ FO ₂	303,1009 ^{b)} (303,1006)	
4.1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH	CH ₃	c)	C ₉ H ₁₂ N ₆ O ₃	c)	

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺; c) A amostra corresponde a uma mistura

Para as isoguaninas que foram isoladas em misturas com outros compostos só foi possível proceder à caracterização por ¹H RMN e ¹³C RMN. Apresentam-se na tabela 4.10 os dados da caracterização por ¹H RMN e na tabela 4.11 os dados da caracterização por ¹³C RMN.

Tabela 4.10 - Dados de ¹H RMN e IV das isoguaninas **4.1.2**(DMSO-*d*₆)

Prod.	R ₁ /R ₂	H-8	NH ₂	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
4.1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	8,06 (1H, s)	8,35 (1H, s) 8,58 (1H, sl)	11,03 (1H, s)	7,67 (2H; d; 9,0 Hz <i>H_d</i>) 7,07 (2H; d; 9,0 Hz, <i>H_m</i>) 3,80 (3H; s; OMe)	7,46 (1H, s) 7,23 (1H, s)	a)
4.1.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	8,12 (1H, s)	8,70 (1H, sl) 8,33 (1H, sl)	10,95 (1H, s)	7,67 (2H; d; 9,0 Hz <i>H_d</i>) 7,10 (2H; d; 9,0 Hz, <i>H_m</i>) 3,81 (3H; s; OMe)	8,01 (2H; d; 7,2 Hz <i>H_d</i>) 7,63 (1H; t; 7,2 Hz <i>H_p</i>) 7,54 (2H; t; 7,4 Hz, <i>H_m</i>)	3629 m, 3332 m, 2045 f, 1708 i, 1661 i, 1644 i

Prod.	R ₁ /R ₂	H-8	NH ₂	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
4.1.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	8,08 (1H, s)	8,66 (1H, sl) 8,10 (1H, sl)	10,42 (1H, s)	7,64 (2H; d; 9,0 Hz Hd) 7,08 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,80 (3H; s; OMe)	2,01 (3H, s)	a)
4.1.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe Pir	8,13 (1H, s)	8,42 (1H, sl) 7,86 (1H, sl)	11,33 (1H, s)	7,66 (2H; d; 9,0 Hz Hd) 7,09 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,81 (3H; s; OMe)	8,81 (2H; d; 6,0 Hz) 7,90 (2H; d; 6,0 Hz)	3383 m, 1780 f, 1704 i, 1665 i, 1634 i
4.1.2.5	Ar(<i>p</i>)F CH ₃	8,17 (1H, s)	8,71 (1H, sl) 8,24 (1H, sl)	10,44 (1H, s)	7,82 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz Hd) 7,39 (2H; t; 8,9 Hz Hm)	2,02 (3H, s)	a)
4.1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH CH ₃	7,70 (1H, s)	8,51 (1H, sl) 7,99 (1H, sl)	10,35 (1H, s)	3,91 (2H; t; 5,3 Hz) 3,65 (2H; q; 5,0 Hz) 5,03 (1H; t; 5,1 Hz OH)	2,00 (3H, s)	a)

a) A amostra corresponde a uma mistura

O sinal atribuído ao protão ligado a C-2 do anel de imidazole apresenta desvios entre δ 7,70 e 8,17 ppm típicos de uma estrutura de purina. Os dois protões do grupo 6-NH₂ surgem sempre com dois sinais distintos, em que cada sinal integra para um protão, com desvios químicos próximos de δ 8,00 ppm até 8,71 ppm. O sinal mais elevado poderá corresponder ao protão que estabelece uma ligação de hidrogénio ao nitrogénio do anel de imidazole. Observam-se ainda singletos que integram para um protão entre δ 10,33 e 11,33 ppm, que correspondem ao protão ligado ao nitrogénio do grupo amida ligado ao N-1 do anel de purina. Os registos dos sinais observados para os substituintes são coerentes com desvios observados para outras estruturas análogas.

Tabela 4.11 - Dados de ¹³C RMN das isoguaninas **4.1.2** (DMSO-

*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C-2	R ₂ - C=O	R ₁	R ₂
4.1.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe NH ₂	a)							
4.1.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	138,44	108,03	152,38	152,19	152,14	166,83	158,24 (C <i>p</i>) 124,74 (C <i>d</i>) 55,48 (OMe)	114,41 (C <i>m</i>) 127,90 (C <i>j</i>) 132,07 (C <i>p</i>), 128,21 (C <i>m</i>), 128,24 (C <i>d</i>), 132,22 (C <i>j</i>)

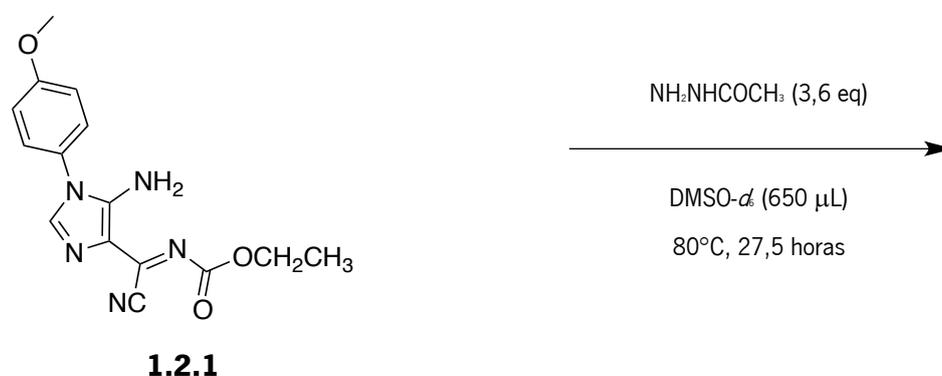
Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C-2	R ₂ - C=O	R ₁	R ₂
4.1.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	138,42	107,92	152,62	152,11	152,14	170,06	158,24 (C <i>p</i>) 124,77 (C <i>d</i>) 55,48 (OMe)	114,40 (C <i>m</i>) 127,88 (C <i>l</i>) 21,12
4.1.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe Pir	138,66	108,03	152,76	151,87	152,25	165,46	158,30 (C <i>p</i>) 124,83 (C <i>d</i>) 55,50 (OMe)	114,43 (C <i>m</i>) 127,83 (C <i>l</i>) 150,23 (C <i>m</i>) 121,93 (C <i>d</i>) 139,11 (C <i>l</i>)
4.1.2.5	Ar(<i>p</i>)F CH ₃	138,16	107,97	152,55	152,17	152,11	170,04	160,71 (d; 242,6 Hz) (C <i>p</i>) 116,07 (d; 22,6 Hz) (C <i>m</i>) 125,26 (d; 8,6 Hz) (C <i>d</i>) 131,37 (d; 2,9 Hz) (C <i>l</i>)	21,12
4.1.2.6	CH ₂ CH ₂ OH CH ₃	140,06	107,49	152,92	151,86	152,19	170,07	59,10 44,97	21,13

a) A amostra corresponde a uma mistura na qual este composto encontra-se numa proporção muito reduzida

Na leitura global da tabela 4.11 é possível encontrar padrões que sustentam as propostas das estruturas **4.1.2**. O sinal do carbono 8 do anel de imidazole apresenta desvios entre δ 138 e 140 ppm, o sinal de C-5 surge entre δ 107 e 108 ppm e o sinal de C-4 é observado por volta dos δ 152 ppm. O sinal do carbono carbonílico do anel de purina (C-2) é registado a desvios também por volta dos δ 152 ppm, enquanto que o carbonilo ligado a R₂ é registado a desvios entre δ 165 e 170 ppm. As atribuições foram suportadas por correlações HMQC e HMBC.

4.1.2.2 Estudo cinético em tubo de RMN

Para investigar o mecanismo das reações realizadas, e após ter obtido a caracterização das principais espécies intervenientes, realizou-se um estudo cinético para a reação do imidazole **1.2.1** com hidrazida acética em DMSO-*d*₆ a 80°C e seguiu-se a reação por ¹H RMN (esquema 4.4).



Esquema 4.4 - Reação de imidazole **1.2.1** com hidrazida acética em tubo de RMN

Na figura 4.1 apresentam-se os sinais das espécies mais relevantes que foram identificados nos vários espectros de ^1H RMN realizados e que permitiram fazer a análise do estudo cinético.

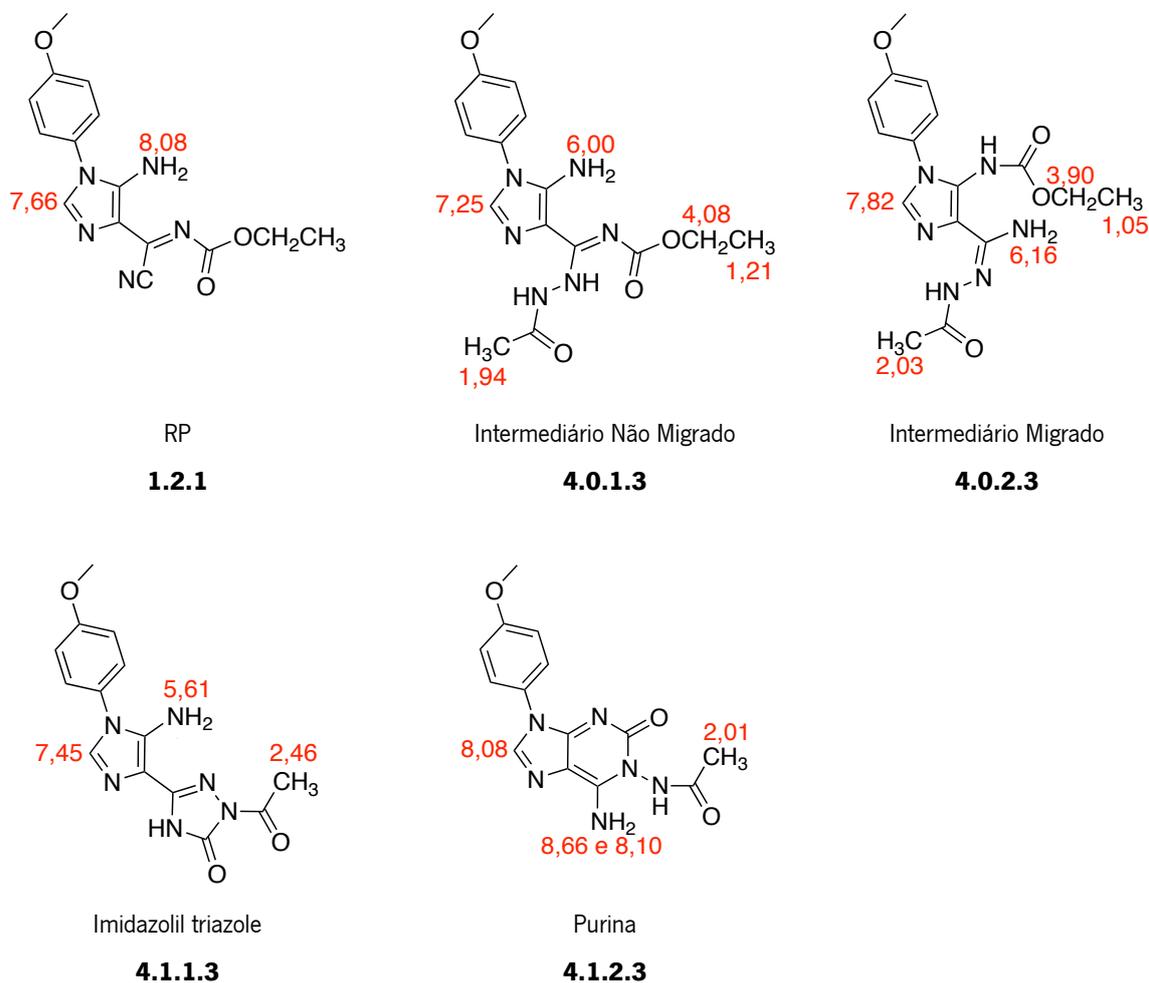


Figura 4.2 - Desvios químicos de ^1H RMN em ppm para as estruturas **1.2.1**, **4.0.1.3**, **4.0.2.3**, **4.1.1.3** e **4.1.2.3**

O gráfico da figura 4.2 traduz a evolução das quantidades relativas dos diferentes compostos intervenientes na reação química ao longo de pouco mais de um dia e à temperatura de 80°C .

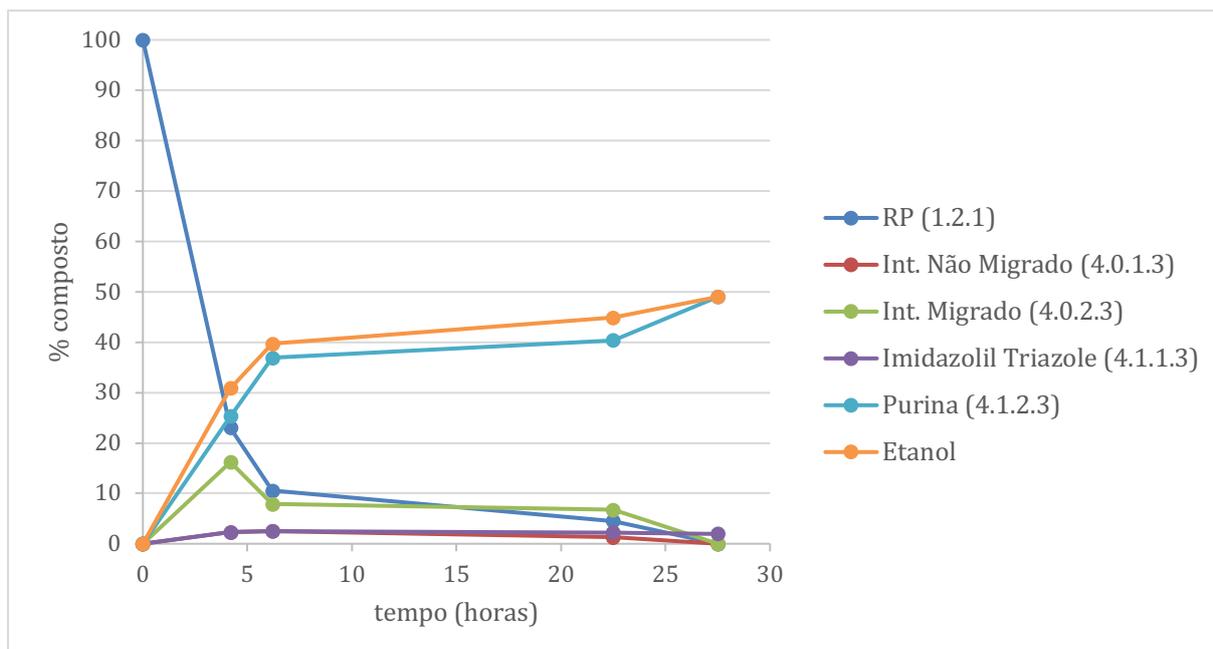


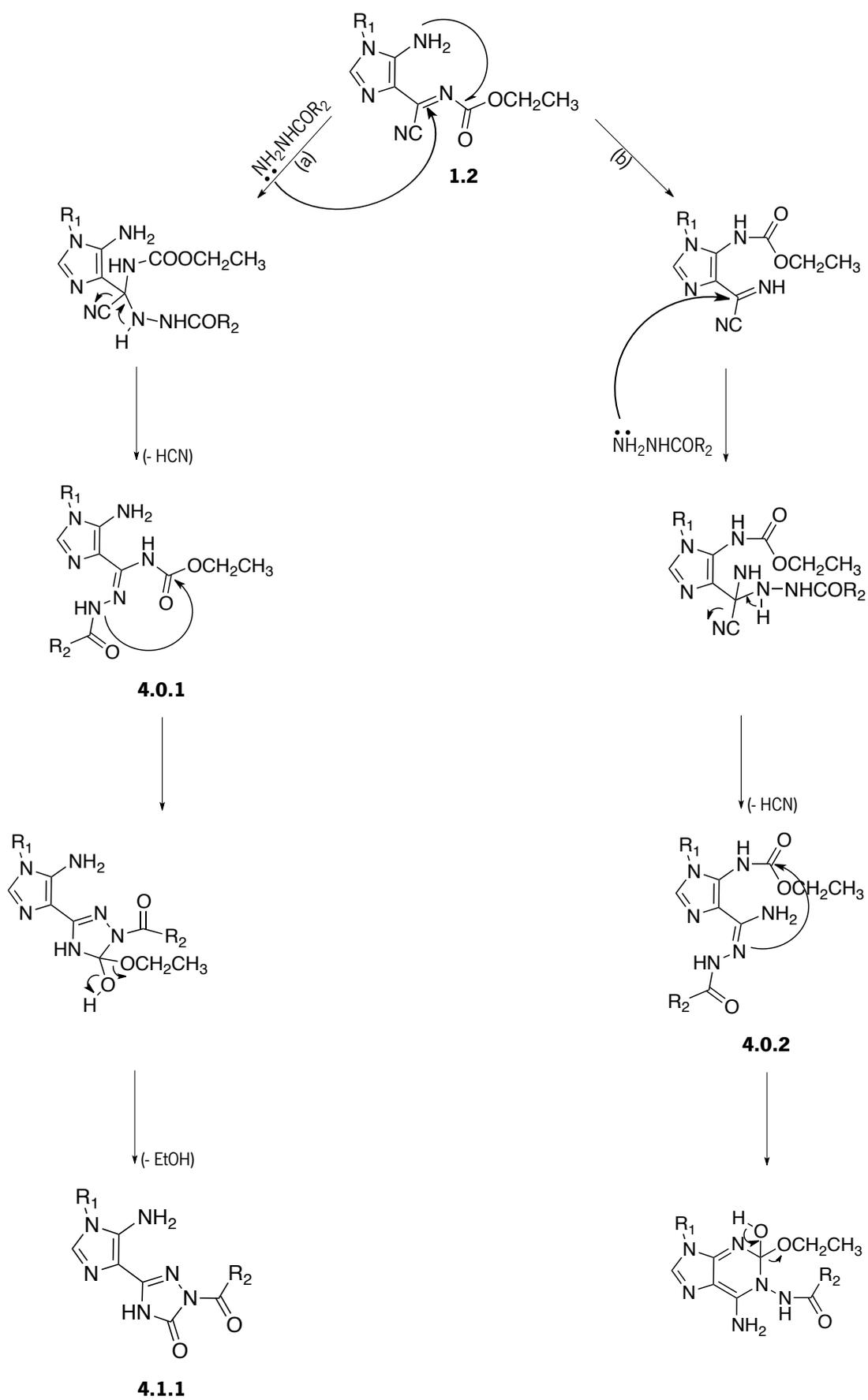
Figura 4.3 – Gráfico que traduz a evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na reação de **1.2.1** com hidrazina acética a 80°C em tubo de RMN

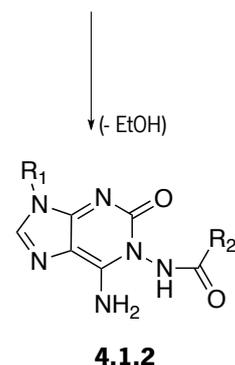
A leitura do gráfico revela que a temperatura elevada a que decorreu o estudo permitiu, após as primeiras 4 horas, a formação de todas as estruturas decorrentes da reação de **1.2.1** com hidrazina acética. Neste período formam-se as estruturas **4.0.2.3** e **4.1.2.3**. Em simultâneo com a formação destas estruturas, verifica-se a formação do intermediário **4.0.1.3** e do imidazolil triazole **4.1.1.3** como produtos minoritários, cuja evolução parece estar relacionada. A purina **4.1.2.3** aumenta à medida que o intermediário **4.0.2.3**, designado por intermediário migrado, diminui, o que demonstra que a evolução destas duas espécies também está relacionada. Durante o processo observa-se a formação de etanol em quantidades relativas cada vez maiores, verificando-se que o aumento relativo da proporção de purina e de etanol acompanham a diminuição de reagente de partida e de intermediário migrado. Com base nestes resultados pode concluir-se que o intermediário migrado **4.0.2.3** é a espécie precursora da purina.

A análise destes dados mostra ainda que a formação da purina não é seletiva, uma vez que, o imidazolil triazole, forma-se sempre, mesmo que em proporção reduzida.

4.1.2.3 Proposta mecanística para a síntese do imidazolil *N*-acil-triazole **4.1.1** e das isoguaninas **4.1.2**

O mecanismo proposto para a síntese dos imidazolil triazoles e das isoguaninas está apresentado no esquema 4.5.





Esquema 4.5 – Proposta mecanística para a síntese de imidazolil N-acil-triazoles **4.1.1** e de isoguaninas

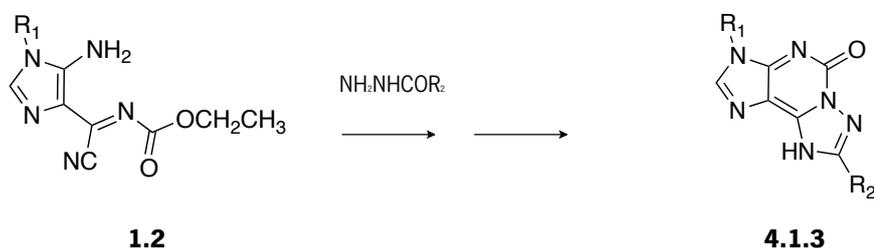
A síntese dos imidazolil triazoles e das isoguaninas parte do imidazole **1.2**, mas a via sintética é determinada pelas condições experimentais. A proposta mecanística para a síntese dos triazoles **4.1.1** (a), tal como previsto, envolve o ataque nucleofílico do nitrogénio da hidrazida ao carbono ligado a C-4 do anel de imidazole, com posterior libertação de HCN. Na presença de meio básico ocorre posterior ciclização intramolecular com libertação de etanol com formação do anel de triazole.

Na proposta mecanística para a síntese de isoguaninas (b) admite-se a formação de **4.0.2**. Este intermediário surge por migração do grupo COOEt para o nitrogénio ligado a C-5 do anel de imidazole (ver secção 1.2.2 – Capítulo 1 e secção 3.1.1.2 – Capítulo 3) e permite a ciclização intramolecular que conduz ao produto **4.1.2**. As condições experimentais necessárias para que se verifique a formação deste intermediário e das isoguaninas **4.1.2**, indiciam que estas purinas serão o produto termodinâmico, uma vez que requerem temperaturas elevadas. Para comprovar esta proposta mecanística, para além do estudo cinético, efetuaram-se alguns testes complementares às reações descritas nesta secção. O tubo de RMN no qual se preparou a solução em DMSO-*d*₆ da segunda fração da reação descrita na entrada 5 da tabela 4.7 (27% de **4.0.2.3** + 73% de **4.1.2.3**) foi deixado à temperatura ambiente e foi submetido a nova caracterização uma hora depois de ter sido preparado. A aquisição do espetro foi ainda repetida um dia depois, seis dias depois e catorze dias depois. Durante este período não houve nenhuma alteração na proporção entre os dois intermediários na mistura, o que leva a crer que, nestas condições, o intermediário **4.0.1.3** não se converte em **4.0.2.3** e comprova que, à temperatura ambiente, não se observa a formação de purinas. Para perceber se o composto **4.0.1.3** não se convertia em **4.0.2.3** noutras condições, foi efetuado um teste no qual se colocou a mistura obtida na entrada 8 da tabela 4.1 (77% de **4.0.1.3** + 23% de **4.1.1.3**) em etanol e submeteu-se a refluxo durante sete horas e o único produto isolado deste ensaio foi o imidazolil triazole **4.1.1.3**. Assim sendo, confirma-se a hipótese

proposta de que o intermediário **4.0.1.3** não se converte no intermediário **4.0.2.3**, impossibilitando a formação das isoguaninas após a formação de **4.0.1.3**. A estrutura precursora das isoguaninas **4.1.2**, o intermediário **4.0.2**, forma-se a partir do imidazole acilado em 5-NH₂ e não a partir do reagente de partida **1.2**. Também foi seguida a evolução no tubo de RMN no qual foi analisada a terceira fração da entrada 4 durante catorze dias à temperatura ambiente e verificou-se uma conversão muito lenta do intermediário **4.0.2.3** na isoguanina **4.1.2.3**. Após os 14 dias observou-se um aumento de 6% na proporção de purina, o que demonstra o seu papel como intermediário na síntese das isoguaninas **4.1.2.3**.

4.1.3. Síntese de triazolopurinas

Dando continuidade ao estudo da reatividade dos compostos sintetizados, procedeu-se a uma abordagem sintética que permitisse a obtenção de uma estrutura de três anéis fundidos. Para esta síntese foi realizada uma reação em várias etapas, a partir do imidazole **1.2** e diversas hidrazidas, em condições planeadas para favorecer o caminho da formação das isoguaninas **4.1.2** intermediárias e posterior conversão nas triazolopurinas **4.1.3** correspondentes (esquema 4.6).



- 4.1.3.1** R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ CH₃, 41%
4.1.3.2 R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ H, 41%
4.1.3.3 R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ Pir, 52%
4.1.3.4 R₁ Ar(*p*)OMe; R₂ Fur, 50%
4.1.3.5 R₁ Ar(*p*)F; R₂ Pir, 73%
4.1.3.6 R₁ Ar(*p*)F; R₂ Fur, 50%

Esquema 4.6 – Síntese de triazolopurinas **4.1.3.1** a **4.1.3.6**

Na entrada 1 da tabela 4.12 é descrito um dos testes preliminares realizados para a obtenção das estruturas **4.1.3**. Numa primeira fase, a mistura reacional foi aquecida, sob refluxo, para permitir a evolução da reação até à estrutura de purina **4.1.2**. A posterior ciclização para formar a estrutura de três anéis fundidos foi depois promovida por adição de base. Para o efeito, foram testadas diversas bases

e observou-se que a trietilamina não foi suficientemente forte para que, por TLC, se verificasse qualquer tipo de evolução, assim como não foi suficiente a adição de duas gotas de DBU. Foi possível verificar que a obtenção da triazolopurina apenas teve lugar quando foi adicionado um equivalente de DBU. O produto foi obtido na forma de sal e, por isso, no final da reação foi-lhe adicionado um equivalente de TFA para isolar a triazolopurina na forma neutra. Este teste permitiu otimizar as condições reacionais para reproduzir esta reação com outros substituintes.

Tabela 4.12 – Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas **4.1.3**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol hidrazida	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,83	0,95	CH ₃ CN (70,0 mL), refluxo, 10 h + Et ₃ N (3,0 eq), refluxo, 1 dia + DBU (2 gotas), refluxo, 15 h + DBU (1 eq), refluxo, 15 h + TFA (1 eq), ta, 10 min	4.1.3.1 + 4.1.1.3 (89%+11%)	41
2	Ar(<i>p</i>)OMe	H	0,64	1,33	EtOH (60,0 mL), refluxo, 3 h 30 min + DBU (1 eq), refluxo, 1 dia + TFA (1eq), ta, 10 min	4.1.3.2 + 2.1.1.1 (68% + 32%)	41
3	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	0,64	0,73	EtOH (70,0 mL), refluxo, 8 h + DBU (1 eq), refluxo, 18 h + TFA (1eq), ta, 10 min	4.1.3.3	52
4	Ar(<i>p</i>)OMe	Fur	0,64	0,71	EtOH (60,0 mL), refluxo, 8 h + DBU (1 eq), refluxo, 21 h + TFA (1eq), ta, 10 min	4.1.3.4	50
5	Ar(<i>p</i>)F	Pir	0,80	0,88	EtOH (70,0 mL), refluxo, 14 h + DBU (1 eq), refluxo, 15,5 h + TFA (1 eq), ta, 10 min	4.1.3.5	73
6	Ar(<i>p</i>)F	Fur	0,66	0,71	EtOH (60,0 mL), refluxo, 20 h + DBU (1 eq), refluxo, 27 h + TFA (1eq), ta, 10 min	4.1.3.6	50

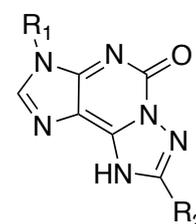
Para R₂=CH₃ e H a reação não foi seletiva, verificando-se a formação de imidazolil triazole **4.1.1**. A formação de **2.1.1.1** é resultado da clivagem do imidazolil triazole **4.1.1.5** que acontece quando, em simultâneo, se eleva a temperatura e se adiciona base ao meio reacional. Assim, para a generalidade dos casos, foi possível isolar as correspondentes triazolopurinas **4.1.3** praticamente puras, reproduzindo as condições reacionais previamente otimizadas que conjugam o refluxo e a adição de um equivalente

de DBU. Os rendimentos foram bastante bons, tendo em conta o número de passos reacionais envolvidos. Nestes casos, a formação do respetivo imidazolil triazole não é provável, uma vez que tanto este composto como **2.1.1.1** são produtos bastante insolúveis, podendo concluir-se que estas reações foram seletivas.

4.1.3.1. Caracterização das triazolopurinas **4.1.3**

A obtenção dos dados físicos e analíticos ficou um pouco comprometida porque as triazolopurinas sintetizadas foram recolhidas em frações ligeiramente contaminadas com impurezas (tabela 4.13).

Tabela 4.13 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas **4.1.3**

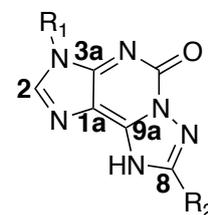


Produto	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
4.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	a)	C ₁₄ H ₁₂ N ₆ O ₂	a)
4.1.3.2	Ar(<i>p</i>)OMe	H	a)	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O ₂	a)
4.1.3.3	Ar(<i>p</i>)OMe	Pir	b)	C ₁₈ H ₁₃ N ₇ O ₂	b)
4.1.3.4	Ar(<i>p</i>)OMe	Fur	b)	C ₁₇ H ₁₂ N ₆ O ₃	b)
4.1.3.5	Ar(<i>p</i>)F	Pir	b)	C ₁₇ H ₁₀ N ₇ FO	b)
4.1.3.6	Ar(<i>p</i>)F	Fur	b)	C ₁₆ H ₉ N ₆ FO ₂	b)

a) A amostra corresponde a uma mistura; b) amostra impura

A caracterização por ^1H RMN (tabela 4.14) foi efetuada para todas as estruturas e foi possível comprovar a consistência dos dados obtidos.

Tabela 4.14 - Dados de ^1H RMN e IV das triazolopurinas **4.1.3** ($\text{DMSO}-d_6$)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
4.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	8,02 (1H, s)	12,88 (1H, sl)	7,52 (2H; d; 8,7 Hz, H _d) 7,12 (2H; d; 8,7 Hz, H _m) 3,83 (3H; s; OMe)	2,42 (3H, s)	3584 f, 3386 m, 3104 m, 1715 i, 1638 i, 1575 f, 1515 m
4.1.3.2	Ar(<i>p</i>)OMe H	8,01 (1H, s)	-	7,59 (2H; d; 9,0 Hz, H _d) 7,10 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,82 (3H; s; OMe)	8,23 (1H, s)	a)
4.1.3.3	Ar(<i>p</i>)OMe Pir	8,06 (1H, s)	-	7,54 (2H; d; 9,0 Hz, H _d) 7,12 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,82 (3H; s; OMe)	8,76 (2H; d; 5,8 Hz H _d) 8,13 (2H; d; 6,0 Hz H _m)	b)
4.1.3.4	Ar(<i>p</i>)OMe Fur	8,06 (1H, s)	-	7,54 (2H; d; 9,0 Hz, H _d) 7,13 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,83 (3H; s; OMe)	7,93 (1H; dd; <i>J</i> =6,5 Hz; <i>J</i> =0,6 Hz) 7,22 (1H; dd; <i>J</i> =3,3 Hz; <i>J</i> =0,6 Hz) 6,70 (1H; dd; <i>J</i> =3,6 Hz; <i>J</i> =1,5 Hz)	b)
4.1.3.5	Ar(<i>p</i>)F Pir	8,15 (1H, s)	-	7,76 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz, H _d) 7,45 (2H; t; 9,0 Hz H _m)	8,77 (2H; d; 6,0 Hz H _d) 8,12 (2H; d; 6,0 Hz H _m)	b)
4.1.3.6	Ar(<i>p</i>)F Fur	8,12 (1H, s)	-	7,74 (2H; dd; <i>J</i> =9,0 Hz; <i>J</i> =4,8 Hz, H _d) 7,45 (2H; t; 9,0 Hz, H _m)	7,93 (1H; dd; <i>J</i> =6,3 Hz; <i>J</i> =0,6 Hz) 7,20 (1H; dd; <i>J</i> =3,3 Hz; <i>J</i> =0,6 Hz) 6,71 (1H; dd; <i>J</i> =3,3 Hz; <i>J</i> =1,5 Hz)	b)

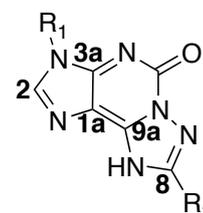
a) A amostra corresponde a uma mistura; b) Amostra impura

A leitura dos dados da caracterização por ^1H RMN permite reconhecer um padrão constante para o sinal do próton ligado a C-2 do anel de imidazole, com desvios entre δ 8,01 e 8,06 ppm quando R₁ = Ar(*p*)OMe e entre δ 8,12 e 8,15 ppm quando R₁ = Ar(*p*)F. O sinal para o próton ligado ao nitrogénio do anel de triazole apenas foi registado quando R₁ = Ar(*p*)OMe e R₂ = CH₃, que surge como um singlete largo a δ

12,88 ppm. Os sinais identificados para os substituintes Ar(*p*)OMe e Ar(*p*)F reproduzem os sinais observados em estruturas análogas, assim como os substituintes em R₂.

A caracterização por ¹³C RMN apresentada na tabela 4.15 também constitui uma validação das estruturas propostas para as triazolopurinas sintetizadas.

Tabela 4.15 - Dados de ¹³C RMN das triazolopurinas **4.1.3** (DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-1a	C-3a	C-9a	C-8	C=O	R ₁	R ₂
4.1.3.1	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	138,19	112,07	135,80	149,68	162,27	143,94	159,81 (C <i>p</i>) 114,82 (C <i>m</i>) 127,27 (C <i>d</i>) 126,04 (C <i>l</i>) 55,63 (OMe)	14,11
4.1.3.2	Ar(<i>p</i>)OMe H	137,17	112,38	139,25	149,40	152,64	146,22	159,24 (C <i>p</i>) 114,70 (C <i>m</i>) 126,45 (C <i>d</i>) 127,05 (C <i>l</i>) 55,60 (OMe)	-
4.1.3.3	Ar(<i>p</i>)OMe a) Pir								
4.1.3.4	Ar(<i>p</i>)OMe Fur	138,27	112,21	136,53	150,25	155,67	144,28	159,82 (C <i>p</i>) 114,83 (C <i>m</i>) 127,26 (C <i>d</i>) 126,07 (C <i>l</i>) 55,63 (OMe)	145,57 (C2), 145,07 (C5), 111,98 (C3), 112,09 (C4)
4.1.3.5	Ar(<i>p</i>)F Pir	137,60	112,31	138,66	150,80	160,08	145,42	161,89 (d; 244,3 Hz) (C <i>p</i>) 116,51 (d; 22,9 Hz) (C <i>m</i>) 127,66 (d; 9,2 Hz) (C <i>d</i>) 130,24 (d; 2,9 Hz) (C <i>l</i>)	120,94 (C <i>m</i>) 150,37 (C <i>d</i>) 137,91 (C <i>l</i>)
4.1.3.6	Ar(<i>p</i>)F Fur	137,59	112,00	137,95	150,16	160,67	145,16	161,97 (d; 244,0 Hz) (C <i>p</i>) 116,48 (d; 25,2 Hz) (C <i>m</i>) 127,70 (d; 9,2 Hz) (C <i>d</i>) 130,14 (C <i>l</i>)	145,19 (C2), 144,90 (C5), 111,68 (C3), 112,02 (C4)

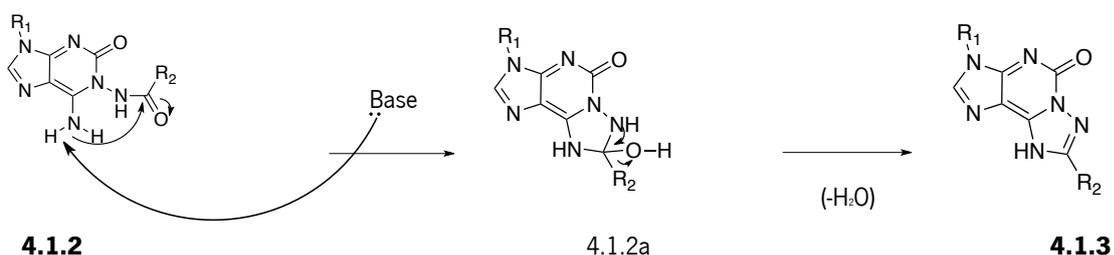
a) Muito insolúvel na escala de ¹³C RMN

O sinal do carbono 2 do anel de imidazole apresenta desvios consistentes para todos os compostos sintetizados, com valores entre δ 137 e 138 ppm. A mesma consistência nos sinais é encontrada para os restantes carbonos que surgem por volta dos δ 112 ppm para C-1a, entre δ 136 e 139 ppm para C-3a, entre δ 149 e 150 ppm para C-9a e entre δ 156 e 162 ppm para C-8, respetivamente. A mesma invariância também foi observada para o sinal do carbono do grupo carbonilo, que surge com desvios entre δ 144 e 146 ppm.

Para os substituintes R_1 e R_2 é possível observar sinais com desvios coerentes e reprodutíveis que comparam com outras estruturas análogas e conhecidas.

4.1.3.2 Proposta mecanística para a síntese das triazolopurinas **4.1.3**

A síntese de triazolopurinas em condições que favorecem a formação de isoguaninas como intermediários **4.1.2**, veio consolidar a proposta mecanística anterior. O mecanismo que conduz à obtenção das triazolopurinas **4.1.3** é apresentada no esquema 4.7.

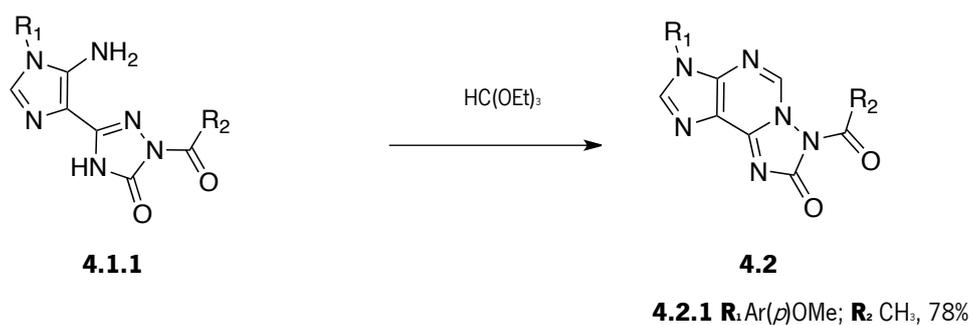


Esquema 4.7 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **4.1.3**

A ciclização intramolecular é facilitada pela adição de base e pelas temperaturas elevadas. Estas condições também favorecem a desidratação da espécie 4.1.2a e conduzem à obtenção das estruturas de três anéis fundidos.

4.2 Reação de imidazolil *N*-acil-triazoles **4.1.1** com TEOF

Reproduzindo as condições experimentais largamente utilizadas nos capítulos 2 e 3 foi possível obter outra estrutura de três anéis fundidos, a triazolopurina **4.2**, a partir do imidazolil triazole **4.1.1** e ortoformiato de etilo (esquema 4.8).



Esquema 4.8 – Síntese de triazolopurina **4.2.1**

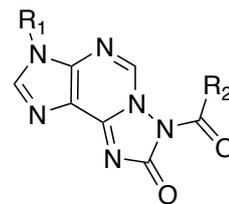
Combinando o triazole em ACN com um excesso de TEOF (aproximadamente seis equivalente) e na presença de uma quantidade catalítica de ácido sulfúrico, obteve-se-se a triazolopurina **4.2.3** com rendimento de 78% (tabela 4.16).

Tabela 4.16 - Condições experimentais para a síntese de triazolopurinas **4.2**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol HC(OEt) ₃	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,25	1,53	CH ₃ CN (3,5 mL), H ₂ SO ₄ (1 gota), ta, 3 d	4.2.1	78

4.2.1. Caracterização da triazolopurina **4.2**

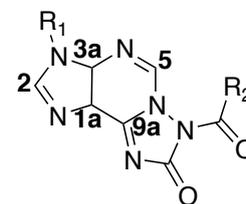
O composto **4.2.1** foi caracterizado e os dados físicos e analíticos encontram-se na tabela 4.17.

Tabela 4.17 - Dados físicos e analíticos para as triazolopurinas **4.2**

Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
4.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	> 237	C ₁₅ H ₁₃ N ₆ O ₂	a)

a) AE pendente (aparelho em manutenção)

Na tabela 4.18 estão os dados de ¹H RMN para a estrutura isolada.

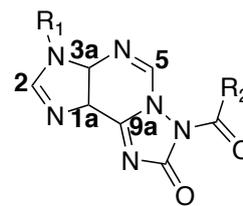
Tabela 4.18 - Dados de ¹H RMN e IV das triazolopurinas **4.2** (DMSO-*d*₆)

Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	H-5	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
4.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	8,58 (1H, s)	8,74 (1H, s)	7,64 (2H; d; 9,0 Hz Hd) 7,16 (2H; d; 9,3 Hz, Hm) 3,83 (3H; s; OMe)	2,59 (3H, s)	3108 m, 1858 f, 1752 i, 1735 i, 1660 i, 1553 f, 1525 m

Por analogia com as estruturas **2.2.1**, **2.2.2** e **3.2** foi observado o mesmo padrão de sinais para H-2, que surge com sinal a δ 8,58 ppm, e para H-5, com sinal a δ 8,74 ppm, assim como para o substituinte Ar(*p*)OMe.

A caracterização deste composto também foi efetuada por ¹³C RMN e os dados obtidos, condizentes com estruturas similares, estão na tabela 4.19.

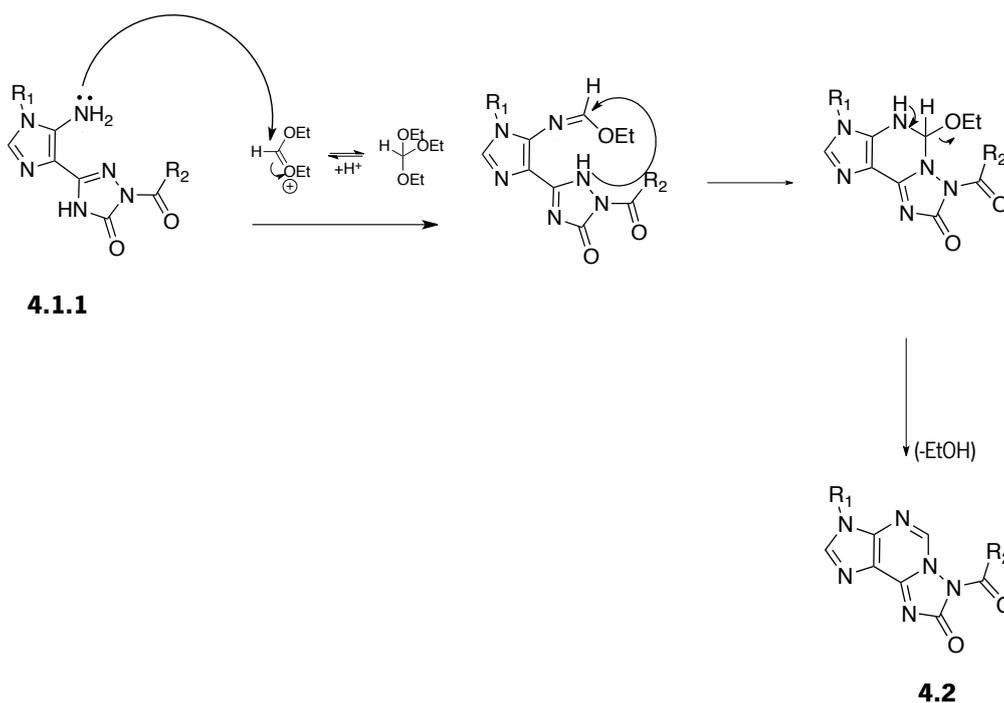
Tabela 4.19 - Dados de ^{13}C RMN das triazolopurinas **4.2** ($\text{DMSO-}d_6$)



Prod	R ₁ /R ₂	C-2	C-3a	C-1a	C-9a	C-5	C=O R ₂	R ₁	R ₂
4.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	141,30	140,50	118,53	137,69	137,87	146,49	159,34 (C <i>p</i>), 114,72 (C <i>m</i>) 126,77 (C <i>d</i>), 125,81 (C) 55,63 (OMe)	23,86

4.2.2 Proposta mecanística para a síntese das triazolopurinas **4.2**

As estruturas **4.2** foram obtidas pela replicação de condições experimentais anteriormente testadas que permitem validar uma proposta mecanística do mesmo tipo, tal como se descreve no esquema 4.9.



Esquema 4.9 - Proposta mecanística para a síntese de triazolopurinas **4.2**

Assim, o mecanismo para obtenção das estruturas **4.2** é análogo ao que é descrito na secção 3.2.1.2 e envolve a condensação do grupo 5-amino com TEOF, seguida de ciclização intramolecular com eliminação de etanol, para formar o anel de pirimidina.

4.3 Conclusões

O estudo da reatividade do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** com as hidrazidas do tipo $\text{NH}_2\text{NHCOR}_2$ reproduz o conhecimento previamente adquirido e demonstra uma reatividade geral deste imidazole com hidrazinas.

Neste capítulo foi possível confirmar a possibilidade de gerar novas estruturas de imidazolil *N*-acil-triazoles (4.1.1), demonstrando a reprodutibilidade deste caminho sintético. Para além disso, as reações do reagente de partida **1.2** com este tipo de hidrazidas conduziram à exploração de novas vias sintéticas que permitiram a obtenção de purinas **4.2.1** e das respetivas triazolopurinas **4.1.3**. A síntese destes compostos é sensível às condições experimentais utilizadas e, para controlar o processo, muito contribuiu a identificação de estruturas intermediárias e o estudo cinético realizado foram fundamentais para a compreensão do mecanismo que descreve a reatividade diferenciada destes compostos.

No capítulo 3 foi descrita a possibilidade de formação de uma estrutura intermediária migrada (intermediário 3.0.3a) quando a reação acontece a temperaturas mais elevadas (secção 3.1.1.2) e que leva à formação de purinas. No presente capítulo investigou-se essa possibilidade e concluiu-se que na ausência de base a reação com as hidrazidas é lenta e o ataque da hidrazida ao imidazole **1.2** deverá ocorrer após migração do etoxicarbonilo para o grupo 5-amino. Assim, nestas condições, forma-se um intermediário diferente que cicliza para dar um anel de purina. A presença do grupo acilamino em N-1 do anel de purina permite uma ciclização intramolecular posterior para formar um anel de triazole, gerando assim estruturas de triazolopurina.

4.4 Parte experimental

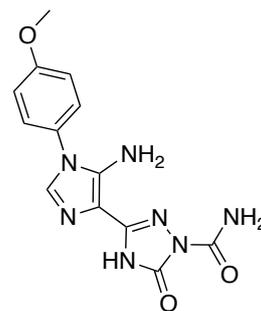
4.4.1 Síntese de imidazolil *N*-acil-triazoles 4.1.1

Procedimento geral

À mistura reacional de **1.2** com hidrazidas (1,0 a 1,2 eq) em acetonitrilo foi adicionada trietilamina (3,0 a 45 eq) ou uma gota de DBU. A mistura reacional foi deixada sob agitação (8,5°C, temperatura ambiente ou refluxo) entre 6 horas e 30 minutos a 7 dias ou durante 1 mês e 24 dias. O sólido amarelo inicial deu lugar a outro sólido de cor bege/branca que foi filtrado e lavado com etanol e/ou acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **4.1.1**.

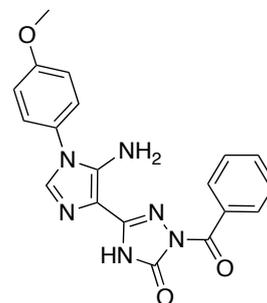
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-4-il)-5-oxo-4,5-di-hidro-1*H*,2,4-triazole-1-carboxamida **4.1.1.1**

A uma suspensão de cloridrato de semi-carbazida (0,04 g; 0,36 mmol) em trietilamina (1,10 mL; 7,90 mmol) foi adicionado **1.2.1** (0,11 g; 0,35 mmol) e acetonitrilo (5 mL). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 3 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com água, etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.1.1** (0,06 g; 0,19 mmol; 54 %).



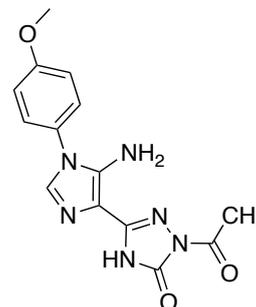
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzoil-1*H*,2,4-triazol-5(4*H*)-ona **4.1.1.2**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,21 g; 0,67 mmol) em acetonitrilo seco (8 mL) foi adicionada hidrazida benzóica (0,10 g; 0,73 mmol) e uma gota de DBU. Deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação, a suspensão deu lugar a uma solução e 1 hora e meia depois começou a precipitar sólido. O sólido bege foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.1.2** e **2.1.1.1** na proporção de 7:3 (0,15 g; 0,40 mmol; 60 %).



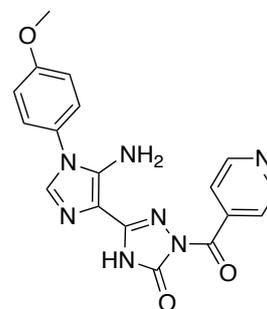
1-acetil-3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1Himidazol-4-il)-1H1,2,4-triazol-5(4H)-ona **4.1.1.3**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,23 g; 0,74 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,06 g; 0,81 mmol) e trietilamina (0,31 mL; 2,22 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 7 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.1.3** (0,19 g; 0,61 mmol; 82 %).



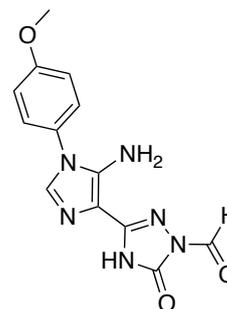
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1Himidazol-4-il)-1-isonicotinoil-1H1,2,4-triazol-5(4H)-ona **4.1.1.4**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,13 g; 0,42 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada isoniazida (0,06 g; 0,44 mmol) e trietilamina (0,17 mL; 1,24 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 6 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.1.4** e **2.1.1.1** na proporção de 2:8 (0,02 g; 0,06 mmol; 14 %).



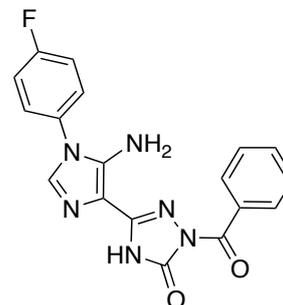
3-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1Himidazol-4-il)-5-oxo-4,5-di-hidro-1H1,2,4-triazole-1-carbaldeído **4.1.1.5**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,15 g; 0,48 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada hidrazida fórmica (0,03 g; 0,53 mmol) e trietilamina (0,20 mL; 1,44 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação a 8,5°C e 2 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.1.5** e **2.1.1.1** na proporção de 8:2 (0,09 g; 0,32 mmol; 67 %).



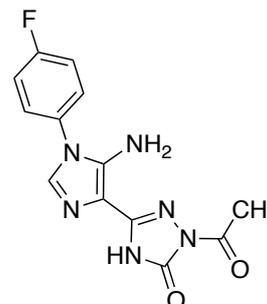
3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1Himidazol-4-il)-1-benzoil-1H1,2,4-triazol-5(4H)-ona **4.1.1.6**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,26 g; 0,86 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada hidrazida benzóica (0,13 g; 0,95 mmol) e trietilamina (0,36 mL; 2,60 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 1 mês e 24 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.1.6** e **2.1.1.1** na proporção de 4:6 (0,09 g; 0,25 mmol; 29 %).



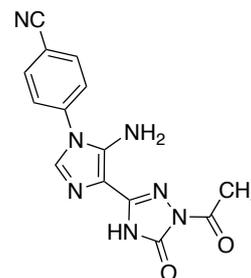
(1-acetil-3-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1Himidazol-4-il)-1H1,2,4-triazol-5(4H)-ona **4.1.1.7**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,21 g; 0,70 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,06g; 0,81 mmol) e trietilamina (0,29 mL; 2,09 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 1 dia depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.1.7** (0,16 g; 0,53 mmol; 76 %).



4-(4-(1-acetil-5-oxo-4,5-dihidro-1H1,2,4-triazol-3-il)-5-amino-1Himidazol-1-il)benzonitrilo **4.1.1.8**

A uma suspensão de **1.2.5** (0,12 g; 0,39 mmol) em acetonitrilo (3 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,03 g; 0,41 mmol) e trietilamina (0,16 mL; 1,15 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 8 dias após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.1.8** (0,06 g; 0,19 mmol; 49 %).



1-acetil-3-(5-amino-1-(2-hidroxietil)-1H-imidazol-4-il)-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona **4.1.1.9**

A uma suspensão de **1.2.3** (0,09 g; 0,36 mmol) em acetonitrilo (3,5 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,03 g; 0,41 mmol) e trietilamina (0,14 mL; 1,01 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 2 minutos depois a suspensão deu lugar a uma solução. Três dias depois começou a precipitar sólido e 2 dia e meio após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.1.9** (0,07 g; 0,28 mmol; 78 %).



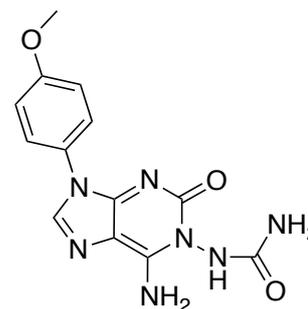
4.4.2 Síntese de isoguaninas 4.1.2

Procedimento geral

Uma mistura reacional de **1.2** com hidrazidas (1,0 a 1,3 eq) em acetonitrilo foi deixada sob refluxo entre 5 horas a 3 dias e meio. O sólido amarelo inicial deu lugar a outro sólido de cor bege/branca que foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **4.1.2**.

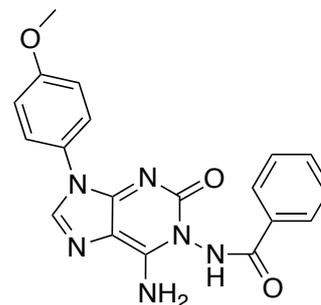
1-(6-amino-9-(4-metoxifenil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)ureia **4.1.2.1**

A uma suspensão de cloridrato semi-carbazida (0,07 g; 0,63 mmol) em acetonitrilo (6 mL) foi adicionada trietilamina (0,25 mL; 1,80 mmol). De seguida adicionou-se **1.2.1** (0,19 g; 0,61 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 20 minutos depois começou a precipitar sólido. Cinco horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido bege foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.1.1**, **2.1.1.1** e **4.1.2.1** na proporção de 6:3:1 (0,01 g; 0,03 mmol; 5 %).



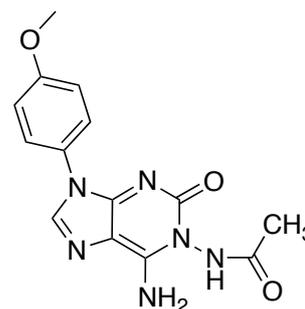
N-(6-amino-9-(4-metoxifenil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)benzamida **4.1.2.2**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,25 g; 0,80 mmol) em acetonitrilo seco (5 mL) foi adicionada hidrazida benzoica (0,12 g; 0,88 mmol) e deu-se início ao refluxo. Cinco minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 3 horas depois começou a precipitar sólido. Três horas após o início da reação o sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo seco e éter etílico. O produto da 1F foi isolado e identificado como sendo **4.1.2.2**. A 2F era reagente de partida e foi adicionada à solução-mãe que ficou sob refluxo 6 horas e 30 minutos. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo seco e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.2.2** (0,17 g; 0,47 mmol; 59 %).



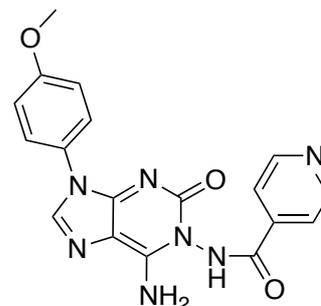
N-(6-amino-9-(4-metoxifenil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)acetamida **4.1.2.3**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,29 g; 0,93 mmol) em acetonitrilo (70 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,07 g; 0,95 mmol) e deu-se início ao refluxo. Cinco minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 2 horas depois começou a precipitar sólido. Três dias e meio após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.2.3** e **4.1.1.3** na proporção de 7:3 (0,18 g; 0,57 mmol; 61 %).



N-(6-amino-9-(4-metoxifenil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)isonicotinamida **4.1.2.4**

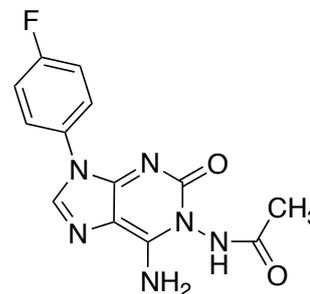
A uma suspensão de **1.2.1** (0,28 g; 0,90 mmol) em acetonitrilo (70 mL) foi adicionada isoniazida (0,18 g; 1,31 mmol) e deu-se início ao refluxo. Cinco minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 4 horas depois começou a precipitar sólido. Oito horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo



e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.2.4** (0,18 g; 0,48 mmol; 53 %).

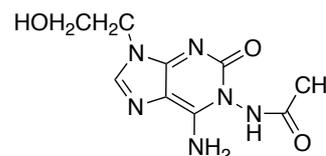
N-(6-amino-9-(4-fluorofenil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)acetamida **4.1.2.7**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,19 g; 0,63 mmol) em acetonitrilo (70 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,05 g; 0,68 mmol) e deu-se início ao refluxo. Quinze minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 3 horas depois começou a precipitar sólido. Dois dias após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.2.7** e **4.1.1.7** na proporção de 9,5:0,5 (0,14 g; 0,44 mmol; 70 %).



N-(6-amino-9-(2-hidroxietil)-2-oxo-2,9-di-hidro-1H-purin-1-il)acetamida **4.1.2.8**

A uma suspensão de **1.2.3** (0,08 g; 0,32 mmol) em acetonitrilo (65 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,03 g; 0,41 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 3 horas depois começou a precipitar sólido. Catorze horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.2.8** e **4.1.1.8** na proporção de 9:1 (0,06 g; 0,24 mmol; 75 %).



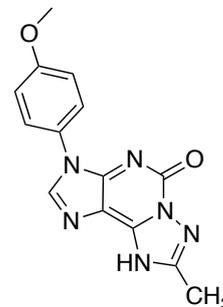
4.4.3 Síntese de triazolopurinas 4.1.3

Procedimento geral

Uma mistura reacional de **1.2** com hidrazidas (1,0 a 2,0 eq) em acetonitrilo ou etanol (60 mL ou 70 mL) foi deixada sob refluxo entre 3,5 horas a 20 horas. Adicionou-se DBU (1,0 a 1,1 eq) e o refluxo continuou por mais 15 horas a 1 dia. Interrompeu-se o refluxo e adicionou-se TFA (1,0 eq). Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou sólido que foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **4.1.3**.

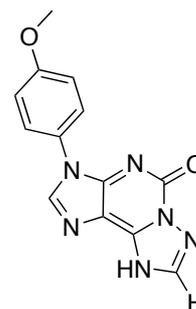
3-(4-metoxifenil)-8-metil-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.1**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,26 g; 0,83 mmol) em acetonitrilo (70 mL) foi adicionada hidrazida acética (0,07 g; 0,95 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 5 horas depois começou a precipitar sólido. Oito horas e meia após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se trietilamina (0,34 mL; 2,45 mmol). Um dia depois adicionaram-se duas gotas de DBU e 15 horas depois adicionou-se mais DBU (0,12 mL; 0,83 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 15 horas. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,06mL; 0,83mmol). O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.3.1** e **4.1.1.3** na proporção de 9:1 (0,10 g; 0,34 mmol; 41 %).



3-(4-metoxifenil)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.2**

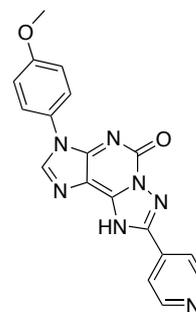
A uma suspensão de **1.2.1** (0,20 g; 0,64 mmol) em etanol (60 mL) foi adicionada hidrazida fórmica (0,08 g; 1,33 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 3 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (0,10 mL; 0,67 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 1 dia. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,05 mL; 0,65 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos. Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou produto. O sólido bege foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi



isolado e identificado como sendo uma mistura de **4.1.3.2** e **2.1.1.1** na proporção de 7:3 (0,07 g; 0,26 mmol; 41 %).

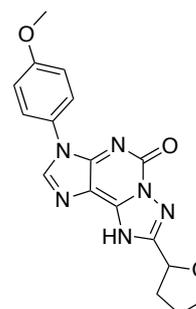
3-(4-metoxifenil)-8-(piridin-4-il)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.3**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,20 g; 0,64 mmol) em etanol (70 mL) foi adicionada isoniazida (0,10 g; 0,73 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 8 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (0,10 mL; 0,67 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 21 horas. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,05 mL; 0,65 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos. Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou produto. O sólido amarelo torrado foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.3.3** (0,12 g; 0,33 mmol; 52 %).



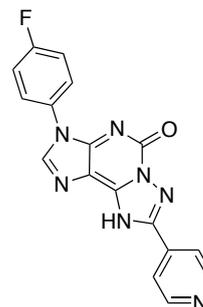
3-(4-metoxifenil)-8-(tetra-hidrofuran-2-il)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.4**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,20 g; 0,64 mmol) em etanol (60 mL) foi adicionada hidrazida furanóica (0,09 g; 0,71 mmol) e deu-se início ao refluxo. Dez minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 8 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (0,10 mL; 0,67 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 21 horas. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,05 mL; 0,65 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos. Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou produto. O sólido bege foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.3.4** (0,11 g; 0,32 mmol; 50 %).



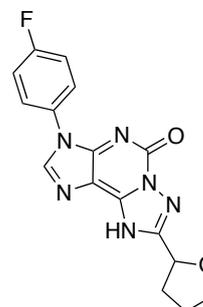
3-(4-fluorofenil)-8-(piridin-4-il)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.5**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,24 g; 0,80 mmol) em etanol (70 mL) foi adicionada isoniazida (0,12 g; 0,88 mmol) e deu-se início ao refluxo. Cinco minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 14 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (0,12 mL; 0,80 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 15 horas e 30 minutos. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,06 mL; 0,80 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos. Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou produto. O sólido bege foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.3.5** (0,20 g; 0,58 mmol; 73 %).



3-(4-fluorofenil)-8-(tetra-hidrofuran-2-il)-3*H*[1,2,4]triazolo[5,1-*i*]purin-5(9*H*)-ona **4.1.3.6**

A uma suspensão de **1.2.2** (0,20 g; 0,66 mmol) em etanol (60 mL) foi adicionada hidrazida furanóica (0,09 g; 0,71 mmol) e deu-se início ao refluxo. Vinte minutos após o início da reação a suspensão deu lugar a uma solução e 20 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e adicionou-se DBU (0,10 mL; 0,67 mmol). A mistura reacional continuou sob refluxo por mais 27 horas. Após interrupção do refluxo foi adicionado ácido trifluoracético (0,05 mL; 0,66 mmol) e a solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos. Colocou-se a mistura reacional no congelador e precipitou produto. O sólido bege foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **4.1.3.6** (0,11 g; 0,33 mmol; 50 %).



CAPÍTULO 5.

REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM AMINAS PRIMÁRIAS

5. REAÇÃO DE *N*-ETOXICARBONIL IMIDAZOLES COM AMINAS PRIMÁRIAS

5.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com aminas primárias

5.1.1. Síntese de amidinas aciladas

5.2. Reação de síntese de isoguaninas

5.2.1. Síntese de isoguaninas a partir das amidinas aciladas

5.2.2. Síntese de isoguaninas a partir de *N*-etoxicarbonil imidazoles

5.2.3. Conversão de isoguaninas *N*-substituídas por isoguaninas *N*₆-substituídas

5.2.4. Separação de misturas de isoguaninas

5.3. Caracterização de isoguaninas

5.4. Conclusões

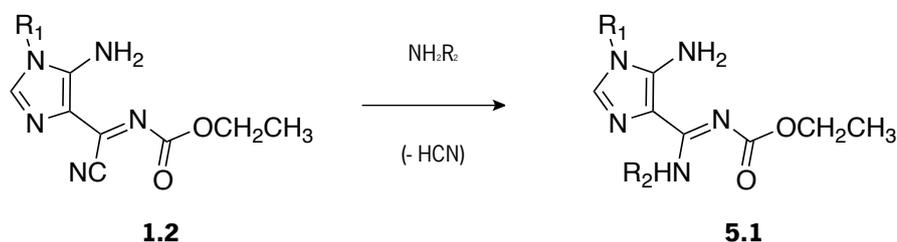
5.5. Parte experimental

Referências

5. REAÇÃO DE IMIDAZOLIL CIANOMETILENOCARBAMATOS COM AMINAS PRIMÁRIAS

5.1. Reação de imidazolil cianometilenocarbamatos com aminas primárias

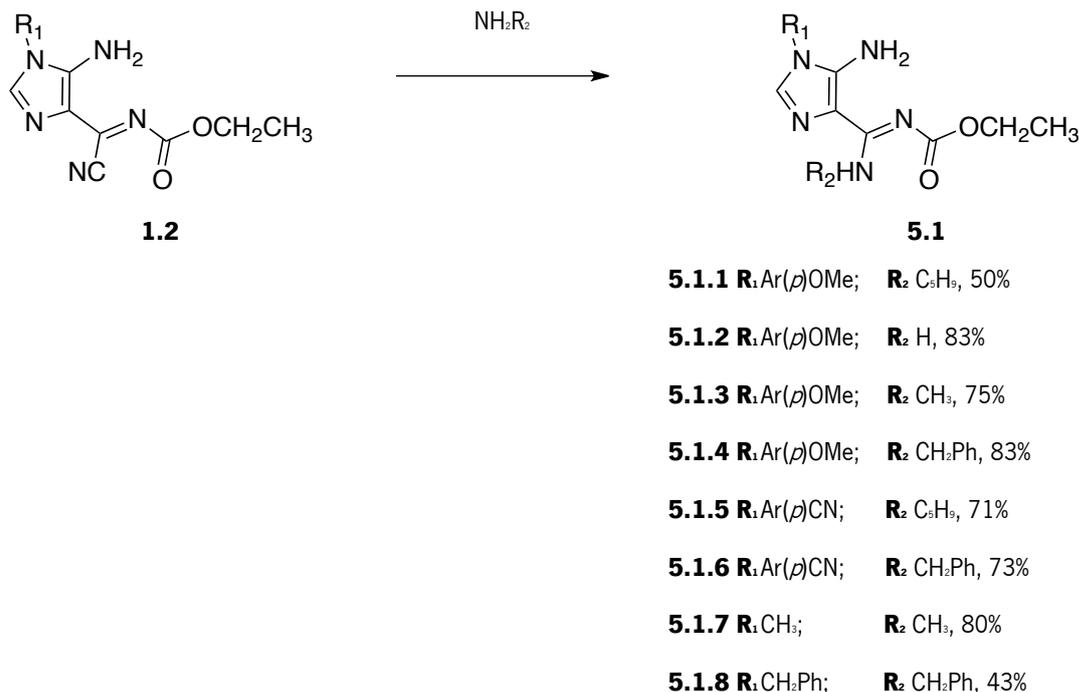
A reatividade dos *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** também foi avaliada com aminas primárias. Verifica-se que, mais uma vez, o grupo acilo incorporado no nitrogénio imínico facilitou o ataque nucleofílico de aminas primárias e a eliminação de HCN permitiu a obtenção do composto **5.1**. Este produto tem um elevado valor sintético, uma vez que corresponde ao intermediário chave na síntese de derivados de isoguanina.



Esquema 5.1 - Síntese de amidinas aciladas **5.1**

5.1.1. Síntese de amidinas aciladas

Tendo como objetivo a síntese de derivados de isoguanina, foi necessário preparar uma grande diversidade de amidinas aciladas **5.1**. Através da reação dos *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** com diversas aminas primárias alifáticas foram sintetizados os compostos de **5.1.1** a **5.1.8**, apresentados no esquema 5.2. Também foram testadas as reações do imidazole **1.2** com aminas aromáticas, mas sem sucesso, uma vez que, após cerca de 6 a 20 dias de reação sob refluxo, a mistura reacional degradava ou evoluía para purina.



Esquema 5.2 - Síntese de amidinas aciladas de **5.1.1** a **5.1.8**

Os resultados descritos na tabela 5.1 permitem concluir que a reação dos imidazoles **1.2** com as aminas alifáticas ocorreu em condições suaves e os produtos foram isolados com rendimentos bons e muito bons, em tempos de reação relativamente curtos (10 minutos e 18 horas à temperatura ambiente). O principal problema das reações descritas foi a elevada solubilidade do produto na maioria dos solventes, o que dificultou a precipitação e o isolamento dos produtos a partir das misturas reacionais.

Tabela 5.1 - Condições experimentais para a síntese de amidinas aciladas **5.1**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol NH ₂ R ₂	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	C ₂ H ₅	0,38	0,74	DCM (2,0 mL), ta, 10 min	5.1.1	50
2	Ar(<i>p</i>)OMe	H	0,99	6,98	DMC (4,6 mL), ta, 1 h 15 min	5.1.2	83
3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	1,05	14,7	DCM (2,0 mL), ta, 10 min	5.1.3	75
4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,86	1,21	EtOH (3,0 mL), ta, 20 min	5.1.4	83

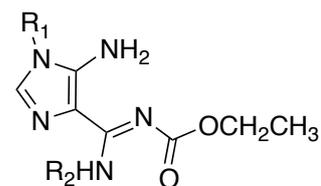
Entrada	R₁	R₂	mmol RP	mmol NH₂R₂	Condições	Produto	η (%)
5	Ar(<i>p</i>)CN	C ₆ H ₅	0,62	1,24	ACN (1,0 mL), ta, 30 min	5.1.5	71
6	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	0,94	1,88	EtOH (2,0 mL), ta, 18 h	5.1.6	73
7	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	0,37	0,42	THF (1,0 mL), 0° C, 2 h 30 min	5.1.7	43
8	CH ₃	CH ₃	0,45	6,50	EtOH (1,0 mL), ta, 10 min	5.1.8	80

A reação descrita na entrada 3 teve início com uma suspensão amarela que foi dando lugar a uma suspensão branca. No entanto, nas restantes reações verificou-se que a mistura reacional era uma solução quando, por TLC, havia indicação de ausência de reagente de partida. Assim, foi necessário evaporar o excesso de solvente até obtenção de um óleo residual e adicionar misturas frias de éter etílico e etanol ou acetonitrilo para precipitação do produto. Na entrada 7 é descrita uma reação que decorreu em banho de gelo na tentativa de conseguir a precipitação do produto, mas apenas foi possível precipitar produto depois de colocar a mistura reacional no congelador.

5.1.1.1. Caracterização das amidinas aciladas **5.1**

Os diferentes produtos foram isolados na sua forma pura e foi possível registar os seus pontos de fusão e determinar as suas composições por análise elementar ou espectrometria de massa de alta resolução (tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Dados físicos e analíticos para as amidinas aciladas **5.1**

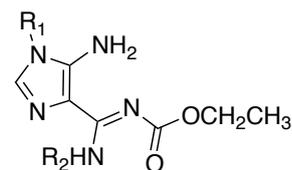


Produto	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
5.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe	C ₅ H ₉	d)	C ₁₉ H ₂₅ N ₅ O ₃	c)
5.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe	H	170 – 172	C ₁₄ H ₁₇ N ₅ O ₃	55,55; 5,66; 22,80 (55,40; 5,60; 23,10)
5.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	143 – 144	C ₁₅ H ₁₉ N ₅ O ₃	56,90; 6,10; 21,60 (56,78; 5,99; 22,08)
5.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	120 – 121	C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₃	63,90; 6,14; 17,56 (64,12; 5,85; 17,81)
5.1.5	Ar(<i>p</i>)CN	C ₅ H ₉	d)	C ₁₉ H ₂₂ N ₆ O ₂	c)
5.1.6	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	159 – 160	C ₂₁ H ₂₀ N ₆ O ₂	64,66; 5,27; 21,95 (64,95; 5,16; 21,65)
5.1.7	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	86 - 88	C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₂	c)
5.1.8	CH ₃	CH ₃	>279 ^{a)}	C ₉ H ₁₅ N ₅ O ₂	c)

a) Ocorre degradação; b) HRMS [*M* + 1]⁺; c) AE pendente (aparelho em manutenção); d) A quantidade recolhida não foi suficiente para análise.

Na maioria dos casos descritos foi possível determinar o intervalo de valores para o qual a substância muda de estado físico, mas, em algumas situações, verificou-se a degradação do composto antes da fusão acontecer. Os resultados das análises elementares comprovaram uma composição correspondente à estrutura proposta.

A atribuição das estruturas **5.1** foi confirmada por dados de ¹H RMN, IV e ¹³C RMN, que são apresentados na tabela 5.3 e na tabela 5.4.

Tabela 5.3 – Dados de ^1H RMN e IV das amidinas aciladas **5.1** (DMSO- d_6)

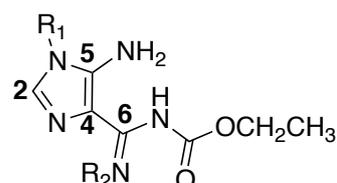
Prod.	R ₁ /R ₂	H-2	NH ₂	NH	OCH ₂ CH ₃	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
5.1.1	Ar(<i>p</i>)OMe C ₅ H ₅	7,38 (1H, s)	6,96 (2H, s)	10,16 (1H, sl)	3,97 (2H; q; 6,9 Hz) 1,17 (3H; t; 7,2 Hz)	7,38 (2H; d; 9,0 Hz, H α) 7,11 (2H; d; 9,0 Hz, H m) 3,81 (3H; s; OMe)	5,33 (1H, sl) 2,00 (2H; m) 1,60 (6H; m)	d)
5.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe H	7,39 (1H, s)	6,48 (2H, s)	-	3,99 (2H; q; 6,9 Hz) 1,18 (3H; t; 7,2 Hz)	7,40 (2H; d; 9,0 Hz, H α) 7,11 (2H; d; 9,0 Hz, H m) 3,83 (3H; s; OMe)	7,87 (1H, s) 8,79 (1H, s)	3430 i, 3386 i, 3292 i, 3113 m, 3008 m, 2556 f, 2244 f, 2057 f, 1870 f, 1606 i, 1586 l, 1550 l
5.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	7,39 (1H, s)	6,94 (2H, s)	9,90 (1H, sl)	4,0 0 (2H; q; 7,2Hz) 1,20 (3H; t; 7,2 Hz)	7,40 (2H; d; 8,9 Hz, H α) 7,12 (2H; d; 8,9 Hz, H m) 3,80 (3H; s; OMe)	3,41 (3H, sl)	3251 m, 3116 m, 1640 i, 1598 i
5.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ Ph	7,39 (1H, s)	7,00 (2H, sl)	10,20 – 10,40 (1H, sl)	3,95 (2H; q; 7,2 Hz) 1,15 (3H; t; 7,2 Hz)	7,40 (2H; d; 9,0 Hz, H α) 7,12 (2H; d; 9,0 Hz, H m) 3,81 (3H; s; OMe)	5,32 (2H, sl) 7,35 (4H, m) 7,29 (1H, m)	3380 i, 3192 m, 3142 m, 3110 m, 3075 m, 3024 m, 1613 i, 1592 i
5.1.5	Ar(<i>p</i>)CN C ₅ H ₅	7,57 (1H, s)	7,22 (2H, sl)	10,19 (1H, sl)	3,98 (2H; q; 7,2 Hz) 1,18 (3H; t; 7,1 Hz)	8,08 (2H; d; 8,7 Hz, H α) 7,75 (2H; d; 8,7 Hz, H m)	5,29 (1H; sl) 2,02 (2H; m) 1,57 (6H, m)	a)
5.1.6	Ar(<i>p</i>)CN CH ₂ Ph	7,58 (1H, s)	7,27 (2H, sl)	10,20 – 10,40 (1H, sl)	3,96 (2H; q; 6,9 Hz) 1,15 (3H; t; 7,2 Hz)	8,10 (2H; d; 8,4 Hz, H α) 7,75 (2H; d; 8,4 Hz, H m)	5,31 (2H, sl) 7,33 (4H, m) 7,26 – 7,29 (1H, m)	3410 m, 3381 m, 3302 m, 3254 f, 3097 m, 2234 m, 1605 i, 1581 i
5.1.7	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	7,22 (1H, s)	7,19 (2H, s)	10,21 (1H, sl)	3,94 (2H; q; 7,5 Hz) 1,14 (3H; t; 6,9 Hz)	5,10 (2H, s) 7,29 – 7,35 (5H; m)	5,28 (2H, sl) 7,23(4H, m) 7,27 – 7,29 (1H, m)	a)
5.1.8	CH ₃ CH ₃	7,20 (1H, s)	6,96 (2H, sl)	9,82 (1H, sl)	3,96 (2H; q; 9,0 Hz) 1,17 (3H; t; 7,5 Hz)	3,39 (3H, s)	3,41 (3H, sl)	3372 m, 3249 m, 3099 m, 1645 m, 1597 f

a) A quantidade recolhida não foi suficiente para análise.

Na análise dos espectros registados através da caracterização por ^1H RMN é possível observar singletos para o protão ligado a C-2 do anel de imidazole com sinais entre δ 7,20 e 7,58 ppm. O grupo NH₂ ligado ao anel de imidazole apresenta sinais, alguns deles largos, que integram para dois protões entre δ 6,48

e 7,22 ppm. O próton ligado ao nitrogénio da amina incorporada surge como sinais largos entre δ 9,82 e 10,30 ppm, sendo que o sinal mais baixo é observado para o substituinte em $R_2 = \text{CH}_3$. Os prótons do grupo etoxilo, assim como os dos grupos substituintes, apresentam um padrão constante de sinais típicos para estes grupos neste tipo de estruturas. Na espectroscopia de infravermelho assiste-se ao desaparecimento da banda relativa ao grupo ciano presente no reagente de partida, o que vem contribuir para a confirmação da estrutura atribuída aos compostos. Também a presença de sinais intensos entre 1605 e 1640 cm^{-1} revelam a existência de ligação dupla entre carbono e oxigénio.

Tabela 5.4 - Dados de ^{13}C RMN das amidinas aciladas **5.1** (DMSO- d_6)



Prod.	R_1/R_2	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	OCH_2CH_3	R_1	R_2
5.1.1	$\text{Ar}(p)\text{OMe}$ C_6H_5	131,29	110,93	147,23	162,06	163,77	59,41 14,64	159,25 (C <i>p</i>) 115,01 (C <i>m</i>) 126,79 (C <i>d</i>) 126,90 (C <i>l</i>) 55, 54 (OMe)	54,86 34,01 23,25
5.1.2	$\text{Ar}(p)\text{OMe}$ H	131,65	111,28	144,42	163,68	163,84	59,60 14,58	159,22 (C <i>e</i>) 115,01 (C <i>m</i>) 126,65 (C <i>o</i>) 126,91 (C <i>i</i>) 55,57 (OMe)	-
5.1.3	$\text{Ar}(p)\text{OMe}$ CH_3	132,00	112,60	148,00	160,20	164,60	60,50 15,70	159,20 (C <i>p</i>) 116,00 (C <i>m</i>) 127,70 (C <i>d</i>) 127,90 (C <i>l</i>) 56,57 (OMe)	32,30
5.1.4	$\text{Ar}(p)\text{OMe}$ CH_2Ph	131,20	111,20	147,30	162,00	164,00	59,60 14,60	159,30 (C <i>p</i>) 115,06 (C <i>m</i>) 127,30 (C <i>d</i>) 128,60 (C <i>l</i>) 55,58 (OMe)	47,51 139,30; 128,60; 127,20; 126,80
5.1.5	$\text{Ar}(p)\text{CN}$ C_6H_5	130,65	111,49	146,57	162,01	163,73	59,50 19,59	110,86 (C <i>p</i>) 125,60 (C <i>m</i>) 134,08 (C <i>d</i>) 139,00 (C <i>l</i>) 118,19 (CN)	54,92 34,02 23,24
5.1.6	$\text{Ar}(p)\text{CN}$ CH_2Ph	130,60	112,00	146,50	160,35	162,00	59,60 14,50	110,90 (C <i>p</i>); 125,60 (C <i>m</i>); 134,10 (C <i>d</i>); 138,20 (C <i>l</i>) 118,20 (CN)	47,50 139,20; 128,50; 127,20; 121,10

Prod.	R ₁ /R ₂	C-2	C-4	C-5	C-6	C=O	OCH ₂ CH ₃	R ₁	R ₂
5.1.7	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	a)							
5.1.8	CH ₃ CH ₃	132,50	112,00	147,00	161,15	163,10	60,40 14,95	29,70	30,70

a) A quantidade recolhida não foi suficiente para análise.

Através das correlações obtidas entre átomos de carbono e prótons separados por uma ou várias ligações foi possível fazer corresponder os sinais registados no espetro de ¹³C RMN e confirmar as atribuições de estruturas propostas (figura 5.1).

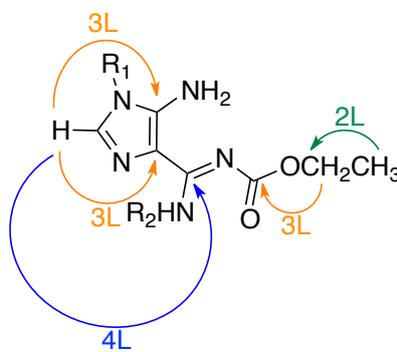
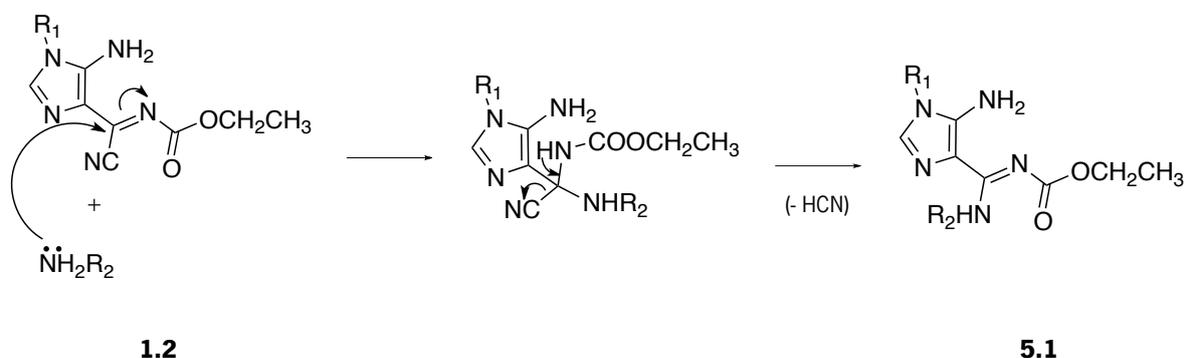


Figura 5.1 – Correlações registadas em HMBC para as estruturas **5.1**

O carbono 2 do anel de imidazole apresenta um sinal típico para estruturas deste tipo que permitiu identificar facilmente o tipo de composto que estava a ser caracterizado, com base nos correspondentes sinais registados entre δ 130 e 133 ppm. Os sinais habitualmente observados para as estruturas precursoras serviram de base de trabalho para compreender ligeiros desvios nos sinais dos carbonos C-4 e C-5 que surgem entre δ 111 e 113 ppm e entre δ 144 e 148 ppm, respetivamente. O carbono mais afetado com a substituição do grupo ciano pela amina primária é o carbono da posição 6, cujo sinal foi registado entre δ 162 e 164 ppm, quando o reagente de partida, para o mesmo carbono, apresentava sinais por volta dos 138 ppm. Este desvio deve-se à substituição do átomo de carbono pelo átomo de nitrogénio e à conjugação com o grupo carbonilo.

5.1.1.2 Proposta mecanística para a síntese das amidinas aciladas **5.1**

A obtenção destas amidinas aciladas é, regra geral, bastante rápida e eficiente. No esquema seguinte está representado o mecanismo para obtenção destes imidazoles.

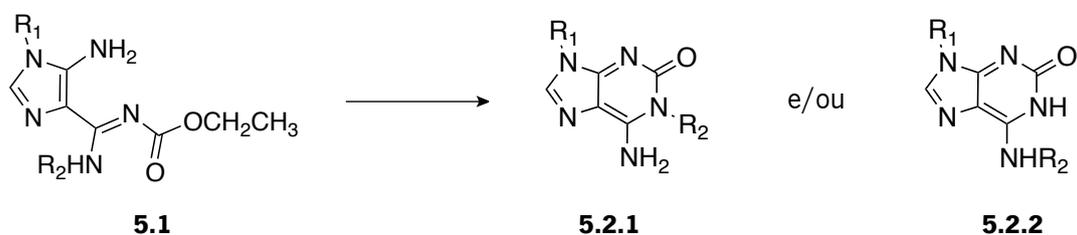


Esquema 5.3 - Proposta mecanística para a síntese de amidinas aciladas **5.1**

O estudo da reatividade do *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2** com aminas permitiu perceber a elevada propensão do ataque nucleofílico ao carbono ligado a C-4 do anel de imidazole. Após adição das aminas primárias ocorre eliminação de HCN, dando origem ao intermediário **5.1**.

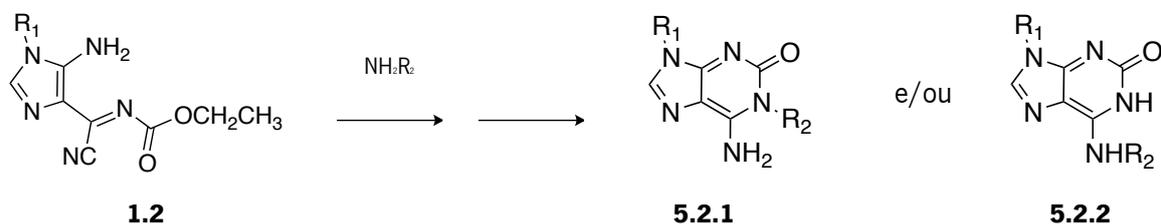
5.2. Reação de síntese de isoguaninas

Tendo em vista a conversão das amidinas aciladas **5.1** nas isoguaninas correspondentes foi induzida a ciclização intramolecular e, dependendo das condições reacionais utilizadas, foi possível sintetizar as isoguaninas substituídas em N-1 e N-6, ou seja, os produtos **5.2.1** e **5.2.2** (esquema 5.4).



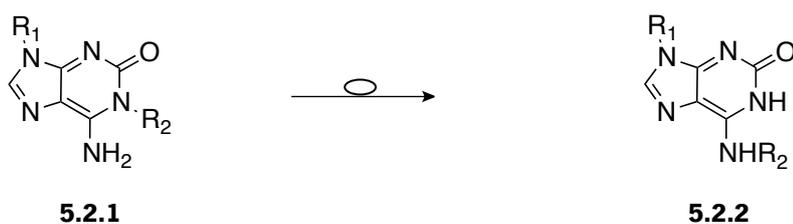
Esquema 5.4 - Síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** a partir das amidinas aciladas **5.1**

Também foram exploradas as possibilidades de sintetizar estes compostos numa reação em duas etapas, sem isolar o intermediário **5**, partindo do reagente de partida **1.2 1** (esquema 5.5).



Esquema 5.5 - Síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** a partir do imidazole **1.2**

No esquema 5.6 apresenta-se outra das estratégias exploradas, que consistiu na conversão da isoguanina substituída em N-1 em isoguanina substituída em N-6.



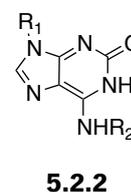
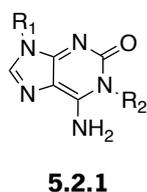
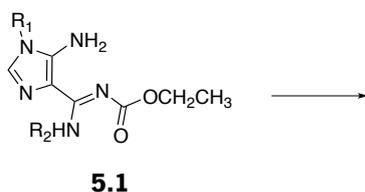
Esquema 5.6 - Conversão de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2**

Também se procedeu à separação dos dois tipos de isoguaninas após serem recolhidas numa mistura com proporções relativas conhecidas.

5.2.1. Síntese de isoguaninas a partir de amidinas aciladas

As tentativas de ciclização intramolecular das amidinas **5.1** exigiram, de um modo geral, condições de refluxo e conduziram à obtenção de misturas das isoguaninas isoméricas **5.2.1** e **5.2.2**. Tendo em vista a síntese seletiva de isoguaninas substituídas em N-1 ou em N-6 com um grupo alquilo (**5.2.1** ou **5.2.2**), foi necessário testar uma série de condições experimentais com diferentes variáveis e avaliar as consequências das diferentes alterações efetuadas na composição da mistura reacional (esquema 5.7).

No entanto, a grande maioria das reações realizadas não mostram seletividade e os sólidos isolados apresentaram-se como misturas dos dois isômeros em proporções variáveis.



5.2.1.2 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ CH ₃ , 84% ^{a)}	5.2.2.1 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ H, 45%
5.2.1.3 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ CH ₂ Ph, 76% ^{b)}	5.2.2.2 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ CH ₃ , 84%
5.2.1.4 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ CH ₂ CH ₂ OH, 77%	5.2.2.3 R: Ar(<i>p</i>)OMe; R ₂ CH ₂ Ph, 100%
^{c)}	^{c)}
5.2.1.6 R: Ar(<i>p</i>)CN; R ₂ CH ₃ , 93% ^{d)}	5.2.2.5 R: Ar(<i>p</i>)CN; R ₂ H, 75%
5.2.1.7 R: Ar(<i>p</i>)CN; R ₂ CH ₂ Ph, 91% ^{e)}	5.2.2.6 R: Ar(<i>p</i>)CN; R ₂ CH ₃ , 93% ^{d)}
5.2.1.8 R: CH ₂ Ph; R ₂ CH ₂ Ph, 69% ^{f)}	5.2.2.7 R: Ar(<i>p</i>)CN; R ₂ CH ₂ Ph, 87%
	5.2.2.8 R: CH ₂ Ph; R ₂ CH ₂ Ph, 69% ^{f)}

Esquema 5.7 – Síntese de isoguaninas de 5.2.1. e 5.2.2

Isolada numa mistura de: a) 5.2.1.2 e 5.2.2.2 numa proporção de 5:5; b) 5.2.1.3 e 5.2.2.3 numa proporção de 8:2; c) 5.2.1.4 e 5.2.2.4 numa proporção de 5:5; d) 5.2.1.6 e 5.2.2.6 numa proporção de 7:3; e) 5.2.1.7 e 5.2.2.7 numa proporção de 6:4; f) 5.2.1.8 e 5.2.2.8 numa proporção de 6:4.

A tabela 5.5 descreve os ensaios que melhor contribuíram para a compreensão do mecanismo e das condições reacionais que viabilizam cada um dos caminhos sintéticos possíveis. A comparação do efeito dos diferentes substituintes, o recurso a diferentes solventes, volume de solvente ou caráter químico do meio, justificam o elevado número de ensaios considerados para constar desta tabela.

Tabela 5.5 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** a partir de **5.1**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	Condições	Produto	η (%)
Sem adição de ácido						
1	Ar(<i>p</i>)OMe	H	0,51	EtOH (20,0 mL), refluxo; 14,5 dias	5.2.2.1	45
Com adição de ácido						
2	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,31	ACN (2,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 35 min	5.2.2.2	84

Entrada	R₁	R₂	mmol RP	Condições	Produto	η (%)	
3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,40	ACN (4,0 mL), H ₂ SO ₄ (1,0 eq), refluxo, 18 h	5.2.2.2.H₂SO₄	97	
4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,31	EtOH (2,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 1 h	5.2.2.2	73	
5	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,15	EtOH (1,0 mL), TFA (cat.), refluxo, 1 h 45 min	5.2.2.2	57	
6	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,45	DMF (0,4 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 10 min	5.2.2.2	55	
Sem adição de ácido							
7	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,45	EtOH (20,0 mL), refluxo, 5 h	5.2.1.2 54%	5.2.2.2 46%	84
8	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,38	THF (20,0 mL), refluxo, 14 dias	5.2.1.2 56%	5.2.2.2 44%	46
9	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,27	DMF (0,3 mL), refluxo, 1 h 40 min	5.2.1.2 42%	5.2.2.2 58%	88
Com adição de ácido							
10	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,23	ACN (2,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 35 min	5.2.2.3	87	
11	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,22	ACN (2,0 mL), TFA (cat.), refluxo, 2 h	5.2.2.3	70	
12	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,11	ACN (2,0 mL), H ₂ SO ₄ (1,0 eq), refluxo, 2,5 dias	5.2.2.3.H₂SO₄	18	
13	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,15	ACN (20,0 mL), H ₂ SO ₄ (cat.), refluxo, 2,5 dias	5.2.1.3 39%	5.2.2.3 61%	69
14	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,23	EtOH (2,0 mL), TFA (cat.), refluxo, 5 h	5.2.1.3 44%	5.2.2.3 66%	61
15	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,25	EtOH (3,0 mL), H ₂ SO ₄ (1,0 eq), ta, 24 dias	5.2.2.3	15	

Entrada	R₁	R₂	mmol RP	Condições	Produto		η (%)
16	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,18	EtOH (1,5 mL), AcOH (1,0 eq), refluxo, 1 h	5.2.1.3 47%	5.2.2.3 53%	89
17	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,25	DMF (0,8 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 35 min		5.2.2.3	100
Sem adição de ácido							
18	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,34	ACN (25,0 mL), refluxo, 5 dias	5.2.1.3 65%	5.2.2.3 35%	83
19	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,39	EtOH (60,0 mL), refluxo, 3,5 h	5.2.1.3 76%	5.2.2.3 24%	76
20	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,21	EtOH (5,0 mL), refluxo, 12 h	5.2.1.3 52%	5.2.2.3 48%	87
21	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,34	MeOH (20,0 mL), refluxo, 18 h	5.2.1.3 53%	5.2.2.3 47%	60
22	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,31	THF (20,0 mL), refluxo, 7 dias	5.2.1.3 75%	5.2.2.3 25%	76
23	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,14	H ₂ O (20,0 mL), refluxo, 2 h	5.2.1.3 53%	5.2.2.3 47%	62
Com adição de base							
24	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,30	THF (20,0 mL), t- butóxido de potássio (cat.), refluxo, 7 dias	5.2.1.3 66%	5.2.2.3 44%	80
Sem adição de ácido							
25	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ CH ₂ OH	0,17	ACN (20,0 mL), refluxo, 4 dias 7 h	5.2.1.4 53%	5.2.2.4 47%	77
26	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ CH ₂ OH	0,41	EtOH (20,0 mL), refluxo, 4 h	5.2.1.4 47%	5.2.2.4 53%	55
Sem adição de ácido							
27	Ar(<i>p</i>)CN	H	0,32	EtOH (20,0 mL), refluxo, 14,5 dias		5.2.2.5	75
Sem adição de ácido							
28	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	0,41	THF (20,0 mL), refluxo, 4,5 dias	5.2.1.6 68%	5.2.2.6 32%	93

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	Condições	Produto	η (%)
Com adição de ácido						
29	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	0,23	ACN (1,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 1 h	5.2.2.7	87
Sem adição de ácido						
30	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	0,22	THF (20,0 mL), refluxo, 20 dias	5.2.1.7 61%	5.2.2.7 39%
Sem adição de ácido						
31	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	0,12	EtOH (3,0 mL), refluxo, 12 h	5.2.1.8 60%	5.2.2.8 40%

As condições que permitiram isolar os derivados de isoguanina substituídos em R₂ com um protão estão relatados nas entradas 1 e 27. A síntese das restantes mostrou-se sensível às condições reacionais e verifica-se a obtenção de misturas constituídas por derivados substituídos em N-1 e/ou N-6.

Nas reações em meio ácido, verificou-se que as condições de refluxo na presença de um equivalente de H₂SO₄ ou de dois equivalentes de TFA parecem conduzir seletivamente ao caminho sintético da formação da isoguanina substituída em N-6, isolando-se apenas o composto **5.2.2**. Observa-se que, recorrendo a um equivalente de H₂SO₄ obtém-se o derivado de isoguanina na forma de sal (entrada 3). O mesmo se verifica na décima segunda entrada, para as mesmas condições, mas na presença de outros substituintes.

Para R₁ = Ar(*p*)OMe e R₂ = CH₂Ph (ensaio 13) avaliou-se, na presença de uma quantidade catalítica de ácido, o efeito de um elevado volume de solvente e verificou-se que a reação não era seletiva, ocorrendo a formação da estrutura substituída em N-1. Nos ensaios 14 e 16 também houve a formação da estrutura **5.2.1**, que poderá estar relacionada com o facto dos ácidos utilizados serem voláteis e/ou não serem suficientemente fortes. Assim, pode concluir-se que, nas reações em que se recorreu à adição de ácido, o caminho sintético para a formação seletiva do derivado **5.2.2** exige que a quantidade de ácido presente no meio reacional seja superior a um equivalente.

Nas reações em meio ácido foi ainda avaliada a importância do solvente utilizado e é possível perceber que, de uma forma geral, o solvente pode interferir no tempo de reação e também condiciona a solubilidade dos produtos obtidos. Pode verificar-se que as reações nas quais se mantiveram os substituintes e foram utilizados diferentes solventes, nomeadamente, ACN, EtOH e DMF, o tempo de reação foi menor para as reações que decorreram em DMF devido, possivelmente, a uma temperatura de refluxo mais elevada. No entanto, neste último caso, o rendimento não acompanha a eficiência

conseguida com o tempo de reação, uma vez que um aumento da solubilidade dos reagentes facilita a reação, mas dificulta a recolha do produto sólido.

Na décima quinta entrada é descrito um ensaio que acontece a temperatura ambiente mostrando que, mesmo a esta temperatura, há formação da purina **5.2.2.3**. No entanto, o reduzido rendimento (15 %) não permite tirar conclusões sobre a seletividade deste ensaio, uma vez que o tempo de reação é muito longo e a degradação progressiva da mistura reacional pode ter comprometido a recolha de produto.

Nas reações realizadas sem adição de ácido verifica-se que foi sempre recolhida uma mistura das duas purinas, independentemente dos conjuntos de substituintes testados. Além disso, verifica-se que na grande maioria dos casos, as reações realizadas em EtOH são mais rápidas do que em ACN, sugerindo que estas reações são favorecidas por solventes próticos. Foi possível ainda perceber uma relação entre o volume de solvente utilizado e a proporção de purina **5.2.1** recolhida. Por exemplo, as reações que constam das entradas 19 e 20 permitem comparar o efeito do volume de solvente e percebe-se que quanto maior for o volume de solvente utilizado, maior a proporção de **5.2.1.3** isolada. Se forem comparadas as reações das entradas 18 e 21, para os mesmos substituintes, para quantidades aproximadas de volume de solvente utilizado, a proporção de purina **5.2.1.3** recolhida não foi significativamente diferente. Assim sendo, a proporção em que se recolhem as duas purinas é mais influenciada pela quantidade de solvente utilizado do que pela sua natureza.

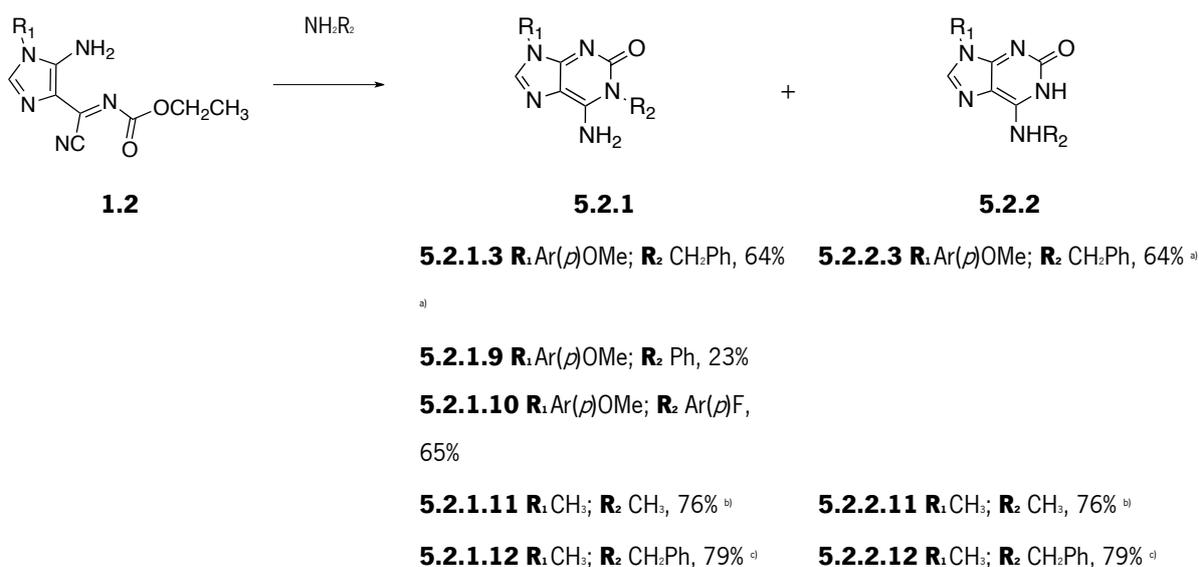
No entanto, a natureza do solvente parece ter influência no tempo de reação. Quando se comparam os ensaios registados nas entradas 7 e 8, para $R_2 = \text{CH}_3$, ou quando $R_2 = \text{CH}_2\text{Ph}$ (entradas 23 e 24) e ainda no caso de $R_2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (entradas 25 e 26), pode inferir-se que, de forma geral, o THF e o ACN aumentam o tempo de reação, enquanto que a H_2O , o MeOH ou o EtOH têm o efeito contrário.

Foi ainda avaliado o efeito da adição de base (entrada 24) e, nestas condições, foi também obtida uma mistura das duas purinas. Assim, foi possível confirmar que apenas o meio ácido parece favorecer seletivamente os caminhos sintéticos para obtenção de purinas **5.2.2**.

Em termos gerais, pode concluir-se que a proporção de cada uma das isoguaninas nas misturas isoladas não parece ser grandemente influenciada pela natureza do solvente e mantém-se aproximadamente constante para cada conjunto de substituintes. No entanto, torna-se evidente o efeito do solvente nas velocidades das reações, observando-se que as reações são mais rápidas em EtOH do que em ACN.

5.2.2. Síntese de isoguaninas a partir de *N*-etoxycarbonil imidazoles

Visto que surgiram dificuldades experimentais no isolamento de alguns intermediários **5.1**, nomeadamente nas reações de **1.2** com aminas aromáticas, decidiu-se testar uma outra abordagem sintética para melhorar a eficiência do método. Para o efeito, foi avaliada a possibilidade de preparar os derivados de isoguaninas numa reação em duas etapas, partindo do reagente **1.2** e de aminas alifáticas e aromáticas. Este método conduziu à obtenção das isoguaninas apresentadas no esquema 5.8.



Esquema 5.8 - Síntese de isoguaninas **5.2.1.3** e **5.2.1.9** a **5.2.1.12** e de **5.2.2.3**, **5.2.2.11** e **5.2.2.12**

Isolada numa mistura de: a) 5.2.1.3 e 5.2.2.3 numa proporção de 5:5; b) 5.2.1.11 e 5.2.2.11 numa proporção de 5:5; c) 5.2.1.12 e 5.2.2.12 numa

Foram necessários vários ensaios para descobrir as condições experimentais mais adequadas e as reações com resultados mais relevantes estão descritas na tabela 5.6. De um modo geral, verifica-se que nas reações com aminas alifáticas, os imidazole **1.2** foram combinados com as diferentes aminas. e a mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente. Após a reação se completar, a ciclização intramolecular foi promovida submetendo a mistura à temperatura de refluxo que conduziram à obtenção de misturas das duas isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2**. Nas reações com aminas aromáticas foi necessário utilizar condições de refluxo para facilitar a condensação do imidazole **1.2** com estas aminas, uma vez que os ensaios preliminares mostraram que estas reações não ocorreram à temperatura ambiente.

Tabela 5.6 - Condições experimentais para a síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** a partir de imidazoles **1.2**

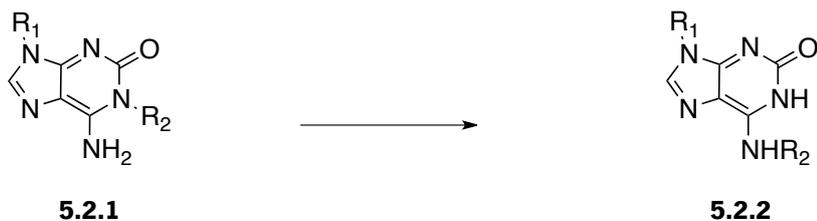
Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	mmol NH ₂ R ²	Condições	Produto		η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,57	0,57	THF (8,0 mL), t-butoxido de potássio (cat.), refluxo, 8,5 dias	5.2.1.3 47%	5.2.2.3 53%	64
2	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	0,53	1,06	ACN (2,5 mL), TFA (cat.), 40° C, 17 dias	5.2.1.9		23
3	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	0,74	0,71	THF (8,0 mL), t-butoxido de potássio (cat.), refluxo, 4 dias	5.2.1.10		65
4	CH ₃	CH ₃	0,59	8,32	i) EtOH (1,0 mL), ta, 10 min ii) EtOH (20,0 mL), refluxo, 16 h 30 min	5.2.1.11 50%	5.2.2.11 50%	76
5	CH ₃	CH ₂ Ph	0,82	1,15	i) EtOH (1,0 mL), ta, 10 min ii) EtOH (20,0 mL), refluxo, 1 dia	5.2.1.12 85% 100%	5.2.2.12 15%	79

Na reação com a anilina (R₂ = Ph, entrada 2), apesar do baixo rendimento que condiciona a interpretação dos resultados, é possível observar que a adição de uma quantidade catalítica do ácido trifluoroacético não foi suficiente para favorecer o caminho sintético para obtenção de **5.2.2.9**.

Na reação com a p-fluoranilina (R₂ = Ar(*p*)F, entrada 3), mais uma vez recolheu-se apenas a estrutura **5.2.1.10** ao fim de 4 horas de refluxo na presença de t-butoxido de potássio. No entanto, a solubilidade destes compostos é complexa e, nesta reação, não foi possível isolar mais nenhum sólido.

5.2.3. Conversão de isoguaninas substituídas em N-1 nas isoguaninas substituídas em N-6

A conversão das isoguaninas substituídas em N-1 nas isoguaninas substituídas em N-6 também foi testada como forma de averiguar o mecanismo de síntese e a estabilidade relativa das duas estruturas (esquema 5.9).



5.2.2.2 R: Ar(*p*)OMe; R₂ CH₃, 67%

5.2.2.3 R: Ar(*p*)OMe; R₂ CH₂Ph, 48%

5.2.2.13 R: Ar(*p*)OMe; R₂ Ar(*p*)OMe, 59%

Esquema 5.9 – Conversão de isoguaninas **5.2.1** em isoguaninas **5.2.2**

Em ensaios preliminares foi possível perceber a necessidade de temperaturas elevadas e de um meio reacional ácido para que as purinas **5.2.1** se convertessem nas estruturas **5.2.2**. Na tabela 5.7 estão resumidos os ensaios mais relevantes que foram realizados para o propósito do estudo.

Tabela 5.7 - Condições experimentais para a conversão de isoguaninas **5.2.1** em **5.2.2**

Entrada	R ₁	R ₂	mmol RP	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,11	i) DMF (0,6 mL), TFA (cat.), refluxo, 1 h 45 min ii) TFA (2,0 eq), refluxo, 1 h 15 min	5.2.2.2	72
2	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,12	DMF (8,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 3 h	5.2.2.3	50
3	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	0,29	i) EtOH (3,0 mL), TFA (2,0 eq), refluxo, 10 h 30 min ii) DMF (1,5 mL), refluxo, 18 h iii) TFA (2 eq), refluxo, 5 h	5.2.2.13	59
4	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)OMe	0,33	DMF (0,4 mL), NH ₂ CH ₂ CH ₂ OCH ₃ (3,2 eq), TFA (2,1 eq), refluxo, 1 h 15 min	5.2.2.13	58

A influência da temperatura de ebulição do solvente pode comprovar-se através do ensaio número três, dado que a reação não avançou em etanol, exigindo a presença de DMF para solubilizar os reagentes de partida e aumentar a temperatura do refluxo. Através deste ensaio foi ainda possível concluir que o meio ácido é essencial para a conversão das estruturas. No entanto, uma quantidade catalítica de ácido não

mostrou ser suficiente e verificou-se a necessidade da presença de uma quantidade equivalente. A decisão de recorrer a dois equivalentes prendeu-se com a volatilidade do TFA, motivo pelo qual foi necessário adicionar mais TFA.

As diferentes reações decorreram em condições semelhantes, no entanto, verificam-se tempos de reação distintos para os diferentes substituintes R₂. O tempo de reação mais longo foi registado para CH₂Ph e para Ar(*p*)OMe, sugerindo que a conjugação deste substituinte com o anel de imidazole poderá dificultar o rearranjo de **5.2.1** (ver proposta mecanística).

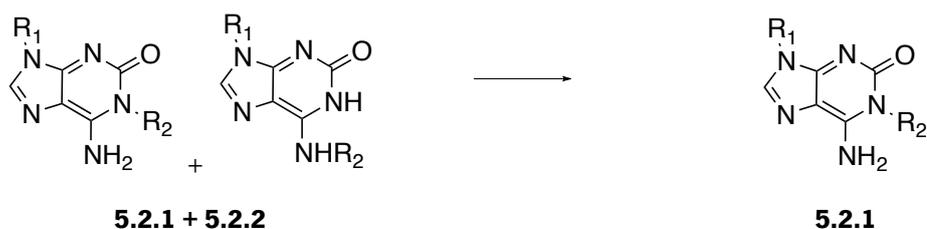
Na reação descrita na quarta entrada recorreu-se à adição de uma amina primária (NH₂CH₂CH₂OCH₃) e o resultado sugere que a amina favoreceu o rearranjo pela sua capacidade de funcionar como nucleófilo, sendo depois eliminada.

Também foram efetuados ensaios para explorar a hipótese de converter as isoguaninas substituídas em N-6 nas isoguaninas substituídas em N-1. As reações que foram realizadas em diferentes condições reacionais demonstraram que o produto final era sempre o reagente de partida, a purina **5.2.2**, evidenciando a maior estabilidade termodinâmica da estrutura **5.2.2**.

5.2.4. Separação de misturas de isoguaninas

Uma vez que não foi possível preparar seletivamente as isoguaninas **5.2.1**, por serem termodinamicamente menos estáveis do que os isómeros **5.2.2**, decidiu-se testar a possibilidade de separar os dois isómeros das misturas isoladas na tentativa de isolar os compostos **5.2.1** puros.

A partir de misturas de **5.2.1** e **5.2.2** prepararam-se suspensões às quais se adicionou uma quantidade equimolar de base relativamente à composição da mistura na isoguanina substituída em N-6, **5.2.2**. Dessa forma foi possível formar o sal da forma substituída em N-6 que se solubilizou no solvente utilizado, deixando apenas a forma **5.2.1** em suspensão.



5.2.1.2 R_1 : Ar(*p*)OMe; R_2 : CH₃, 100%

5.2.1.7 R_1 : Ar(*p*)CN; R_2 : CH₃, 44%

Esquema 5.10 – Separação de misturas de **5.2.1** e **5.2.2**

Na entrada 1 da tabela 5.8 é descrita uma reação na qual foi possível recuperar a totalidade da isoguanina **5.2.1.2** presente na mistura, através do recurso à utilização de DBU como base e do etanol como solvente.

Tabela 5.1 - Condições experimentais para a separação de isoguaninas **5.2.1** a partir de misturas de **5.2.1 + 5.2.2**

Entrada	R_1	R_2	mmol RP	Condições	Produto	η (%)
1	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	0,26 ^{a)}	EtOH (2,5 mL), DBU (equimolar de 5.2.2.2), 40°C, 6 h	5.2.1.2	100
2	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	0,11	ACN (3 mL), DBU (equimolar de 5.2.2.3), ta, 20 min	5.2.2.3	0
3	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	0,26 ^{b)}	DMF (2,0 mL), DBU (equimolar de 5.2.2.6), 40°C, 18 h	5.2.1.6	44

a) mistura de 5.2.1.2 e 5.2.2.2 numa proporção de 8:2

b) mistura de 5.2.1.7 e 5.2.2.7 numa proporção de 7:3

Para a isoguanina com $R_1 = \text{Ar}(p)\text{OMe}$ e $R_2 = \text{CH}_2\text{Ph}$ foi avaliado o mesmo método, assim como alternativas com recurso a outros solventes e mais equivalentes de DBU, no entanto, o isolamento de **5.2.2.3** mostrou que não se verificou a formação do sal e respetiva solubilização. Neste caso, questões de acidez das isoguaninas **5.2** condicionaram o isolamento das isoguaninas **5.2.1** pretendidas. No caso da separação das isoguaninas **5.2.1.6** e **5.2.2.6** foi necessário utilizar DMF como solvente, o que poderá ter condicionado a recolha do produto e, conseqüentemente, o rendimento (entrada 3).

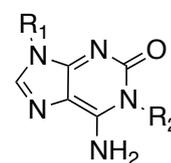
5.3. Caracterização das isoguaninas

Para proceder à caracterização das estruturas das isoguaninas preparadas foi necessário, por vezes, recorrer a misturas, uma vez que não foi possível obter de forma isolada algumas das moléculas.

5.3.1 Caracterização das isoguaninas 5.2.1

Para alguns dos compostos não foi medido o ponto de fusão porque foram isolados na forma de uma mistura com a outra purina 5.2.2. Ainda assim, foi possível validar a composição química das estruturas atribuídas através da análise elementar. Os dados obtidos estão descritos na tabela 5.9.

Tabela 5.9 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas 5.2.1

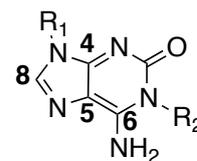


Produto	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
5.2.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	>305 ^{a)}	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O ₂	57,60; 5,06; 25,78 (57,56; 4,83; 25,82)
5.2.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	b)	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₂ ·0,5H ₂ O	64,41; 5,32; 19,31 (64,04; 5,06; 19,66)
5.2.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ CH ₂ OH	b)	C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O ₃	55,48; 4,99; 23,26 (55,81; 5,02; 23,24)
5.2.1.9	Ar(<i>p</i>)OMe	Ph	294-296	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ O ₂	65,54; 4,40; 20,86 (64,86; 4,54; 21,01)
5.2.1.10	Ar(<i>p</i>)OMe	Ar(<i>p</i>)F	>300 ^{a)e)d)}	C ₁₈ H ₁₄ N ₃ O ₂ F	61,42; 4,17; 19,80 (61,53; 4,02; 19,93)
5.2.1.6	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	>302 ^{a)e)d)}	C ₁₃ H ₁₀ N ₃ O ₂ ·0,2H ₂ O	58,13; 4,17; 30,68 (57,86; 3,88; 31,14)
5.2.1.7	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	b)	C ₁₉ H ₁₄ N ₃ O ₂ ·0,9H ₂ O	63,51; 4,44; 23,40 (63,65; 4,44; 23,44)
5.2.1.8	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	b)	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O	d)
5.2.1.11	CH ₃	CH ₃	b)	C ₇ H ₅ N ₃ O	d)
5.2.1.12	CH ₃	CH ₂ Ph	b)	C ₁₃ H ₁₃ N ₃ O	d)

a) Ocorre degradação; b) A amostra corresponde a uma mistura; c) O composto foi isolado puro após separação de uma mistura de 5.2.1 e 5.2.2; d) AE pendente (aparelho em manutenção)

Na tabela 5.10 estão registados os dados obtidos por espetroscopia de ¹H RMN e por infravermelho. A análise destes dados permitiu consolidar a proposta de estrutura para as isoguaninas obtidas.

Tabela 5.10 - Dados de ^1H RMN e IV para as isoguaninas **5.2.1** (DMSO- d_6)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-8	NH ₂	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
5.2.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	8,07 (1H, s)	8,16 (2H, sl)	7,66 (2H; d; 8,7 Hz, Hd) 7,07 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,80 (3H; s; OMe)	3,36 (3H, s)	3385 m, 3208 i, 3120 i, 3052 i, 1883 f, 1698 i, 1640 i, 1601 i, 1584 i, 1569 i, 1513 i
5.2.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ Ph	8,10 (1H, s)	8,17 (2H, sl)	7,68 (2H; d; 9,0 Hz, Hd) 7,08 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,80 (3H; s; OMe)	7,40 – 7,20 (5H, m) 5,24 (2H, sl)	3391 f, 3215 f, 3110 m, 3078 m, 1696 m, 1638 i, 1603 f, 1562 i, 1513 i
5.2.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ CH ₂ OH	8,07 (1H, s)	8,02 (<2H, sl)	7,66 (2H; d; 8,7 Hz, Hd) 7,08 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,80 (3H; s; OMe)	4,05 (2H; t; 6,0 Hz) 3,60 (2H; t; 6,0 Hz) 4,90 (1H, sl)	a)
5.2.1.9	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	8,11 (1H, s)	-	7,68 (2H; d; 9,0 Hz, Hd) 7,09 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,81 (3H; s; OMe)	7,53 (2H; t; 7,2 Hz) 7,46 (1H; t; 7,2 Hz) 7,26 (2H; d; 7,2 Hz)	3382 f, 3100 m, 1684 i, 1642 i
5.2.1.1 0	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)F	8,11 (1H, s)	-	7,67 (2H; d; 9,0 Hz, Hd) 7,09 (2H; d; 9,0 Hz, Hm) 3,81 (3H; s; OMe)	7,32 – 7,35 (4H, m)	3274 f, 3072 m, 1684 i, 1645 i, 1572 i
5.2.1.6	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	8,37 (1H, s)	-	8,38 (2H; d; 8,7 Hz; Hd) 8,02 (2H; d; 9,0 Hz; Hm)	3,36 (3H, s)	3422 f, 3335 m, 3311 m, 3274 m, 3215 m, 3118 i, 2237 m, 2228 i, 1690 i, 1673 i, 1657 i, 1633 i, 1607 i, 1576 i
5.2.1.7	Ar(<i>p</i>)CN CH ₂ Ph	8,40 (1H, s)	8,43 (<2H, s)	8,21 (2H; d; 8,7 Hz, Hd) 8,05 (2H; d; 8,7 Hz, Hm)	7,40 – 7,15 (5H, m) 5,25 (2H, s)	3584 f, 3381 m, 3258 m, 3112 m, 2224 m, 1693 i, 1639 i, 1600 i
5.2.1.8	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	7,86 (1H, s)	8,08 (2H, sl)	7,25 (5H, m) 5,21 (2H, s)	7,25 (5H, m) 5,11 (2H, s)	a)
5.2.1.1 1	CH ₃ CH ₃	7,67 (1H, s)	8,00 (2H, sl)	3,43 (3H, s)	3,52 (3H, s)	a)
5.2.1.1 2	CH ₃ CH ₂ Ph	7,71 (1H, s)	8,01 (2H, sl)	3,46 (3H, s)	7,23 (5H, m) 5,22 (2H, s)	a)

a) A amostra corresponde a uma mistura

Na caracterização por ^1H RMN destas estruturas, os sinais atribuídos ao próton ligado ao anel de imidazole em C-8 surgem como um singleto a desvios entre δ 7,67 e 8,40 ppm. Assim, os sinais deste próton apresentam desvios químicos mais altos do que os sinais identificados para o próton equivalente

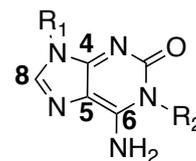
na estrutura precursora aberta, o que confirma a expectativa de um sistema mais conjugado, característico de uma estrutura de purina. Verifica-se que nem sempre há registo dos prótons do grupo NH_2 ligado ao anel de purina, mas quando registados, apresentam-se na forma de singletos largos que integram para dois prótons cujos desvios variam entre δ 8,00 e 8,42 ppm.

Os sinais observados para os grupos substituintes mantêm o padrão e a reprodutibilidade reconhecida para estruturas deste tipo. Quando $R_1=\text{Ar}(p)\text{OMe}$, o dupletto, correspondente aos dois prótons em posição *orto* no anel, sofre um desvio para valores entre δ 7,66 e 7,68 ppm, quando na estrutura precursora **5.1** apresentam sinais com desvio químico por volta dos δ 7,40 ppm. O mesmo comportamento é observado quando $R_1=\text{Ar}(p)\text{CN}$.

Na espectroscopia de infravermelho é possível identificar sinais relevantes que validam a estrutura proposta, nomeadamente, sinais relativos ao grupo carbonilo do anel de purina observados entre 1638 e 1693 cm^{-1} . São também assinaláveis as bandas relativas às ligações N-H, observadas por volta dos 3100 – 3400 cm^{-1} , assim como bandas características do estiramento das ligações C-H aromáticas para as moléculas que têm este tipo de substituintes.

Na tabela 5.11 estão descritos os sinais registados nos espetros de ^{13}C RMN que, juntamente com as técnicas de caracterização de RMN 2D, sustentam as estruturas atribuídas.

Tabela 5.11 - Dados de ^{13}C RMN para as isoguaninas **5.2.1** ($\text{DMSO}-d_6$)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C=O	R ₁	R ₂
5.2.1.2	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	137,66	108,59	152,39	151,51	154,20	158,04 (<i>Cp</i>) 114,37 (<i>Cm</i>) 124,36 (<i>Cd</i>) 128,14 (<i>Cj</i>) 55,46 (OMe)	29,99
5.2.1.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ Ph	138,10	108,60	152,80	151,30	154,10	158,40 (<i>Cp</i>) 114,46 (<i>Cm</i>) 125,00 (<i>Cd</i>) 128,30 (<i>Cj</i>) 55,48 (OMe)	126,60 (<i>Cp</i>) 127,20 (<i>Cm</i>) 128,30 (<i>Cd</i>) 136,66 (<i>Cj</i>) 44,87 (CH ₂)
5.2.1.4	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ CH ₂ OH	137,80	108,90	152,60	151,90	154,30	158,30 (<i>Cp</i>) 114,46 (<i>Cm</i>) 125,00 (<i>Cd</i>) 128,30 (<i>Cj</i>) 55,48 (OMe)	59,93 45,09
5.2.1.9	Ar(<i>p</i>)OMe Ph	138,11	108,38	153,61	151,55	154,09	158,16 (<i>Cp</i>) 114,40 (<i>Cm</i>) 124,63 (<i>Cd</i>) 128,07 (<i>Cj</i>) 55,47 (OMe)	136,25; 129,89 128,77; 128,02
5.2.1.10	Ar(<i>p</i>)OMe Ar(<i>p</i>)F	138,10	108,43	153,61	151,77	154,12	158,61 (<i>Cp</i>) 114,41 (<i>Cm</i>) 124,63 (<i>Cd</i>) 128,02 (<i>Cj</i>) 55,47 (OMe)	160,49 (d; 220 Hz) (<i>Cp</i>) 116,78 (d; 22,88 Hz) (<i>Cm</i>) 131,08 (d; 8,85 Hz) (<i>Cd</i>) 132,58 (d; 3,15 Hz) (<i>Cj</i>)
5.2.1.6	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	136,70	108,80	152,40	151,60	154,10	139,20 (<i>Cp</i>) 124,80 (<i>Cm</i>) 122,50 (<i>Cd</i>) 108,90 (<i>Cj</i>) 118,50 (CN)	30,20
5.2.1.7	Ar(<i>p</i>)CN CH ₂ Ph	137,10	109,00	152,80	151,40	154,00	139,10 (<i>Cp</i>) 126,60 (<i>Cm</i>) 122,20 (<i>Cd</i>) 108,90 (<i>Cj</i>) 118,50 (CN)	126,66 (<i>Cp</i>) 127,20 (<i>Cm</i>) 128,30 (<i>Cd</i>) 136,30 (<i>Cj</i>) 45,00 (CH ₂)
5.2.1.8	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	a)						
5.2.1.11	CH ₃ CH ₃	a)						

Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C=O	R ₁	R ₂
5.2.1.12	CH ₃ CH ₂ Ph	a)						

a) A amostra corresponde a uma mistura

Não foi possível obter a caracterização completa para as estruturas identificadas como **5.2.1.8**, **5.2.1.11** e **5.2.1.12** através deste método, uma vez que estas moléculas foram recolhidas como misturas dos dois derivados de isoguanina e os espectros obtidos apresentaram-se muito complexos. Na generalidade verifica-se que o carbono C-8 apresenta um sinal típico para estruturas do tipo purina que surge entre δ 137 e 138 ppm. Registam-se sinais entre δ 108 e 109 ppm para o carbono C-5, entre δ 152 e 153 ppm para o carbono C-4 e por volta de δ 151 ppm para C-6. O carbono carbonílico do anel de purina apresenta sinais entre δ 154 e 160 ppm. Estas atribuições foram efetuadas tendo como suporte as correlações obtidas através das técnicas 2D (figura 5.2).

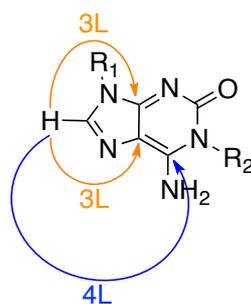
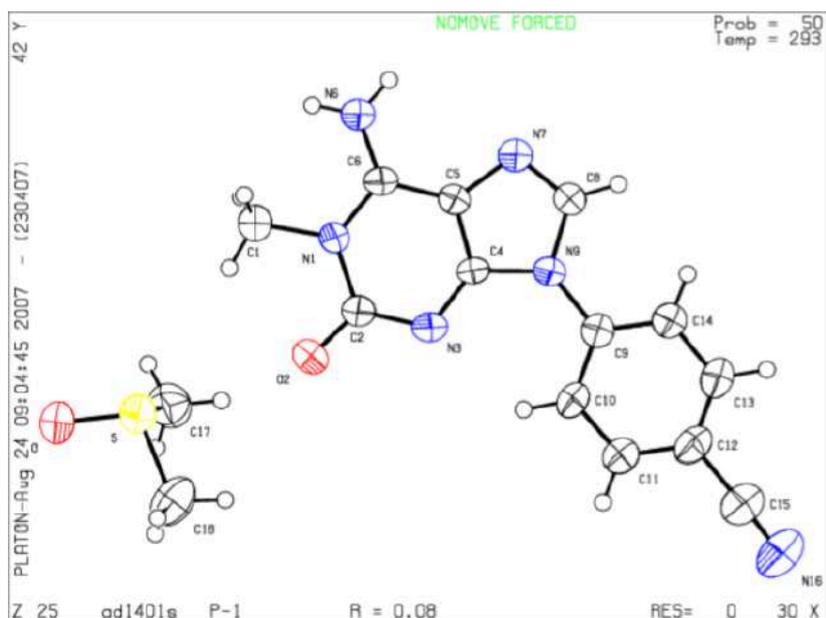


Figura 5.2 – Correlações registadas em HMBC para as estruturas **5.2.1**

A estrutura proposta foi confirmada através da caracterização por raios-X realizada a um cristal obtido para **5.2.1.6** em que R₁ = Ar(*p*)CN e R₂ = CH₃.

O tamanho do cristal era de 0,45 x 0,29 x 0,17 mm³ e as imagens de raios-X foram recolhidas à temperatura de 293 K e com um comprimento de onda de 0,71073 Å. O registo dos comprimentos de ligação e dos ângulos de ligação encontra-se na tabela 5.12, assim como os respetivos desvios padrão.

Tabela 5.12 – Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) de **5.2.1.6**



C(1)-N(1)	1.482(6)	N(1)-C(1)-H(1A)	109.5	N(6)-C(6)-N(1)	122.4(4)
C(1)-H(1A)	0.9600	N(1)-C(1)-H(1B)	109.5	N(6)-C(6)-C(5)	122.5(4)
C(1)-H(1B)	0.9600	H(1A)-C(1)-H(1B)	109.5	N(1)-C(6)-C(5)	115.1(4)
C(1)-H(1C)	0.9600	N(1)-C(1)-H(1C)	109.5	C(6)-N(6)-H(6A)	120.0
N(1)-C(6)	1.361(5)	H(1A)-C(1)-H(1C)	109.5	C(6)-N(6)-H(6B)	120.0
N(1)-C(2)	1.441(6)	H(1B)-C(1)-H(1C)	109.5	H(6A)-N(6)-H(6B)	120.0
C(2)-O(2)	1.236(5)	C(6)-N(1)-C(2)	123.0(4)	C(8)-N(7)-C(5)	104.8(4)
C(2)-N(3)	1.346(6)	C(6)-N(1)-C(1)	119.0(4)	N(7)-C(8)-N(9)	113.1(4)
N(3)-C(4)	1.331(5)	C(2)-N(1)-C(1)	118.0(4)	N(7)-C(8)-H(8)	123.4
C(4)-C(5)	1.371(6)	O(2)-C(2)-N(3)	123.2(4)	N(9)-C(8)-H(8)	123.4
C(5)-C(6)	1.393(6)	O(2)-C(2)-N(1)	116.1(4)	C(4)-N(9)-C(8)	105.4(4)
C(5)-N(7)	1.398(5)	C(4)-N(3)-C(2)	114.5(4)		
C(6)-N(6)	1.323(5)	N(3)-C(4)-C(5)	127.9(4)		
N(6)-H(6A)	0.8600	N(3)-C(4)-N(9)	126.9(4)		
N(6)-H(6B)	0.8600	C(5)-C(4)-N(9)	105.1(4)		
N(7)-C(8)	1.293(6)	C(4)-C(5)-C(6)	118.8(4)		
C(8)-N(9)	1.402(6)	C(4)-C(5)-N(7)	111.5(4)		
C(8)-H(8)	0.9300	C(6)-C(5)-N(7)	129.5(4)		

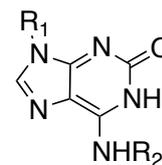
Os valores medidos para os comprimentos de ligação e para os ângulos estão de acordo com os valores de referência [1]. Os ângulos medidos para o substituinte CH₃ entre C(1), N(1) e os átomos de hidrogénio

foram de 109,5°, o que confirma a geometria tetraédrica. Entre N(6), C(6) e os átomos de hidrogénio ligados a N(6) foram obtidos ângulos com o valor de 120° que confirmam uma geometria triangular plana. Para as ligações no anel de purina, o valor medido para a ligação C(4) – N(3) foi de 1,331 Å e para a ligação C(5) – N(6) foi de 1,393 Å, sendo que o valor de referência para uma ligação dupla entre um carbono *sp*² e um nitrogénio é de 1,313 Å. O valor de referência para uma ligação simples entre os dois átomos referidos é de 1,376 Å e os valores obtidos para C(2) – N(3), para N(1) – C(2) e para N(1) – C(6) foram de 1,346 Å, 1,441 Å e 1,361 Å, respetivamente. Os ângulos medidos entre as ligações estabelecidas entre estes átomos foram de 114,5° para C(4) – N(3) – C(2), 115,1° para C(5) – C(6) – N(1), 118,8° para C(4) – C(5) – C(6), 123,0° para C(6) – N(1) – C(2) e 127,9° para C(5) – C(4) – N(3). No anel de imidazole, o comprimento da ligação obtido para C(5) – N(7) é de 1,398 Å, sendo uma ligação comparável a C(4) – N(9) e a C(8) – N(9). A ligação dupla C(8) – N(7) apresenta um comprimento de ligação de 1,293 Å. Os ângulos medidos entre as ligações estabelecidas entre estes átomos foram de 104,8° para C(8) – N(7) – C(5), 105,1° para C(5) – C(4) – N(9), 105,4° para C(4) – N(9) – C(8), 111,5° para N(7) – C(5) – C(4) e 113,1° para N(7) – C(8) – N(9).

5.3.2. Caracterização das isoguaninas **5.2.2**

As estruturas **5.2.2** propostas também foram confirmadas por diferentes métodos de caracterização, tal como descritos na tabela 5.13 e na tabela 5.14.

Tabela 5.13 - Dados físicos e analíticos para as isoguaninas **5.2.2**



Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
5.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe	H	>305 ^{a)}	C ₁₂ H ₁₁ N ₅ O ₂ .0,3H ₂ O	54,94; 4,32; 26,90 (54,87; 4,45; 26,66)
5.2.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₃	>312 ^{a)}	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₂ .0,4H ₂ O	55,95; 4,92; 25,12 (56,07; 4,99; 25,15)
5.2.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ Ph	267 - 269	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₂ .0,5H ₂ O	64,41; 5,32; 19,31 (64,04; 5,06; 19,66)
5.2.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe	CH ₂ CH ₂ OH	b)	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₃	55,48; 4,99; 23,26 (55,81; 5,02; 23,24)

Prod.	R ₁	R ₂	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos (calculados) C; H; N (%)
5.2.2.5	Ar(<i>p</i>)CN	H	>280 ^{a)}	C ₁₂ H ₈ N ₆ O.0,4H ₂ O	55,58; 3,49; 31,85 (55,56; 3,42; 32,39)
5.2.2.6	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₃	b)	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,2H ₂ O	58,13; 4,17; 30,68 (57,86; 3,88; 31,14)
5.2.2.7	Ar(<i>p</i>)CN	CH ₂ Ph	>300 ^{a)}	C ₁₉ H ₁₄ N ₆ O.0,9H ₂ O	63,51; 4,44; 23,40 (63,65; 4,44; 23,44)
5.2.2.8	CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	b)	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O	c)
5.2.2.1 1	CH ₃	CH ₃	b)	C ₇ H ₉ N ₅ O	c)
5.2.2.1 2	CH ₃	CH ₂ Ph	b)	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O	c)

a) Ocorre degradação; b) A amostra corresponde a uma mistura; c) AE pendente (aparelho em manutenção).

O ponto de fusão destas estruturas foi determinado quando os compostos foram isolados na sua forma pura e foi confirmada a respetiva composição por análise elementar.

Tabela 5.14 - Dados de ¹H RMN e IV para as isoguaninas **5.2.2** (DMSO-*d*₆)



Prod.	R ₁ /R ₂	H-8	NH NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
5.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe H	8,07 (1H, s)	10,66 (1H, sl)	7,64 (2H; d; 9,0 Hz, H _d) 7,07 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,80 (3H; s; OMe)	7,65 (2H, sl)	3225 m, 3106 f, 1725 m, 1638 i, 1610 i, 1523 i
5.2.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	8,08 (1H, s)	10,70 (1H, sl) 8,00 (1H, sl)	7,64 (2H; d; 9,0 Hz, H _d) 7,08 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,80 (3H; s; OMe)	2,93 (3H, sl)	3234 i, 3126 m, 3053 m, 2733 m, 1681 i, 1626 i, 1596 i
5.2.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ Ph	8,13 (1H, s)	8,61 (1H, sl) 10,62 (1H, sl)	7,62 (2H; d; 8,7 Hz, H _d) 7,09 (2H; d; 9,3 Hz, H _m) 3,81 (3H; s; OMe)	7,29 (5H, m) 4,71 (2H, sl)	3389 m, 3090 m, 1686 m, 1624 i, 1579 i, 1557 i, 1523 m, 1511 i
5.2.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ CH ₂ OH	8,09 (1H, s)	9,80-10,80 (1H, sl)	7,64 (2H; d; 8,7 Hz, H _d) 7,07 (2H; d; 9,0 Hz, H _m) 3,80 (3H; s; OMe)	4,05 (2H; t, 6,0 Hz) 3,60 (2H; t, 6,0 Hz) 4,90 (1H, sl)	a)
5.2.2.5	Ar(<i>p</i>)CN H	8,38 (1H, s)	10,63 (1H, sl)	8,38 (2H; d; 8,7 Hz; H _d) 8,18 (2H; d; 8,7 Hz; H _m)	7,20 – 7,90 (2H, sl)	3570 f, 3372 m, 3102 m, 2221 f, 1675 i, 1606 i, 1522 i
5.2.2.6	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	8,39 (1H, s)	10,88 (1H, sl)	8,21 (2H; d; 8,7 Hz; H _d) 8,02 (2H; d; 8,7 Hz; H _m)	2,90 (3H, sl)	3407 f, 3241 m, 3113 m, 2229 m, 1687 i, 1652 i, 1614 i, 1597 i, 1544 m ^{a)}

Prod.	R ₁ /R ₂	H-8	NH NH	R ₁	R ₂	IV (Nujol) (cm ⁻¹)
5.2.2.7	Ar(<i>p</i>)CN CH ₂ Ph	8,43 (1H, sl)	8,43 (1H, s)	8,19 (2H; d; 8,7 Hz, Hd) 8,04 (2H; d; 8,7 Hz, Hm)	7,30 (5H, m) 4,71 (2H, sl)	3312 f, 3247 f, 3130 f, 3062 f, 2226 f, 1668 i, 1628 i, 1612 m, 1597 m
5.2.2.8	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	7,88 (1H, s)	8,32 - 10,79 (2H, sl)	7,25 (5H, m) 5,21 (2H, s)	7,25 (5H, m) 4,65 (2H, sl)	a)
5.2.2.1 1	CH ₃ CH ₃	7,67 (1H, s)	10,70 (1H, sl)	3,43 (3H, s)	2,90 (3H, sl)	a)
5.2.2.1 2	CH ₃ CH ₂ Ph	7,71 (1H, s)	-	3,50 (3H, sl)	7,23 (5H, m) 4,62 (2H, sl)	a)

a) A amostra corresponde a uma mistura.

Os sinais do próton ligado ao carbono C-8 do anel de imidazole foram registados com valores entre δ 7,88 e 8,43 ppm. Este singleto, a integrar para um próton, é um fator distintivo entre a purina substituída em N-1 e em N-6, uma vez que, no caso destas purinas **5.2.2**, o sinal aparece a um desvio químico ligeiramente maior do que para as purinas **5.2.1**. Outra das diferenças que se detetam nos espetros de ¹H RMN destas purinas, em relação às substituídas em N-1, é registada nos desvios químicos dos substituintes. Os sinais dos dupletos dos prótons *orto* quando R₁=Ar(*p*)OMe ou R₁=Ar(*p*)CN encontram-se a desvios químicos ligeiramente mais baixos do que aqueles que se registam para as purinas **5.2.1**, assim como para os prótons dos substituintes em R₂, quando R₂=CH₃ ou R₂=CH₂Ph. Nestas purinas **5.2.2** nem todos os prótons são observados nos registos dos espetros. Os prótons ligados ao nitrogénio do anel de purina ou ligados ao nitrogénio da amina incorporada em C-6, nem sempre são observados. No entanto, verifica-se que alguns dos compostos apresentam dois sinais largos bastante desprotegidos e centrados por volta dos δ 8,5 e dos 10,6 ppm, enquanto outros compostos apresentam apenas uma banda larga entre δ 9,80 e 10,80 ppm ou entre δ 8,32 e 10,88 ppm. Nos casos em que são observados dois prótons, o NH mais ácido foi atribuído ao nitrogénio da amina endocíclica, devido à conjugação com o grupo carbonilo adjacente.

Os sinais observados através da espectroscopia de infravermelho permitem confirmar a presença de ligações para os intervalos em que habitualmente são registados.

Na tabela 5.15 observam-se sinais que, quando comparados com os registados para o derivado de isoguanina **5.1.1**, evidenciam uma consistência que permite assegurar a validade da atribuição das respetivas estruturas.

Tabela 5.15 - Dados de ^{13}C RMN para as isoguaninas **5.2.2** ($\text{DMSO-}d_6$)



Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C=O	R ₁	R ₂
5.2.2.1	Ar(<i>p</i>)OMe H	138,31	109,63	154,56	152,27	156,74	158,18 (<i>Cp</i>) 114,38 (<i>Cm</i>) 124,71 (<i>Co</i>) 128,09 (<i>Cl</i>) 55,47 (OMe)	-
5.2.2.2	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₃	137,66	108,59	152,39	151,51	154,20	158,04 (<i>Cp</i>) 114,43 (<i>Cm</i>) 124,82 (<i>Co</i>) 128,14 (<i>Cl</i>) 55,46 (OMe)	18,00
5.2.2.3	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ Ph	138,00	108,60	152,80	151,30	154,10	158,11 (<i>Cp</i>) 114,46 (<i>Cm</i>) 124,99 (<i>Co</i>) 128,03 (<i>Cl</i>) 55,45 (OMe)	126,60 (<i>Cp</i>) 128,30 (<i>Co</i>) 127,20 (<i>Cm</i>) 136,60 (<i>Cl</i>) 44,90 (CH ₂)
5.2.2.4	Ar(<i>p</i>)OMe CH ₂ CH ₂ OH	138,00	109,30	152,60	151,93	154,30	158,30 (<i>Cp</i>) 114,43 (<i>Cm</i>) 124,91 (<i>Co</i>) 127,99 (<i>Cl</i>) 55,48 (OMe)	59,93 (CH ₂ O) 58,72 (CH ₂ N)
5.2.2.5	Ar(<i>p</i>)CN H	137,04	109,91	154,33	149,27	159,58	138,98 (<i>Cp</i>) 122,20 (<i>Cm</i>) 133,22 (<i>Co</i>) 108,93 (<i>Cl</i>) 118,07 (CN)	
5.2.2.6	Ar(<i>p</i>)CN CH ₃	138,90	111,88	152,39	151,62	154,07	136,66 (<i>Cp</i>) 126,10 (<i>Cm</i>) 134,04 (<i>Co</i>) 111,88 (<i>Cl</i>) 118,17 (CN)	29,14
5.2.2.7	Ar(<i>p</i>)CN CH ₂ Ph	137,07	108,98	152,81	151,39	154,04	139,14 (<i>Cp</i>) 122,25 (<i>Cm</i>) 133,60 (<i>Co</i>) 108,91 (<i>Cl</i>) 118,48 (CN)	126,55 (<i>Cp</i>) 128,31 (<i>Co</i>) 127,17 (<i>Cm</i>) 136,33 (<i>Cl</i>) 45,02 (CH ₂)
5.2.2.8	CH ₂ Ph CH ₂ Ph	a)						

Prod.	R ₁ /R ₂	C-8	C-5	C-4	C-6	C=O	R ₁	R ₂
5.2.2.11	CH ₃ CH ₃	a)						
5.2.2.12	CH ₃ CH ₂ Ph	a)						

a) A amostra corresponde a uma mistura.

Na interpretação dos espectros de ¹³C RMN e respectivas correlações de RMN 2D observou-se, para a maioria dos compostos **5.2.2**, um padrão de sinais semelhante ao que foi registado para as estruturas **5.2.1** para todos os carbonos.

Os compostos identificados como misturas não foram caracterizados através deste meio devido à obtenção de espectros complexos.

5.3.3 Estudos cinéticos em tubo de RMN

Para estudar os mecanismos envolvidos nas reações que conduzem a formação das isoguaninas, procedeu-se à realização de alguns estudos cinéticos em tubo de RMN.

A evolução da proporção relativa dos constituintes da mistura reacional foi acompanhada e traduzida em gráficos que permitem fazer uma leitura dos caminhos sintéticos.

5.3.3.1 Reação de **5.1.1** em meio neutro

O imidazole **5.1.1** foi mantido em solução de DMSO-*d*₆, a 40°C, durante um mês em tubo de RMN, e a evolução da reação foi acompanhada em intervalos de tempo sucessivos (figura 5.3).

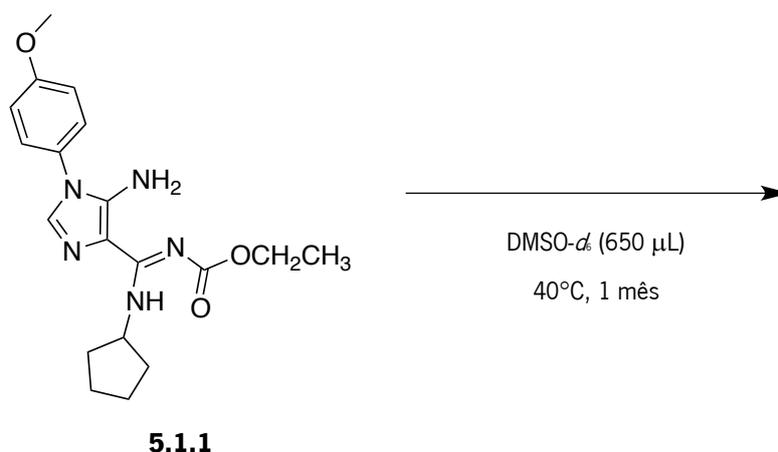


Figura 5.3 – Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada **5.1.1** em meio neutro

A partir dos espectros de ^1H RMN, construiu-se o gráfico da figura 5.4 no qual estão descritas as quantidades relativas dos compostos presentes na mistura reacional ao longo do tempo.

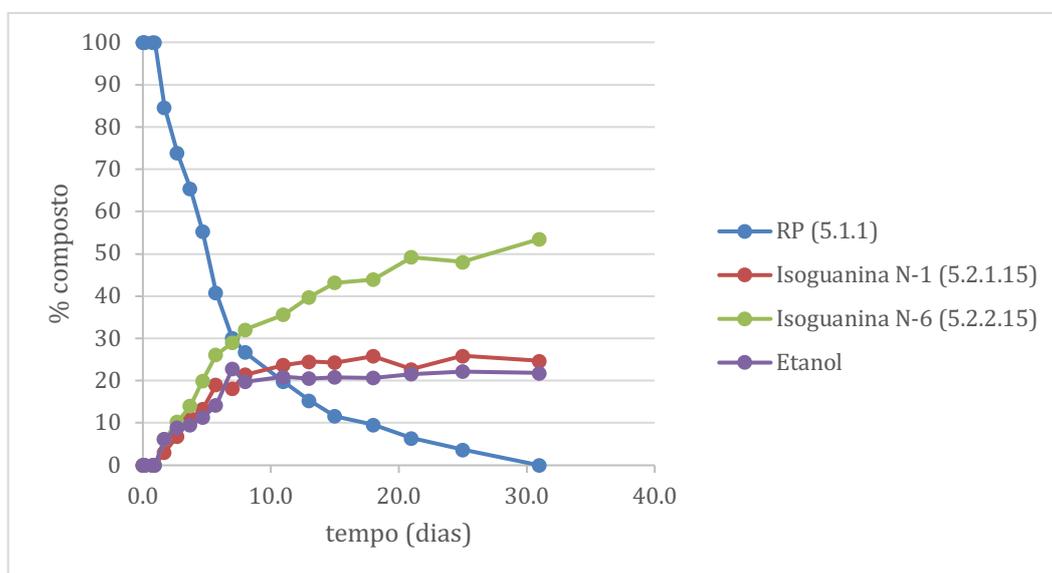


Figura 5.4 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos presentes na evolução de **5.1.1** em meio neutro e em tubo de RMN

Através da análise dos diferentes espectros obtidos, e por comparação com os dados de caracterização de isoguaninas equivalentes, foi possível perceber que, à medida que o reagente de partida foi sendo consumido, houve a formação das duas isoguaninas substituídas em N-1 e N-6. Observa-se também a formação de um imidazole intermediário com o grupo etoxicarbonilo migrado para o nitrogênio ligado a C-5 do anel de imidazole, mas em quantidade residual e não quantificável. Essa quantidade, mesmo que residual, atinge o seu máximo após cerca de 4 dias desde o início da reação e começa a diminuir dois dias depois até desaparecer totalmente, o que acontece 25 dias após o início da reação. À medida que se formam as purinas, verifica-se a formação de etanol. Estes resultados demonstram que, em meio neutro, a formação das isoguaninas substituídas em N-6 não é seletiva.

5.3.3.2 Reação de **5.1.3** em meio ácido

O efeito do meio ácido na síntese das purinas também foi avaliado através do estudo cinético descrito na figura 5.5. A reação decorreu à temperatura ambiente e durante treze dias na presença de ácido trifluoracético (TFA).

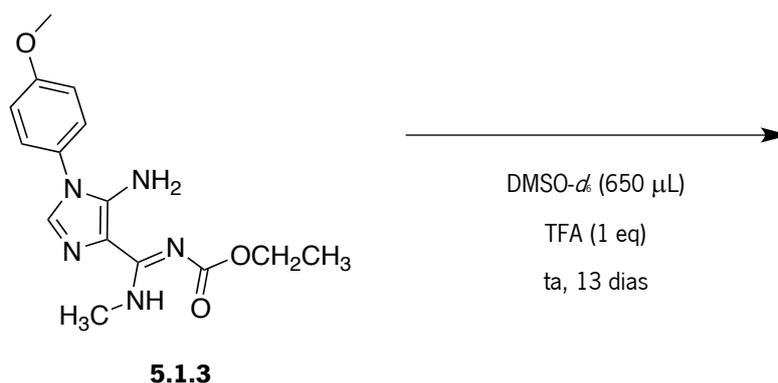


Figura 5.5 – Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada **5.1.3** em meio ácido

No gráfico da figura 5.6 observa-se que o reagente de partida começou a evoluir e, três dias após o início da reação já se detetavam sinais correspondentes a quantidades vestigiais de isoguanina N-6, **5.2.2.2**.

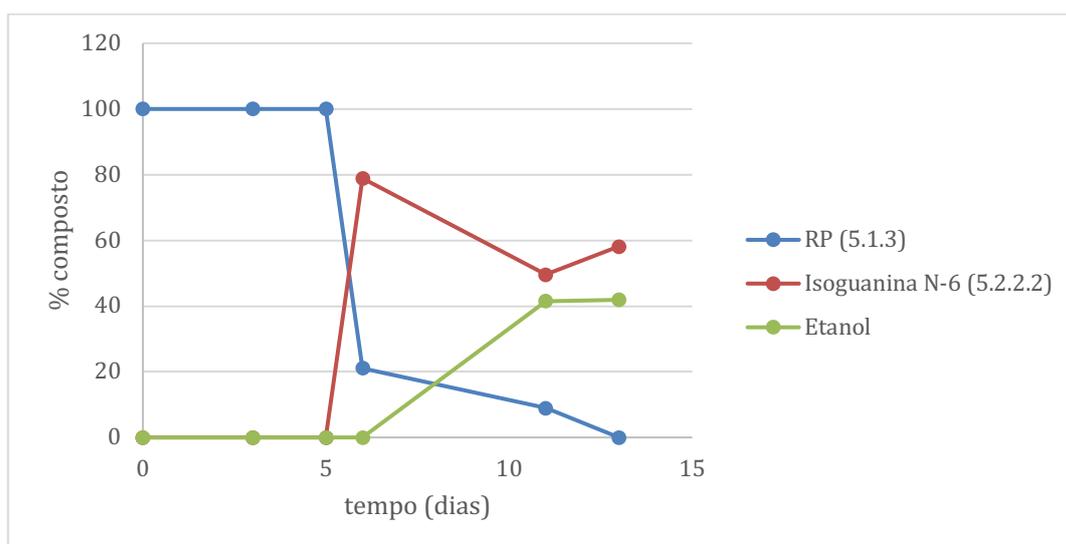


Figura 5.6 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na evolução de **5.1.3** em meio ácido em tubo de RMN

À medida que o tempo de reação aumenta é possível observar, pela leitura do gráfico, que o imidazole inicial dá lugar apenas a uma das purinas, a purina **5.2.2.2**, tal como nas reações descritas na tabela 5.6 que decorrem em balão reacional e em meio ácido.

5.3.3.3 Reação de **5.1.4** em meio neutro

O intermediário **5.1.4** foi dissolvido em DMSO deuterado e a reação decorreu durante vinte e cinco dias à temperatura de 40°C em tubo de RMN (figura 5.7).

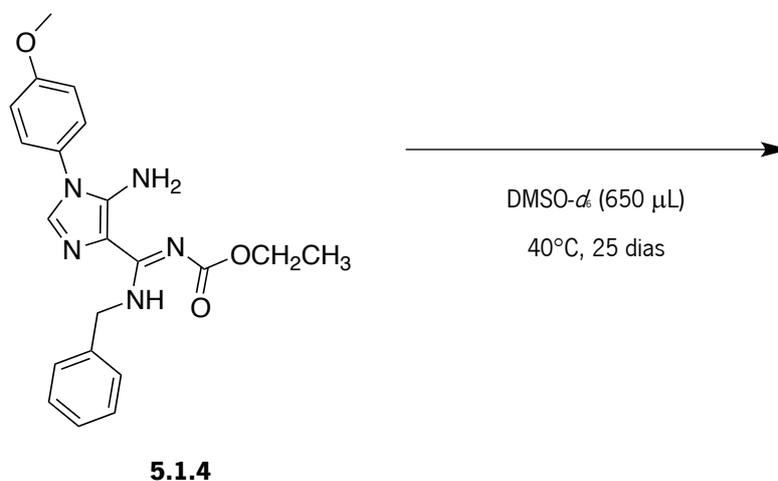


Figura 5.7 – Condições reacionais do estudo cinético da amidina acilada **5.1.4** em meio neutro

Neste estudo foi possível acompanhar a formação de um imidazole intermediário que parece ser um precursor das isoguaninas **5.2.1.3** e que permanece em quantidades vestigiais não quantificáveis até pouco mais de 15 dias após o início da reação, momento em que a formação da isoguanina **5.2.1.3** estabiliza. A este intermediário foi atribuída a estrutura 5.2.0.3a com base nos desvios químicos observados para os prótons H-2 e OCH₂ (figura 5.8).

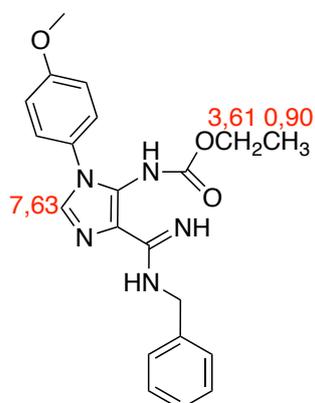


Figura 5.8 – Desvios químicos de ¹H RMN em ppm para a estrutura **5.2.0.3a**

Na leitura do gráfico da figura 5.9 observa-se uma evolução esperada do composto de partida em meio neutro, uma vez que os ensaios realizados em balão de reação indicavam a formação das duas isoguaninas em simultâneo quando o meio não é ácido.

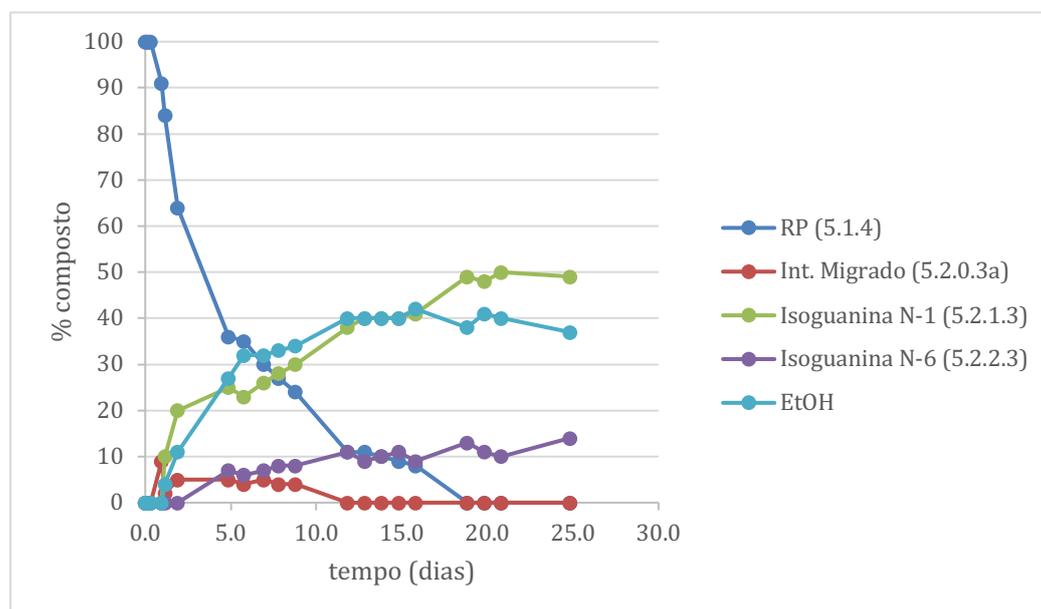
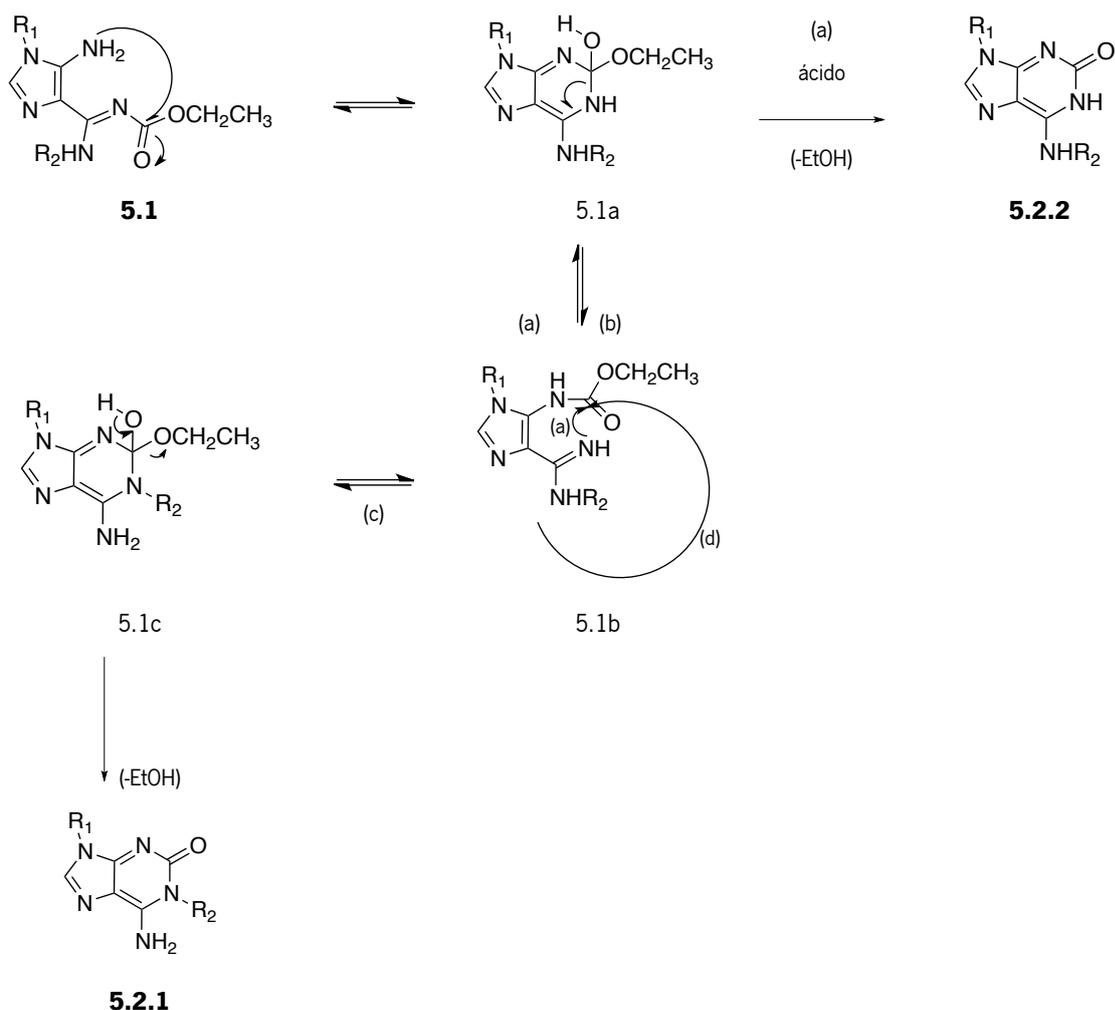


Figura 5.9 - Evolução das quantidades relativas, em percentagem, de cada um dos compostos na evolução de **5.1.4** em meio neutro em tubo de RMN

5.3.4 Proposta mecanística para a síntese das isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2**

Neste trabalho foram utilizadas abordagens sintéticas para a obtenção das isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2** que partem da estrutura de imidazole **5.1** ou do reagente de partida **1.2**. No esquema 5.11 está descrita uma proposta mecanística para a abordagem que teve como ponto de partida o imidazole **5.1**.

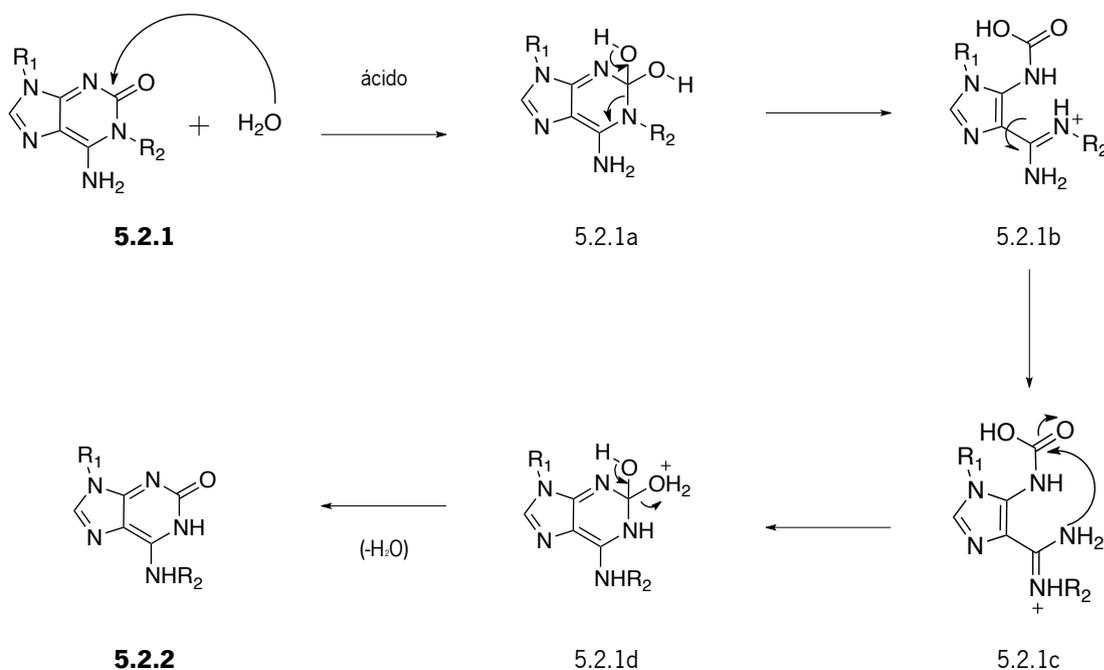


Esquema 5.11 - Proposta mecanística para a síntese de isoguaninas **5.2.1** e **5.2.2**

Propõe-se que a formação da isoguanina substituída em N-1 aconteça por migração do grupo acilo do nitrogénio imínico para o grupo amina de C-5 do anel de imidazole através da estrutura cíclica 5.1a para dar o intermediário 5.1b (b). A ciclização intramolecular por ataque do grupo amino substituído (c) leva à formação do intermediário cíclico 5.1c que evolui diretamente para a isoguanina **5.2.1** com eliminação de etanol. O mesmo intermediário cíclico que deu origem à migração do grupo acilo (5.1a), se estiver em meio ácido, pode evoluir diretamente para a isoguanina substituída em N-6, **5.2.2**, com libertação de etanol (a). O estabelecimento de um equilíbrio entre os diferentes intermediários pode levar à obtenção de uma proporção fixa de cada uma das isoguaninas que irá depender dos efeitos eletrónicos dos substituintes. A adição de ácido ou um aumento da temperatura vão favorecer o caminho da formação de **5.2.2**, uma vez que facilitam a eliminação de etanol a partir do intermediário 5.1a com formação do

produto termodinamicamente mais estável. Esta isoguanina também pode ser formada a partir do intermediário migrado 5.1b.

Para a conversão das estruturas **5.2.1** em **5.2.2** sugere-se a abordagem mecanística descrita no esquema 5.12.



Esquema 5.12 - Proposta mecanística para a conversão de isoguaninas **5.2.1** em **5.2.2**

Na proposta descrita, a conversão das estruturas **5.2.1** em **5.2.2** ocorre através de um rearranjo de Dimroth facilitado pela presença do ácido e da água presentes no meio reacional. Nestas condições, por ação do ácido e da água, ocorre a abertura do anel de seis membros seguida de uma rotação da unidade de amidina e posterior ataque nucleofílico do nitrogénio menos substituído, que permite a ciclização intramolecular, dando origem à isoguanina substituída em N-6 por eliminação de água

5.4 Conclusões

A reação dos *N*-etoxicarbonil imidazoles **1.2** com aminas primárias alifáticas confirmou a suscetibilidade a ataque nucleofílico do carbono imínico ligado a C-4 do anel de imidazole e a identificação do intermediário **5.1** confirmou a incorporação da unidade amina e a eliminação de HCN. As condições experimentais revelaram-se cruciais para o esclarecimento dos mecanismos envolvidos na formação das isoguaninas, sendo que o meio ácido determinou a formação da isoguanina substituída em N-6. A possibilidade da conversão da isoguanina **5.2.1** em **5.2.2** também foi conseguida através do meio ácido e o isolamento da isoguanina substituída em N-1 pura aconteceu por separação das misturas obtidas.

5.5 Parte experimental

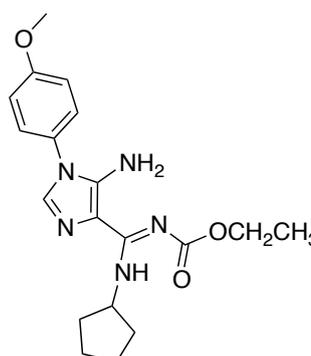
5.5.1 Síntese de amidinas aciladas 5.1

Procedimento geral

Uma mistura reacional de **1.2** com aminas primárias alifáticas (1,1 a 14,0 eq) foi deixada sob agitação à temperatura ambiente ou a 0°C. Quando, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido (10 min a 18 horas) a reação foi interrompida. O sólido amarelo inicial deu lugar a outro sólido de cor branca que foi filtrado e lavado com etanol e/ou acetonitrilo e éter etílico. O produto isolado foi identificado como sendo **5.1**.

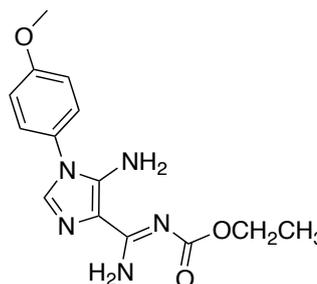
((5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)(ciclopentilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.1**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,12 g; 0,38 mmol) em diclorometano (2 mL) foi adicionada ciclopentilamina (0,073 mL; 0,74 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução amarela. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 10 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi evaporada até se obter um óleo que foi colocado em banho de gelo e ao qual se adicionou uma mistura fria de éter etílico e etanol para promover a precipitação de um sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com a mesma mistura fria. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.1** (0,07 g; 0,19 mmol; 50 %).



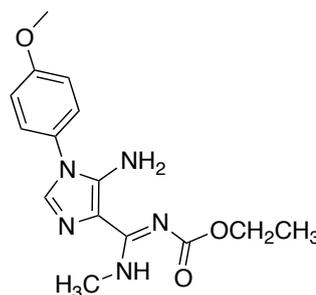
(amino(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)metileno)carbamato de etilo **5.1.2**

A uma solução de **1.2.1** (0,31 g; 0,99 mmol) em diclorometano (4,60 mL) foi adicionada solução aquosa de amoníaco (0,527 mL; 6,97 mmol). A mistura reacional, que apresentava duas fases, foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 1 hora e 10 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi evaporada até se obter um sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.2** (0,25 g; 0,82 mmol; 83 %).



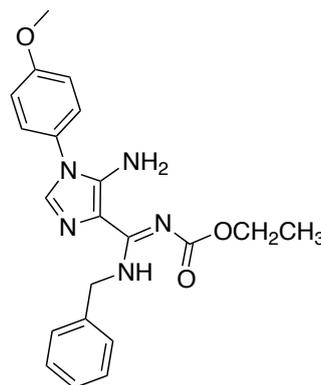
((5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)(metilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.3**

A uma solução de **1.2.1** (0,33 g; 1,05 mmol) em diclorometano (2 mL) foi adicionada metilamina (1,27 mL; 14,7 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 10 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi evaporada até se obter um sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.3** (0,25 g; 0,79 mmol; 75 %).



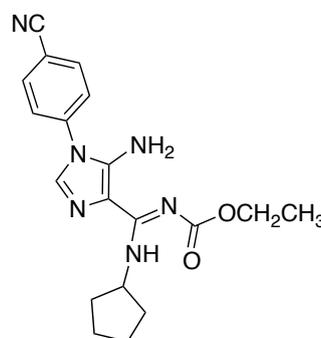
((5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)(benzilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.4**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,27 g; 0,86 mmol) em etanol (3 mL) foi adicionada benzilamina (0,132 mL; 1,21 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 20 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.4** (0,28 g; 0,71 mmol; 83 %).



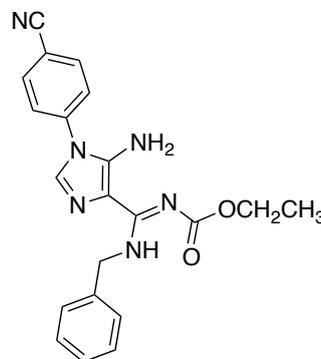
((5-amino-1-(4-cianofenil)-1H-imidazol-4-il)(ciclopentilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.5**

A uma suspensão de **1.2.3** (0,19 g; 0,62 mmol) em acetonitrilo (1 mL) foi adicionada ciclopentilamina (0,120 mL; 1,24 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 30 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi evaporada até se obter um sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.5** (0,16 g; 0,44 mmol; 71 %).



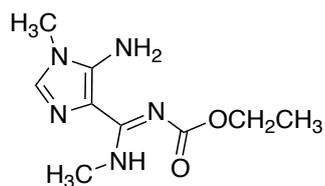
((5-amino-1-(4-cianofenil)-1H-imidazol-4-il)(benzilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.6**

A uma suspensão de **1.2.3** (0,29 g; 0,94 mmol) em etanol (2 mL) foi adicionada benzilamina (0,131 mL; 1,88 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 18 horas depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.6** (0,27 g; 0,69 mmol; 73 %).



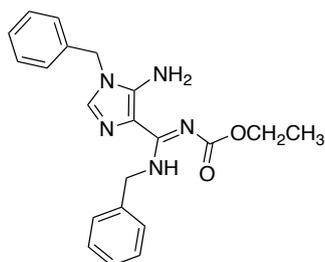
((5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-il)(metilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.7**

A uma suspensão de **1.2.5** (0,10 g; 0,45 mmol) em etanol (1 mL) foi adicionada metilamina (0,559 mL; 6,50 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente e 10 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi evaporada até se obter um sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.7** (0,08 g; 0,36 mmol; 80 %).



((5-amino-1-benzil-1H-imidazol-4-il)(benzilamino)metileno)carbamato de etilo **5.1.8**

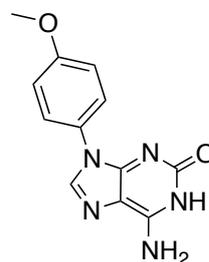
A uma suspensão de **1.2.4** (0,11 g; 0,37 mmol) em tetrahydrofurano (1 mL) e em banho de gelo foi adicionada benzilamina (0,046 mL; 0,42 mmol). Quarenta minutos depois a suspensão deu lugar a uma solução. A mistura reacional foi deixada sob agitação a 0° C e 2 horas e 30 minutos depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. A solução foi colocada no congelador e precipitou produto. O sólido branco foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.1.8** (0,06 g; 0,16 mmol; 43 %).



5.5.2 Síntese de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2

6-amino-9-(4-metoxifenil)-1H-purin-2(9H)-ona 5.2.2.1

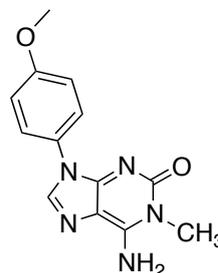
Preparou-se uma leve suspensão de **5.1.2** (0,08 g; 0,51 mmol) em etanol (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 5 minutos a suspensão deu lugar a uma solução da qual precipitou algum sólido 5 dias depois. Catorze dias e meio depois, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional até à secura para obter mais sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido branco foi lavado com acetonitrilo e éter etílico. O foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.1** (0,06 g; 0,23 mmol; 45 %).



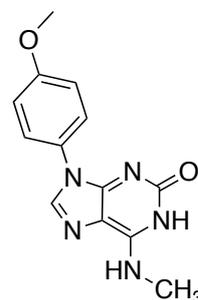
5.2.2.1

6-amino-9-(4-metoxifenil)-1-metil-1H-purin-2(9H)-ona 5.2.1.2 e 9-(4-metoxifenil)-6-(metilamino)-1H-purin-2(9H)-ona 5.2.2.2

Preparou-se uma leve suspensão de **5.1.3** (0,14 g; 0,44 mmol) em etanol (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 5 minutos a suspensão deu lugar a uma solução da qual precipitou algum sólido 2 horas e 30 minutos depois. Cinco horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional até à secura para obter mais sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido branco que estava em suspensão foi lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.2** e **5.2.2.2** numa proporção de 5:5 (0,10 g; 0,37 mmol; 84 %).



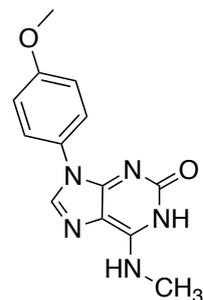
5.2.1.2



5.2.2.2

9-(4-metoxifenil)-6-(metilamino)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.2**

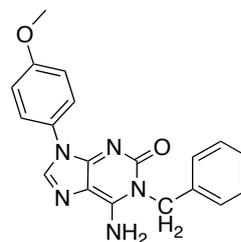
A uma suspensão de **5.1.3** (0,10 g; 0,31 mmol) em acetonitrilo (2 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (0,048 mL; 0,62 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e decorridos 10 minutos começou a precipitar sólido. Trinta e cinco minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.2** (0,07 g; 0,26 mmol; 84 %).



5.2.2.2

6-amino-1-benzil-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.3** e 6-(benzilamino)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.3**

Preparou-se uma leve suspensão de **5.1.4** (0,15 g; 0,38 mmol) em etanol (60 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 10 minutos a suspensão deu lugar a uma solução. Três horas e meia após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional até precipitar sólido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.3** e **5.2.2.3** numa proporção de 8:2 (0,10 g; 0,29 mmol; 76 %).



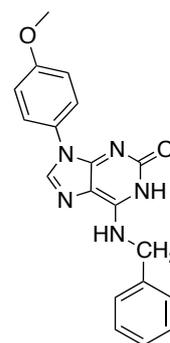
5.2.1.3



5.2.2.3

6-(benzilamino)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.3**

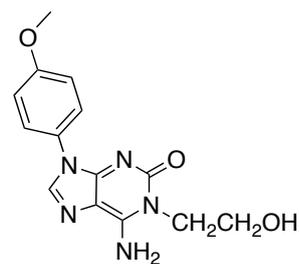
A uma suspensão de **5.1.4** (0,10 g; 0,25 mmol) em dimetilformamida (0,80 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (0,039 mL; 0,51 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. Trinta e cinco minutos após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional e adicionou-se água (10,00 mL) até precipitar sólido. O sólido branco que estava em suspensão foi lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.3** (0,09 g; 0,25 mmol; $\cong 100\%$).



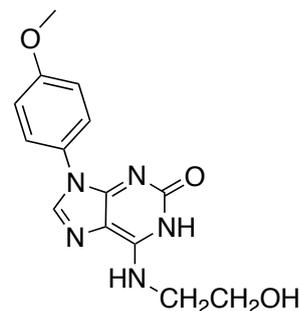
5.2.2.3

6-amino-1-(2-hidroxietil)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.4** e 6-((2-hidroxietil)amino)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.4**

Preparou-se uma leve suspensão de **5.1.9** (0,06 g; 0,17 mmol) em acetonitrilo (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 10 minutos a suspensão deu lugar a uma solução e 6 horas depois começou a precipitar sólido. Quatro dias e sete horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional para precipitar mais sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.4** e **5.2.2.4** numa proporção de 5:5 (0,04 g; 0,13 mmol; 77%).



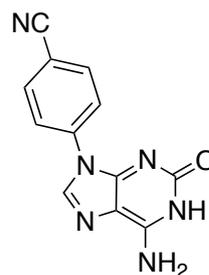
5.2.1.4



5.2.2.4

4-(6-amino-2-oxo-1H-purin-9(2H)-il)benzonitrilo 5.2.2.5

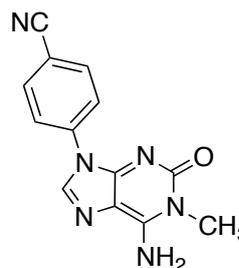
Preparou-se uma leve suspensão de **5.1.10** (0,09 g; 0,32 mmol) em etanol (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 30 minutos a suspensão deu lugar a uma solução. Catorze dias e meio depois, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional até à secura para obter sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido bege foi lavado com acetonitrilo e éter etílico. O foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.5** (0,06 g; 0,24 mmol; 75 %).



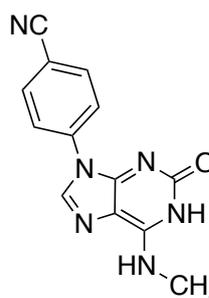
5.2.2.5

4-(6-amino-1-metil-2-oxo-1H-purin-9(2H)-il)benzonitrilo 5.2.1.6 e 4-(6-(metilamino)-2-oxo-1H-purin-9(2H)-il)benzonitrilo 5.2.2.6

Preparou-se uma suspensão de **5.1.11** (0,13 g; 0,41 mmol) em tetra-hidrofurano (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 10 minutos a suspensão deu lugar a uma solução e 2 dias depois começou a precipitar sólido. Quatro dias e meio após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional para precipitar mais sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.6** e **5.2.2.6** numa proporção de 7:3 (0,10 g; 0,38 mmol; 93 %).



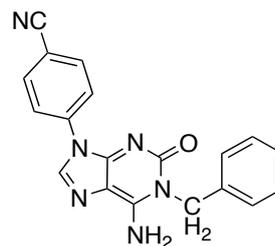
5.2.1.6



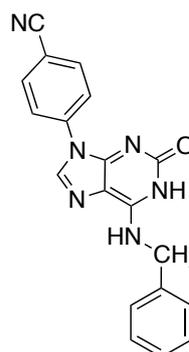
5.2.2.6

4-(6-amino-1-benzil-2-oxo-1*H*-purin-9(2*H*)-il)benzonitrilo **5.2.1.7** e 4-(6-(benzilamino)-2-oxo-1*H*-purin-9(2*H*)-il)benzonitrilo **5.2.2.7**

Preparou-se uma suspensão de **5.1.6** (0,08 g; 0,22 mmol) em tetra-hidrofurano (20 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 10 minutos a suspensão deu lugar a uma solução e 4 dias depois começou a precipitar sólido. Vinte dias após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a mistura reacional para precipitar mais sólido e adicionou-se acetonitrilo para a filtração. O sólido bege que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.7** e **5.2.2.7** numa proporção de 6:4 (0,07 g; 0,20 mmol; 91 %).



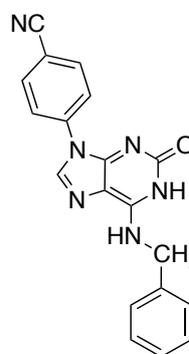
5.2.1.7



5.2.2.7

4-(6-(benzilamino)-2-oxo-1*H*-purin-9(2*H*)-il)benzonitrilo **5.2.2.7**

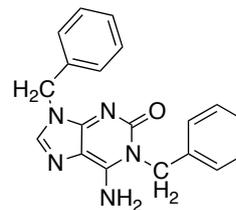
A uma suspensão de **5.1.6** (0,09 g; 0,23 mmol) em acetonitrilo (1 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (0,034 mL; 0,44 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e decorridos 20 minutos começou a precipitar sólido. Uma hora após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.7** (0,07 g; 0,20 mmol; 87%).



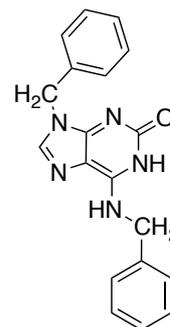
5.2.2.7

6-amino-1,9-dibenzil-1*H*-purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.8** e 9-benzil-6-(benzilamino)-1*H*-purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.8**

Preparou-se uma suspensão de **5.1.8** (0,05 g; 0,13 mmol) em etanol (2 mL) e deu-se início ao refluxo. Decorridos 5 minutos a suspensão deu lugar a uma solução e 30 minutos depois começou a precipitar sólido. Doze horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.8** e **5.2.2.8** numa proporção de 6:4 (0,03 g; 0,09 mmol; 69 %).



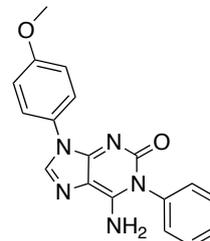
5.2.1.8



5.2.2.8

6-amino-9-(4-metoxifenil)-1-fenil-1*H*-purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.9**

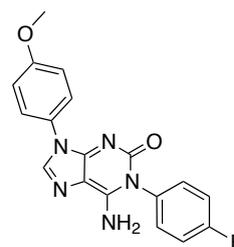
A uma suspensão de **1.2.1** (0,17 g; 0,53 mmol) em acetonitrilo (2,5 mL) foi adicionada anilina (0,097 mL; 1,06 mmol) e uma gota de ácido trifluoracético. A mistura reacional foi deixada sob agitação a 40 °C e dezassete dias depois, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido roxo que estava em suspensão foi filtrado e lavado com acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.1.9** (0,04 g; 0,12 mmol; 23 %).



5.2.1.9

6-amino-1-(4-fluorofenil)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.10**

A uma suspensão de **1.2.1** (0,23 g; 0,74 mmol) em tetra-hidrofurano (6 mL) foi adicionada uma solução de 4-fluoroanilina (0,068 mL; 0,71 mmol) também em tetra-hidrofurano (2 mL) e uma gota de *n*-butóxido de potássio. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e decorridos 5 minutos, a suspensão deu lugar a uma solução. Quatro horas depois começou a precipitar um sólido e 4 dias depois do início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.1.10** (0,17 g; 0,48 mmol; 65 %).

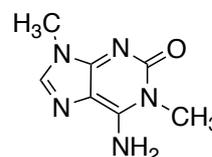


5.2.1.10

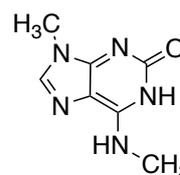
6-amino-1,9-dimetil-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.11** e 9-metil-6-(metilamino)-1*H*purin-2(9*H*)-ona

5.2.2.11

A uma suspensão de **1.2.5** (0,13 g; 0,59 mmol) em etanol (1 mL) foi adicionada metilamina (0,716 mL; 8,32 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. Decorridos 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a solução à secura e adicionou-se etanol (20 mL) e deixou-se sob refluxo. Após 6 horas começou a precipitar sólido. Dezas seis horas e 30 minutos após o início da reação, por TLC, identificava-se apenas uma mancha e interrompeu-se o refluxo. O sólido foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.11** e **5.2.2.11** numa proporção de 5:5 (0,08 g; 0,45 mmol; 76 %).



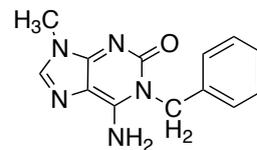
5.2.1.11



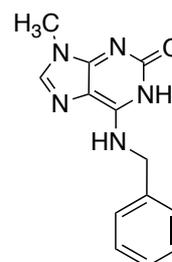
5.2.2.11

6-amino-1-benzil-9-metil-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.1.12** e 6-(benzilamino)-9-metil-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.12**

A uma suspensão de **1.2.5** (0,18 g; 0,82 mmol) em etanol (1 mL) foi adicionada benzilamina (0,125 mL; 1,15 mmol) e a suspensão deu lugar a uma solução. Decorridos 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido. Evaporou-se a solução à secura e adicionou-se etanol (20 mL) e deixou-se sob refluxo. Um dia após o início da reação, por TLC, identificava-se apenas uma mancha e interrompeu-se o refluxo. A mistura reacional foi deixada à temperatura ambiente e precipitou sólido. O sólido branco que estava em suspensão foi filtrado e lavado com éter etílico. Da solução-mãe começou a precipitar mais sólido. Esta fração foi filtrada e lavada com éter etílico. O produto da 1ª fração foi isolado e identificado como sendo uma mistura de **5.2.1.12** e **5.2.2.12** numa proporção de 9:1 e o da 2ª fração como sendo **5.2.1.12** (0,17 g; 0,65 mmol; 79 %).



5.2.1.12



5.2.2.12

5.5.3 Conversão de isoguaninas 5.2.1 em 5.2.2

9-(4-metoxifenil)-6-(metilamino)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.2**

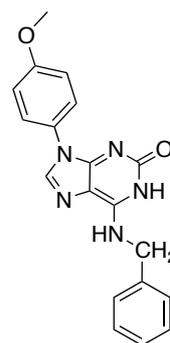
A uma suspensão de **5.2.1.2** (0,03 g; 0,11 mmol) em dimetilformamida (0,60 mL) foi adicionada uma gota de ácido trifluoracético e deu-se início ao refluxo. Uma vez que 1 hora e 45 minutos depois, por TLC, não havia indícios de evolução, foi adicionado mais ácido trifluoracético (0,017 mL; 0,22 mmol). Três horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e interrompeu-se o refluxo. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.2** (0,02 g; 0,08 mmol; 72 %).



5.2.2.2

6-(benzilamino)-9-(4-metoxifenil)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.3**

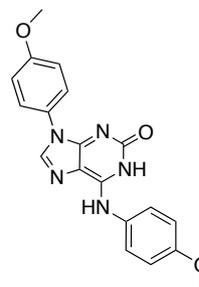
A uma suspensão de **5.2.1.3** (0,04 g; 0,12 mmol) em dimetilformamida (0,30 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (0,019 mL; 0,25 mmol). Três horas após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e interrompeu-se o refluxo. Colocou-se a mistura reacional em banho de gelo e com o arrefecimento precipitou sólido. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.3** (0,02 g; 0,06 mmol; 50 %).



5.2.2.3

9-(4-metoxifenil)-6-((4-metoxifenil)amino)-1*H*purin-2(9*H*)-ona **5.2.2.13**

A uma suspensão de **5.2.1.13** (0,10 g; 0,29 mmol) em etanol (3 mL) foi adicionado ácido trifluoracético (0,046 mL; 0,60 mmol) e deu-se início ao refluxo. A suspensão inicial solubilizou parcialmente e 3 horas depois a quantidade de sólido começou a aumentar. Uma vez que 10 horas e meia depois, por TLC, não havia indícios de evolução, foi adicionado dimetilformamida (1,50 mL) e deixou-se sob refluxo mais 18 horas. Após este período adicionou-se mais ácido trifluoracético (0,046 mL; 0,60 mmol). Quase 1 dia e meio após o início da reação, por TLC, houve evidências de que o reagente de partida havia sido consumido e interrompeu-se o refluxo. O sólido branco foi filtrado e lavado com etanol, acetonitrilo e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.2.13** (0,06 g; 0,17 mmol; 59 %).

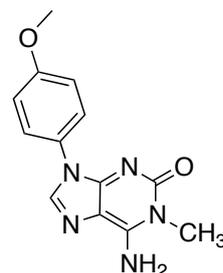


5.2.2.13

5.5.4 Separação de isoguaninas 5.2.1 e 5.2.2

6-amino-9-(4-metoxifenil)-1-metil-1*H*purin-2(9*H*)-ona 5.2.1.2

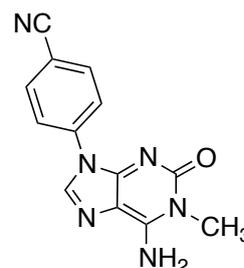
A uma suspensão da mistura de **5.2.1.2** e **5.2.2.2** na proporção de 8:2 (0,07 g; 0,26 mmol) em etanol (2,50 mL) foi adicionada uma quantidade equimolar de **5.2.2.2** em DBU (0,008 mL; 0,05 mmol) e deixou-se a mistura reacional num banho a 40°C. Seis horas após o início da reação, o sólido branco foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.1.2** (0,06 g; 0,21 mmol; 100 %).



5.2.1.2

4-(6-amino-1-metil-2-oxo-1*H*purin-9(2*H*)-il)benzonitrilo 5.2.1.6

A uma suspensão da mistura de **5.2.1.6** e **5.2.2.6** na proporção de 7:3 (0,07 g; 0,26 mmol) em dimetilformamida (2 mL) foi adicionada uma quantidade equimolar de **5.2.2.6** em DBU (0,012 mL; 0,08 mmol) e deixou-se a mistura reacional num banho a 40°C. Dezoito horas após o início da reação, o sólido branco foi filtrado e lavado com etanol e éter etílico. O produto foi isolado e identificado como sendo **5.2.1.6** (0,02 g; 0,08 mmol; 44 %).



5.2.1.6

Referências

[1] F. H. Allen, O. Kennard, D. G. Watson, *Journal Chemical of Society Perkin Trans. II*, 1987, S1.

CAPÍTULO 6.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

6.1. Metodologia e recursos

6.2. Testes de atividade antifúngica

6.2.1. Testes em meio sólido – taxa de crescimento radial

6.2.2. Testes em meio líquido – teste da resazurina

6.3. Conclusões

Referências

6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Os caminhos sintéticos explorados tiveram como motor de interesse a possibilidade de obter compostos com potencial atividade antifúngica, para além da possibilidade de desenvolvimento de novos métodos de síntese e de obtenção de novos produtos. A semelhança estrutural com compostos antifúngicos reportados na literatura foi o primeiro critério utilizado na seleção para avaliação da potencial atividade biológica. Outros critérios utilizados foram a solubilidade e a estabilidade dos mesmos.

Os compostos que foram testados com interesse na inibição do crescimento de fungos filamentosos foram integrados no meio de cultura e foi analisada a forma como estes influenciaram o crescimento do fungo. A avaliação da atividade antifúngica e os testes aplicados serviram não só o propósito de avaliar o interesse biológico de algumas das estruturas sintetizadas, mas também o de monitorizar e analisar os métodos adotados. Estes compostos serviram como prova de procedimento para futuros trabalhos.

6.1 Metodologia e recursos

A fim de desenvolver este projeto foram usados os recursos biológicos disponíveis na Micoteca da Universidade do Minho (MUM) e foram utilizadas metodologias analíticas para monitorizar o crescimento dos fungos (crescimento radial e o método da resazurina). A atividade antifúngica dos compostos sintetizados foi avaliada em diferentes concentrações.

6.1.1. Metodologia

Foram utilizadas duas metodologias distintas para avaliar a atividade antifúngica dos compostos testados. Inicialmente foi utilizada a medição da taxa de crescimento radial. Esta é uma técnica simples e direta para medir o crescimento dos fungos num meio sólido. Com este método mede-se o crescimento da extensão das hifas. Este método é adequado quando se pretende comparar taxas de crescimento de fungos sujeitos a diferentes condições, nomeadamente, à presença de um composto químico no meio de cultura.

O protocolo consiste na inoculação do meio de crescimento com uma determinada quantidade de esporos viáveis de fungos. Os meios de cultura são incubados e os diâmetros das colónias são medidos ao longo de um determinado período de tempo.

Com este método não é possível quantificar a biomassa, uma vez que a sua densidade é desconhecida, ou se acontece crescimento perpendicular ao substrato, no entanto, para o propósito deste estudo de triagem de compostos com potencial atividade biológica, este constituiu-se como um processo adequado e pertinente [1].

A outra técnica utilizada foi o teste da resazurina. Este teste acontece em meio líquido e é baseado na evolução da cor do corante quando se verifica reação de oxidação-redução durante o período de incubação e realiza-se recorrendo a leituras triplas de absorvância em intervalos de tempo regulares até que o crescimento do fungo inviabilize a leitura. Este é um método rápido e simples apesar de não ser específico para fungos, uma vez que será detetada qualquer atividade metabólica [2].

A deteção e quantificação de uma população de fungos não é trivial e a escolha destes dois métodos, entre muitos outros, prendeu-se com a necessidade de combinar diferentes circunstâncias, nomeadamente, a fraca solubilidade dos compostos utilizados em água, o que fez com que fosse necessário recorrer ao DMSO para a dissolução do sólido, assim como a necessidade de utilizar um método que garantisse a estabilidade do composto testado. Estes dois métodos surgem na sequência de diferentes avaliações preliminares e do conhecimento existente no grupo de investigação na avaliação de compostos similares [3].

As análises estatísticas foram realizadas com *Statistic Package for Social Sciences (SPSS)*, versão 25.0. Os valores médios foram comparados pela análise de variância unidirecional através do teste de Duncan.

6.1.2. Material biológico

A espécie *Aspergillus parasiticus* utilizada, e que pertence à coleção da Micoteca da Universidade do Minho (MUM), está bem estudada, assim como o seu perfil micotoxigénico e alguns dos genes mais relevantes sequenciados. Nos ensaios efetuados ao longo desta tese foi estudada a estirpe *Aspergillus parasiticus* MUM 92.02.

Ensaios *in vitro*

A atividade antifúngica de alguns dos compostos sintetizados foi avaliada em diferentes concentrações em meio sólido e em meio líquido.

A espécie utilizada primeiro cresceu em MEA (fórmula Blakeslee) durante 7 dias a 25°C e no escuro. As suspensões de esporos usadas foram preparadas em 1 mL de água peptonada (2 g de peptona, 200

mL de H₂O destilada e 1 % de Tween 80) com uma concentração ajustada a cerca de $2,5 \times 10^6$ esporos/mL, recorrendo à contagem com uma câmara de NeuBauer.

Em meio sólido recorreu-se à solubilização do potencial agente antifúngico no meio no qual cresce o fungo. Para isso foram utilizados dois meios distintos, o meio YES (2% de extrato de levedura Difco, 15% de sacarose, com ou sem 2% de agar) e o meio PDA (39 g de PDA em pó – 20 g de dextrose, 15 g de agar e 4 g de extrato de batata - por litro de água destilada). Os compostos testados foram dissolvidos em DMSO e adicionados de forma assética ao meio de cultura autoclavado, antes de ser distribuído em caixas de Petri (10 e 20 mL).

Cada uma das caixas foi inoculada no centro com cerca de 10 µL de suspensão de esporos e incubada a 25°C e no escuro. Todos os ensaios foram feitos em triplicado e procedeu-se ao registo diário do diâmetro da colónia [3].

Nos ensaios que decorreram em meio líquido aplicou-se o teste da resazurina em placas de 96 poços aos quais foram adicionados 220 µL de meio YES, 10 µL de solução stock de resazurina (0.02 g em 100 mL de água destilada estéril e filtrada com filtro 0,2 µm para um frasco estéril na câmara ou à chama), 10 µL de solução de esporos e 2,4 µL de solução do potencial agente antifúngico em DMSO de forma assética. As placas foram incubadas numa sala a temperatura controlada e foram efetuadas medições de absorvância, após agitar a placa, em períodos de tempo regulares.

6.2 Testes de atividade antifúngica

Inicialmente foram realizados testes preliminares de avaliação do método através da avaliação de atividade antifúngica de compostos reportados na literatura, nomeadamente, do ácido cafeico e do ácido gálico (Sigma). Uma vez que os compostos testados são muito solúveis em DMSO também foi avaliada a atividade antifúngica deste composto para diferentes proporções relativas no meio. Após estes testes iniciais foram aplicadas as técnicas adaptadas às circunstâncias dos novos compostos sintetizados e selecionados para avaliação biológica.

6.2.1. Testes em meio sólido – taxa de crescimento radial

Os testes em meio sólido decorreram com recurso à dissolução do composto no meio de cultura do fungo para posterior medida da taxa de crescimento do mesmo. Foram realizados testes em placas de

9 cm e de 6 cm. Após a realização de ensaios em placas grandes, foi possível perceber que as placas pequenas seriam suficientes e, dessa forma, se poderia diminuir o consumo de reagentes e meio.

Todas as medidas do diâmetro da colônia são a média do diâmetro medido nas duas direções e em triplicado e com grupos de controlo sem inoculação do meio de cultura.

6.2.1.1 DMSO

O primeiro composto cuja atividade antifúngica foi avaliada foi o solvente utilizado para dissolver os compostos sólidos sintetizados, o dimetilsulfóxido.

Tabela 6.1 – Estrutura do DMSO, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estrutura	 Dimetilsulfóxido
Concentrações	0,5 % / 1,0 % 1,5 % / 2,0 %
Meio de cultura	PDA

Na figura 6.1 apresenta-se o gráfico que relaciona a inibição de crescimento verificada para cada uma das concentrações de DMSO testadas ao longo dos dias, normalizado pelo crescimento do fungo apenas no meio de cultura utilizado nos ensaios.

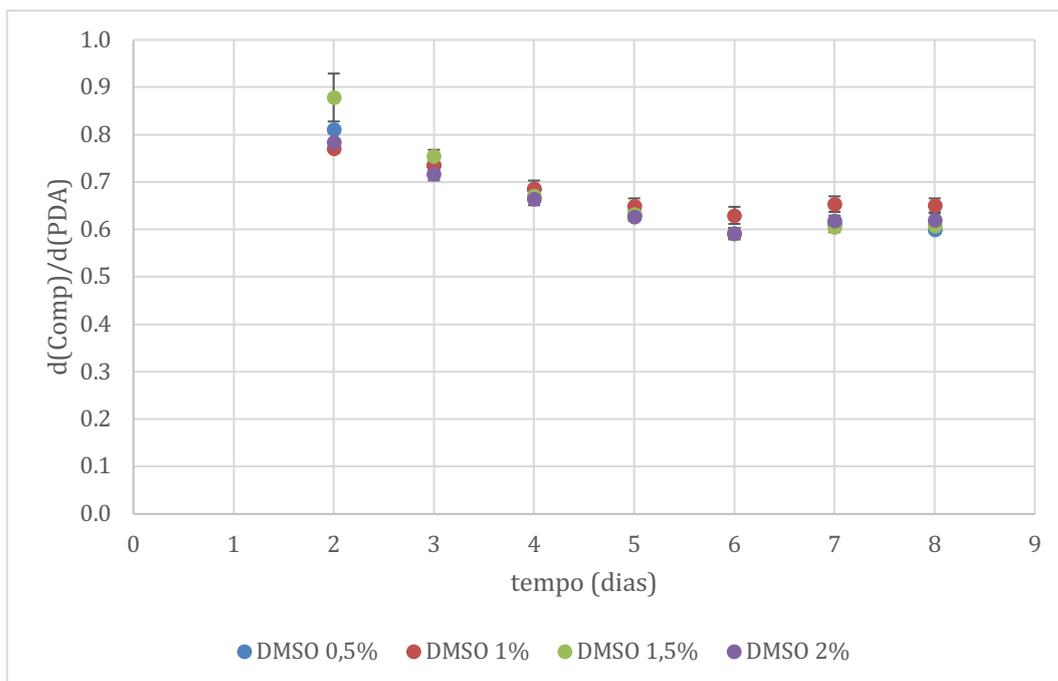


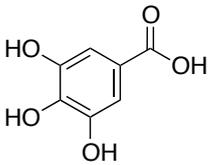
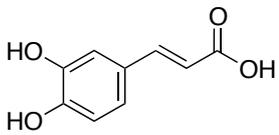
Figura 6.1 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da concentração de DMSO

Esta comparação foi efetuada para avaliar o efeito de diferentes proporções de DMSO no meio, uma vez que este é o solvente de eleição para solubilizar os compostos a testar, mas tem também ele próprio um efeito inibidor do crescimento do fungo. Comparando as quatro proporções propostas foi possível perceber que a tendência no efeito inibidor é igual para todas e assim foi dado continuidade aos restantes ensaios com a proporção de 1%, uma vez que já tinha sido utilizada em trabalho anterior no grupo de investigação [3].

6.2.1.2 Ácido cafeico e ácido gálico

De seguida foi avaliada a atividade biológica na ação antifúngica de dois compostos reconhecidos como inibidores do crescimento de fungos, o ácido cafeico e o ácido gálico.

Tabela 6.2 - Estrutura do ácido cafeico e do ácido gálgico, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 Ácido cafeico	 Ácido gálgico
Concentrações	10 / 30 / 50 mM	
Meio de cultura	PDA	

Ácido cafeico e ácido gálgico 10 mM

A evolução do crescimento do fungo ao longo dos dias foi comparada para estes dois compostos, assim como comparada com a presença de 1% de DMSO, proporção utilizada deste solvente para dissolver o composto sólido em todos os ensaios, e registada na figura 6.2.

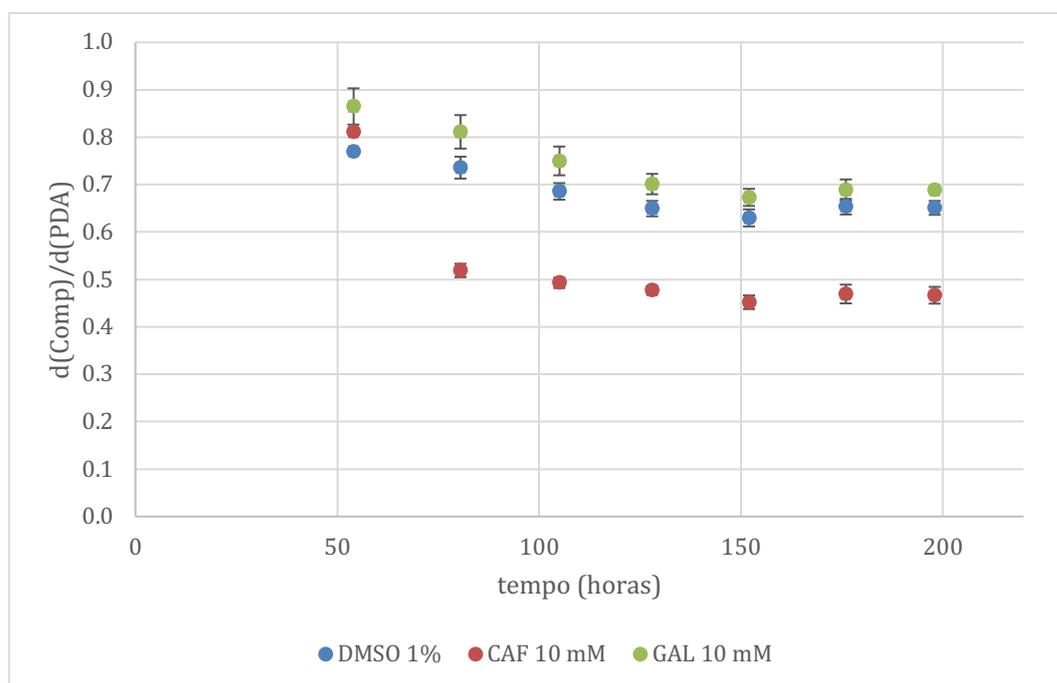


Figura 6.2 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido cafeico 10 mM e ácido gálgico 10 mM dissolvidos em 1% de DMSO

A ação inibitória da presença de 1% de DMSO é mais relevante do que a ação inibitória do ácido gálgico 10 mM, mesmo assim, procedeu-se à avaliação da atividade deste composto para concentrações mais

elevadas. Os mesmos ensaios foram levados a cabo para o ácido cafeico que mostrou um efeito mais relevante do que o solvente DMSO para a concentração de 10 mM.

Ácido cafeico 30 / 50 mM

Os resultados obtidos para a concentração de 10 mM fizeram considerar a possibilidade de avaliar a atividade antifúngica destes ácidos para concentrações mais elevadas, 30 e 50 mM (figura 6.3).

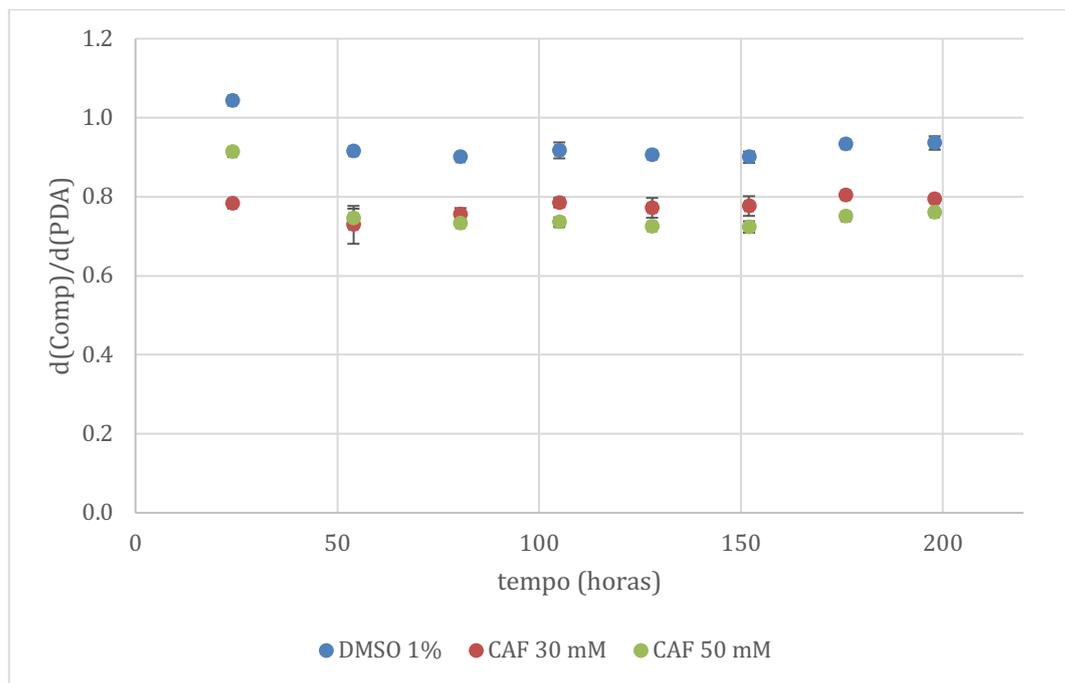


Figura 6.3 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO

Para estes valores de concentração de ácido cafeico, o efeito inibidor do crescimento do fungo é maior quando comparado com o efeito inibidor da presença de 1% de DMSO no meio de cultura. Esta diferença observa-se para as duas concentrações testadas e durante todo o período de incubação.

A leitura do crescimento do diâmetro da colônia do fungo em função do tempo da figura 6.4 permite concluir o mesmo que as análises anteriores, confirmando o efeito inibidor do ácido cafeico, com uma ligeira diferença de ação para as duas concentrações avaliadas.

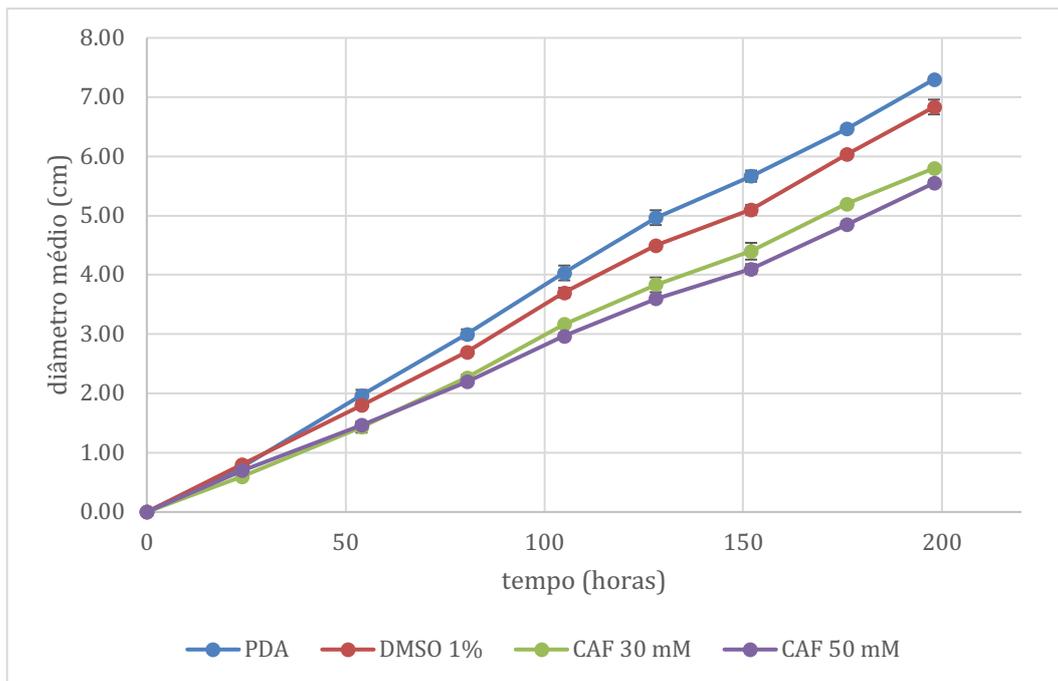


Figura 6.4 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO

Através das medidas diretas de diâmetro da colónia é possível analisar e recolher outras informações, nomeadamente, o instante a partir do qual as células se começam a reproduzir. No período inicial, *lag phase*, as células presentes no meio de cultura estão a adaptar-se ao meio de cultura, mas não aumentam em número. A partir do instante denominado por *lag time*, o crescimento passa a ser exponencial.

Considerando que:

$$\log N_{células} = c d$$

em que N é o número de células, c é uma constante e d é o diâmetro da colónia

podemos traçar o gráfico do diâmetro médio em função do tempo para o intervalo de tempo em que acontece o crescimento exponencial. Através de um ajuste linear com o método dos mínimos quadrados à função descrita pelo gráfico $d(t)$, determina-se o instante *lag time*, a partir do qual as células se começam a reproduzir quando $d = 0$ (com recurso ao sistema operativo *Excel*).

Para o ácido cafeico, e comparando com os ensaios de controlo em PDA e com 1% de DMSO no meio de cultura, determinou-se o *lag time* apresentado na tabela 6.3.

Tabela 6.3 – Determinação do *lag time* para PDA, DMSO 1% e ácido cafeico 30 mM e 50 mM dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,996$)

Composto	Lag time, d =0 (h)	Desvio padrão
PDA	4,25	
	5,67	
	6,18	
Média	5,36	0,81
DMSO 1%	3,27	
	3,00	
	2,72	
Média	2,99	0,22
CAF 30 mM + DMSO 1%	11,10	
	13,64	
	6,60	
Média	10,45	2,91
CAF 50 mM + DMSO 1%	2,47	
	6,61	
	2,47	
Média	3,85	1,96

A análise dos valores calculados permite observar um aumento do período durante o qual as células não se dividem quando o ácido cafeico a 30 mM se encontra dissolvido no meio. Aparentemente, um aumento na concentração do ácido presente no meio não influencia a duração do *lag time*. Este resultado menos consistente com o expectável pode estar relacionado com o fator solubilidade.

Ácido gálico 30 / 50 mM

Na figura 6.5 é possível analisar a influência da presença do ácido gálico no meio de cultura e verifica-se que não tem um efeito mais inibidor do crescimento do fungo do que o solvente na proporção de 1%.

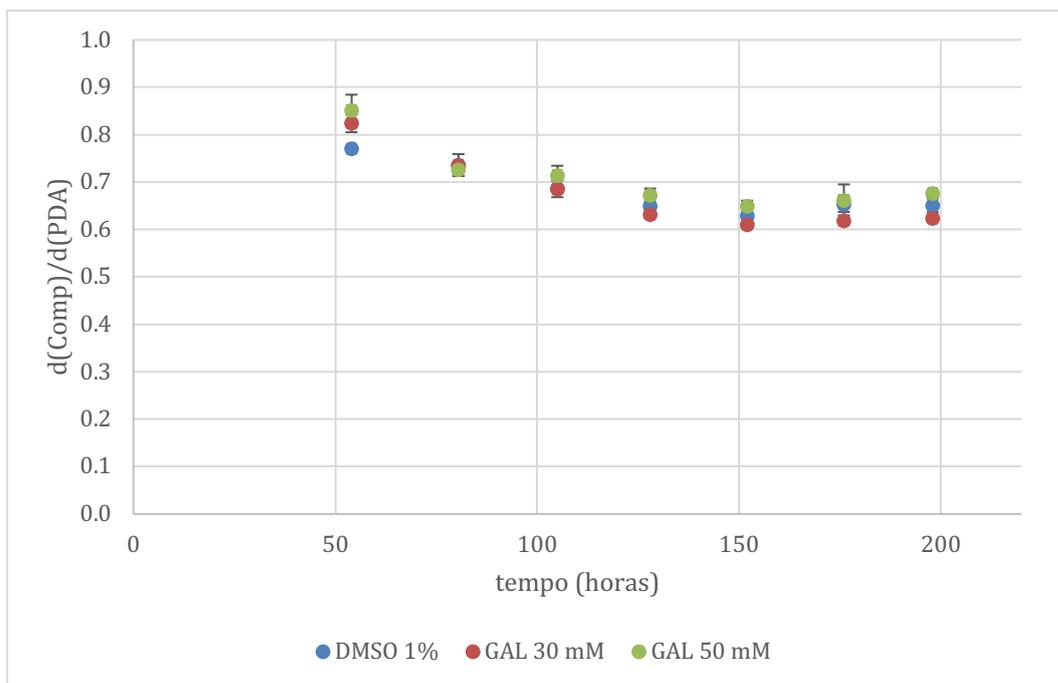


Figura 6.5 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, ácido gálico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na leitura da figura 6.6 também se observa que o efeito do ácido gálico na inibição do crescimento do fungo não é mais relevante do que o efeito do solvente DMSO.

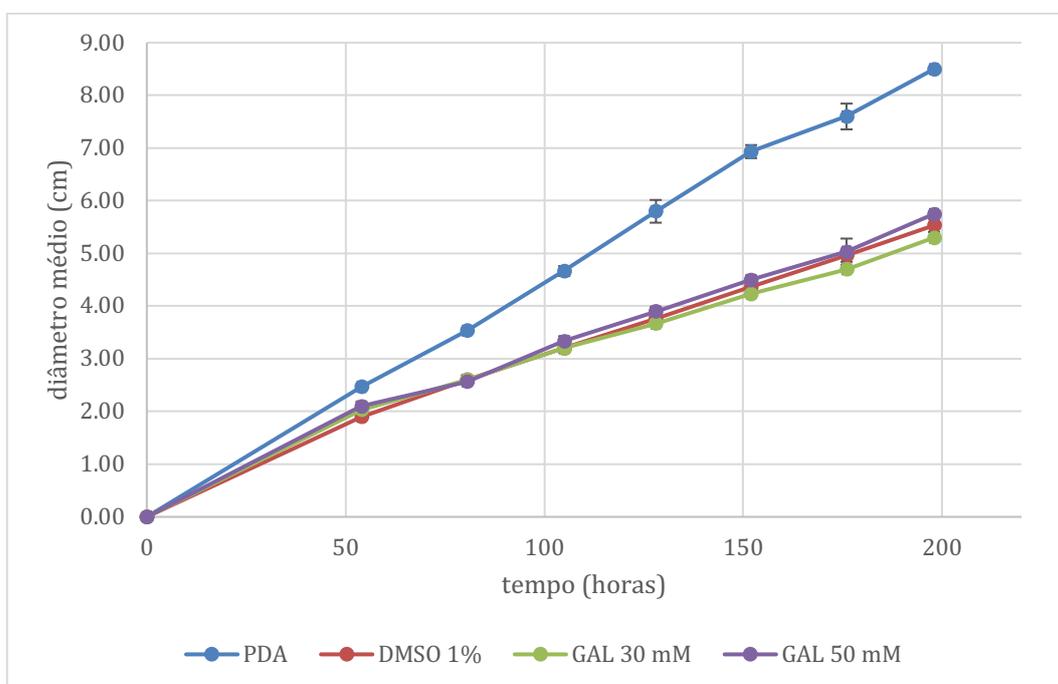


Figura 6.6 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de ácido gálico 30 mM e 50 mM dissolvido em 1% de DMSO

A determinação do *lag time* não se revelou com interesse na avaliação da atividade biológica deste composto, nestas condições.

Observações

Estes ensaios preliminares tiveram como principal propósito validar procedimentos e métodos de carácter experimental para que fosse possível uma otimização dos resultados a obter. Também constituíram forma de validar os tratamentos dos resultados e de os analisar cuidadosamente para que se pudessem retirar as conclusões mais relevantes.

Com estes testes foi possível perceber algumas dificuldades que já se antecipavam, nomeadamente, a solubilização dos compostos em DMSO. Este é o solvente de preferência para os compostos que foram sintetizados, ainda assim, a proporção em que é possível utilizar sem que o seu efeito isolado seja mais evidente do que o do próprio composto sintetizado, faz com que, por vezes, se verifique apenas uma solubilização parcial dos compostos. Outra dificuldade, ainda relacionada com a solubilização dos compostos no meio de cultura, prende-se com o facto da solubilidade ser comprometida quando se adiciona a solução do composto ao meio de cultura que contém água, solvente no qual este tipo de estruturas é pouco solúvel.

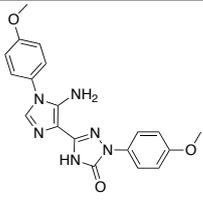
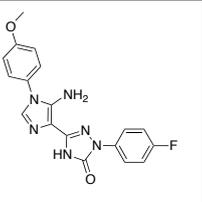
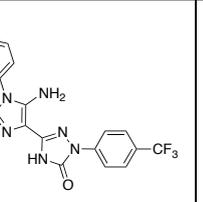
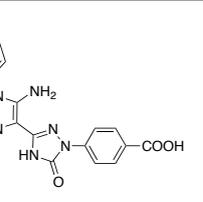
Outro condicionamento que estes ensaios permitiram observar, foi o facto da solução do composto ser adicionada ao meio de cultura quando este ainda está um pouco quente, uma vez que foi autoclavado e o arrefecimento não pode ser tal que este solidifique antes de ser vertido para as placas. Esta temperatura ligeiramente elevada pode até contribuir para um aumento da solubilidade, mas pode também contribuir para a alteração da estabilidade química do composto, que pode evoluir ou até reagir com algum produto presente no meio. Assim, a utilização deste método em meio sólido requer uma observação cuidada para que se possa anotar qualquer tipo de alteração das soluções e dos meios de cultura preparados e exige que o processo de dissolução da solução do composto no meio de cultura seja o mais rápido possível para evitar alterações químicas do meio.

Nos restantes testes realizados em meio sólido foram tidas em consideração estas observações iniciais e foi repetido o tratamento de resultados adotado nesta secção.

6.2.1.3 Imidazolil triazoles **3.1.1**, **3.1.2**, **3.1.3** e **3.1.5**

Os imidazolil triazoles indicados foram submetidos a avaliação de potencial atividade biológica em três concentrações diferentes.

Tabela 6.4 - Estrutura dos imidazolil triazoles **3.1.1**, **3.1.2**, **3.1.3** e **3.1.5**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 3.1.1	 3.1.2	 3.1.3	 3.1.5
Concentrações	50 / 100 / 200 µM			
Meio de cultura	PDA			

O estudo comparado destas quatro estruturas surge no sentido de perceber o efeito do substituinte em N-2 do anel de triazole. As moléculas foram obtidas pela incorporação de diferentes hidrazinas aromáticas, mantendo a restante estrutura fixa.

Na análise do diâmetro ocupado pelo fungo normalizado pelo diâmetro ocupado pelo fungo quando cresce em ambiente isento de DMSO e dos compostos químicos a testar, percebe-se que nenhuma destas quatro moléculas tem um efeito significativo na inibição do crescimento do fungo quando comparado com o efeito do solvente isolado (figuras 6.7 a 6.10).

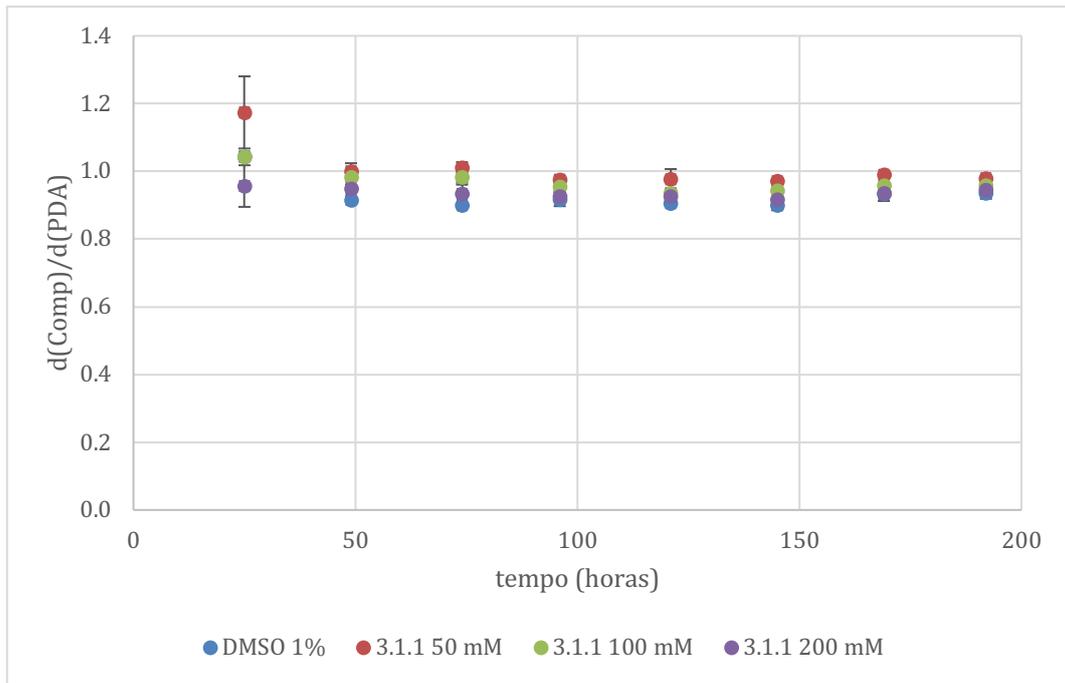


Figura 6.7 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.1** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

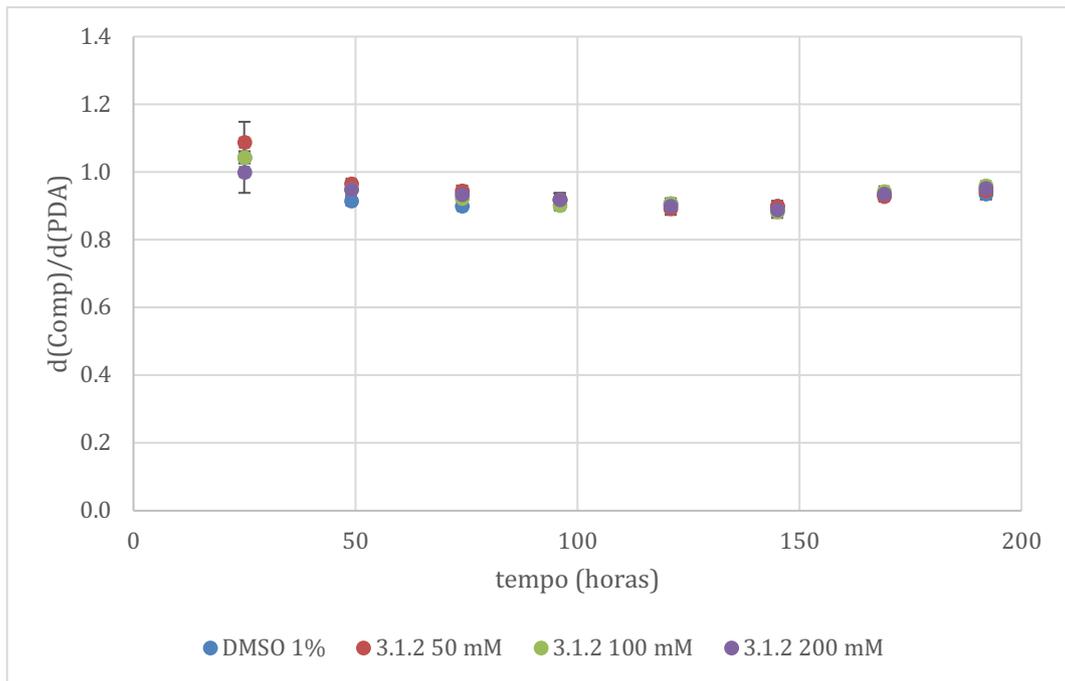


Figura 6.8 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

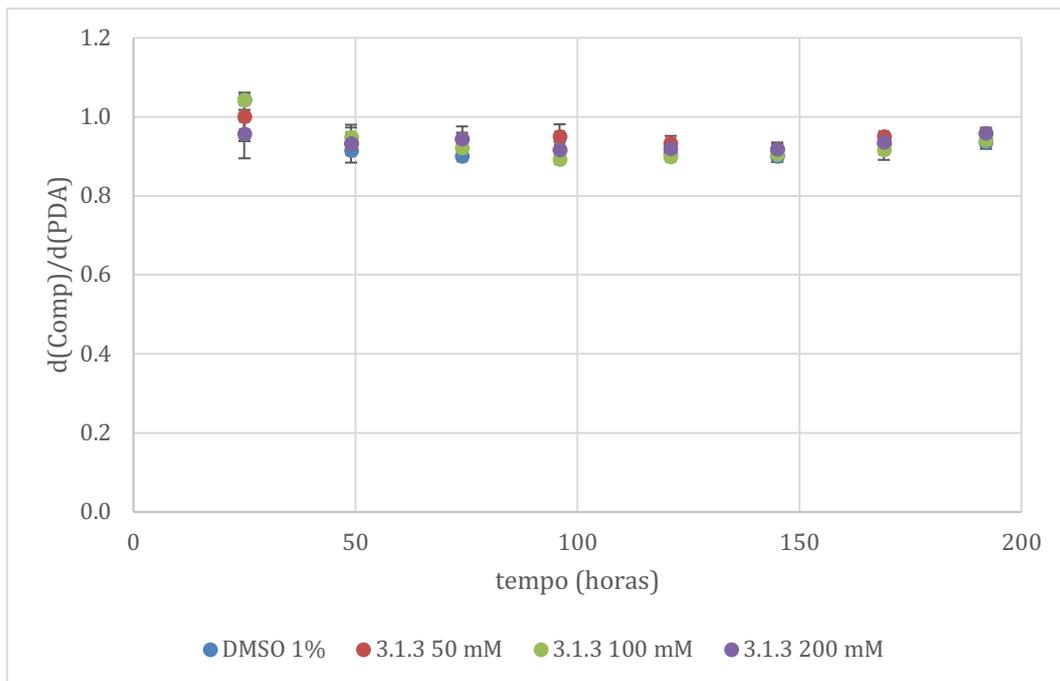


Figura 6.9 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

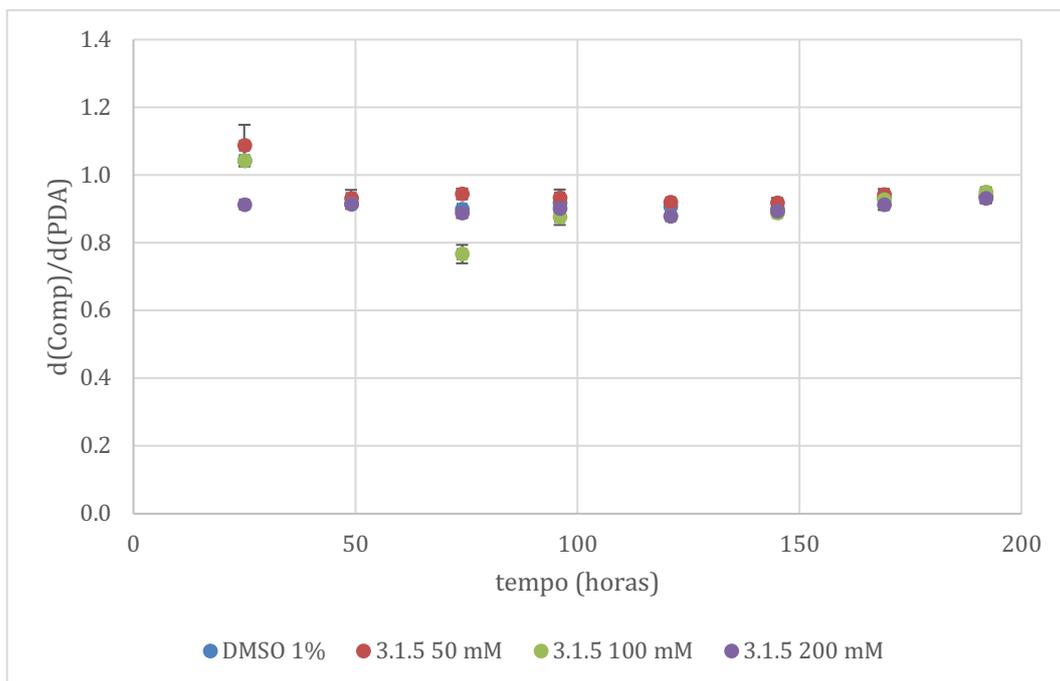


Figura 6.10 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.5** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Nos quatro compostos testados neste ensaio verifica-se pela leitura dos gráficos que a ação inibitória do crescimento do solvente DMSO é, quase sempre, tão ou mais eficiente a travar o crescimento do fungo do que os imidazolil triazoles.

Retira-se a mesma conclusão na análise dos gráficos de aumento do diâmetro médio da colônia ao longo do tempo, isto é, a ação inibitória de crescimento do fungo dos compostos avaliados não se destaca da ação inibitória do solvente DMSO (figuras 6.11 a 6.14).

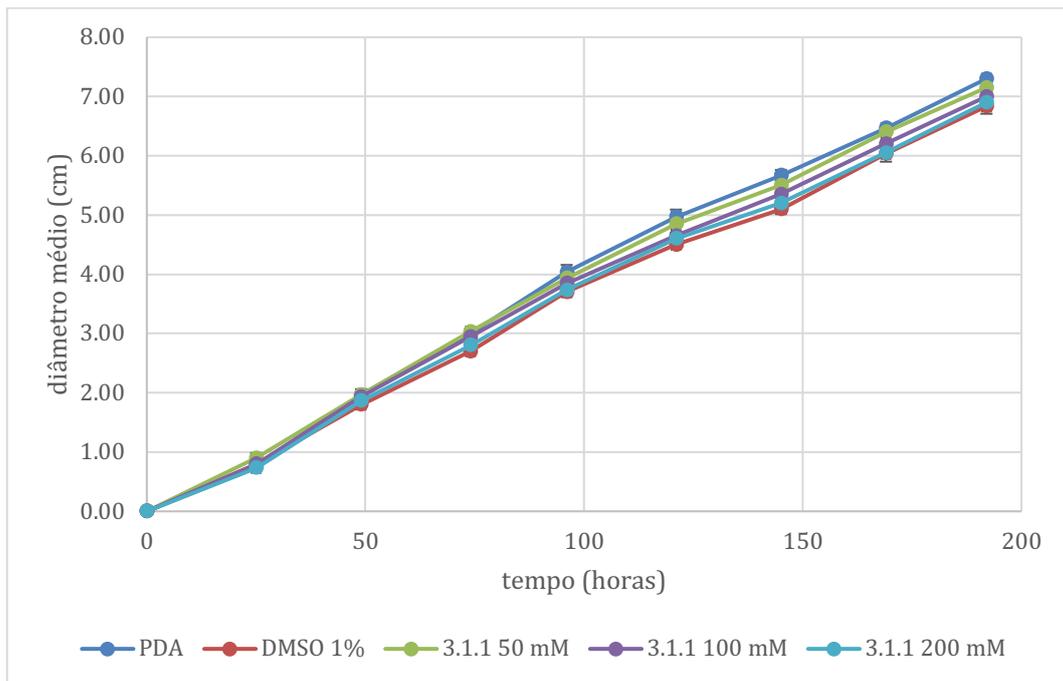


Figura 6.11 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **3.1.1** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

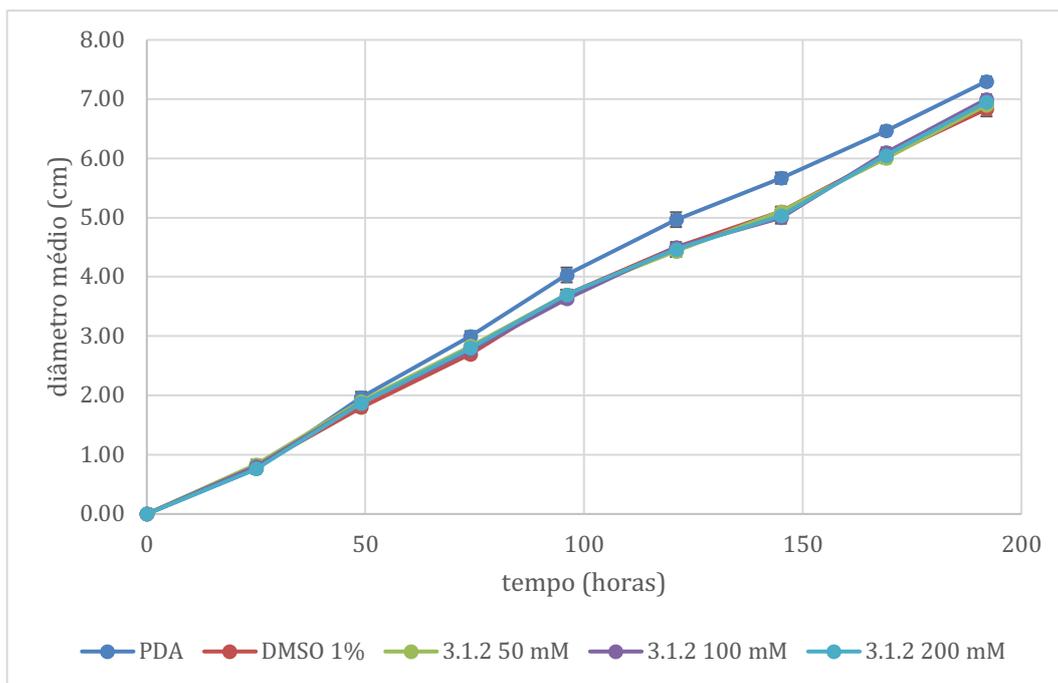


Figura 6.12 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **3.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

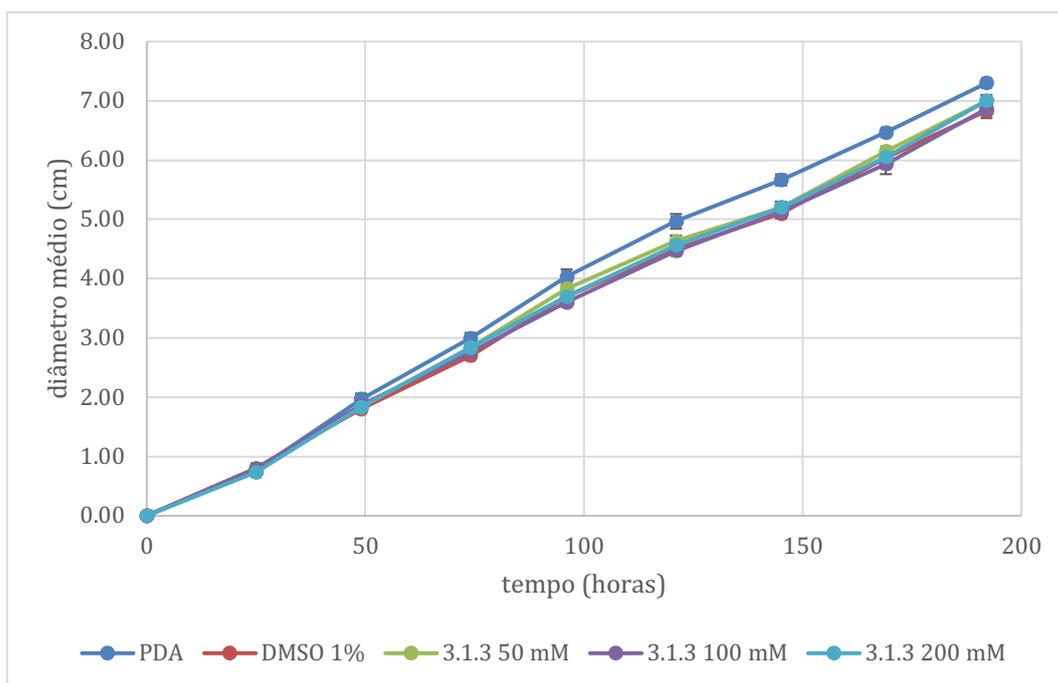


Figura 6.13 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **3.1.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

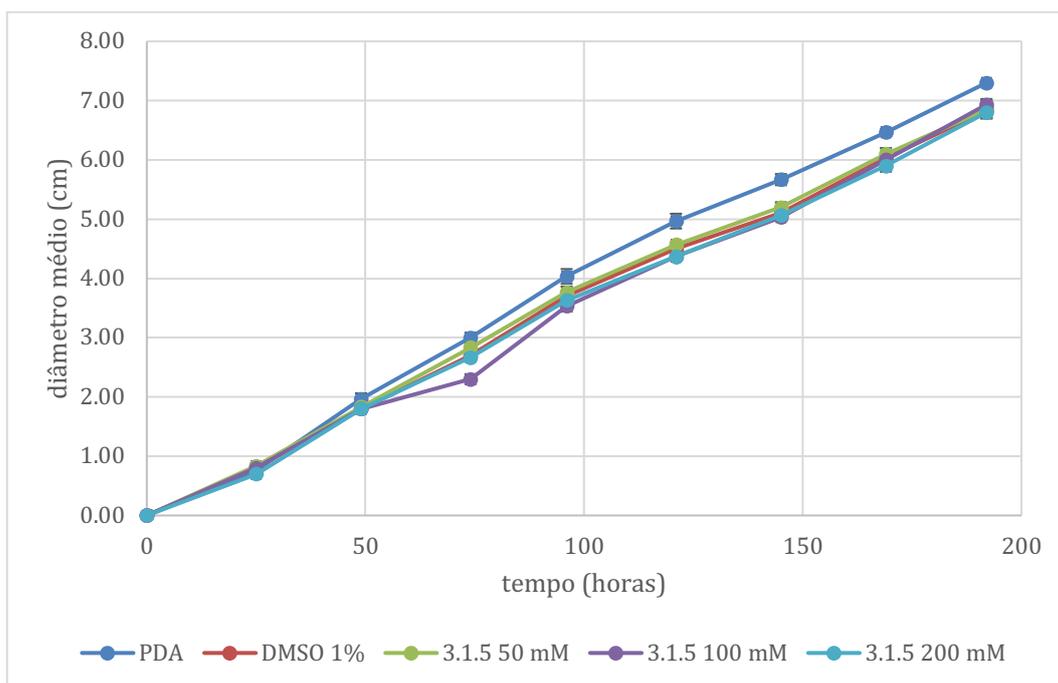


Figura 6.14 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **3.1.5** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Apesar da análise aos resultados em termos de crescimento não permitir avançar com nenhuma possibilidade de interesse biológico como antifúngico nestes quatro compostos, a determinação da duração da *lag phase* pode fornecer novas informações e diferentes das anteriores. Na tabela 6.5 encontram-se os registos para o instante em que se inicia o crescimento exponencial do fungo para todas as situações testadas.

Tabela 6.5 - Determinação do *lag time* para PDA, DMSO 1%, **3.1.1**, **3.1.2**, **3.1.3** e **3.1.5** dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,993$)

Composto		<i>Lag time</i> , d =0 (h)	Composto		<i>Lag time</i> , d =0 (h)
PDA		7,36 ± 0,63	DMSO 1%		5,14 ± 0,90
3.1.1	50 mM	3,45 ± 1,94	3.1.3	50 mM	6,92 ± 1,44
	100 mM	6,73 ± 1,66		100 mM	3,22 ± 0,58
	200 mM	6,28 ± 0,04		200 mM	6,28 ± 1,56
3.1.2	50 mM	3,14 ± 1,46	3.1.5	50 mM	4,73 ± 0,63
	100 mM	3,61 ± 0,56		100 mM	3,06 ± 1,19
	200 mM	5,16 ± 1,01		200 mM	6,79 ± 0,48

A partir da análise dos valores indicados na tabela 6.5 confirma-se que estes compostos não apresentam interesse como potenciais antifúngicos.

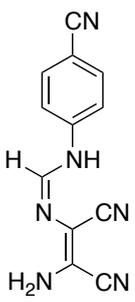
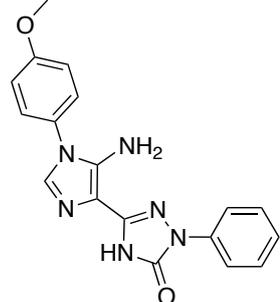
Discussão

Estas estruturas não são particularmente relevantes na sua ação como potenciais compostos antifúngicos. No entanto, é necessário salientar que foi observada uma ligeira precipitação da solução do composto **3.1.5** para as duas concentrações mais elevadas quando estas foram adicionadas ao meio de cultura. É de prever que se esta precipitação parcial não tivesse acontecido os efeitos inibidores desta molécula pudessem ser mais significativos.

6.2.1.4 Amidina **1.0.3** e imidazolil triazole **3.1.4**

No seguimento do ensaio anterior foi avaliada a presença de um substituinte aromático no anel de triazole através do composto **3.1.4** e foi ainda avaliada a potencial atividade biológica de uma estrutura não ciclizada, a amidina **1.0.3**.

Tabela 6.6 - Estrutura da amidina **1.0.3** e do imidazolil triazole **3.1.4**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">1.0.3</p>	 <p style="text-align: center;">3.1.4</p>
Concentrações	50 / 100 / 200 µM	
Meio de cultura	YES	

Estes ensaios decorreram em placa de 10 mL e com meio de cultura YES, uma vez que, neste meio, o crescimento do fungo é mais lento e permite a utilização de menos recursos químicos e biológicos com a utilização de placas mais pequenas.

Nos gráficos das figuras 6.15 e 6.16 observa-se um efeito inibidor do crescimento do fungo para a estrutura aberta **1.0.3** e **3.1.4** quando estão presentes nas concentrações mais elevadas.

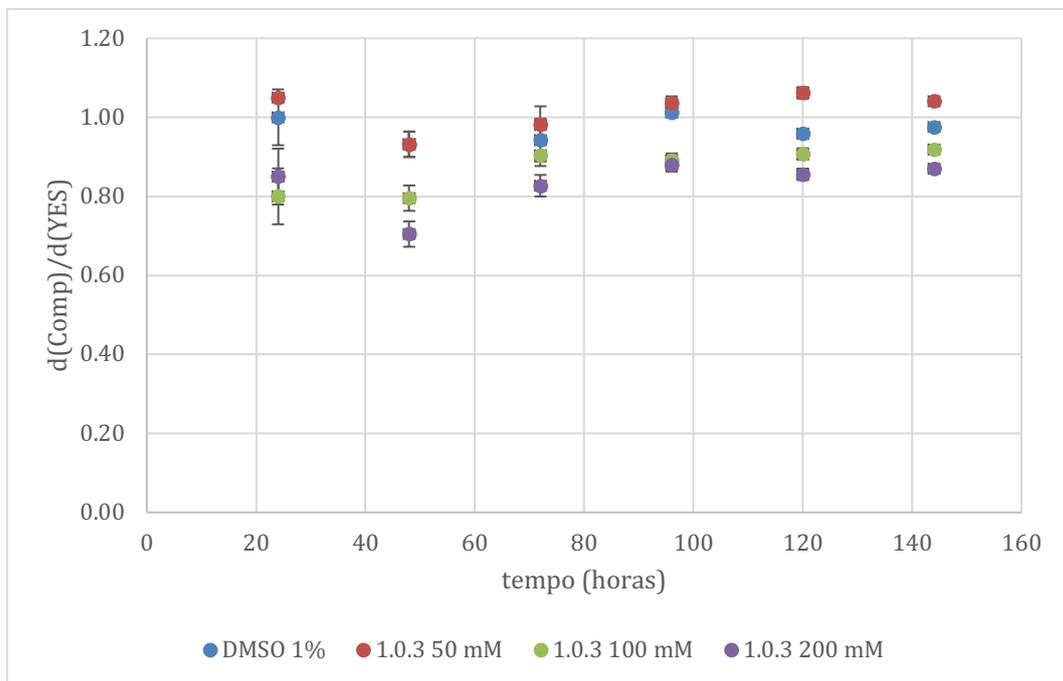


Figura 6.15 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **1.0.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

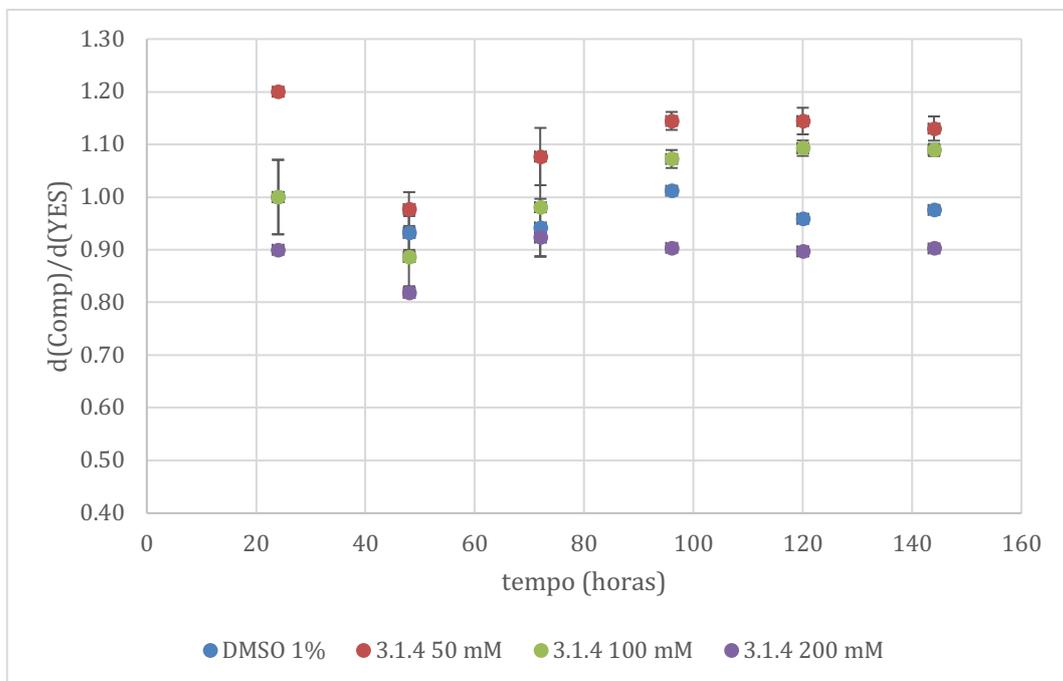


Figura 6.16 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.4** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na solução com concentração de 200 mM do imidazolil triazole **3.1.4** precipitou um pouco de sólido quando a solução foi adicionada ao meio de cultura, o que faz ponderar a possibilidade do efeito deste composto ser ainda superior ao registado. No caso deste composto observa-se que apenas os ensaios que decorreram com a concentração mais elevada mostraram um efeito inibidor do crescimento mais eficiente do que o do solvente sem composto dissolvido.

A partir da análise da evolução do diâmetro médio ao longo do período de incubação confirmam-se que os ensaios que decorrem na presença da amidina em concentrações de 100 μM e de 200 μM mostram medidas de diâmetros médios das colónias menores quando comparadas com o crescimento apenas em meio de cultura ou na presença do solvente DMSO (figura 6.17).

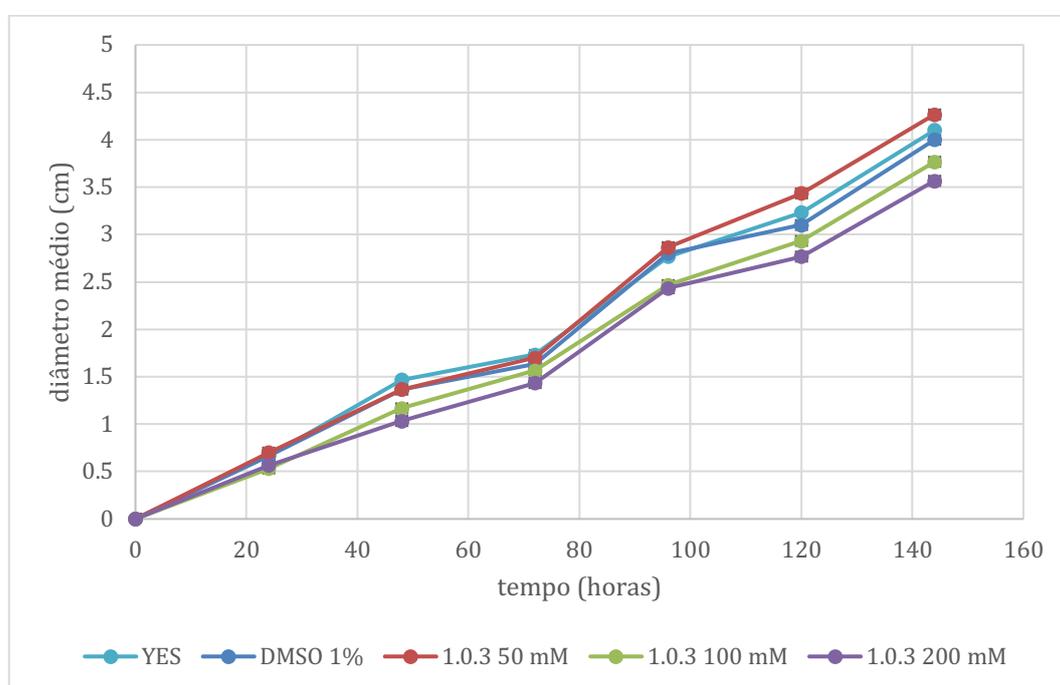


Figura 6.17 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **1.0.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Como se observa na figura 6.18, também para a estrutura **3.1.4** é validada a hipótese do composto apresentar atividade antifúngica quando está presente no meio com uma concentração de 200 μM .

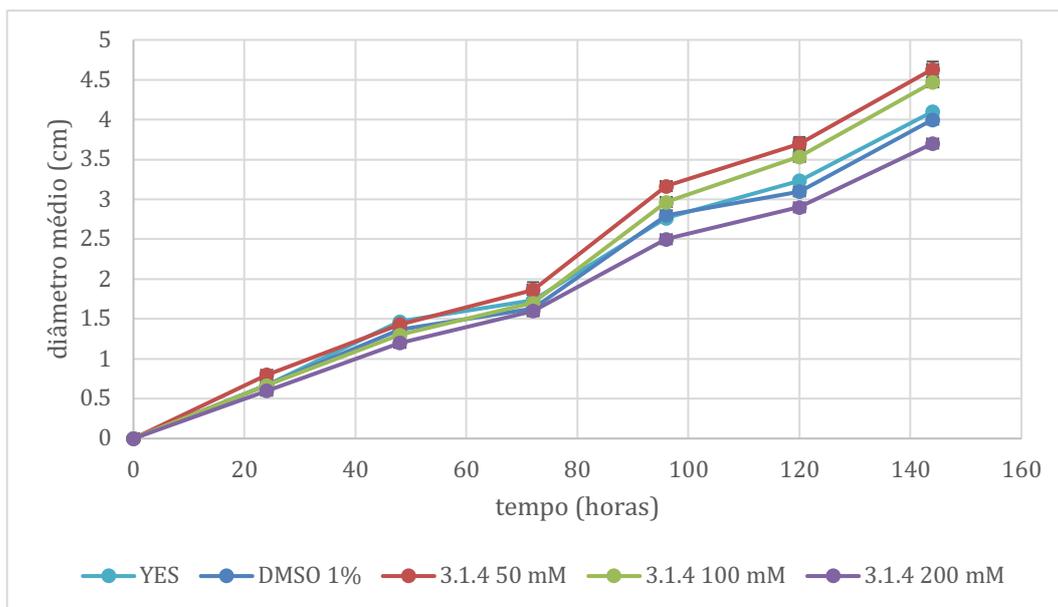


Figura 6.18 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **3.1.4** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na figura 6.19 estão retratados os resultados da análise da variância unidirecional. A ação inibitória do composto **1.0.2** apresenta diferenças significativas nas duas concentrações mais elevadas (*). Para a concentração de 50 mM observa-se, a partir do quarto dia de incubação, um crescimento da colônia maior do que para o ensaio que decorre apenas na presença de solvente. Não se encontraram diferenças significativas na análise da variância entre os ensaios realizados apenas com o solvente e na presença da solução menos concentrada do composto.

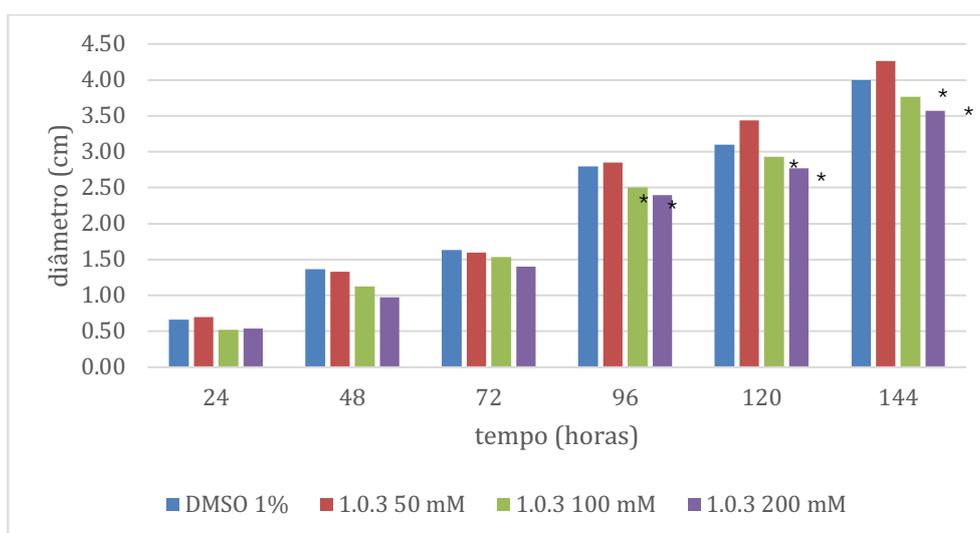


Figura 6.19 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **1.0.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

No caso do composto **3.1.4**, figura 6.20, apenas não se registam diferenças significativas entre os valores dos diâmetros medidos no terceiro dia de incubação. Para os restantes instantes nos quais foram medidos os diâmetros encontram-se diferenças significativas entre os resultados obtidos para as concentrações utilizadas nos ensaios, havendo particular interesse nos ensaios que decorreram para concentrações mais elevadas (*). Também nesta figura se observa que a precipitação de composto na preparação da solução mais concentrada pode ter condicionado os resultados registados e assim não se observar um efeito inibitório do crescimento ainda mais significativo. Nesta análise verifica-se que nos ensaios da solução de concentração 50 mM e 100 mM há, a partir do quarto dia, um crescimento mais acentuado do que nos ensaios que decorrem apenas com DMSO. Neste caso encontram-se diferenças significativas entre os diâmetros medidos nestes ensaios, o que leva a uma reflexão sobre uma aparente inversão do efeito da presença do composto que pode estar relacionada com processos que afetam a via metabólica de crescimento do fungo.

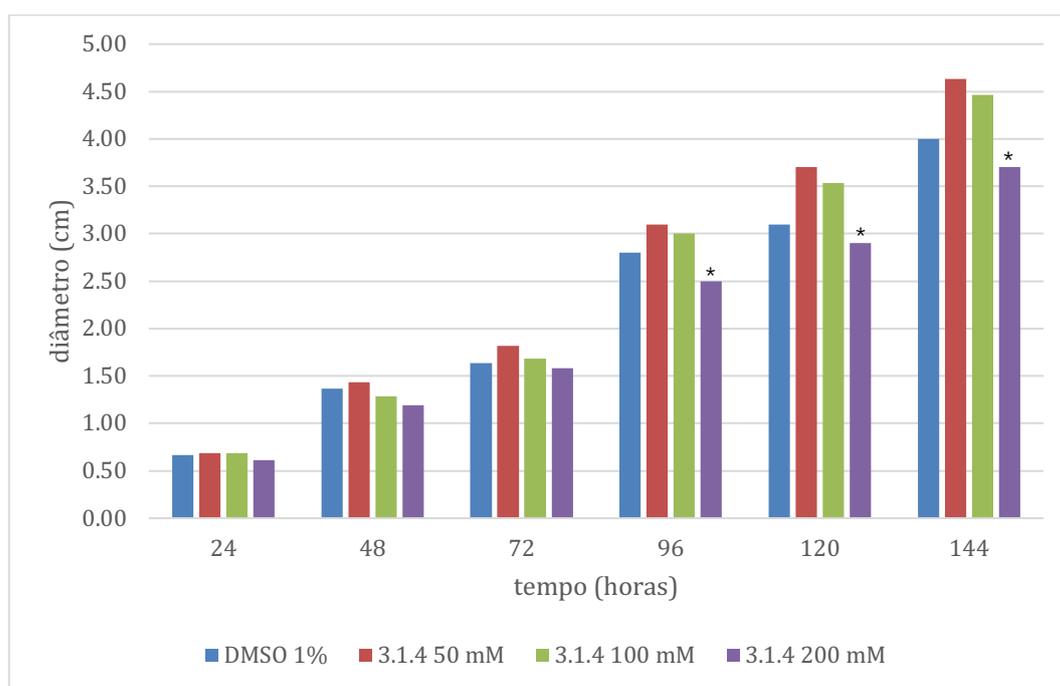


Figura 6.20 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **3.1.4** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na determinação do *lag time* conclui-se que para as concentrações mais elevadas os dois compostos apresentam uma ação maior do que a do solvente no aumento da *lag phase*, como se lê na tabela 6.7.

Tabela 6.7 - Determinação do *lag time* para YES, DMSO 1%, **1.0.3** e **3.1.4** dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,993$)

Composto		<i>Lag time</i> , d =0 (h)
YES		19,25 ± 4,99
DMSO 1%		19,05 ± 0,00
1.0.3	50 mM	24,15 ± 3,85
	100 mM	20,90 ± 1,51
	200 mM	23,77 ± 2,38
3.1.4	50 mM	23,34 ± 3,58
	100 mM	27,33 ± 6,59
	200 mM	29,33 ± 3,55

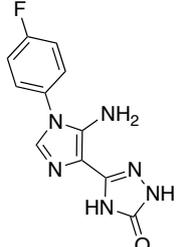
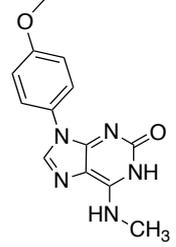
Discussão

A amidina **1.0.3**, uma estrutura não ciclizada, constitui foco de interesse para estudos posteriores na avaliação como potencial antifúngico, assim como a estrutura **3.1.4**, que apresenta bons resultados e mais promissores do que os observados para as estruturas similares no ensaio anterior (ver secção 6.2.1.3). Assim sendo, propõe-se que o substituinte $R_2 = Ph$ no imidazolil triazole tenha relevância ao potenciar este tipo de estruturas heterocíclicas como compostos antifúngicos.

6.2.1.5 Imidazolil triazole **2.1.1.2** e derivados de isoguaninas **5.2.2.2** e **5.2.2.3**

Neste ensaio observou-se o efeito do imidazolil triazole substituído no anel de imidazole por $Ar(p)F$ e do efeito da incorporação das aminas no anel de purina das isoguaninas **5.2.2.2** e **5.2.2.3** (tabela 6.8).

Tabela 6.8 - Estrutura do imidazolil triazole **2.1.1.2** e derivados de isoguaninas **5.2.2.2** e **5.2.2.3**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas			
	2.1.1.2	5.2.2.2	5.2.2.3
Concentrações	50 / 100 / 200 μ M		
Meio de cultura	PDA		

A partir da leitura da figura 6.21 percebe-se que, com exceção de um primeiro momento, o DMSO acaba por ter um efeito mais significativo na inibição do crescimento do fungo do que o composto testado para as diferentes concentrações.

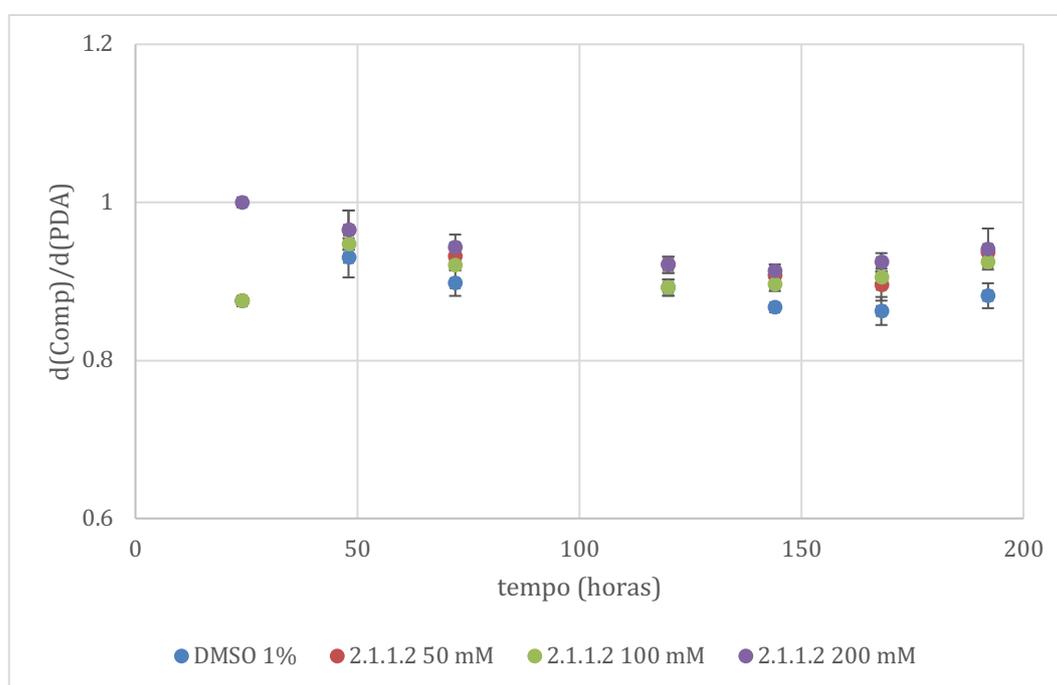


Figura 6.21 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **2.1.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Uma situação parecida é observada para o derivado de isoguanina **5.2.2.2** (figura 6.22) que apenas mostra uma ação ligeiramente mais eficiente na redução do crescimento do fungo em relação ao meio com o solvente no final do período de incubação, sendo que esta ligeira diferença se encontra dentro da barra de erros e, por isso, pode não ser efetiva.

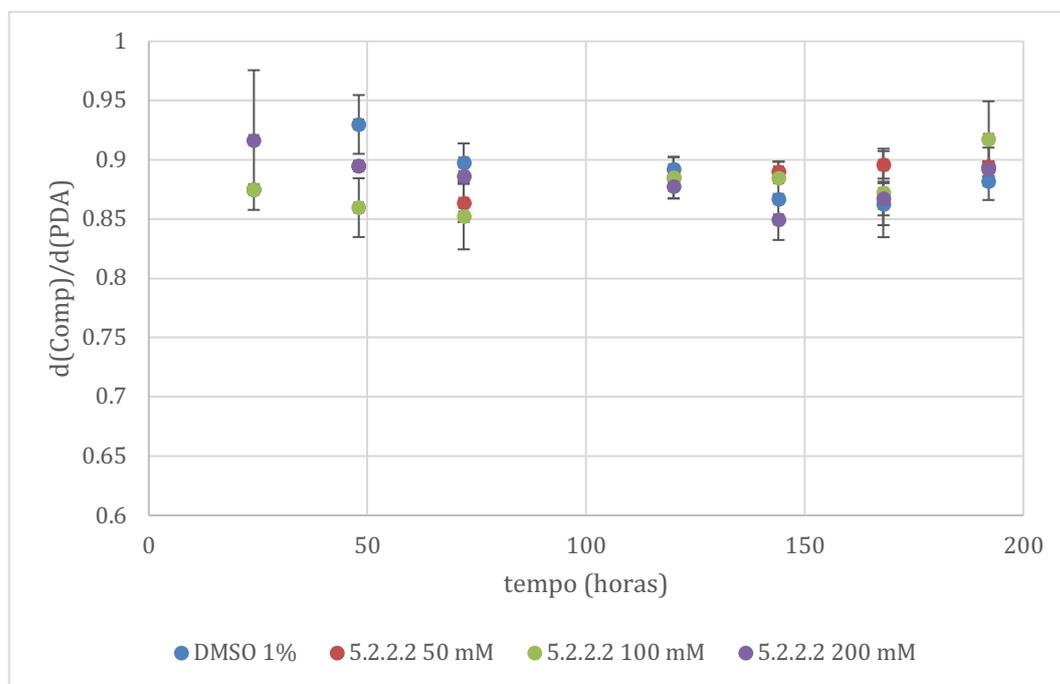


Figura 6.22 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **5.2.2.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

A mesma situação repete-se para o outro composto testado, **5.2.2.3**, como se pode analisar na figura 6.23. Neste caso, os ensaios preparados para a concentração de 50 μM não estão registados porque houve contaminação de algumas das placas. No entanto, os ensaios não foram repetidos, uma vez que os resultados obtidos para as concentrações mais elevadas não justificaram a necessidade de perceber o que aconteceria para a concentração mais baixa.

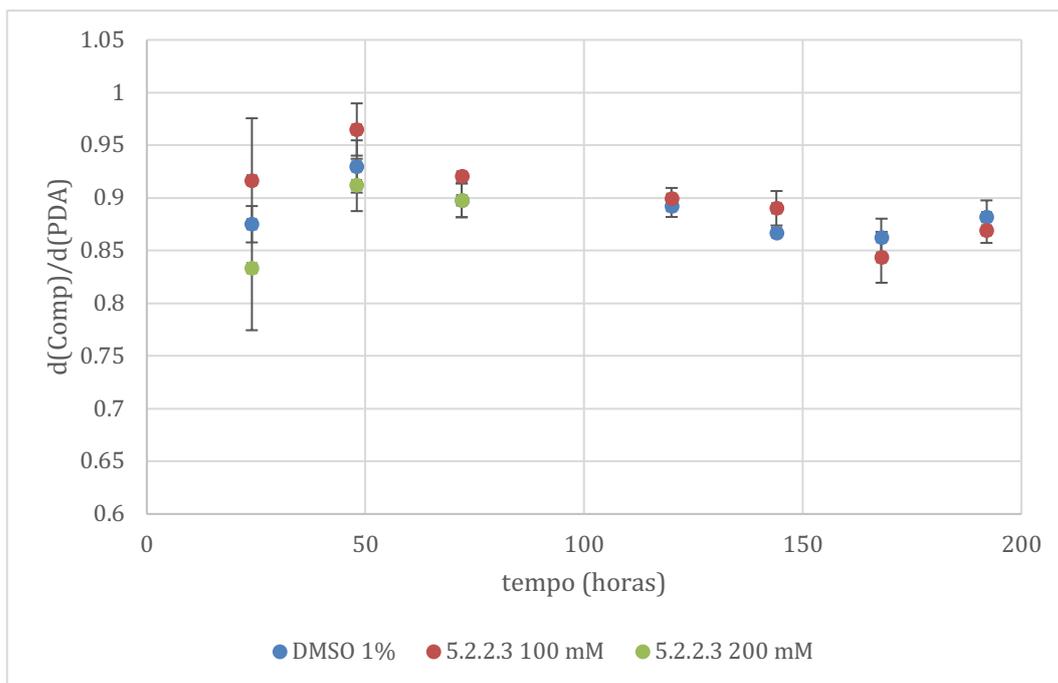


Figura 6.23 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **5.2.2.3** 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

A análise à evolução do diâmetro médio ao longo dos oito dias de incubação também evidencia que nenhum destes compostos apresenta um efeito de inibição do crescimento do fungo mais relevante do que o solvente utilizado (figura 6.24 a 6.26).

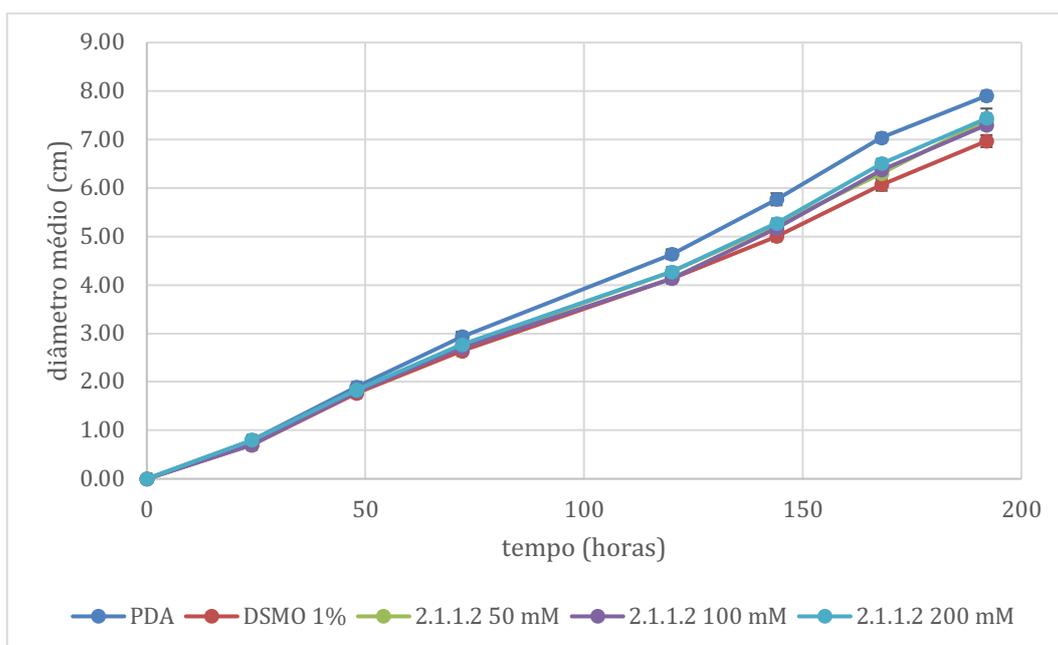


Figura 6.24 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **2.1.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

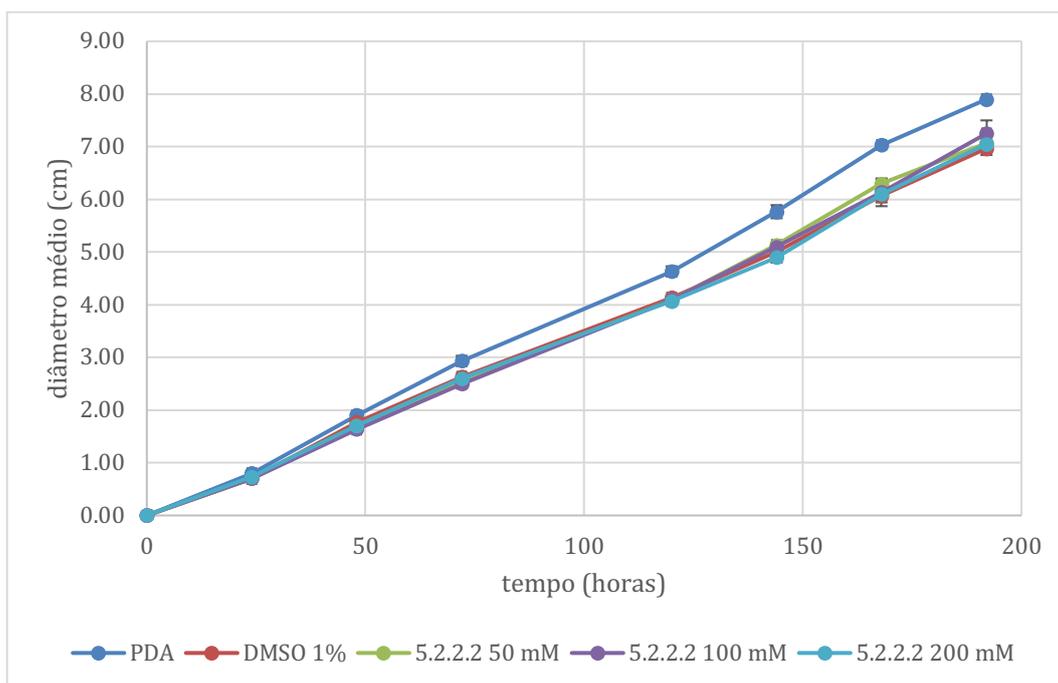


Figura 6.25 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **5.2.2.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

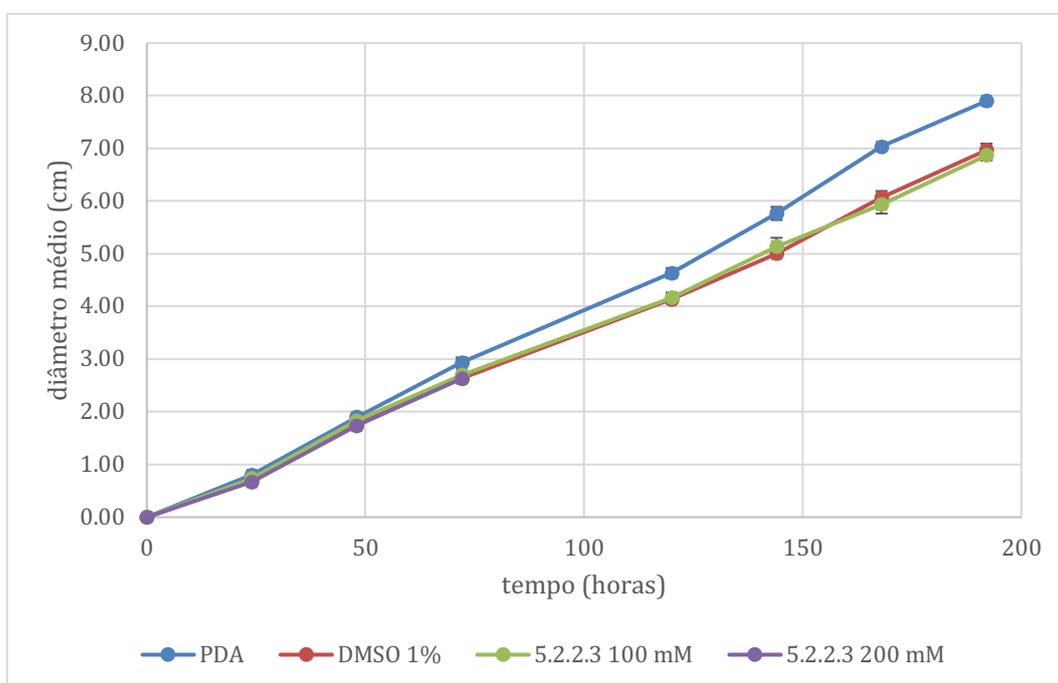


Figura 6.26 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **5.2.2.3** 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Nenhum dos compostos revelou uma ação antifúngica mais eficaz do que a do solvente DMSO, por isso, a análise da variância unidirecional não é importante, uma vez que estes não são resultados satisfatórios e que sejam indicadores de estudos futuros.

Na determinação do instante em que as células se começam a reproduzir percebe-se que nenhum dos compostos apresenta um efeito que altere a duração da *lag phase* (tabela 6.9).

Tabela 6.9 - Determinação do *lag time* para PDA, DMSO 1%, **2.1.1.2**, **5.2.2.2** e **5.2.2.3**

dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,992$)

Composto		<i>Lag time</i>, d =0 (h)
PDA		5,70 ± 1,20
DMSO 1%		5,78 ± 0,55
2.1.1.2	50 mM	6,55 ± 0,21
	100 mM	6,40 ± 0,00
	200 mM	4,05 ± 0,59
5.2.2.2	50 mM	4,93 ± 0,68
	100 mM	5,00 ± 0,90
	200 mM	4,82 ± 1,52
5.2.2.3	100 mM	5,14 ± 1,82
	200 mM	7,03 ± 1,27

Discussão

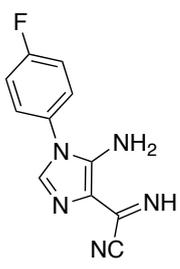
Nenhuma destas estruturas parece apresentar possibilidades de utilização como inibidores do crescimento de fungos desta estirpe. Os resultados são pouco animadores quando se compara a ação do solvente isolado, uma vez que este apresenta efeitos parecidos ou melhores do que os registados na presença dos compostos químicos sintetizados.

As estruturas de purina testadas não constituem ponto de partida para a avaliação do potencial antifúngico desta família de compostos.

6.2.1.6 Imidazole **1.1.2** e oxadiazole **2.1.3.2**

Dando continuidade ao estudo da potencial atividade antifúngica dos compostos sintetizados, foi avaliada a ação de um imidazole e de um oxadiazole que têm em comum o substituinte $R_1 = Ar(p)F$.

Tabela 6.10 - Estrutura do imidazole **1.1.2** e do oxadiazole **2.1.3.2**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 1.1.2	 2.1.3.2
Concentrações	50 / 100 / 200 μ M	
Meio de cultura	YES	

Na figura 6.27 observa-se um efeito significativo na redução do crescimento do fungo quando no meio de cultura se encontra solubilizado o imidazole **1.1.2**, sobretudo para o valor de concentração mais elevado.

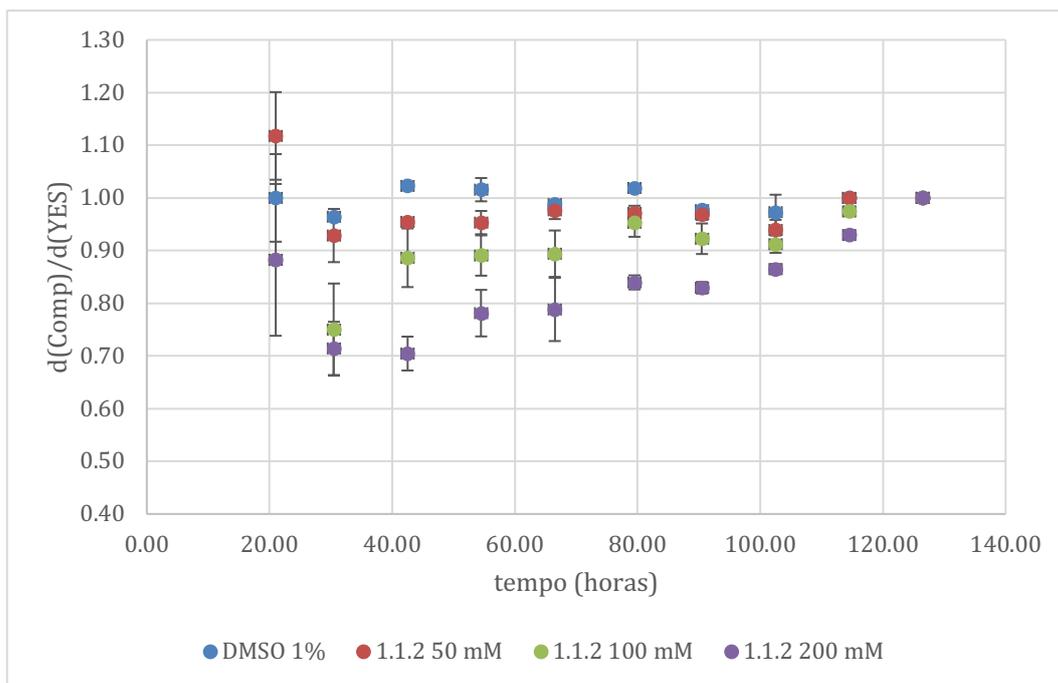


Figura 6.27 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **1.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

No caso do imidazolil triazole **2.1.3.2**, figura 6.28, não se observam diferenças significativas entre o efeito do composto e o efeito do solvente.

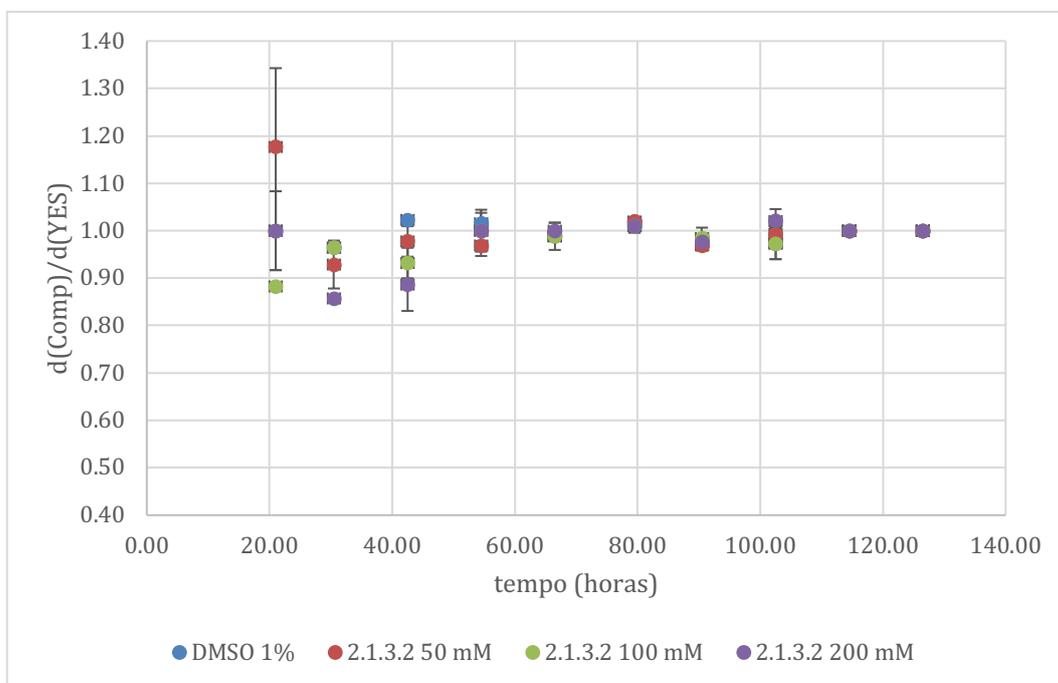


Figura 6.28 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **2.1.3.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

As mesmas conclusões são reforçadas quando se analisam as figuras 6.29 e 6.30, nos quais se pode ler a evolução do diâmetro médio das colónias de fungos ao longo dos cinco dias de incubação.

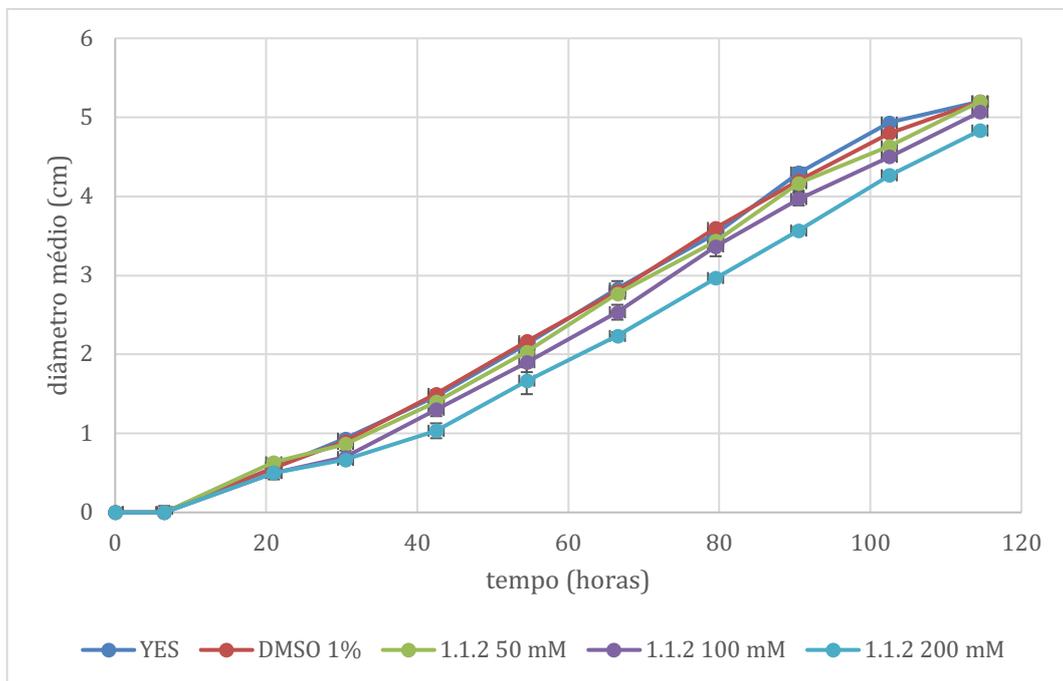


Figura 6.29 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **1.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

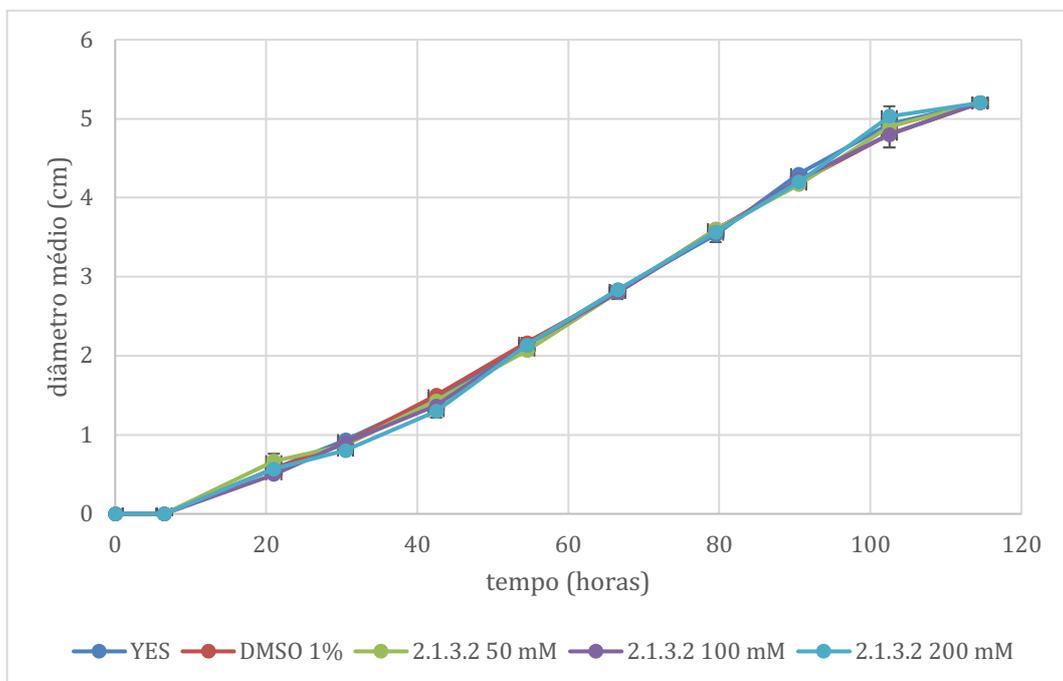


Figura 6.30 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **2.1.3.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

O fungo apresenta um crescimento diferente se no meio de cultura estiver dissolvido o imidazole **1.1.2** e as diferenças são mais evidentes para os ensaios que decorreram com concentrações mais elevadas, uma vez que o diâmetro da colónia é menor nestes casos.

A análise da figura 6.30 confirma o que já foi observado nas análises anteriores, uma vez que não se nota uma ação inibitória do crescimento do fungo quando está na presença do oxadiazole **2.1.3.2**.

Na figura 6.31 comparam-se os diâmetros médios obtidos para os ensaios realizados com as diferentes concentrações e com ausência de composto **1.1.2**. O teste de Duncan realizado mostra que há diferenças significativas entre todos os ensaios realizados durante todo o período de incubação, o que se traduz numa eficácia efetiva na inibição do crescimento do fungo se houver composto **1.1.2** presente no meio de cultura.

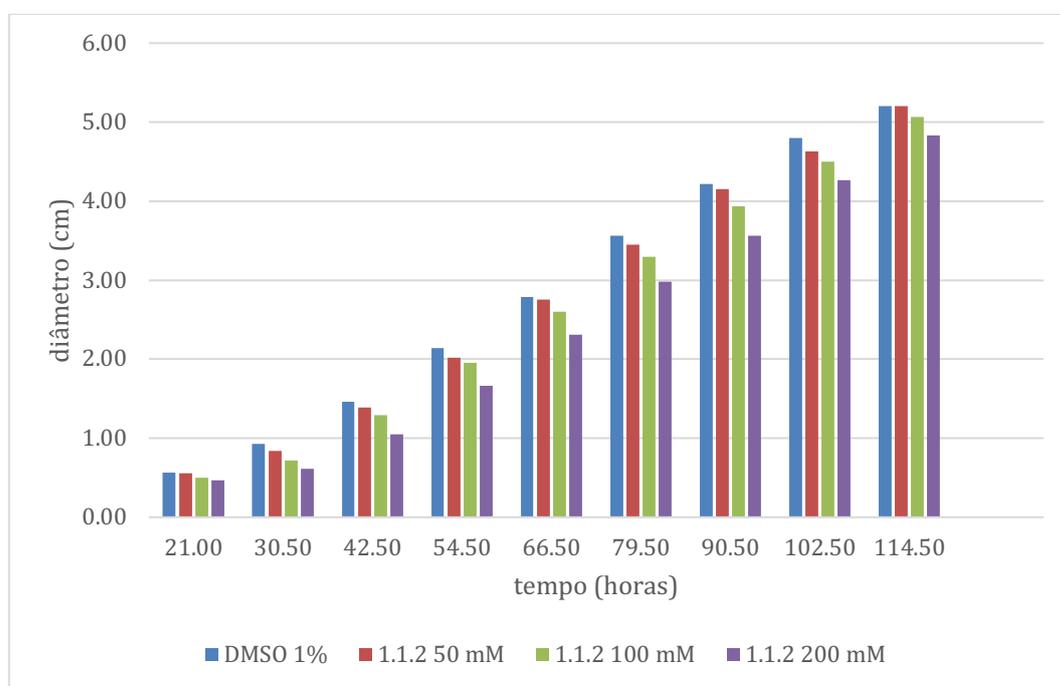


Figura 6.31 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **1.1.2** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Para além do efeito significativo na inibição do crescimento do fungo, o imidazole **1.1.2** também tem uma ação inibidora do início do crescimento exponencial do fungo quando testado para a concentração mais elevada. O oxadiazole **2.1.3.2** também revela interesse quando este parâmetro é avaliado na concentração de 200 μ M.

Tabela 6.11 - Determinação do *lag time* para YES, DMSO 1%, **1.1.2** e **2.1.3.2** dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,993$)

Composto		<i>Lag time</i> , d =0 (h)
YES		15,99 ± 1,39
DMSO 1%		14,57 ± 1,15
1.1.2	50 mM	15,68 ± 0,35
	100 mM	18,33 ± 1,81
	200 mM	20,63 ± 1,02
2.1.3.2	50 mM	16,66 ± 0,64
	100 mM	16,10 ± 1,08
	200 mM	18,60 ± 1,40

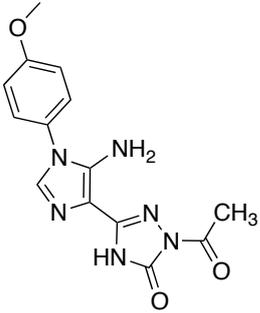
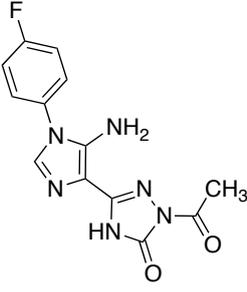
Discussão

A presença do substituinte Ar(*p*)F no anel de imidazole revela ser mais relevante na estrutura de um único anel. Na presença dos dois anéis da estrutura **2.1.3.2**, a ação antifúngica sofre uma diminuição significativa.

6.2.1.7 Imidazolil triazoles **4.1.1.3** e **4.1.1.7**

Nestes ensaios fixou-se a estrutura de anéis de imidazole e triazole e avaliou-se a ação destes compostos se substituídos em R₁ por Ar(*p*)OMe ou por Ar(*p*)F.

Tabela 6.12 - Estrutura dos imidazolil triazoles **4.1.1.3** e **4.1.1.7**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">4.1.1.3</p>	 <p style="text-align: center;">4.1.1.7</p>
Concentrações	50 / 100 / 200 μ M	
Meio de cultura	YES	

Na figura 6.32 vê-se que o imidazolil triazole com $R_1 = Ar(p)OMe$ apresenta um comportamento pouco eficiente na redução do crescimento do fungo, uma vez que apenas os ensaios que decorreram para a concentração mais elevada apresentam uma ação igual ou ligeiramente superior à ação provocada pela presença do solvente.

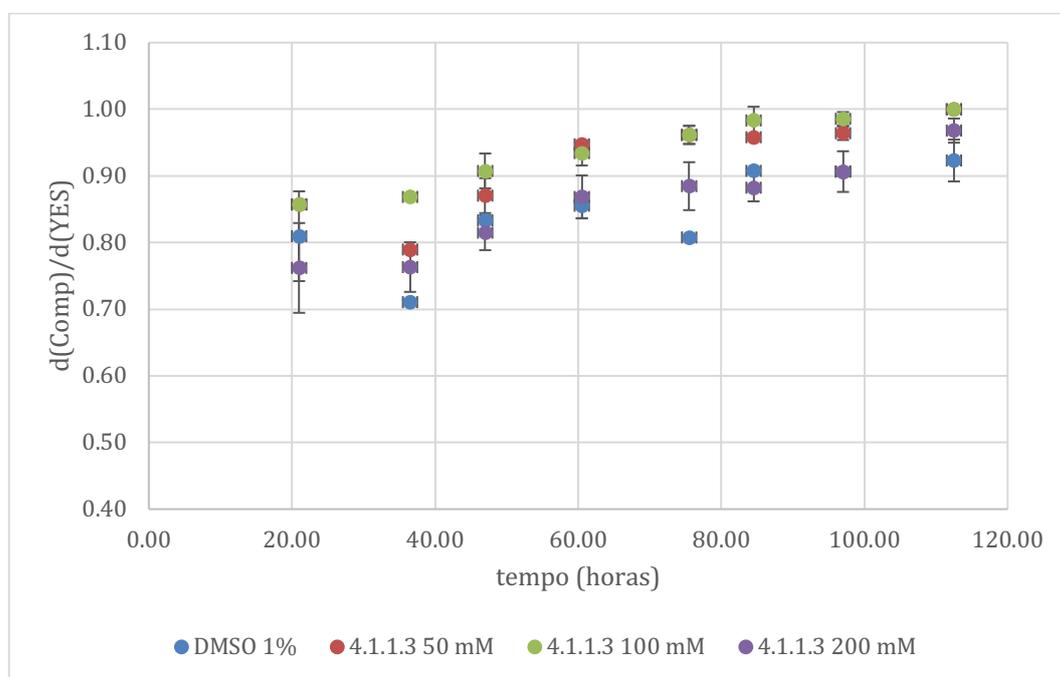


Figura 6.32 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **4.1.1.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Também não se observa efeito inibidor quando o imidazolil triazole é substituído por $R_1 = Ar(\rho)F$, mesmo para os valores de concentração mais elevados (figura 6.33).

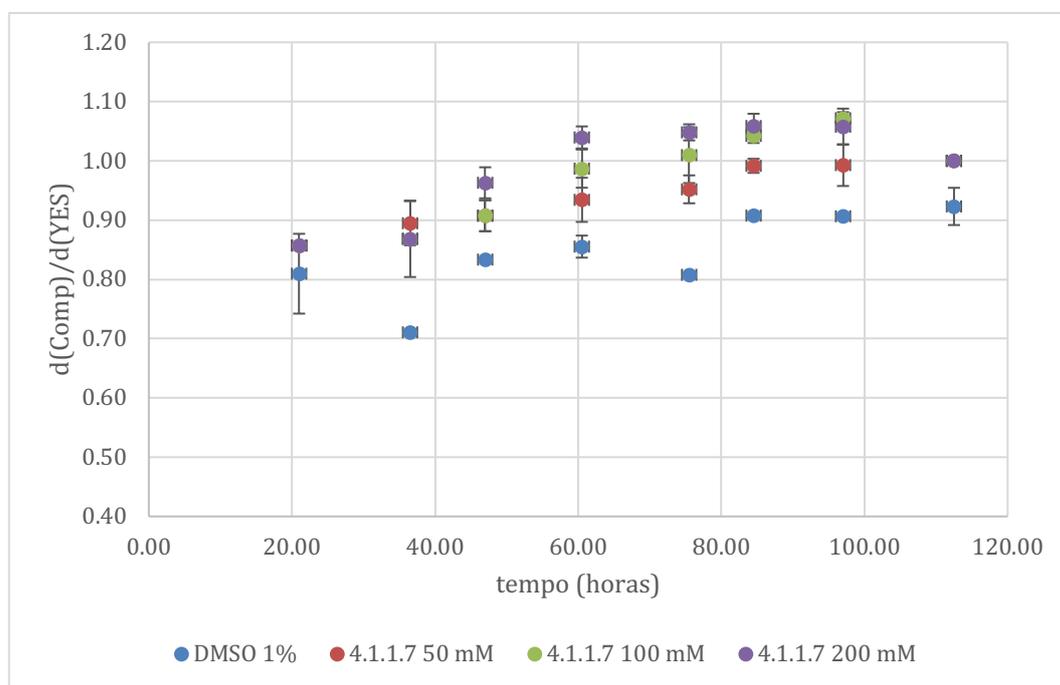


Figura 6.33 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **4.1.1.7** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na análise do gráfico da figura 6.34 da evolução do diâmetro médio ao longo dos dias verifica-se que a ação do composto **4.1.1.3** é ligeiramente mais eficaz na redução do crescimento da colónia do que a ação provocada pelo solvente em alguns momentos do período de incubação, no entanto, são diferenças muito ténues. Na figura 6.35 confirma-se a ineficácia da presença do composto **4.1.1.7** no meio de cultura.

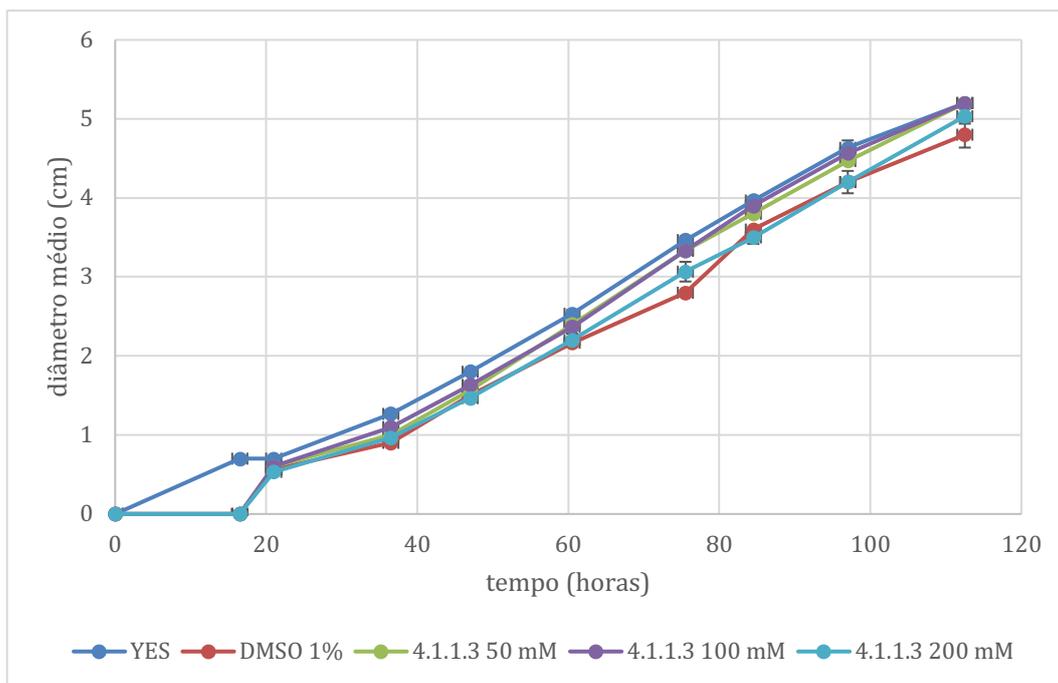


Figura 6.34 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **4.1.1.3** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

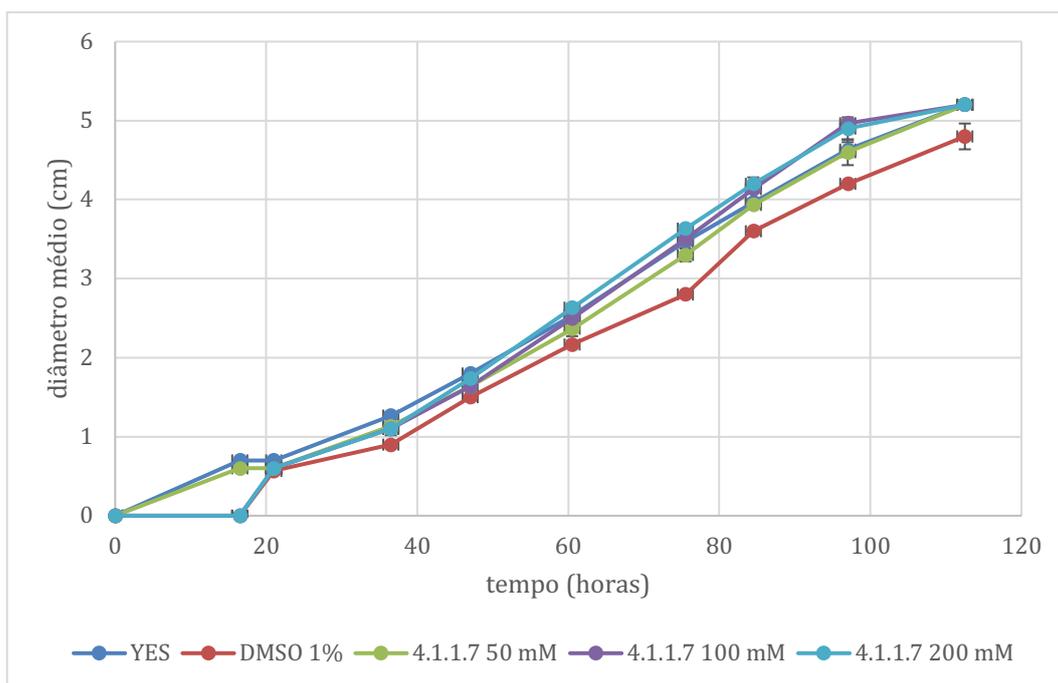


Figura 6.35 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **4.1.1.7** 50 mM, 100 mM e 200 mM dissolvido em 1% de DMSO

A estrutura que apresenta um ligeiro efeito inibidor do crescimento do fungo tem o mesmo efeito quando se determina o *lag time*. O composto **4.1.1.3** aumenta o período de *lag phase*. Apesar do composto **4.1.1.7** não ser relevante na redução do crescimento, este apresenta algum significado biológico como antifúngico quando se determina o *lag time* e se compara com o mesmo parâmetro na ausência do composto (tabela 6.13).

Tabela 6.13 - Determinação do *lag time* para YES, DMSO 1%, **4.1.1.3** e **4.1.1.7** dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,993$)

Composto		<i>Lag time</i> , d =0 (h)
YES		14,62 ± 1,33
DMSO 1%		16,92 ± 0,00
4.1.1.3	50 mM	20,35 ± 0,89
	100 mM	17,89 ± 0,76
	200 mM	19,18 ± 1,34
4.1.1.7	50 mM	17,34 ± 2,18
	100 mM	19,51 ± 0,15
	200 mM	20,00 ± 0,01

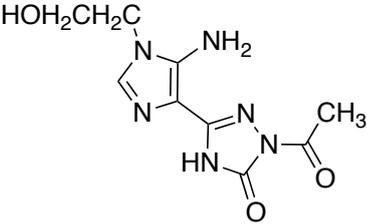
Discussão

O imidazolil triazole substituído por $R_1 = Ar(p)OMe$ apresenta alguma potencialidade como antifúngico, uma vez que, apesar de mostrar ação muito reduzida na redução do crescimento do fungo, tem um efeito no prolongamento da *lag phase*. O mesmo efeito não é detetado para o composto substituído por $R_1 = Ar(p)F$, o que leva a colocar a hipótese de que o resto da estrutura não é relevante na ação, sendo mais significativa a natureza do substituinte R_1 ligado ao anel de imidazole. É necessário ressaltar que as duas soluções *stock* utilizadas nestes ensaios apresentavam-se ligeiramente turvas devido à parcial solubilização dos sólidos em DMSO.

6.2.1.8 Imidazolil triazole **4.1.1.9**

A estrutura **4.1.1.9** foi avaliada para perceber a relevância do substituinte ligado ao anel de imidazole no efeito antifúngico do composto.

Tabela 6.14 - Estrutura do imidazolil triazole **4.1.1.9**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">4.1.1.9</p>
Concentrações	50 / 100 μ M
Meio de cultura	YES

Como se pode ler no gráfico da figura 6.36, a presença do composto **4.1.1.9** no meio de cultura não apresenta um efeito significativo no crescimento do fungo, apresentando apenas uma ação mais significativa para a concentração de 100 μ M no início do período de incubação. Ação essa que desaparece com o decorrer do tempo.

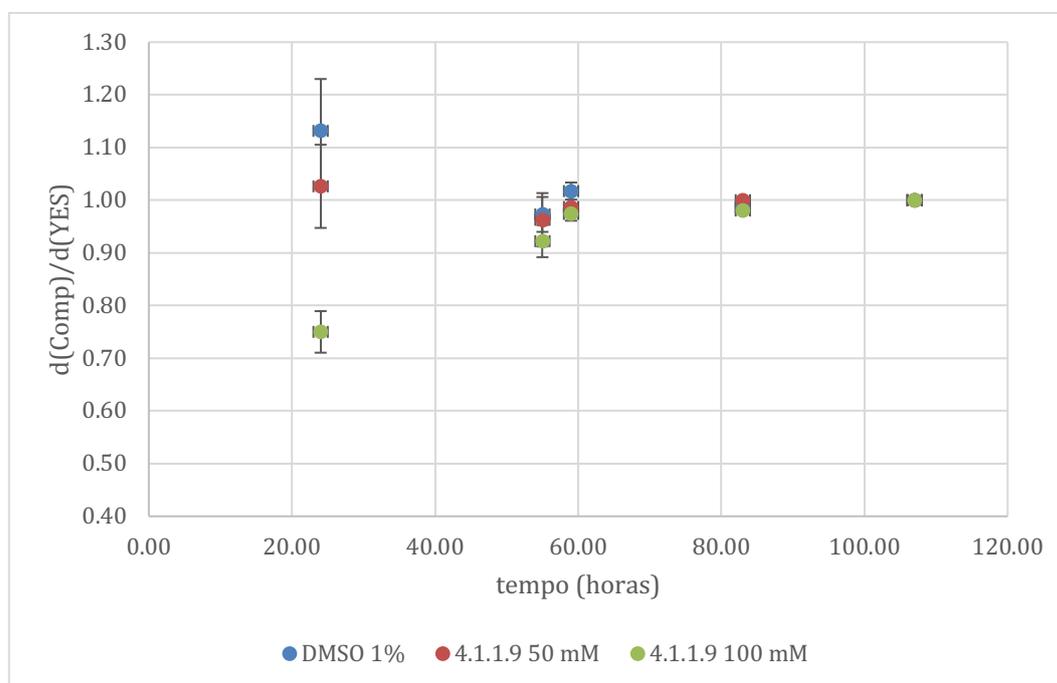


Figura 6.36 - Inibição do crescimento do fungo em função do tempo e da presença de 1% de DMSO, **4.1.1.9** 50 mM e 100 mM dissolvido em 1% de DMSO

No gráfico de registo do diâmetro médio ao longo do tempo, figura 6.37, não se observa uma diferença relevante quando se compara o que acontece ao crescimento do fungo na presença do composto químico ou na presença apenas do solvente no meio de cultura.

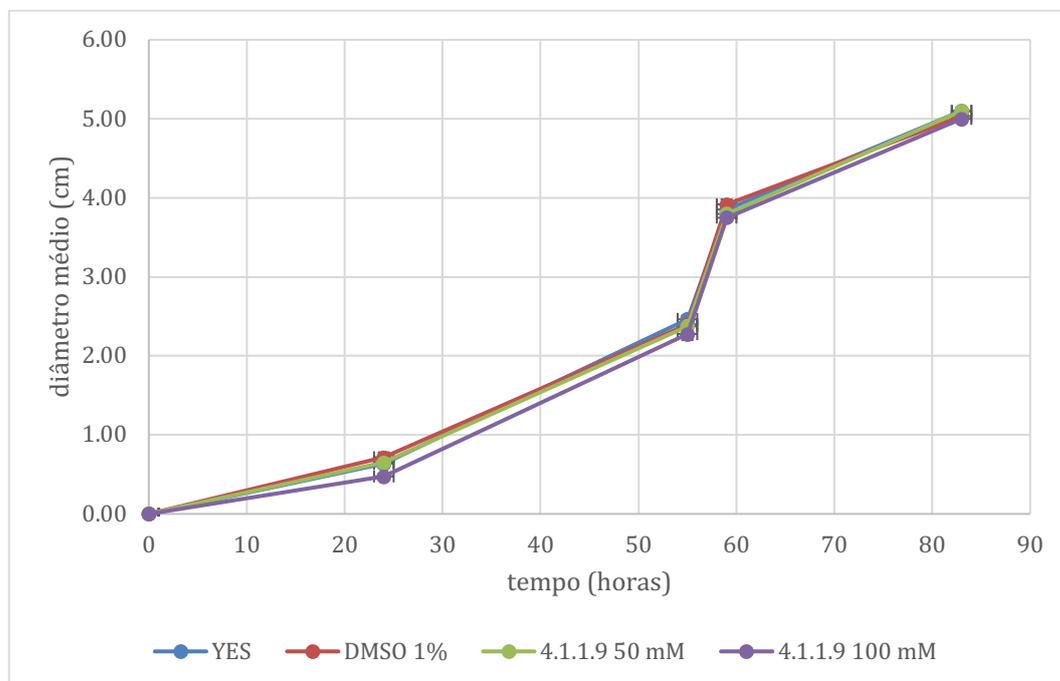


Figura 6.37 - Crescimento do fungo em função do tempo na presença de 1% de DMSO, de **4.1.1.9** 50 mM e 100 mM dissolvido em 1% de DMSO

Na tabela 6.15 verifica-se que o período de *lag phase* é ligeiramente prolongado pela presença deste imidazolil triazole no meio quando testado na concentração mais elevada.

Tabela 6.15 - Determinação do *lag time* para YES, DMSO 1% e **4.1.1.9** dissolvidos em 1% de DMSO ($R^2 > 0,927$)

Composto		<i>Lag time</i> , d = 0 (h)
YES		16,71 ± 0,81
DMSO 1%		14,80 ± 1,56
4.1.1.9	50 mM	16,32 ± 0,84
	100 mM	18,40 ± 0,07

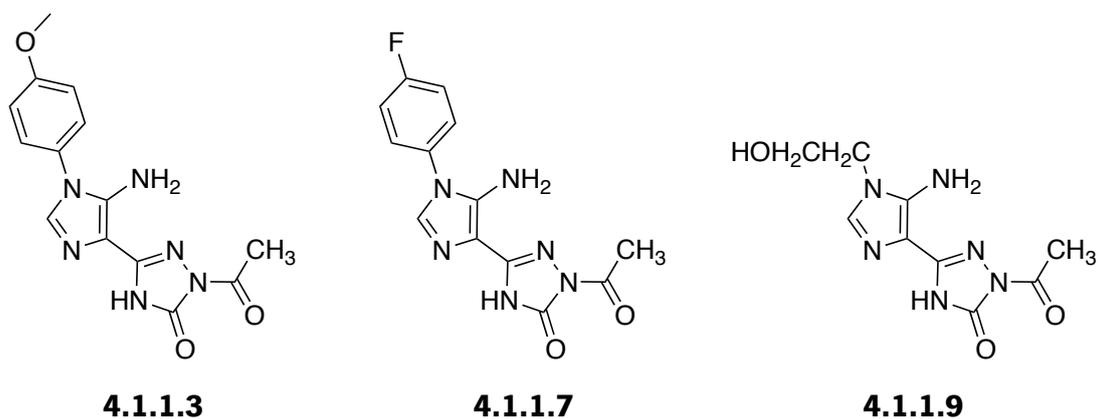


Figura 6.39 – Estruturas dos imidazolil triazoles **4.1.1.3**, **4.1.1.7** e **4.1.1.9** avaliados como potenciais antifúngicos

Na avaliação do efeito da estrutura fizeram-se os testes aos compostos **1.1.2**, **2.1.1.2** e **2.1.3.2** (figura 6.40) que apenas mantinham o substituinte R_i em comum, sendo diferentes na família de compostos a que pertencem. A presença dos dois anéis ligados não favoreceu a ação antifúngica, sobretudo para **2.1.1.2**, sendo mais favoráveis os efeitos observados para o composto **1.1.2**, que apenas apresenta um anel de imidazole. Assim sendo, a natureza deste composto com o grupo imínico ligado ao anel de imidazole mostra ser relevante para a atividade antifúngica avaliada.

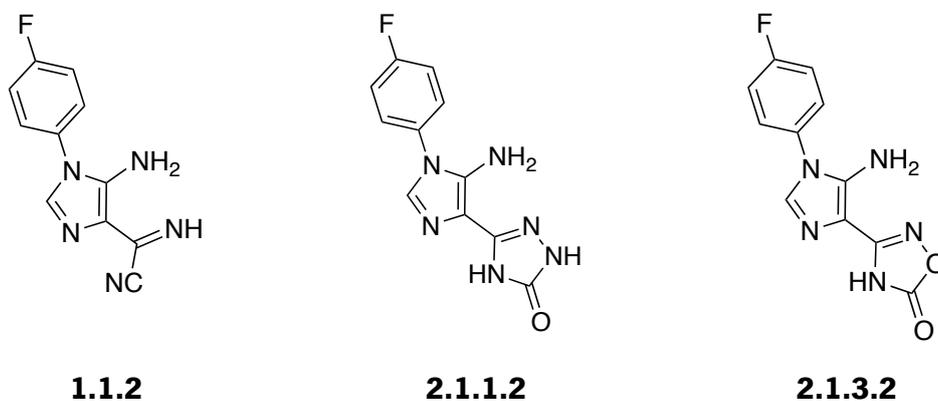


Figura 6.40 – Estruturas do imidazole **1.1.2**, do imidazolil triazole **2.1.1.2** e do oxadiazole **2.1.3.2** avaliados como potenciais antifúngicos

6.2.2. Testes em meio líquido – teste da resazurina

Os testes em meio líquido decorreram através do recurso ao teste da resazurina. Esta metodologia foi adotada de forma a contornar os problemas de solubilidade que por vezes ocorriam nos testes em meio sólido, para reduzir a duração dos ensaios e para avaliar a viabilidade do fungo nas primeira horas de incubação, isto é, antes de iniciar o crescimento exponencial.

No decorrer dos ensaios, o crescimento do fungo promove uma alteração no valor de absorvância medido, uma vez que a sua presença no meio altera as características químicas do corante utilizado. A resazurina de cor azul (figura 6.41) é reduzida a resorufina pela presença de atividade metabólica celular, adquirindo a cor rosa (figura 6.42) [2]. Quanto mais significativo for o crescimento celular, menor será o valor de absorvância medido.

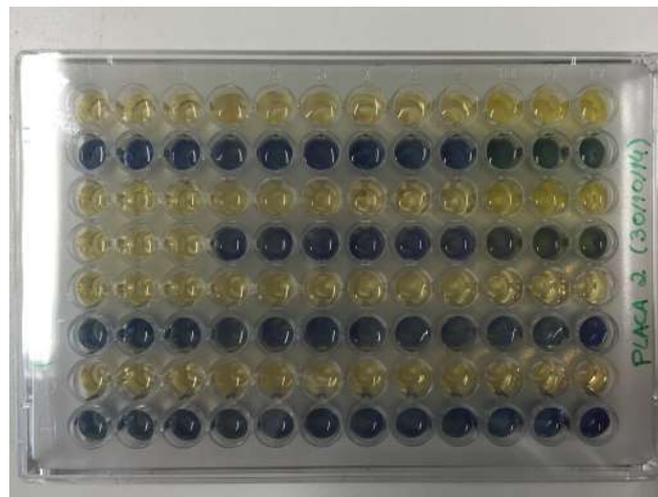


Figura 6.41 – Placa logo após a adição de resazurina aos poços de teste.



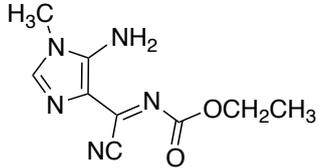
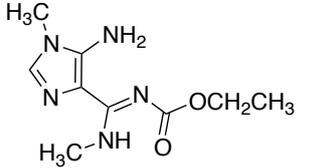
Figura 6.42 - Placa 23 horas após a adição de resazurina aos poços de teste.

As medições foram efetuadas com recurso a um espectrofotómetro para placas de 96 poços para comprimentos de onda de 610 nm, com agitação prévia de 15 segundos e em intervalos de tempo regulares.

6.2.2.1 Imidazoles **1.2.5** e **5.1.10**

Os três compostos descritos na tabela 6.16 foram testados para a mesma concentração de 10,1 mg/mL.

Tabela 6.16 - Estrutura dos imidazole **1.2.5** e **5.1.10**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">1.2.5</p>	 <p style="text-align: center;">5.1.10</p>
Concentrações	10,1 mg/mL	
Meio de cultura	YES	

Na figura 6.43 é descrita a evolução dos valores de absorvância relativa registados para o meio de cultura e para as soluções dos compostos a testar. Uma vez que as soluções de partida têm ligeiras variações nos valores de absorvância inicial, é analisada a absorvância em relação à absorvância medida para o instante inicial. Dessa forma é possível estabelecer um método de comparação para o comportamento de crescimento do fungo nos diferentes ensaios.

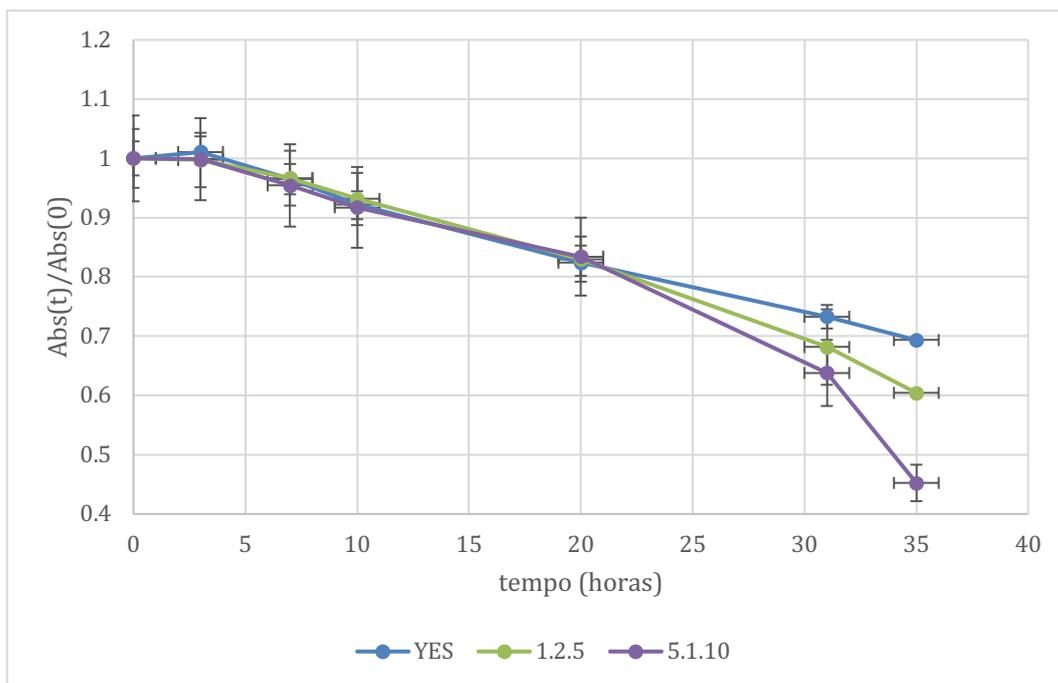


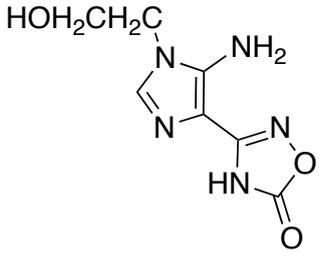
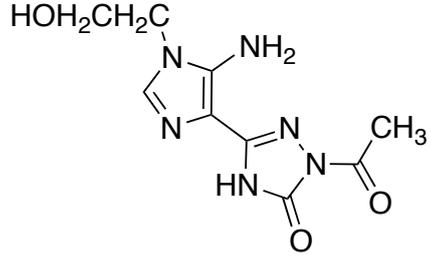
Figura 6.43 – Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES e para os imidazoles **1.2.5** e **5.1.10** 10,1 mg/mL

A partir da análise do gráfico conclui-se que estes compostos potenciam o crescimento do fungo, uma vez que a absorvância sofre variações superiores quando o fungo cresce em presença dos compostos químicos do que na presença apenas de meio de cultura e corante.

6.2.2.2 Oxadiazole **2.1.3.3** e imidazolil triazole **4.1.1.8**

Uma vez que as estruturas de imidazole substituídas com o grupo etoxicarbonilo não revelaram interesse bioquímico na interferência com o crescimento do fungo, foram avaliadas estruturas com $R_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, mas com estruturas ciclizadas de oxadiazole ou triazole ligados ao anel de imidazole.

Tabela 6.17 - Estrutura do oxadiazole **2.1.3.3** e do imidazolil triazole **4.1.1.8**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">2.1.3.3</p>	 <p style="text-align: center;">4.1.1.8</p>
Concentrações	10,1 mg/mL	
Meio de cultura	YES	

No gráfico da figura 6.44 observa-se que não se encontram diferenças significativas entre os valores das absorvâncias relativas destes dois compostos e que o efeito antifúngico não é relevante quando comparado com o efeito do DMSO.

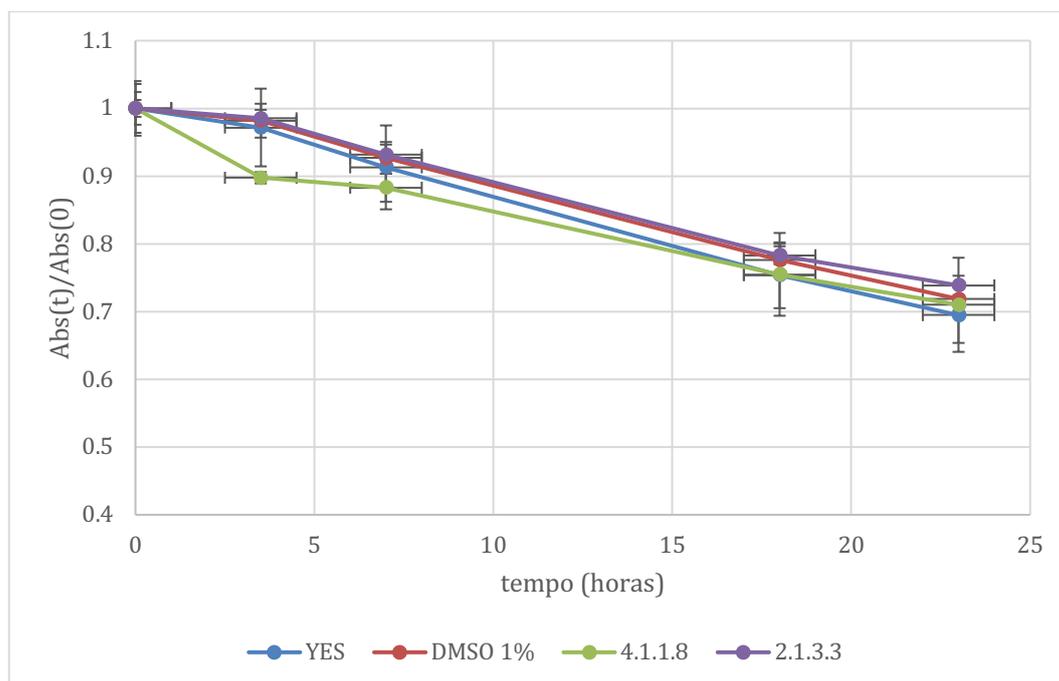
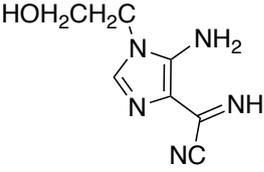


Figura 6.44 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, oxadiazole **2.1.3.3** 10,1 mg/mL e imidazolil triazole **4.1.1.8** 10,1 mg/mL

6.2.2.3 Imidazole **1.1.6**

Uma vez que nos ensaios realizados em meio sólido forneceram indicações que o grupo imínico ligado ao anel de imidazole favorecia a atividade antifúngica, foi testado em meio líquido o imidazole **1.1.6**.

Tabela 6.18 - Estrutura do imidazole **1.1.6**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 1.1.6
Concentrações	5,05 / 10,1 mg/mL
Meio de cultura	YES

A variação de absorvância relativa menos acentuada, ainda que não muito relevante, e que corresponderá a um menor crescimento do fungo, foi registada para a concentração mais baixa do composto (figura 6.45). Este resultado também reforça o que já havia sido concluído na secção dedicada ao método em meio sólido, no que se refere à importância biológica do grupo imínico ligado ao anel de imidazole, mais do que o substituinte presente em R₁.

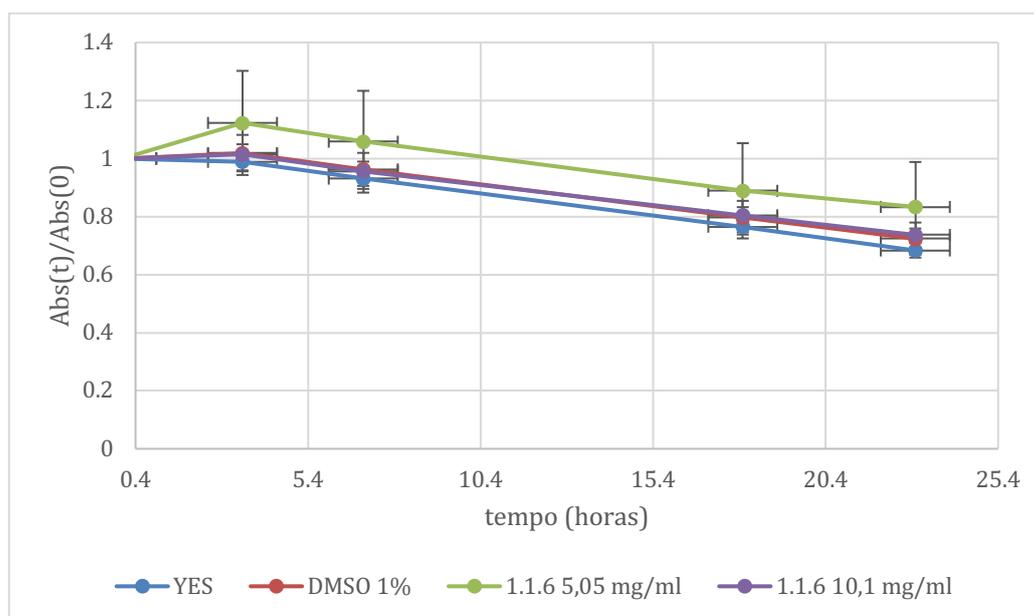
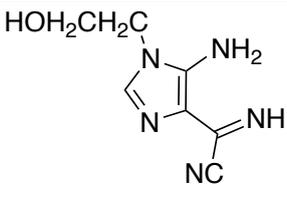
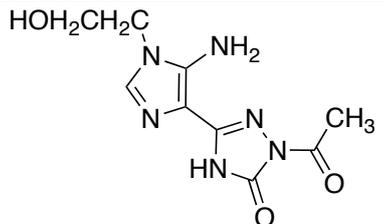


Figura 6.45 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1% e imidazole **1.1.6** 5,05 mg/mL e 10,1 mg/mL

6.2.2.4 Imidazole **1.1.6** e imidazolil triazole **4.1.1.9**

Para comparar de forma direta os resultados destes dois compostos, o imidazole e o imidazolil triazole, foi realizado um ensaio conjunto destes para concentrações mais baixas.

Tabela 6.19 - Estrutura do imidazole **1.1.6** e do imidazolil triazole **4.1.1.9**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 1.1.6	 4.1.1.9
Concentrações	1 / 2,5 / 5,05 mg/mL	
Meio de cultura	YES	

O composto cujo efeito na redução do crescimento do fungo apresenta melhores resultados do que o efeito do solvente é o imidazolil triazole **4.1.1.9**. Pela leitura do gráfico da figura 6.46 verifica-se que a diferença não é significativa, mas, na comparação com o composto **1.1.6**, indica que, neste caso, a família dos triazoles é mais relevante na ação antifúngica do que a dos imidazoles.

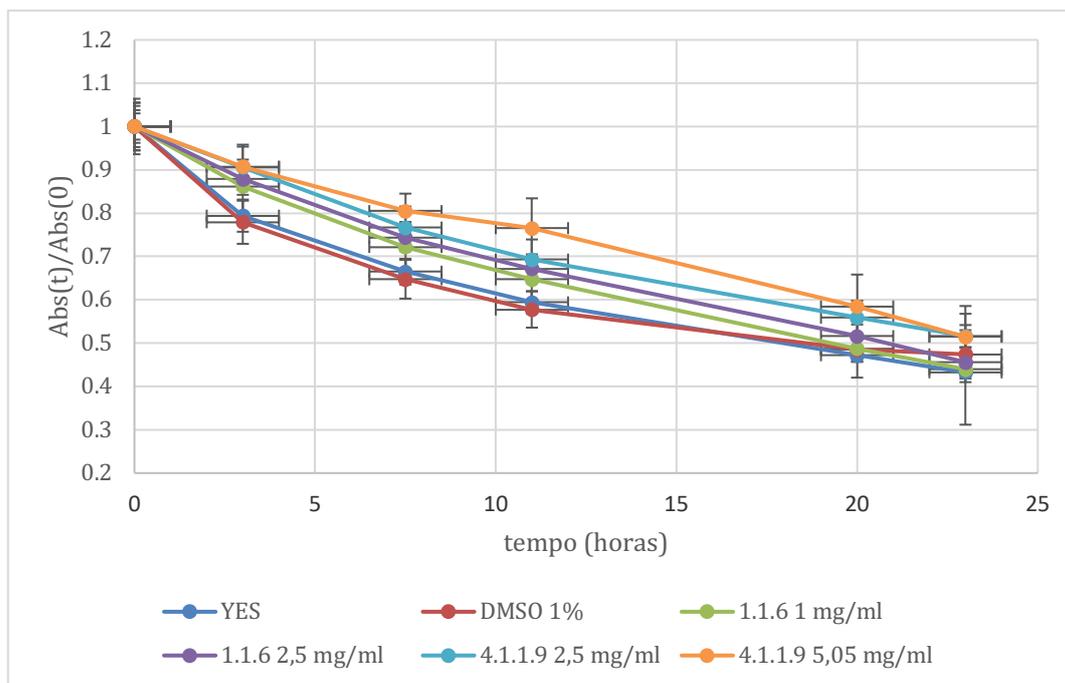
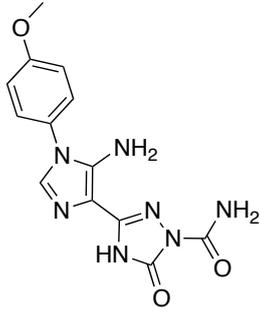
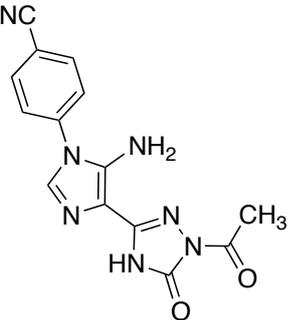
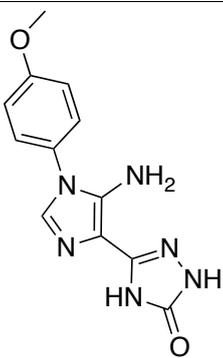
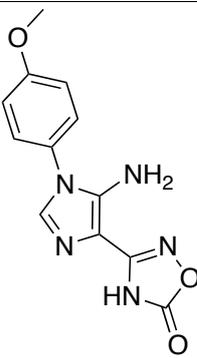
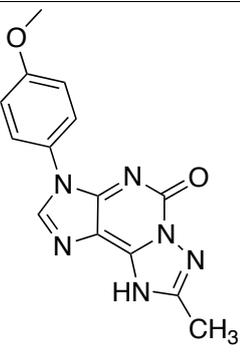


Figura 6.46 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, imidazole **1.1.6** 1 mg/mL e 2,5 mg/mL e imidazolil triazole **4.1.1.9** 2,5 mg/mL e 5,05 mg/mL

6.2.2.5 Imidazolil triazoles **4.1.1.1**, **4.1.1.8** e **2.1.1.1**, oxadiazole **2.1.3.1** e triazolopurina **4.1.3.1**

Neste conjunto de ensaios foi avaliada a relevância do grupo amida ligado ao anel de triazoles, já que a estrutura similar **4.1.1.3** mostrou algum efeito antifúngico nos testes em meio sólido. Uma vez que o grupo acetilo também tinha revelado atividade biológica, foi avaliado o composto similar **4.1.1.8**. Para comparar o efeito da estrutura de dois anéis ligados manteve-se o substituinte R₁ nos compostos **2.1.1.1** e **2.1.3.1** e foi testada a oportunidade das estruturas de três anéis fundidos neste tipo de aplicação com o composto **4.1.3.1**.

Tabela 6.20 - Estrutura dos imidazolil triazoles **4.1.1.1**, **4.1.1.8** e **2.1.1.1**, do oxadizaole **2.1.3.1** e da triazolopurina **4.1.3.1**, concentração e meio de cultura utilizados na avaliação antifúngica

Estruturas	 <p style="text-align: center;">4.1.1.1</p>	 <p style="text-align: center;">4.1.1.8</p>	
	 <p style="text-align: center;">2.1.1.1</p>	 <p style="text-align: center;">2.1.3.1</p>	 <p style="text-align: center;">4.1.3.1</p>
Concentrações	10,1 mg/mL		
Meio de cultura	YES		

Na análise do gráfico da figura 6.47 observa-se que todos os compostos testados mostram um efeito na redução do crescimento do fungo, apesar de não se notarem diferenças importantes entre as várias estruturas. A comparação entre as estruturas **2.1.3.1** e **2.1.1.1** não permite concluir sobre a importância da presença do átomo de oxigênio no anel de triazole, uma vez que as diferenças registradas entre os valores das absorvâncias relativas estão dentro do intervalo de erros calculado. A mesma situação repete-se na comparação entre as estruturas **4.1.1.1** e **4.1.1.8**, não sendo possível avaliar a importância dos substituintes em R₁ e em R₂.

A estrutura de três anéis fundidos, **4.1.3.1**, também apresenta uma diminuição da absorvância menor do que aquela que é observada nos ensaios nos quais apenas está presente o DMSO, o que leva à possibilidade desta família de compostos poder ter algum interesse como potenciais antifúngicos.

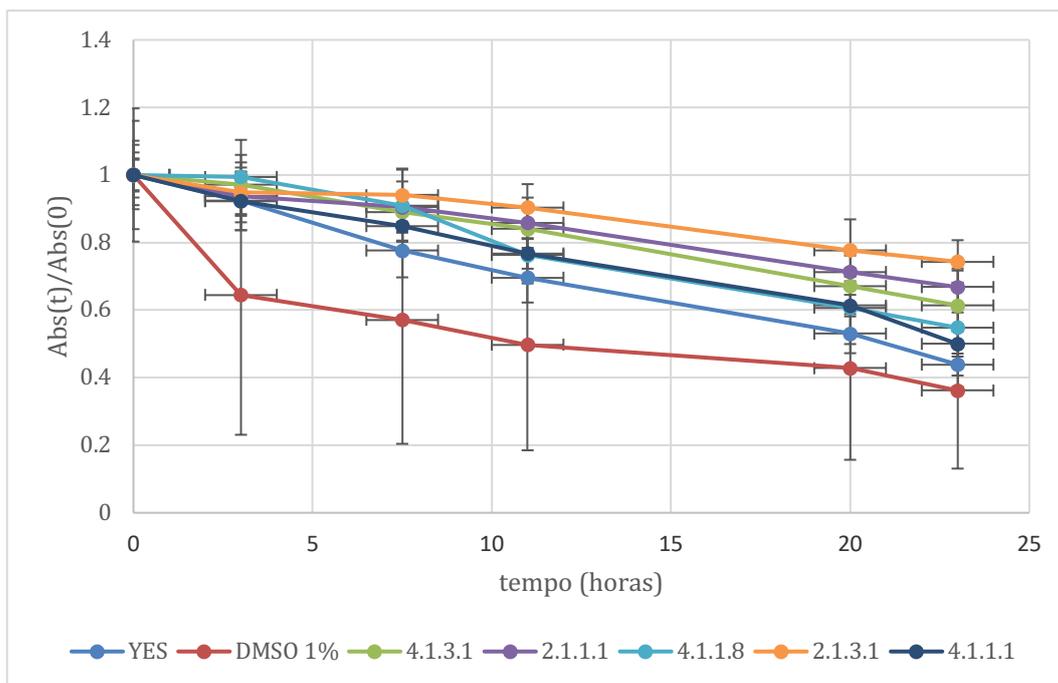


Figura 6.47 - Absorvância relativa em função do tempo para o meio YES, DMSO 1%, imidazolil triazoles **4.1.1.1**, **4.1.1.8** e **2.1.1.1** 10,1 mg/mL, oxadizole **2.1.3.1** 10,1 mg/mL e triazolopurina **4.1.3.1** 10,1 mg/mL

6.2.2.6 Conclusão – testes em meio líquido

Através da análise global dos vários ensaios que decorreram foi possível perceber a tendência de determinados compostos na inibição do crescimento do fungo. Quando comparados os resultados obtidos para as estruturas abaixo indicadas, conclui-se que o grupo acetilo ligado ao anel de triazole da molécula **4.1.1.9** apresenta indícios de que pode ser relevante na alteração da absorvância da amostra, relativamente às outras estruturas para as quais se fixou o substituinte em R_i. Mesmo para valores de concentração mais baixas, 2,5 e 10,1 mg/mL, o efeito deste composto é mais significativo do que o do imidazole **1.1.6** (figura 6.48).

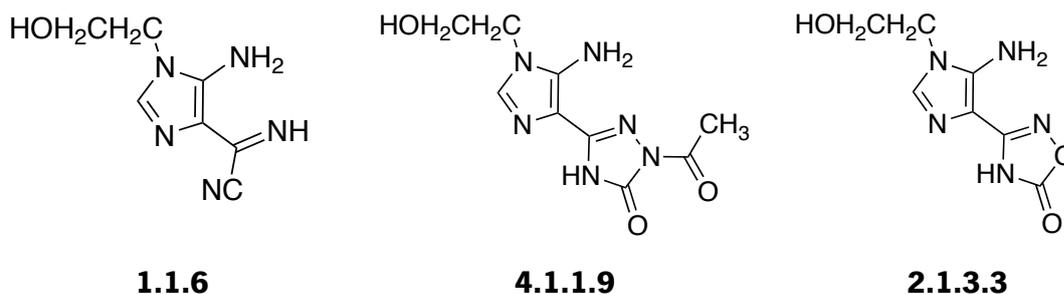


Figura 6.48 – Estruturas do imidazole **1.1.4**, do imidazolil triazole **4.1.1.9** e do oxadizaole **2.1.3.3**

No sentido de perceber a relevância demonstrada nos testes em meio sólido e nos testes em meio líquido do grupo acetilo ligado ao anel de triazole, foram realizados ensaios para avaliar a atividade antifúngica da estrutura **4.1.1.1** e **4.1.1.8** (figura 6.49). No final do período de incubação as duas estruturas revelaram um efeito parecido com o do solvente, não evidenciando um efeito relevante ou diferente entre elas.

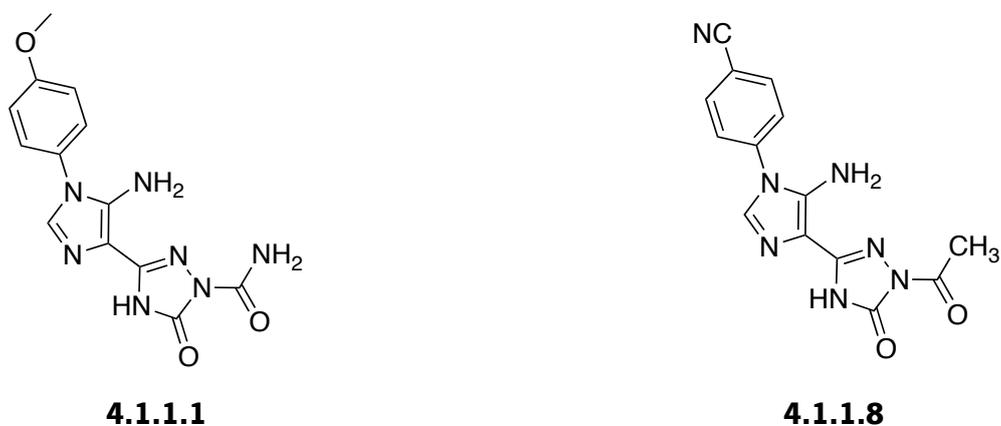
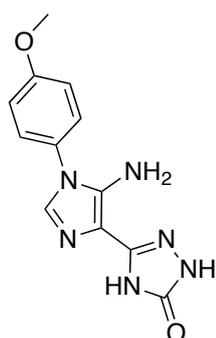
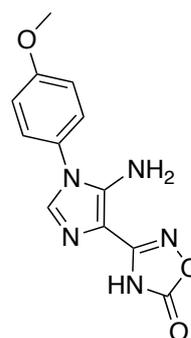


Figura 6.49 – Estruturas dos imidazolil triazoles **4.1.1.1** e **4.1.1.8**

No caso em que se avalia a relevância da presença do átomo de oxigênio no anel ligado ao anel de imidazole (figura 6.50), os resultados demonstram que, também neste caso, não há diferenças significativas entre as duas estruturas, apesar das duas mostrarem efeito na redução do crescimento do fungo.



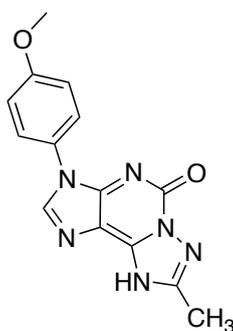
2.1.1.1



2.1.3.1

Figura 6.50 – Estruturas do imidazolil triazole **2.1.1.1** e do oxadiazole **2.1.3.1**

A estrutura de três ciclos fundidos analisada mostrou alguma ação antifúngica, sendo necessário testar outras estruturas desta família para validar este resultado (figura 6.51).



4.1.3.1

Figura 6.51 – Estrutura da triazolopurina **4.1.3.1**

As estruturas cujo anel de imidazole tem ligado o grupo etoxicarbonil não se mostraram eficientes na inibição do crescimento do fungo, não constituindo prioridade na avaliação deste tipo de atividade biológica (figura 6.52).

Referências

[1] Marín, S., Ramos, A. J. and Sanchis, V., *International Journal of Food Microbiology*, 99, 329-341, (2005).

[2] Fai, P. B. and Grant, A., *Chemosphere*, 74, 1165-1170, (2009).

[3] Abrunhosa, L., Costa, M., Areias, F., Venâncio, A. and Proença, F., *Journal of Industry Microbiology and Biotechnology*, 34, 787-792 (2007).

CONCLUSÃO

Os trabalhos desenvolvidos no âmbito desta tese permitiram não só explorar abordagens de síntese que conduziram à obtenção e identificação de novos compostos heterocíclicos, como também analisar métodos de avaliação de atividade antifúngica e seleção de estruturas promissoras como potenciais inibidores do crescimento de fungos.

O reagente chave para o desenho dos diferentes caminhos sintéticos, o *N*-etoxicarbonil imidazole **1.2**, foi sintetizado com diferentes substituintes através do recurso a diferentes aminas que foram incorporadas no anel de imidazole, uma vez que as previsões apontavam este núcleo como uma unidade relevante na potencial atividade antifúngica. A reatividade deste intermediário foi estudada com diferentes nucleófilos, o que levou à proposta mecanística e à síntese de novas estruturas com potencial interesse biológico. Também foi estudada a evolução desta estrutura, o que permitiu o isolamento de um intermediário decorrente da migração do grupo etoxicarbonilo para o nitrogénio ligado a C-5 do anel de imidazole. A identificação desta estrutura revelou-se fundamental para as propostas mecanísticas apresentadas em capítulos posteriores.

Durante a síntese de unidades que ligavam o núcleo de imidazole de **1.2** com núcleos de triazole, nomeadamente através da reação de **1.2** com hidrazina mono-hidratada e na forma de sal, foi possível isolar uma estrutura intermediária. No sentido de perceber a ação biológica dos heteroátomos nas estruturas cíclicas, foram sintetizados oxadiazoles ligados ao anel de imidazole. O ataque nucleofílico ao carbono imínico ligado a C-4 do anel de imidazole foi reproduzido para hidrazinas aromáticas e para hidrazinas aciladas. O estudo das condições experimentais necessárias para a obtenção e identificação de produtos decorrentes destas reações permitiu estabelecer uma relação entre a estabilidade dos produtos, permitindo identificar o produto cinético, os imidazolil triazoles, e o produto termodinâmico, as purinas. A análise por espectroscopia de ^1H RMN de várias reações permitiu propor mecanismos com detalhe e reconhecer passos intermediários que levaram a um conhecimento mais profundo do comportamento deste tipo de compostos. O mesmo estudo detalhado foi realizado na reação de **1.2** com aminas primárias. Destes ensaios foi possível reconhecer a formação de um precursor de derivados de isoguaninas. Este intermediário também se forma por ataque ao carbono imínico do imidazole **1.2** com eliminação de HCN. Deste intermediário resultaram estruturas de purinas, derivados de isoguaninas, substituídas em N-1 ou em N-6, dependendo das condições experimentais, nomeadamente do carácter químico do meio reacional. O meio ácido garante a formação da isoguanina substituída em

N-6 isoladamente, enquanto que a isoguanina substituída em N-1 é obtida a partir de misturas que, após processos químicos de separação, permitem a identificação e caracterização deste composto.

A partir dos imidazolil triazoles, oxadiazoles e purinas foram formadas estruturas de três anéis fundidos, quer por condensação com ortoformiato de etilo, quer por desidratação intramolecular.

A caracterização por IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN, análise elementar e ponto de fusão foi fundamental para identificar estruturas intermediárias e produtos, assim como as correlações obtidas por HMQC e HMBC. Desta forma foi possível propor de forma consolidada os mecanismos envolvidos na síntese dos novos compostos.

Na avaliação da atividade antifúngica dos compostos estudaram-se e otimizaram-se os métodos adotados. A medição da taxa de crescimento radial permite recolher informações sobre a taxa de crescimento e o efeito do composto testado na duração da fase durante a qual ainda não há reprodução celular. Este tipo de informação é relevante e útil na identificação de diferentes modos de ação dos diferentes compostos testados. Problemas de solubilidade dos compostos, recurso a um solvente tóxico, como o DMSO, e constrangimentos na execução prática deste método foram as principais dificuldades e questões a eliminar ou, pelo menos, a atenuar. Nos testes em meio líquido, apesar de se retirar o condicionamento causado pela fraca solubilidade dos compostos e de ser um método rápido e eficiente, a análise da absorvância relativa pode comprometer conclusões mais robustas, uma vez que não temos garantias absolutas da atividade metabólica registada estar diretamente relacionada com o crescimento do fungo. No entanto, os dois métodos acabam por se complementar e permitir recolher informações úteis e validar resultados por cruzamento da informação recolhida. A otimização dos testes exigiu vários ensaios e repetições, mas foi a otimização das condições nas quais os testes decorreram que permitiram concluir sobre a atividade antifúngica de alguns dos compostos testados. Aqueles que evidenciaram melhores resultados nesta avaliação poderiam ser utilizados para testes *in vivo* ou para serem adicionados a óleos essenciais ou fungicidas comercialmente conhecidos, no sentido de avaliar potenciais combinações sinérgicas dos efeitos e eventuais alterações na solubilidade dos compostos. Deste trabalho de investigação resulta um caminho seguro na reatividade do reagente de partida **1.2** com nucleófilos, que pode continuar a ser explorado tendo como base o estudo dos intermediários e dos mecanismos envolvidos presentes nesta tese. O melhoramento dos métodos de avaliação de atividade antifúngica constitui uma importante base de trabalho para ensaios de novas moléculas e estruturas, desenhadas em função da triagem feita com os testes efetuados no decorrer deste trabalho.