

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Instituto de Química**

BACHARELADO EM QUÍMICA

Francisco Paulo Buchailot

Síntese de Híbridos Contendo os Núcleos Adenina e 1,3-Difenilureia Visando a Inibição de Proteínas Quinases Associadas à Proliferação de Células Tumorais

Porto Alegre

2023

Francisco Paulo Buchailot

**Síntese de Híbridos Contendo os Núcleos Adenina e 1,3-Difenilureia Visando a Inibição de Proteínas Quinases Associadas à Proliferação de Células Tumorais**

Trabalho de conclusão de curso como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.  
Orientador: Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes

Porto Alegre

2023

### CIP - Catalogação na Publicação

Buchaillet, Francisco Paulo  
Síntese de Híbridos Contendo os Núcleos Adenina e  
1,3-Difenilureia Visando a Inibição de Proteínas  
Quinases Associadas à Proliferação de Células Tumerais  
/ Francisco Paulo Buchaillet. -- 2023.  
72 f.  
Orientador: João Paulo Lopes.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre,  
BR-RS, 2023.

1. Síntese Orgânica. 2. Química Orgânica. I. Lopes,  
João Paulo, orient. II. Título.

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

Francisco Paulo Buchailot

### **Síntese de Híbridos Contendo os Núcleos Adenina e 1,3-Difenilureia visando a Inibição de Proteínas Quinases Associadas à Proliferação de Células Tumorais**

Trabalho de conclusão de curso como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Bizarro Lopes

Aprovado pela banca examinadora em 31 de agosto de 2023

#### **BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof Dr João Paulo Bizarro Lopes

Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Fernanda Poletto

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Weber de Menezes

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de dedicar os meus agradecimentos aos meus pais, Antonio e Elizabeth, por todo amor e apoio que me deram durante toda a vida e especialmente nestes últimos anos, o seu contínuo apoio e paciência comigo me permitiu dedicar-me completamente à química.

Ao professor João Paulo Lopes Bizarro que me proporcionou, através deste projeto, a oportunidade de dedicar-me à química orgânica como sempre desejei, pelos ensinamentos e orientações, por sempre estar aberto a discussões sobre o projeto e respeitando minhas propostas e opiniões. Aos meus colegas do laboratório K-216, Samuel, João Eduardo, Vinicius, Juliana e Gustavo pelos cafés nos longos dias de trabalho, pelas discussões diversas de química e por todo o compartilhamento de conhecimento que me ajudou durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos mais próximos, Gabi, Lauren, Mafe, Luciane, Matheus, Rafa, Mattias, Taylor, Oliver, Danny, Chris, Caredig e Bianca por todas as conversas, piadas, festas e outros momentos especiais que vivenciamos juntos. A todos colegas e amigos que conheci durante o período de graduação pelos momentos entre aulas, horas de estudo junto e de trabalhos em grupo.

## RESUMO

Tratamentos modernos de câncer consistem principalmente na eliminação ou supressão do crescimento das células mutantes causadoras dessas doenças. Na quimioterapia, isso é tipicamente feito visando células de rápida taxa de reprodução. Infelizmente isso usualmente leva a efeitos secundários severos pois são afetadas células saudáveis também. Na procura de drogas anticâncer seletivas, o uso de inibidores de quinases demonstrou resultados promissores com a aprovação do fármaco Imatinibe (Gleevec®) em 2001 pela FDA. A seletividade deste frente a células cancerígenas levou à minimização de efeitos secundários. Seguindo esse desenvolvimento de terapia alvo anticâncer, neste trabalho foram investigados híbridos para a inibição das enzimas quinase CDK2 e VEGFR que estão envolvidas no ciclo celular e angiogênese, respectivamente. As moléculas alvo são híbridos contendo as estruturas purina e 1,3-difenilureia conectadas diretamente ou com um grupo *linker* flexível. Para sintetizar estes compostos híbridos foi primeiramente necessária a preparação de 1,3-difenilureias não-simétricas, assim foram utilizados 2 métodos: transamidação de *N*-fenilureias, que foram sintetizadas pela adição de isocianato a anilinas, ou adição direta de anilinas a aril isocianatos. Sob controle estequiométrico, foi obtido o intermediário chave 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia a partir da *meta*-fenilenodiamina. Além disso, após reagir com bromidrato de 2-bromoetilamina, foi obtido o segundo intermediário chave, 1-(3-((2-aminoetil)amino)fenil)-3-fenilureia. Finalmente, para sintetizar os híbridos desejados, os intermediários chave contendo a estrutura 1,3-difenilureia foram conectados à estrutura purina via substituição nucleofílica aromática com 6-cloro-9*H*-purina. Com otimização da rota sintética, os compostos híbridos finais adenina-difenilureia e adenina-etilamino-difenilureia foram obtidos, purificados e caracterizados por espectroscopia de RMN. Esses compostos serão enviados para análise da atividade antiproliferativa em células tumorais.

**Palavras-chave:** Câncer; Terapia alvo anticâncer; Híbridos; Adenina-difenilureia; adenina-etilamino-difenilureia; Quinase dependente de ciclina; Receptor fator de crescimento endotelial vascular.

## ABSTRACT

Modern cancer treatments consist mainly of elimination or growth suppression of the mutant cells of these diseases. Chemically, this is typically done by targeting rapidly reproducing cells, unfortunately this usually leads to severe side effects during treatment due to also targeting healthy cells. In search of selective anticancer drugs, the usage of kinase inhibitors has shown promising results with the approval of the pharmaceutical imatinib (Gleevec®) in 2001 by the FDA, whose selective targeting of cancer cells led to minimization of side effects. Following these developments of targeted anticancer therapy, in this work we research hybrid drugs for the inhibition of the kinase enzymes CDK2 and VEGFR that are involved in the cell cycle and angiogenesis, respectively. The target molecules are hybrids of the structures purine and 1,3-diphenylurea connected directly or with a flexible linker group. In order to synthesize the desired hybrid compounds, it was first necessary to obtain non-symmetric 1,3-diphenylureas which have been prepared in 2 methods: transamidation of *N*-phenylureas, synthesized by addition of isocyanate to anilines, or direct addition of anilines to aryl-isocyanates. With stoichiometric control, key intermediate 1-(3-aminophenyl)-3-phenylurea was prepared from *meta*-phenylenediamine. Furthermore, after reacting with 2-bromoethylamine hydrobromide, the second key intermediate, 1-(3-((2-aminoethyl)amino)phenyl)-3-phenylurea, was obtained. Finally, to synthesize the desired hybrid compounds, the key intermediates containing the 1,3-diphenylurea motif were connected to the purine structure via nucleophilic aromatic substitution of 6-chloro-9*H*-purine. With optimization of the synthetic procedure, the final hybrid compounds adenine-diphenylurea and adenine-ethylamine-diphenylurea were obtained, purified and characterized with NMR spectroscopy. The obtained compounds will be sent to analysis of antiproliferative activity in tumor cell lines.

**Keywords:** Cancer; Targeted anticancer therapy; Hybrids; Adenine-diphenylurea; Adenine-ethylamine-diphenylurea; Cyclin-dependent kinases, Vascular endothelial growth factor receptor.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura química do imatinibe (Gleevec®).....	14
<b>Figura 2</b> - Híbridos adenina-difenilureia planejados para este trabalho.....	15
<b>Figura 3</b> - Estrutura genérica do domínio catalítico de proteínas quinases baseado na estrutura da proteína quinase A (PKA).....	16
<b>Figura 4</b> - Estruturas miméticas da adenina usadas na inibição de quinases.....	17
<b>Figura 5</b> - Inibidores de proteínas CDKs que contém o núcleo purina.....	18
<b>Figura 6</b> - Inibidores de proteínas VEGFR contendo grupos ureia 1,3 dissubstituídas.....	19
<b>Figura 7</b> - Exemplos de grupos <i>Linker</i> comuns.....	20
<b>Figura 8</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto <i>N</i> -(4-metilfenil)-ureia.....	31
<b>Figura 9</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto <i>N</i> -(4-bromofenil)-ureia.....	32
<b>Figura 10</b> - Monitoração por CCD da reação de transamidação.....	33
<b>Figura 11</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia ( <b>12</b> ).....	34
<b>Figura 12</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia ( <b>12</b> ).....	35
<b>Figura 13</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>8</b> ).....	37
<b>Figura 14</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia ( <b>15</b> ).....	41
<b>Figura 15</b> - Ampliação do espectro de RMN COSY (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia ( <b>15</b> ) na região entre 7,6 e 6,0 ppm.....	42
<b>Figura 16</b> - Ampliação do espectro de RMN COSY (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia ( <b>15</b> ) na região entre 6,0 e 2,8 ppm.....	43
<b>Figura 17</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia ( <b>15</b> ).....	44
<b>Figura 18</b> - Monitoração por CCD da síntese do híbrido adenina-difenilureia.....	45
<b>Figura 19</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>16</b> ).....	47



<b>Figura 20</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>16</b> ).....	48
<b>Figura 21</b> - Ampliação do espectro de RMN HSQC (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>16</b> ) na região entre 8,1 e 10,0 ppm.....	49
<b>Figura 22</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>17</b> ).....	51
<b>Figura 23</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT (100 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do produto 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia ( <b>17</b> ).....	52

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> - Síntese de 1,3-difenilureias via transamidação.....	21
<b>Esquema 2</b> - Mecanismo proposto pelos autores para a transamidação de ureias..	22
<b>Esquema 3</b> - Mecanismo provável de rearranjo de Curtius seguido de adição de amina.....	22
<b>Esquema 4</b> - Mecanismo proposto para a síntese via rearranjo de Hofmann.....	23
<b>Esquema 5</b> - Síntese de aminofenil-fenilureia/tioureia descrita por Hu <i>et al.</i> .....	24
<b>Esquema 6</b> - Mecanismo de substituição nucleofílica aromática de uma amina em 6-cloro-9 <i>H</i> -purina <b>(9)</b> .....	24
<b>Esquema 7</b> - Síntese de derivados <i>N</i> -aril-adeninas via substituição nucleofílica aromática.....	25
<b>Esquema 8</b> - Síntese de derivado adenina 9 e N substituídos.....	26
<b>Esquema 9</b> - Síntese de derivados 4-aminofenil-quinazolinas.....	27
<b>Esquema 10</b> - Síntese de <i>N</i> -fenilureia via adição ao isocianato.....	29
<b>Esquema 11</b> - Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)-ureia <b>(12)</b> via transamidação.....	33
<b>Esquema 12</b> - (a) Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia <b>(8)</b> . (b) Mecanismo de síntese do produto e do subproduto “dissubstituído” 1,1’-(fenileno)bis(3-fenilureia) <b>(13)</b> .....	36

## LISTAS DE ABREVIATURAS

FDA - *Food and Drug Administration*

CDK - *Cyclin-dependent kinases* (quinase dependente de ciclina)

ATP - *Adenosine Triphosphate* (Adenosina trifosfato)

PKA - *Protein Kinase A* (proteína quinase A)

VEGF - *Vascular endothelial growth factor* (fator de crescimento endotelial vascular)

VEGFR - *Vascular endothelial growth factor receptor* (receptor fator de crescimento endotelial vascular)

THF - Tetrahidrofurano

DIPEA - Diisopropiletilamina

RMN - Ressonância magnética nuclear

DMSO - Dimetilsulfóxido

CCD - Cromatografia de camada delgada

DCM - Diclorometano

APT - *Attached proton test*

UV - Ultravioleta

DMF - Dimetilformamida

COSY - *Correlated spectroscopy*

HSQC - *Heteronuclear single quantum coherence*

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>16</b>
2.1 Proteínas Quinases.....	16
2.2 Quinases dependentes de ciclinas.....	17
2.3 Receptor do fator de crescimento vascular endotelial.....	18
2.4 Hibridização de fármacos.....	19
2.5 Metodologia sintética.....	21
2.5.1 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas.....	21
2.5.2 Substituição nucleofílica aromática em 6-cloro-9 <i>H</i> -purina.....	24
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
4.1 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas.....	29
4.1.1 Síntese de <i>N</i> -fenilureias com isocianato inorgânico.....	29
4.1.2 Transamidação catalisado por L-prolina.....	32
4.1.3 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas com isocianato orgânico.....	35
4.2 Síntese de aminoetil-difenilureia.....	37
4.3 Síntese de híbridos adenina-difenilureia.....	44
4.3.1 Síntese de 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia.....	45
4.3.2 Síntese de 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia.....	49
<b>5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>53</b>
<b>6 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>55</b>
6.1 Síntese de <i>N</i> -fenilureia.....	55
6.2 Síntese de <i>N</i> -(4-metilfenil)-ureia.....	55
6.3 Síntese de <i>N</i> -(4-bromofenil)-ureia.....	56
6.4 Preparação de <i>m</i> -fenilenodiamina (7) para os procedimentos 6.5 e 6.6.....	56
6.5 Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia.....	56
6.6 Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia.....	57
6.7 Síntese de 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia.....	57

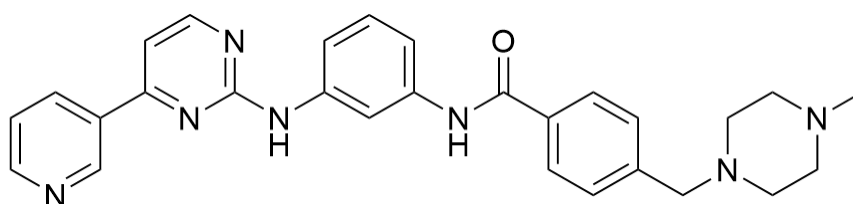
6.8 Síntese de 1-(3-(purin-6-il)aminofenil)-3-fenilureia.....	58
6.9 Síntese de 1-(3-((2-((purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia.....	58
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>60</b>
<b>APÊNDICE A - ESPECTROS RMN.....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com os avanços medicinais e científicos no tratamento e entendimento do câncer é continuamente necessário o desenvolvimento de novos fármacos seletivos e potentes para o tratamento eficaz dessa doença. Por definição, o câncer é um conjunto de doenças causadas por multiplicação celular descontrolada, assim a quimioterapia procurou reduzir a população de células com altas taxas de mitose pelo uso de moléculas citotóxicas. A grande desvantagem desse tratamento é a ausência de seletividade, levando assim a efeitos negativos severos em células com alta taxa de multiplicação saudáveis, tais como os linfócitos e folículos capilares.

Em 2001 foi aprovado pela *Food and Drug Association* (FDA) o fármaco Gleevec® (imatinibe) para o uso no tratamento de câncer (figura 1), o imatinibe é um inibidor de quinase seletivo para a proteína mutante BCR-ABL presente somente em casos de leucemia mieloide crônica, permitindo assim o tratamento de câncer sem efeitos secundários severos. Pela atuação seletiva contra células cancerígenas, o imatinibe representa um grande avanço na terapia alvo anticâncer via tratamento químico. A terapia alvo anticâncer consiste na inibição de proteínas específicas visando o ataque a células cancerígenas de maneira seletiva sem afetar células saudáveis, esse método procura minimizar os efeitos secundários comuns do tratamento farmacológico.

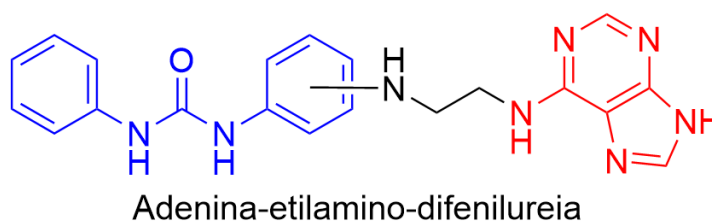
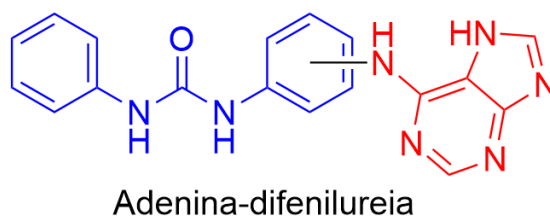
**Figura 1** - Estrutura química do imatinibe (Gleevec®)



Prevendo seguir no princípio da terapia alvo, neste trabalho propõe-se potenciais fármacos inibidores de quinases com atividade anticâncer similarmente ao imatinibe. Assim, pela junção de núcleos farmacóforos é possível desenvolver inibidores poli farmacológicos pela hibridização, especificamente pelo acoplamento do biciclo heteroaromático purina com o grupo 1,3-diaril ureia. A adenina consiste do núcleo heterocíclico aromático purina com grupo amino conectado na posição 6,

assim os compostos 1,3-difenilureia conectados com a purina são aqui denominados híbrido adenina-difenilureia. Estruturalmente o fármaco Nexavar® (sorafenibe) (Figura 6, página 19) já incorpora os conceitos do núcleo 1,3-difenilureia acoplado com um grupo heteroaromático mimético da adenina para efetiva inibição de proteínas quinases, o grupo piridino-carbamida. Em contraste, a purina tem sido utilizada seletivamente para conferir seletividade para as quinases dependentes de ciclina (CDKs). Além da direta fusão dos núcleos, é interessante a presença de um grupo espaçador que possibilite interações com resíduos de aminoácido mais distantes e/ou flexibilidade do composto no sítio ativo aumentando a potência de inibição. Especificamente cadeias alquílicas lineares proporcionam essa flexibilidade desejada. Assim, neste trabalho também propõe-se a introdução de uma cadeia metilênica sendo esses aqui denominados híbridos adenina-alquilamino-difenilureia.

**Figura 2** - Híbridos adenina-difenilureia planejados para este trabalho.

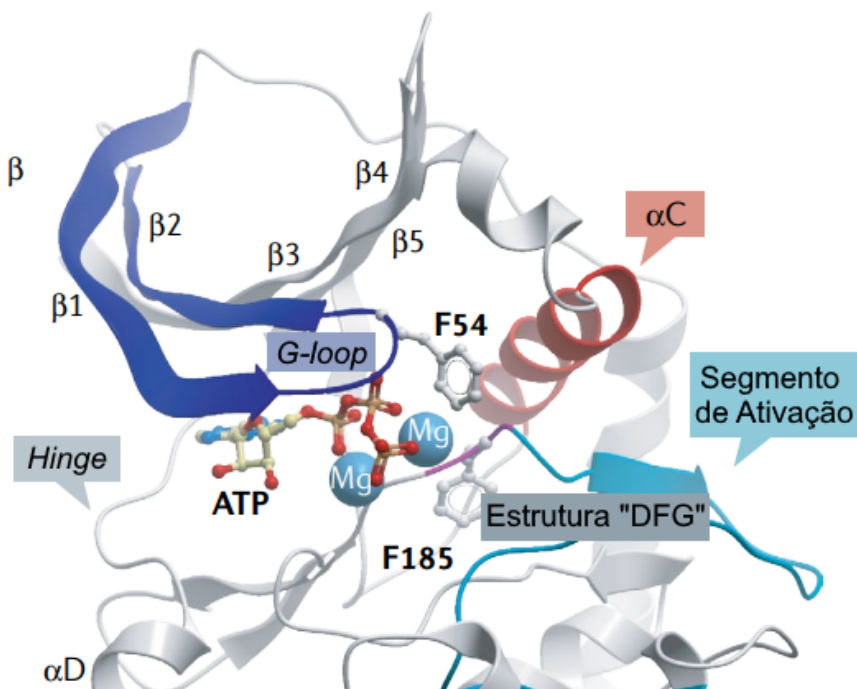


## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Proteínas Quinases

Proteínas quinases têm como função a propagação da sinalização celular através da fosforilação de um substrato utilizando ATP como fonte do grupo fosfato.<sup>[1]</sup> A família de proteínas quinases inclui mais de 500 proteínas diferentes que atuam em etapas cruciais de regulação celular pela autofosforilação seguido da fosforilação de um substrato assim encaminhando um sinal.<sup>[1][2]</sup> Apesar da variedade dessa família de proteínas, o funcionamento do sítio ativo é similar entre a maioria das quinases. No sítio de ligação o ATP interage através de ligações de hidrogênio entre o núcleo adenina com a região denominada *hinge*, uma sequência de aminoácidos que conecta as regiões que circundam o núcleo adenina. Uma dessas regiões é denominada *G-loop*, uma região flexível composta de folhas beta que formam interações intermoleculares com os grupos fosfatos do ATP (figura 3).<sup>[3]</sup>

**Figura 3** - Estrutura genérica do domínio catalítico de proteínas quinases baseado na estrutura da proteína quinase A (PKA)

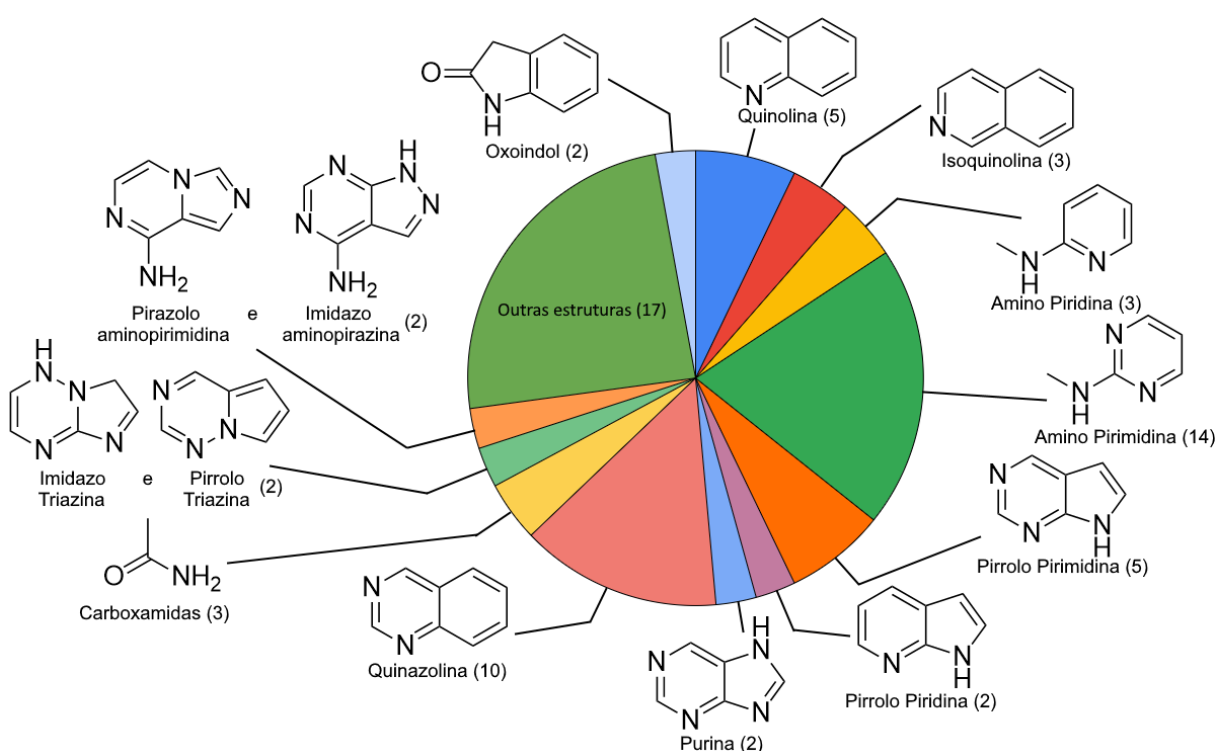


Adaptado da referência [3]



A inibição de quinases como tratamento de doenças é conhecida desde os anos 1980, contudo com o desenvolvimento de fármacos como o imatinibe, que se coordenam ao sítio de ligação do ATP, esse tipo de inibição foi revolucionado.<sup>[4][5]</sup> Devido a essas interações cruciais, o principal foco no *design* de inibidores de quinases é a utilização de um núcleo heterocíclico aromático mimético da adenina presente no ATP (figura 4). No caso do imatinibe, o grupo amino-pirimidina exerce essa função e liga-se à região *hinge* da proteína mutante BCR-ABL.

**Figura 4** - Estruturas miméticas da adenina usadas na inibição de quinases



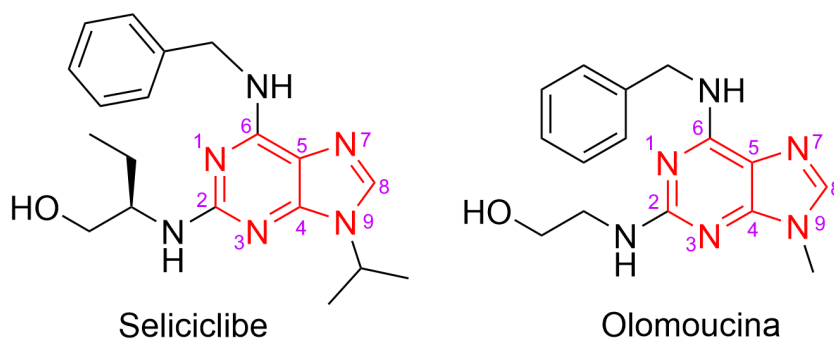
Adaptado da referência [3]

## 2.2 Quinases dependentes de ciclina

Devido à função de controle do ciclo celular, as quinases dependentes de ciclina (CDKs) tornaram-se alvo de tratamento anticâncer pois, evidentemente, há uma direta correlação entre a superexpressão dessas proteínas e o câncer.<sup>[6]</sup> As CDKs são responsáveis pela regulação do ciclo celular, gerenciando as diferentes etapas diretamente ou indiretamente, especificamente as proteínas CDK1, CDK2, CDK3, CDK4 e CDK6 têm funções diretas no ciclo. A inibição dessas proteínas via terapia alvo já foi identificada com inibição seletiva da CDK2 com os protótipos de

fármacos Seliciclibe e Olomoucina (figura 5), estes compostos apresentam o núcleo purina como ligante da região *hinge*. Como nestes protótipos de fármacos, pela variação da presença e volume de ligantes nas posições 2, 6 e 9 do núcleo purina é possível aprimorar a potência de inibição e a seletividade frente a outras proteínas quinases.<sup>[7][8]</sup> Via estudos *in vitro* foi determinado que substituintes polares na posição 2 proporcionaram maior potencial de inibição enquanto que grupos aromáticos hidrofóbicos na posição 6 tendem a serem mais seletivos à CDK2 frente à CDK1, sendo que a inibição desta é pouco desejada.<sup>[8]</sup>

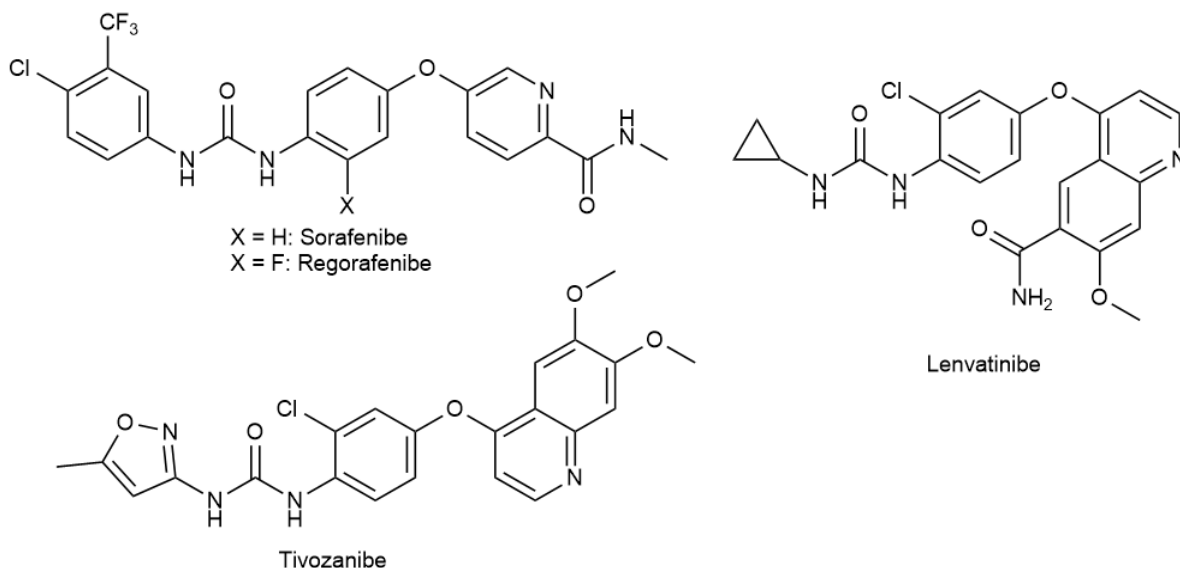
**Figura 5** - Inibidores de proteínas CDKs que contém o núcleo purina



### 2.3 Receptor do fator de crescimento vascular endotelial

Além de inibir ou limitar a multiplicação celular, o tratamento alvo anticâncer também foi desenvolvido através da desaceleração do crescimento dos tumores malignos pela inibição da angiogênese, o processo de crescimento de novos vasos sanguíneos.<sup>[9]</sup> Essa sinalização envolve a liberação do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) que desencadeia a angiogênese. Em cânceres em crescimento esse estimulante é superexpressado devido à necessidade das células tumorais de receberem nutrientes e oxigênio para sustentar o seu crescimento descontrolado.<sup>[9][10]</sup> Como fármaco anticâncer, o Nexavar®, ou sorafenibe, foi desenvolvido em 2005 para inibir o domínio tirosina-quinase do receptor do VEGF (VEGFR), sendo aprovado pela *FDA* para o tratamento de carcinoma de células renais avançado.<sup>[11]</sup> Com o sucesso do sorafenibe foram desenvolvidos fármacos derivados desse como regorafenibe, tivozanibe, lenvatinibe (figura 6); contendo ureias 1,3-dissubstituídas e um anel heterocíclico nitrogenado mimético de adenina.

**Figura 6** - Inibidores de proteínas VEGFR contendo grupos ureia 1,3 dissubstituídas



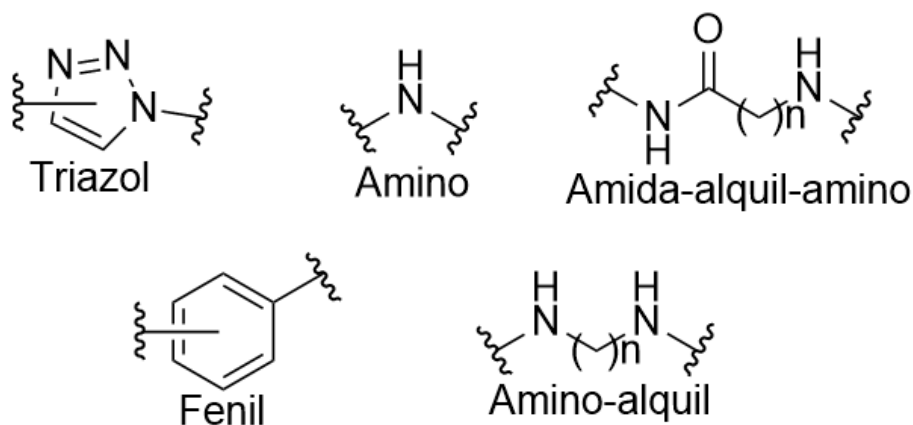
## 2.4 Hibridização de fármacos

Devido à alta taxa de multiplicação celular característica do câncer, é comum o desenvolvimento de resistência a fármacos utilizados no tratamento.<sup>[5]</sup> Assim, é continuamente necessário desenvolver novos fármacos baseados na terapia alvo anticâncer e a hibridização molecular é uma ferramenta essencial no desenvolvimento de fármacos multi-alvo. Compostos híbridos consistem de grupos farmacofóricos que combinam duas atividades biológicas no seu mecanismo de ação, essa atividade é proveniente da combinação de estruturas com bioatividade conhecida, farmacóforos, em uma só estrutura.<sup>[12]</sup> A polifarmacologia proporcionada por esses fármacos é desejada no tratamento de condições mais complexas que afetam múltiplos caminhos fisiológicos e que demonstraram pouca resposta a tratamentos com drogas de alvo único como doença de Alzheimer, microorganismo patogênicos, inflamações, câncer e outras doenças multifatoriais.<sup>[13]</sup> Com o tratamento de cânceres já sendo demonstrado pela polifarmacologia dos fármacos imatinibe e sorafenibe, assim o desenvolvimento de fármacos híbridos para o tratamento anticâncer é de grande interesse medicinal.

Os grupos farmacofóricos podem ser combinados em um híbrido seguindo duas estratégias principais: fusão ou conexão. A fusão ou integração de estruturas é utilizada quando os farmacóforos apresentam suficiente similaridade estrutural podendo assim utilizar um núcleo que combina essas estruturas evitando o aumento

drástico da massa molecular, um fator que tende a desfavorecer a biodisponibilidade do fármaco no meio biológico. A metodologia de conexão consiste da junção das estruturas com um grupo conector denominado *linker*, uma estrutura que pode proporcionar características como flexibilidade, espaçamento, novas interações no sítio ativo, maior permeabilidade em membrana celular (figura 7). Um exemplo de estrutura rígida é o grupo 1,2,3-triazol, um heterocíclico facilmente incorporado que pode participar na atividade biológica por interações no sítio ativo, este núcleo é utilizado comumente devido a fácil síntese via reação *click* entre um grupo azida e um alcino.<sup>[14]</sup>

**Figura 7** - Exemplos de grupos *Linker* comuns.



A conexão dos grupos farmacofóricos também pode ter a utilidade de dar flexibilidade à molécula para auxiliar no encaixe no sítio ativo, para isto são utilizadas cadeias alquílicas. Estas são frequentemente incorporadas em protótipos de fármacos para o tratamento de doença de Alzheimer, como por exemplo o trabalho de Nepovimova *et al*, onde foram sintetizados híbridos tacrina-quinona com a utilização de espaçadores alquílicos de 2 ou 3 metilenos.<sup>[15]</sup> A escolha dos autores desse espaçador foi devido à resistência à clivagem pelo metabolismo e à flexibilidade proporcionada. E, por estudos de *docking*, determinou-se que a largura de 3 metilenos é ideal para essas propriedades sem prejudicar a biodisponibilidade ou as interações cruciais no sítio ativo.

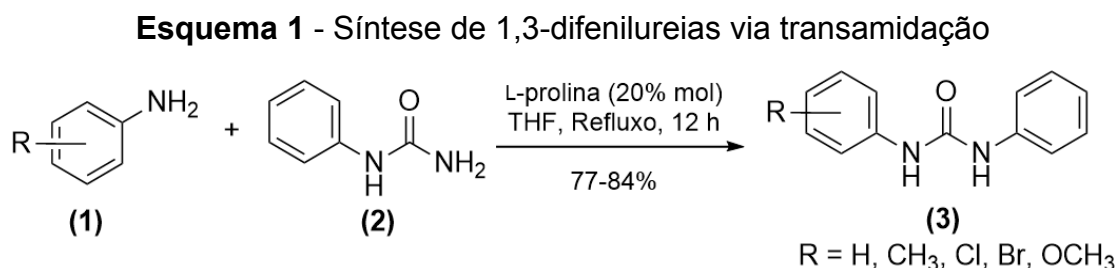
Frente ao que foi exposto, neste trabalho propôs-se a síntese de híbridos contendo os núcleos purina e difenilureia e também incorporar um espaçador alquílico entre esses. Similarmente ao trabalho de Nepovimova *et al*, escolheu-se

uma cadeia metilênica curta para não prejudicar as propriedades farmacocinéticas.<sup>[15]</sup>

## 2.5 Metodologia sintética

### 2.5.1 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas

Uma estratégia sintética para a incorporação do núcleo farmacofórico difenilureia é a utilização de um grupo nucleofílico como substituinte em um dos anéis, assim necessitando de um procedimento de síntese de ureias 1,3-dissubstituídas não simétricas. Esse controle de substituinte é obtido pela adição sequencial de cada grupo, como o procedimento de transamidação desenvolvido por Nagarkar e Telvekar,<sup>[16]</sup> onde os autores utilizam da catálise orgânica via L-prolina em refluxo de THF para obter ureias 1,3-dissubstituídas **(3)** partindo de 1-fenilureia **(2)** derivados da anilina **(1)** (Esquema 1).

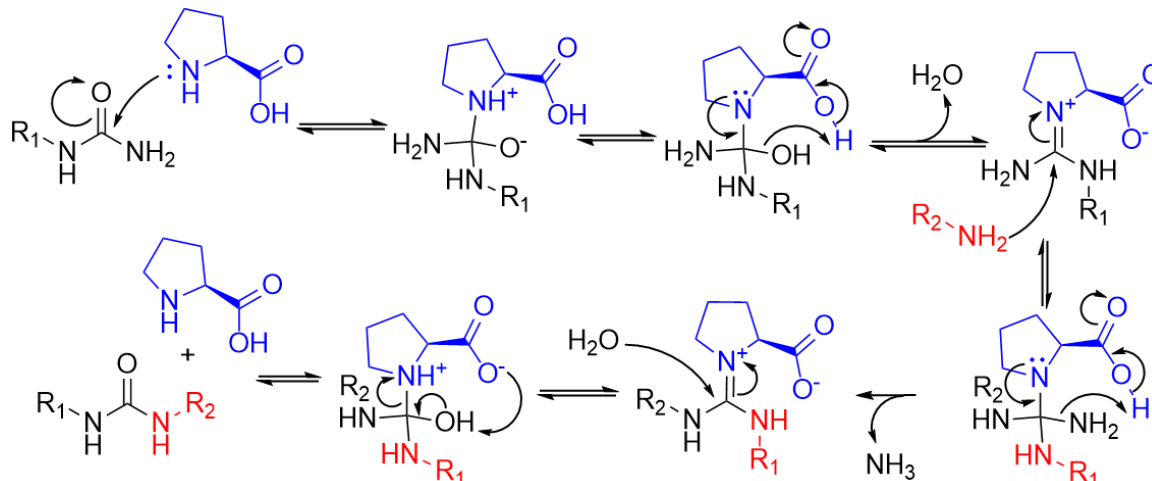


Fonte: Adaptado da referência [16]

O escopo do trabalho referente a esta reação inclui aminas aromáticas, alifáticas mono e dissusbtituídas, contudo os derivados que proporcionam fenilureias, as anilinas, apresentam apenas substituintes ativadores do anel, provavelmente devido à baixa nucleofilicidade de anilinas com grupos retiradores de elétrons. A utilização de L-prolina como catalisador pode ser entendida pelo mecanismo proposto pelos autores (Esquema 2), esse torna o grupo ureia mais eletrofílico formando uma espécie guanidina catiônica auxiliando o ataque da anilina, enquanto que o grupo carboxilato/ácido carboxílico auxilia nas transferências de próton e na eliminação de H<sub>2</sub>O e NH<sub>3</sub> com aquecimento, levando à liberação de

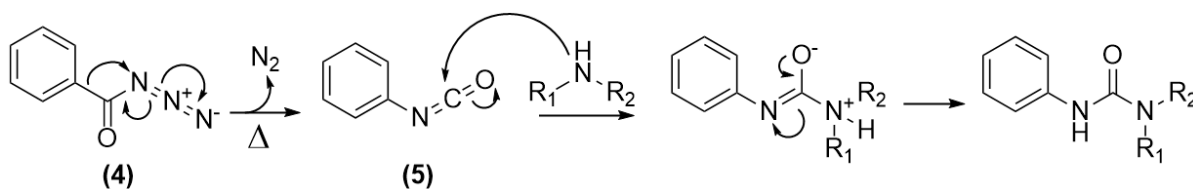
amônia, porém mantendo a água que em seguida ataca o produto (novamente ativado em forma de guanidina catiônica) liberando a ureia substituída e regenerando o catalisador.

**Esquema 2** - Mecanismo proposto pelos autores para a transaminação de ureias.



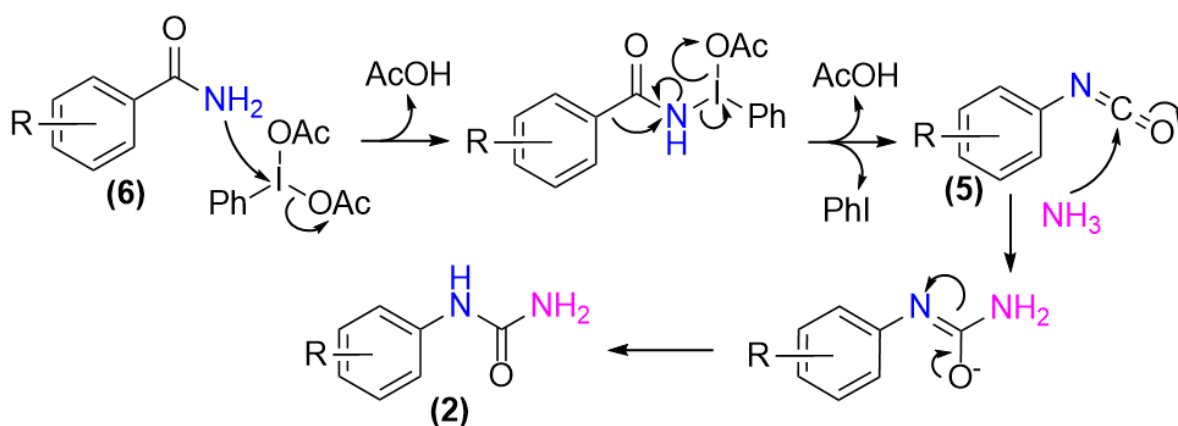
Alternativamente, o grupo ureia pode ser formado a partir da adição de uma amina ao grupo funcional isocianato. Esses compostos são altamente reativos e podem ser formados *in situ* via rearranjos. Um destes é o rearranjo de Curtius, como descrito no procedimento de N. J. Curtis utilizando benzoil azida (**4**).<sup>[17]</sup> Ao aquecer o composto sob tolueno é liberado gás nitrogênio e formando o aril isocianato (**5**) no meio reacional, este rapidamente foi consumido pela *N,N*-alquil-aryl-amina utilizada pelo autor obtendo altos rendimentos. Considerando o mecanismo proposto pelo autor (Esquema 3), o intermediário isocianato é formado em uma etapa concertada de liberação de  $N_2$ , migração da ligação C-C e formação de ligações C-N sigma e pi, na sequência ocorre a adição da amina com um ligante aril e um alquil. Nota-se que após a liberação do  $N_2$  a reação ocorre sem liberação de subprodutos e sem catalisador, formando a ureia de forma relativamente limpa.

**Esquema 3** - Mecanismo provável de rearranjo de Curtius seguido de adição de amina.

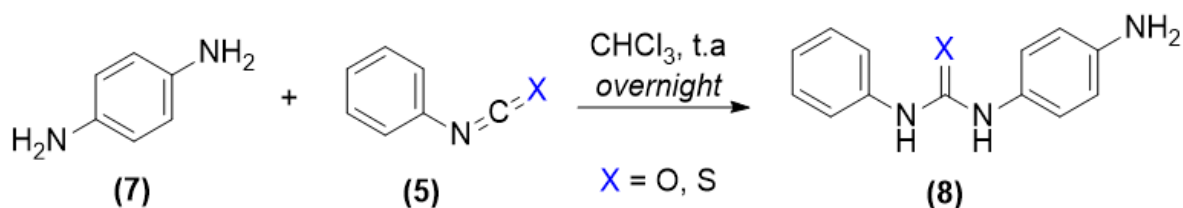


Similarmente ao rearranjo de Curtius, o rearranjo de Hofmann também forma isocianatos *in situ*, porém obtém esses a partir de amidas e um oxidante como hipoclorito ou iodo hipervalente como descrito por Rosa e colegas (Esquema 4).<sup>[18]</sup> Nas sínteses desenvolvidas foi utilizada amônia como nucleófilo para formar ureias monossustituídas, contudo o procedimento seria equivalente para outros nucleófilos como anilinas. O composto de iodo(III), o iodobenzeno diacetato, proporciona oxidação do nitrogênio da amida primária pelo ataque desta no composto hipervalente liberando 2 equivalentes de ácido acético e 1 de iodobenzeno e, como no procedimento anterior, forma-se o intermediário isocianato que rapidamente sofre ataque do nucleófilo no meio.

**Esquema 4** - Mecanismo proposto para a síntese via rearranjo de Hofmann

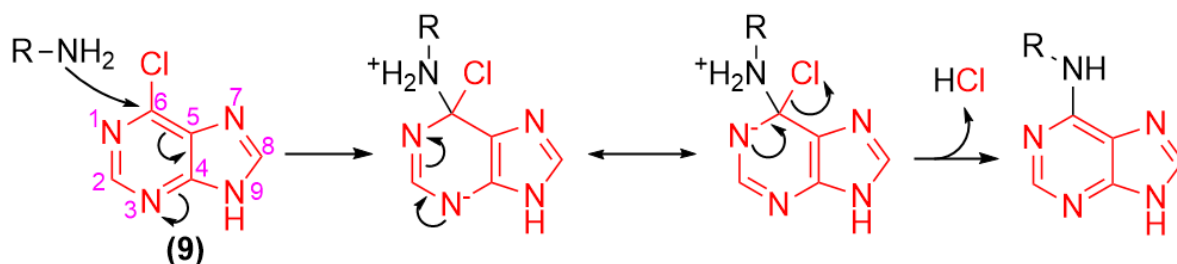


Seguindo os procedimentos que seguem os rearranjos de Curtius ou Hofmann, a etapa principal é a formação do isocianato orgânico, assim uma alternativa é a adição direta desses compostos ao meio reacional. Apesar de serem reagentes sensíveis à umidade, essa estratégia minimiza as impurezas de subprodutos ou outros reagentes remanescentes que podem causar a necessidade de purificações mais complexas. Além disso, a utilização desses compostos permitem o controle estequiométrico como feito por Hu *et. al* conseguindo seletivamente adicionar apenas 1 equivalente de fenilisocianato/feniltioisocianato (5) a *p*-fenilenodiamina (7).<sup>[19]</sup> Pela adição do eletrófilo diluído em simples condições de temperatura ambiente e agitação *overnight*, os autores obtiveram o produto aminofenil-fenilureia/tioureia (8) com rendimentos acima de 90% (Esquema 5).

**Esquema 5** - Síntese de aminofenil-fenilureia/tioureia descrita por Hu *et al*.<sup>[19]</sup>

### 2.5.2 Substituição nucleofílica aromática em 6-cloro-9H-purina

A incorporação de grupos heterocíclicos aromáticos em moléculas grandes é facilmente feita via reação de substituição nucleofílica aromática. A presença de heteroátomos no anel aromático proporciona maior eletrofilicidade devido à estabilização da carga negativa do intermediário e um substituinte eletronegativo, como o cloro, permite a substituição na posição desse grupo de saída (esquema 6). Para o núcleo imidazo[2,3-d]pirimidina (purina) é utilizado o reagente 6-cloro-9H-purina (9) como eletrófilo e como solvente utilizam-se álcoois devido a capacidade de dissolver os reagentes e de estabilizar os intermediários iônicos, assim facilitando a reação.

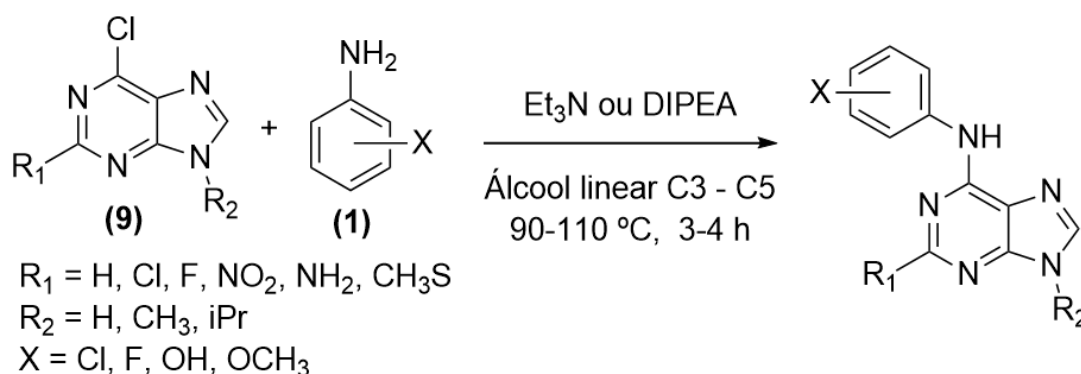
**Esquema 6** - Mecanismo de substituição nucleofílica aromática de uma amina na 6-cloro-9H-purina (9).

Para essa substituição frequentemente são utilizados álcoois lineares que permitem manter a reação sob temperatura alta e são adicionadas bases orgânicas como catalisadores. Um exemplo disto é o trabalho de Zatloukal *et. al* utilizando como solvente os álcoois lineares de cadeias de 3, 4 ou 5 carbonos e bases orgânicas como trietilamina ou DIPEA para diversas cloro-purinas e anilinas (esquema 7).<sup>[20]</sup> Em apenas 4 horas de reação, os autores obtiveram rendimentos entre 60 e 90% para os compostos sintetizados, principalmente partindo de



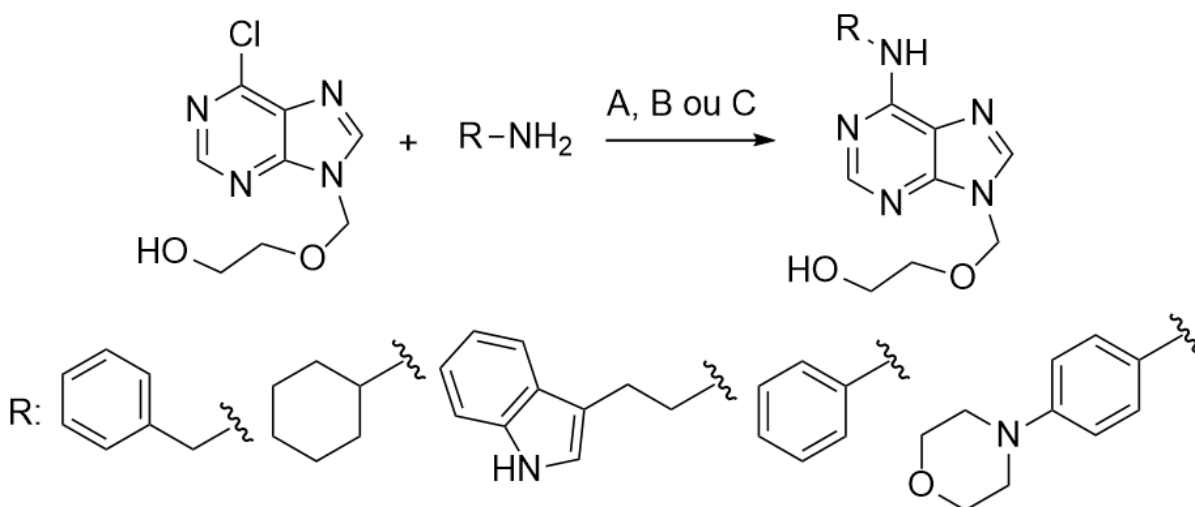
derivados tipo anilinas eletronicamente ativadas como aminofenóis e anisidinas. Seguindo um método similar para a síntese de derivados de nucleosídeos, Busca *et al* obtiveram 95% de rendimento para a adição de anilina a 2,6-dicloropurina com trietilamina em n-butanol a 80 °C por 3 horas.<sup>[21]</sup> Em ambos procedimentos os produtos *N*-aril-adeninas foram separados por simples filtração com lavagens de solvente alcoólico utilizado sem a necessidade de purificações adicionais.

**Esquema 7** - Síntese de derivados *N*-aril-adeninas via substituição nucleofílica aromática.



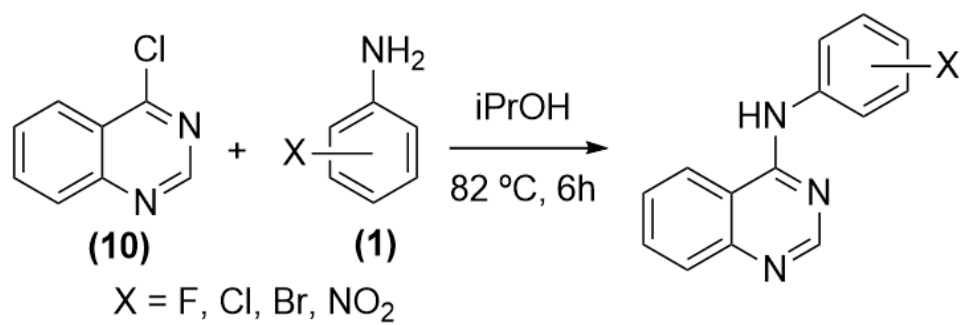
Fonte: adaptado das referências [20] e [21]

Além de aminas aromáticas, também podem ser utilizadas aminas alifáticas como nucleófilos para essa substituição utilizando as mesmas condições. Observa-se isso no trabalho de Lanver e Schamlz no desenvolvimento de análogos acíclicos de nucleotídeos a partir de 6-cloro-9*H*-purina.<sup>[22]</sup> O procedimento principal aplica a irradiação de microondas para diminuir o tempo reacional e aumentar rendimentos (esquema 8, condição A), obtendo rendimentos entre 72 e 83% em apenas 10 minutos de reação. Enquanto que o método de controle com as condições mais comuns apresentou rendimentos entre 58 e 75% (condição B). Além de um terceiro método em EtOH que não utiliza base orgânica e também apresenta rendimentos praticamente equivalentes para as aminas aromáticas e alifáticas (condição C).

**Esquema 8** - Síntese de derivado adenina 9 e N substituídos.

Condições: A: DIPEA, EtOH, 10 min, 150W; B: DIPEA, n-BuOH, 75 °C, 16 h; C: EtOH, 75 °C, 16 h.

Outros biclos aromáticos nitrogenados apresentam reatividade comparável à purina, especialmente para substituições nucleofílicas aromáticas num derivado clorado desse núcleo. Um grupo similar é a quinazolina, outro grupo mimético do ATP utilizado para síntese de inibidores de quinases, este também é um derivado da pirimidina porém neste o anel imidazólico é substituído por um anel benzênico. Assim um ataque a uma posição substituída por halogênio em relação *orto* e *para* aos nitrogênios presentes no ciclo será similar, como demonstrado no procedimento de Wang *et al.*<sup>[23]</sup> Utilizando anilinas substituídas com halogênios e nitro foram obtidos produtos 4-amilamino-quinazolinas com rendimentos excelentes entre 85 e 96% com as simples condições de isopropanol sob refluxo por aproximadamente 6 horas (Esquema 9). Foi possível isolar os produtos por filtração simples com lavagens de isopropanol após resfriar o meio, bem como também foi possível recrystalizar os produtos em etanol para obtê-los puros.

**Esquema 9** - Síntese de derivados 4-aminofenil-quinazolininas

Fonte: adaptado da referência [23]

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Neste trabalho procurou-se sintetizar compostos híbridos contendo os núcleos adenina e difenilureia para atuação como potenciais fármacos anticâncer pela prevista atividade inibitória desses núcleos frente ao ciclo celular e a angiogênese.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Desenvolvimento de rota sintética para híbridos adenina-difenilureia com e sem espaçador metilênico e para derivados destes.
- Aprimoramento de condições reacionais das etapas sintéticas envolvidas na rota desenvolvida para os compostos inéditos.
- Caracterização e purificação de compostos inéditos híbridos adenina-difenilureia através do método desenvolvido neste trabalho.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

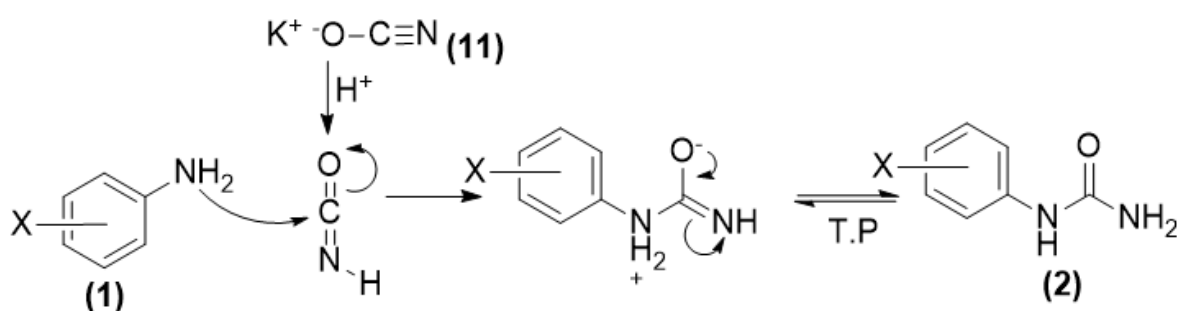
### 4.1 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas

Para a reação final de substituição do derivado de difenilureia na 6-cloro-9H-purina (**9**) é necessária a obtenção de 1,3-difenilureias não-simétricas com um dos lados contendo grupo amino em posição *meta* ou *para*. A diversidade de derivados de anilinas comercialmente disponíveis proporciona alta variabilidade na escolha de grupos nas posições aromáticas, assim esses compostos estão presentes em todas as alternativas sintéticas para 1,3-difenilureias. Sendo as principais opções, a transamidação de *N*-fenilureias (**2**) com anilinas (**1**) sob catálise de L-prolina e reações de adição de anilinas a isocianatos.

#### 4.1.1 Síntese de *N*-fenilureias com isocianato inorgânico

Como reagente das transamidações são necessárias ureias mono *N*-substituídas e estas podem ser acessadas facilmente via reação de anilinas com ácido cianico (HNCO), uma espécie altamente reativa que pode ser formada *in situ* pela protonação do sal isocianato de potássio (**11**) (Esquema 10). Após a formação da espécie reativa, a anilina (**1**) presente no meio rapidamente ataca o carbono do isocianato e em seguida forma o grupo ureia monossubstituída.

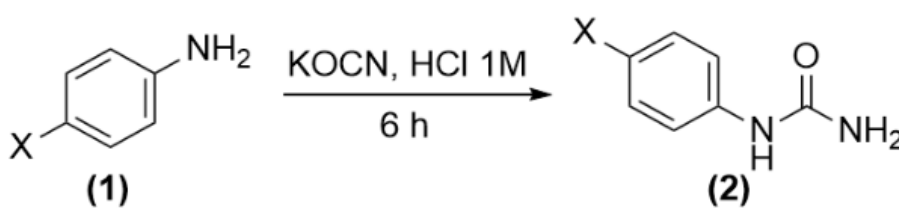
**Esquema 10** - Mecanismo para a síntese de *N*-fenilureia (**2**) via adição ao isocianato.



Assim, aplicando o procedimento descrito por Tiwari *et. al*<sup>[24]</sup> foram sintetizadas três fenilureias (**2**) com suas respectivas purificações (Tabela 1). A utilização de isocianato de potássio em excesso permite alta conversão da anilina a

ureia e fácil separação via filtração pois o sal é solúvel no solvente aquoso e a espécie ativa, ácido ciânico restante, rapidamente se decompõe em CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub>. Para as espécies 4-bromo e 4-metil fenilureia foi necessária purificação adicional para se obter pureza adequada devido à presença das respectivas anilinas no sólido retido na filtração. A necessidade de utilização de métodos de separação além da filtração proporcionou perdas de produto assim os rendimentos das espécies 4-bromo e 4-metil foram relativamente mais baixos.

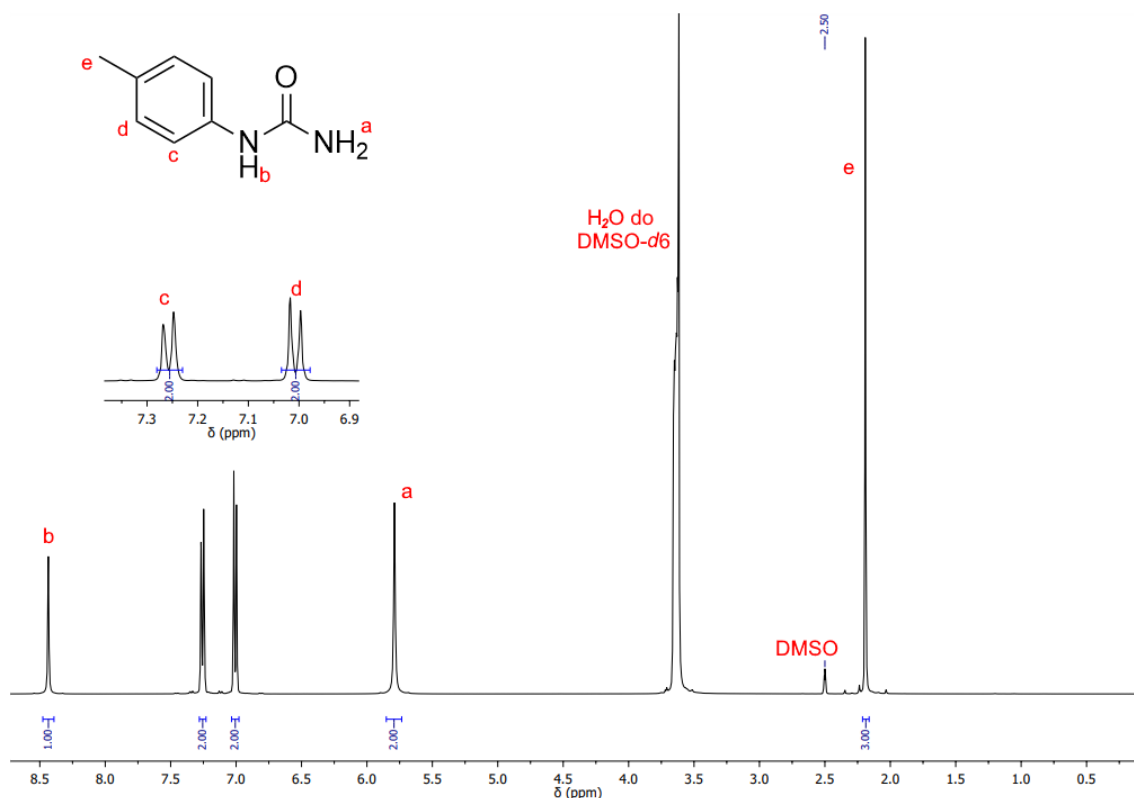
**Tabela 1** - Síntese de fenilureias **(2)** com isocianato inorgânico.



X	Purificação adicional	Rendimento
H	-	~99%
CH <sub>3</sub>	Recristalização EtOH/H <sub>2</sub> O 3:1	20%
Br	Cromatografia	23%

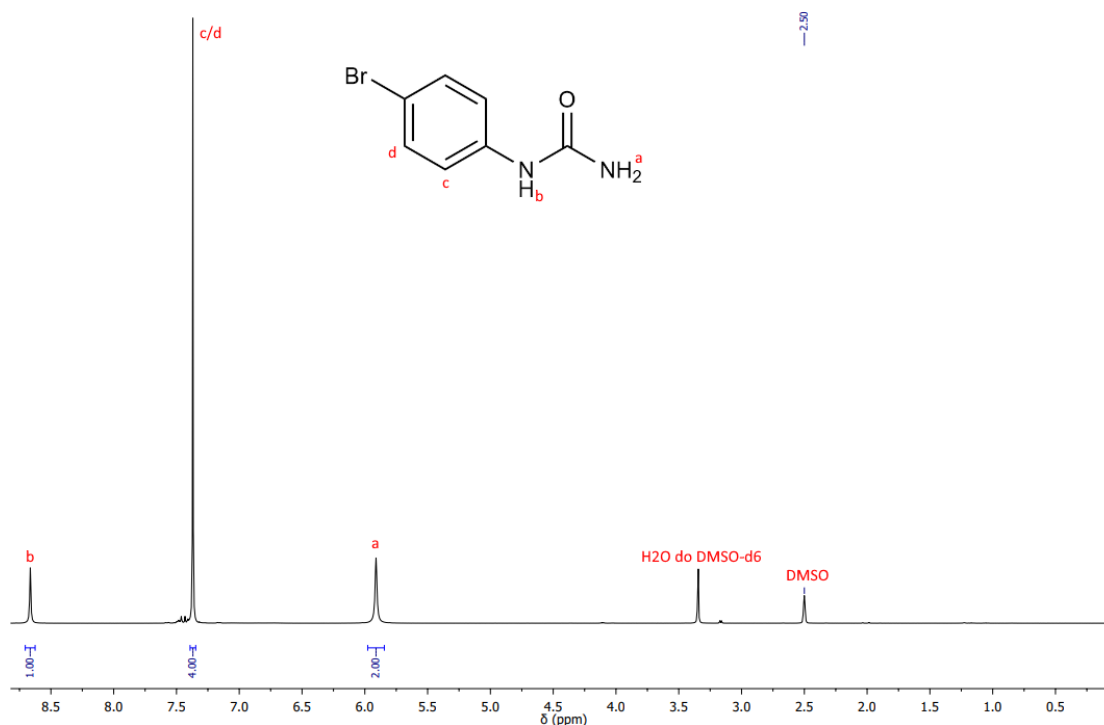
A análise por RMN de <sup>1</sup>H auxilia na determinação da estrutura química dos produtos pela correlação dos hidrogênios presentes na molécula com os picos presentes no espectro obtido. Assim, foram evidenciadas as estruturas e a pureza dos três produtos obtidos; por exemplo, a 4-metil-fenilureia (Figura 8) que foi purificada por recristalização. O espectro deste composto apresenta um sinal característico de NH de fenilureia (H<sub>b</sub>) em 8,43 ppm e o sinal de NH<sub>2</sub> (H<sub>a</sub>) em menor deslocamento químico em 5,79 ppm. É provável que essa diferença seja devido à ausência do efeito anisotrópico diamagnético do anel aromático, como no sinal H<sub>b</sub> anterior. O sistema *para* substituído aromático é evidente pelos dois dubletos com integral de 2 H para cada devido à simetria presente no sistema, e por fim o grupo metila apresenta os 3 hidrogênios alfa aromáticos em 2,19 ppm.

**Figura 8** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 4-metilfenilureia.



Para o composto 4-bromofenilureia, o espectro (Figura 9) apresenta os picos característicos de fenilureia também, especificamente o  $\text{NH}_2$  ( $\text{H}_a$ ) em 5,91 ppm e o  $\text{NH}$  ( $\text{H}_b$ ) em 8,66 ppm. Tipicamente, sistemas aromáticos com substituintes em *para* apresentam um padrão característico de dois dubletos de dubletos na região aromática do espectro, como no composto 4-metilfenilureia (figura 8), contudo neste caso é observado somente um pico muito intenso em 7,37 ppm ( $\text{H}_c/\text{d}$ ) com integral de 4 H. Esse resultado demonstra o efeito desse substituinte, com a metila blindando a posição *orto* a si e o bromo desblindando essa posição, sendo essa diferença menos significativa no hidrogênio *meta* a esse substituinte.

**Figura 9** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 4-bromofenilureia.



#### 4.1.2 Transaminação catalisadas por L-prolina

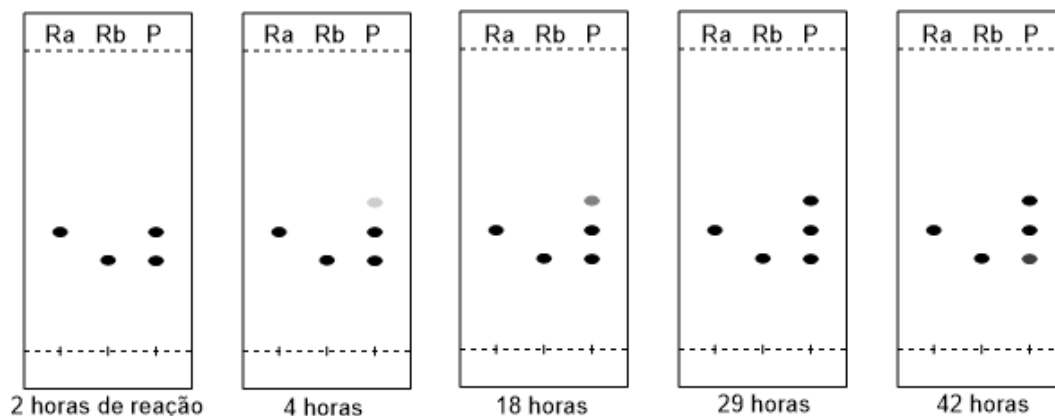
A síntese 1,3-difenilureias não-simétricas via transaminação é um procedimento com reagentes baratos e pouco tóxicos ou sensíveis. Através da catálise com L-prolina é possível promover a substituição do  $\text{NH}_2$  de uma fenilureia por um derivado de anilina sob simples refluxo de THF. Para poder acoplar com o núcleo purina, é necessária a presença de um grupo amino na 1,3-difenilureia, havendo assim duas opções para obtenção de um produto com essa característica: redução de um grupo nitro proveniente de uma das anilinas incorporadas ou a utilização de uma amino-anilina, também denominada fenilenodiamina.

Infelizmente as anilinas contendo grupo nitro, em *meta* ou em *para*, não formam produtos devido ao efeito desse grupo retirador de elétrons, além disso também foi explorada a estratégia de nitração da *N*-fenilureia porém essa apresentou dificuldade no controle reacional. Assim foi escolhida a estratégia do uso de fenilenodiamina sendo necessário controle estequiométrico para evitar dupla adição. Adaptando o procedimento de Nagarkar *et. al.*,<sup>[16]</sup> foi utilizada a 4-bromofenilureia preparada anteriormente junto de *meta*-fenilenodiamina (**7**) em excesso de 5 vezes, a formação do produto foi evidenciada por CCD claramente

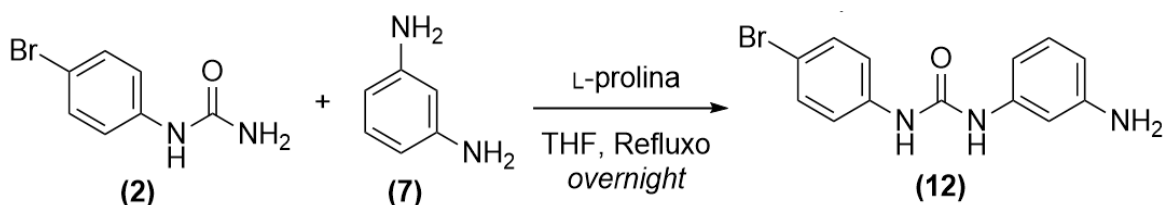


(Figura 10).

**Figura 10** - Monitoramento por CCD da reação de transamidação. Fase móvel: hexano/AcOEt 2:8. Ra: reagente *m*-fenilenodiamina, Rb: reagente 4-bromofenilureia, P: bruto reacional. Revelador: UV 254 nm.



**Esquema 11** - Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)-ureia (**12**) via transamidação.

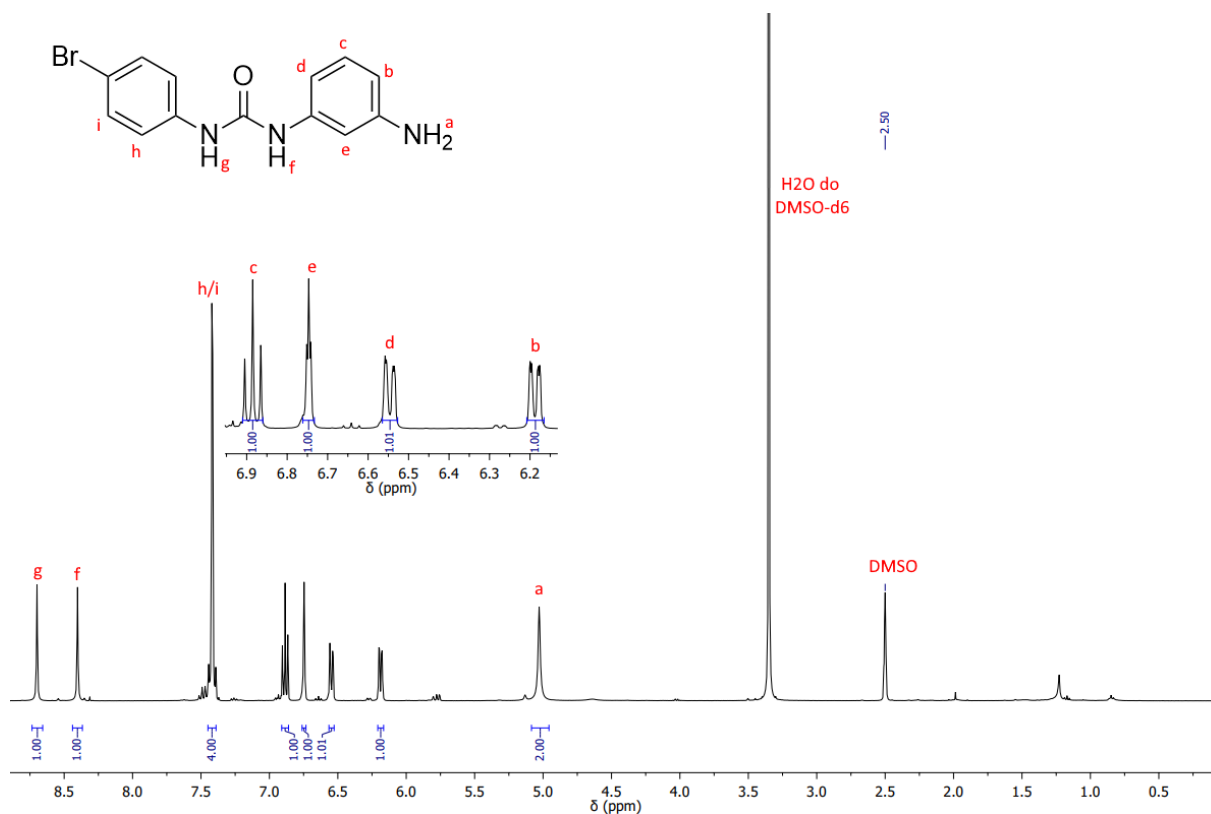


Apesar do tempo de 49 horas de reação, mesmo com formação do produto, não foi observado alto consumo do reagente limitante, a 4-bromofenilureia, assim a reação foi removida do refluxo e o produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica utilizando fase móvel de hexano/AcOEt 5:5 seguido de 4:6. O produto observado no Rf de aproximadamente 0,5 foi confirmado como o produto desejado por análise de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 11).

Como característico de 1,3-difenilureias há os sinais de NH da ureia em 8,7 e 8,4 ppm sendo o mais desblindado o NH conectado ao 4-bromofenil pois este anel aromático apresenta menor densidade eletrônica devido ao bromo. Na região de CH aromáticos é evidente o sistema 4-bromofenil similar ao reagente utilizado com um multiplete intenso entre 7,44 e 7,39 ppm seguido do sistema 1,3-dissubstituído proveniente do fenilenodiamina assinalados abaixo como b, c, d, e; por fim

evidencia-se que o produto obtido foi o mono-substituído no fenilenodiamina pela presença do sinal do grupo amino terminal (Ha) com integral para 2 H.

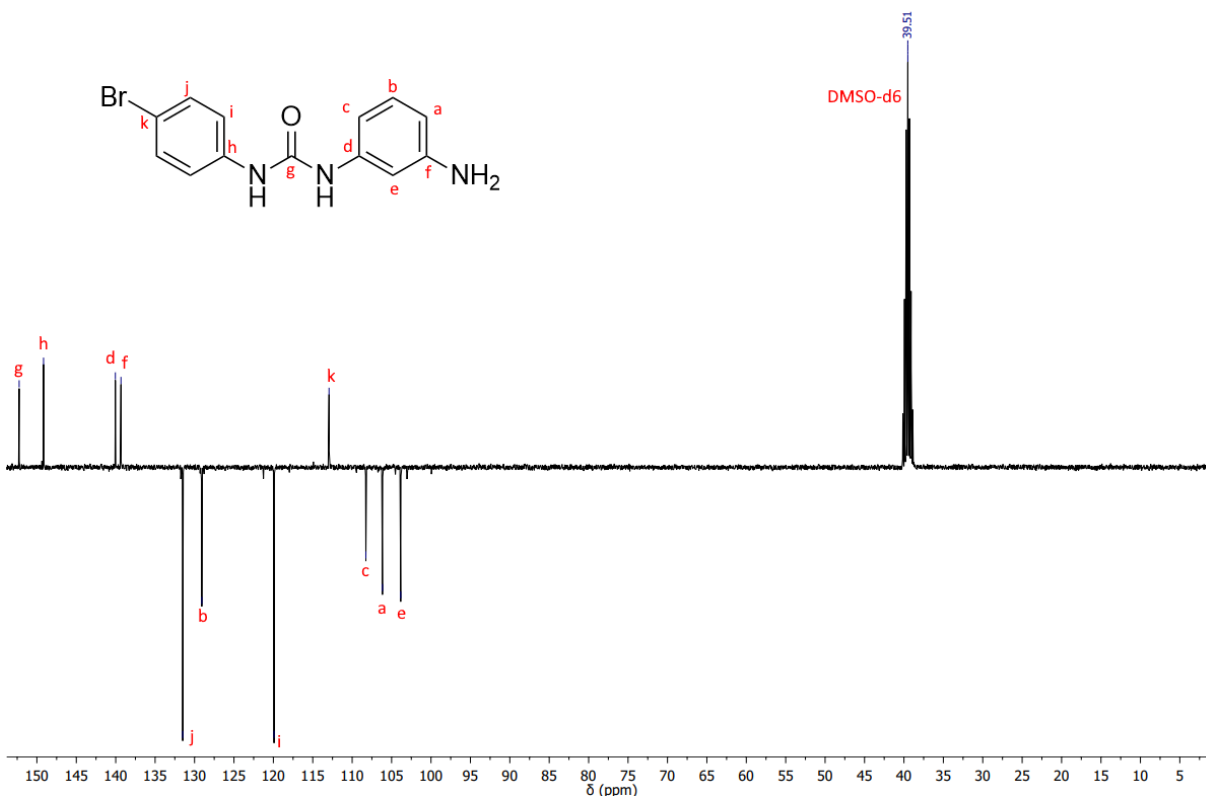
**Figura 11** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia (**12**).



Similarmente ao espectro anterior, o RMN de  $^{13}\text{C}$  APT evidencia o produto desejado com relativa boa pureza (Figura 12). Entre os carbonos sem ligação com hidrogênio (representados pelos picos para cima da linha do espectro de APT), o sinal referente ao Cg que é observado em maior deslocamento química (152 ppm) pois é um carbono carbonílico além de estar ligado a 3 átomos eletronegativos. Em seguida estão presentes os sinais dos carbonos aromáticos ligados a nitrogênios, com os vizinhos a ureia apresentando maior deslocamento devido a um maior efeito de eletronegatividade do grupo ureia e com os sinais do anel com o grupo amino sendo menos deslocados devido à maior densidade eletrônica no anel, sendo estes em 149, 140 e 139 ppm. Os sinais referentes aos CH do 4-bromofenil apresentam intensidade maior devido à simetria do anel sendo o menos blindado em *orto* ao bromo em 132 ppm e o em *meta* em 120 ppm, o último carbono sem ligação a hidrogênio está representado em 113 ppm sendo este ligado diretamente no bromo.

O sistema 1,3-dissubstituído apresenta os sinais referente aos carbonos Ca, Cc e Ce na região entre 109 e 103 ppm, enquanto que o Cb e Cj a ambos está deslocado em 129 ppm pois estes não sofrem doação de carga pelos grupos doadores.

**Figura 12** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia (**12**).



Como observado pelo monitoramento em CCD, não foi detectada a formação de outro produto visível por revelador de UV, ou seja, não houve formação considerável do produto dissubstituído. O rendimento obtido foi extremamente baixo com apenas 7%, sendo assim as condições reacionais utilizadas necessitarão ser ajustadas para se obter um rendimento aceitável, porém a seletividade obtida demonstra o potencial deste método para síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas.

#### 4.1.3 Síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas com isocianato orgânico.

A utilização de arilisocianatos para a formação de ureias via adição é experimentalmente simples pois não requer aquecimento ou catalisador, e a reação

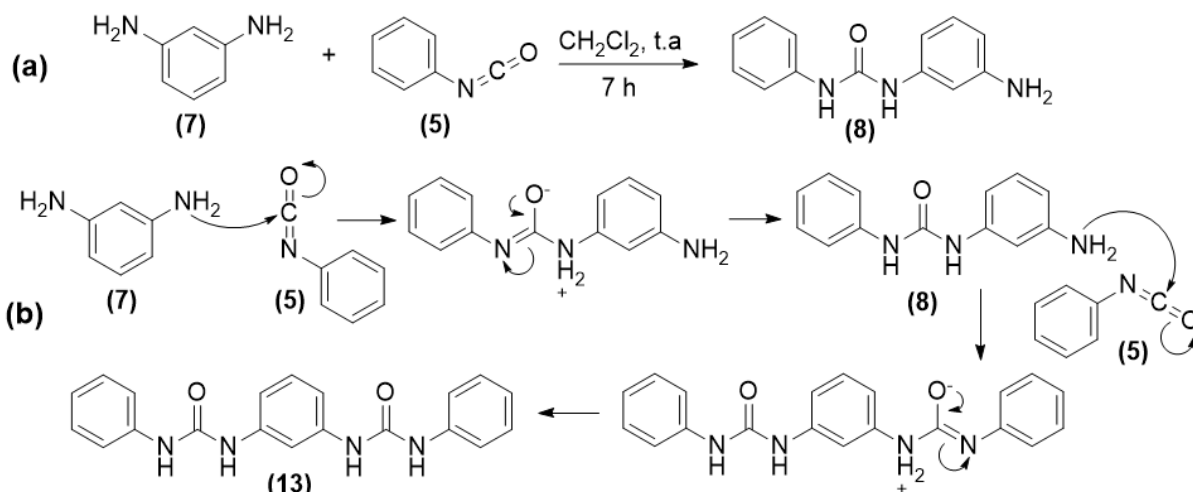
apresenta economia atômica sem a formação de outros produtos normalmente. Similarmente ao procedimento via transaminação, a síntese de 1,3-difenilureias não-simétricas com grupo amino pode ser obtido pelo uso de nitro-anilina ou fenilenodiamina, porém a nitro-anilina, *meta* ou *para*, não é consumida no meio reacional. Assim como na transaminação, foi utilizada a *meta*-fenilenodiamina (**7**) para formar o produto 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) através de um excesso estequiométrico suficiente para desfavorecer a formação do produto dissustituído.

A reação (Esquema 12) foi realizada em diclorometano e o fenilisocianato (**5**) foi diluído no solvente e adicionado gota-a-gota com o intuito de minimizar a formação do subproduto dissustituído. Devido à baixa solubilidade do produto no meio reacional a remoção dos reagentes por filtração proporciona uma purificação bem simples, contudo devido à formação do subproduto, o qual também é insolúvel em diclorometano, foi necessária outra etapa de purificação. Foi observado que o subproduto é insolúvel em álcoois então o produto desejado pode ser finalmente purificado pela dissolução em etanol e filtração novamente, ademais este pode ser recristalizado em mistura de EtOH/H<sub>2</sub>O 4:1.

**Esquema 12 - (a) Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**).**

(b) Mecanismo de síntese do produto e do subproduto “dissustituído”

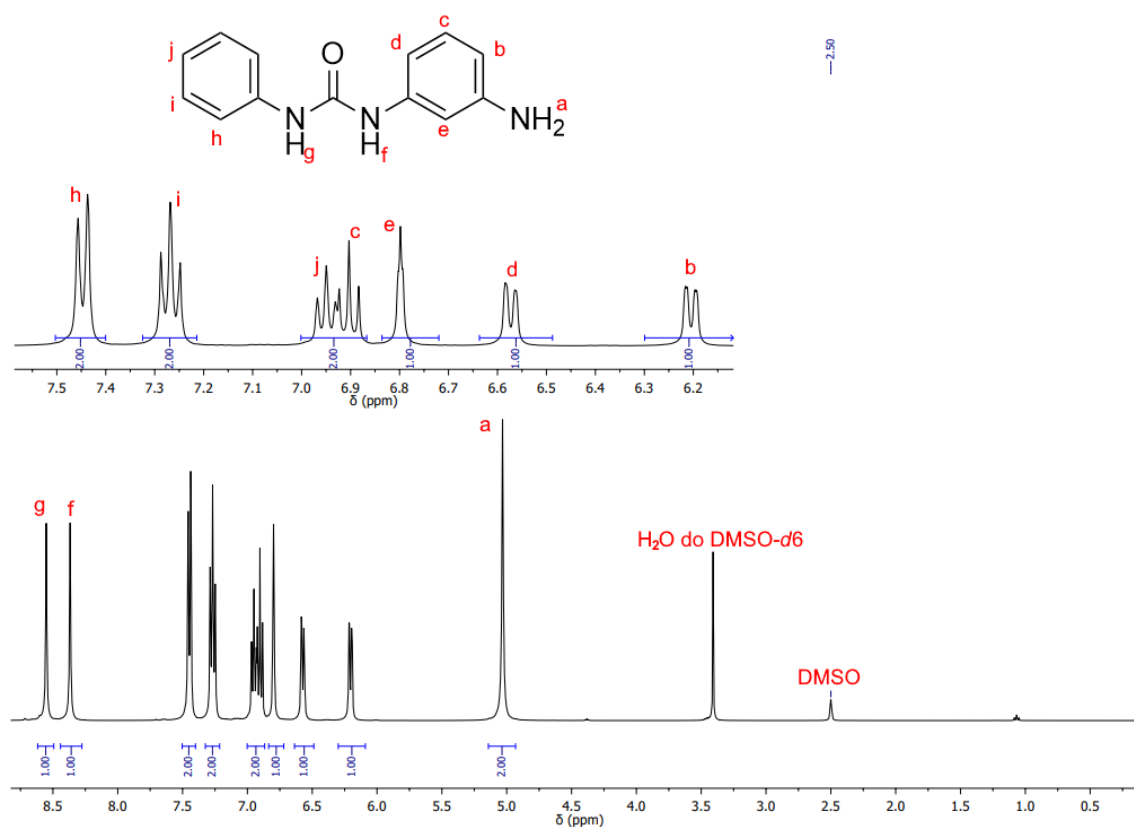
1,1'-(fenileno)bis(3-fenilureia) (**13**).



O produto após as etapas de purificação foi evidenciado por RMN de <sup>1</sup>H e foi evidenciada a sua pureza (Figura 13). Os hidrogênios NH são observados em 8,55 e 8,37 ppm como esperado para estes compostos e os sistemas aromáticos mono

substituídos e *meta* estão claros na região entre 7,5 e 6,0 ppm. Para o anel aromático mono substituído há o dubleto em 7,45 ppm referente a Hh com acoplamento com Hi em 7,27 ppm sendo este um dubleto de dubletos também acoplado com Hj com deslocamento químico de 6,95 ppm e caráter de tripleto devido à simetria do anel. Para o sistema 1,3-dissubstituído observa-se os hidrogênios Hb e Hd *orto* a grupos doadores com deslocamentos 6,57 e 6,80 ppm respectivamente. Estes dubletos de dubletos apresentam acoplamento similar com o hidrogênio Hc assim o sinal deste aparenta ser um tripleto. No sinal referente a He não é observado acoplamento devido à distância dos sinais de Hb e Hd, por fim há o sinal referente ao grupo amino (Ha) em 5,03 ppm com integral de 2 H.

**Figura 13** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**).



## 4.2 Síntese de Aminoetil-difenilureia

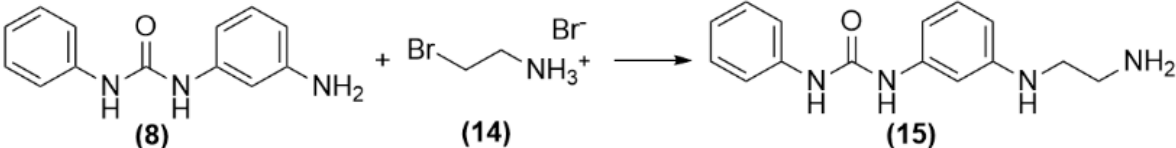
Para a obtenção de híbridos adenina-alquilamino-difenilureia é necessária a síntese de difenilureias com uma cadeia metilênica como espaçador conectado a um

grupo amino primária para a posterior reação de substituição nucleofílica aromática na 6-cloro-9H-purina (**9**). Sendo assim, foi utilizado o composto 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) preparado anteriormente para fazer reações de substituição nucleofílica adicionando esse espaçador. Inicialmente foi proposta a introdução de uma cadeia de tamanho de dois CH<sub>2</sub> pois é suficiente para proporcionar flexibilidade sem tornar a estrutura grande demais. Neste caso esse produto pode ser obtido facilmente pela reação com bromidrato de 2-bromoetilamina, o que tem o benefício de introduzir o grupo amino já protegido em sua forma de sal bromidrato, evitando subprodutos e polimerização do reagente.

Seguindo o procedimento de Marshall *et. al.*,<sup>[25]</sup> o derivado de anilina, o nucleófilo, é adicionado em excesso para evitar polialquilação, junto deste é adicionado sal bromidrato de 2-bromoetilamina e o sistema é mantido sob refluxo em tolueno. Mesmo sob temperatura de 110°C, nenhum dos reagentes foi solúvel no meio reacional, assim mesmo mantendo a reação por 40 horas o rendimento foi de apenas 37% (entrada 3, Tabela 2). O tratamento do bruto reacional proposto pelos autores foi seguido pela adição do bruto a solução de base e extração líquido-líquido com acetato de etila, obtendo-se uma mistura do reagente aminofenil-fenilureia e o produto. Na sequência, estes foram separados por cromatografia em coluna.

A insolubilidade do reagente foi prejudicial à reação assim foi necessária a escolha de solvente mais polar apropriado para essa substituição.<sup>[25]</sup> A escolha de solvente dos autores indica a necessidade de um solvente aprótico de ponto de ebulição relativamente alto, na tabela abaixo está demonstrada as variações de condições reacionais e os rendimentos obtidos (Tabela 2).

**Tabela 2** - Síntese do 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia (**15**) e condições reacionais utilizadas.



Entrada	Concentração (mol/L)	Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (horas)	Rendimento
1	0,1	DMF	110	24	0%
2	0,1	Acetonitrila	82	4	15%
3	0,1	Tolueno	110	40	37%
4	0,5	Tolueno	110	22	12%
5	0,5	Tolueno + Acetonitrila	110	20	27%
6	0,5	Acetonitrila	82	20	57%
7	0,5	DMSO + Acetonitrila	110	20	Traços

Como demonstrado na tabela 2, foram escolhidos inicialmente a dimetilformamida (DMF) e acetonitrila devido a capacidade destes de solubilizar a aminofenil-fenilureia e serem inertes frente aos reagentes e condições presentes. A escolha do uso de DMF foi inicialmente promissora pois dissolveu o reagente, e após 24 horas o reagente foi inteiramente consumido, porém o produto não foi observado conforme análise via CCD (entrada 1). Uma possível explicação é que esse solvente não foi inerte como esperado e levou a formação de algum subproduto indesejado. Utilizando acetonitrila, apesar de não poder atingir a temperatura de 110 °C como na reação em tolueno (entrada 3), foi observada a formação de produto desejado. O reagente aminofenil-fenilureia foi solubilizado completamente no solvente após atingir a temperatura de refluxo e o produto formado precipitou-se no meio. Porém, a reação foi removida do refluxo precocemente porque a presença do sólido aparentou indicar o fim da reação. O meio reacional foi inicialmente filtrado porém esse procedimento resultou ser pouco efetivo pois em ambas as fases foram detectados o reagente e o produto, assim as duas fases foram purificadas via coluna obtendo um rendimento de apenas 15% (entrada 2).

Partindo da condição reacional que proporcionou melhor rendimento, em tolueno (entrada 3), foi alterada a concentração do reagente limitante, o bromidrato de 2-bromoetilamina, mantendo o excesso relativo do aminofenil-fenilureia. Ao contrário do esperado, o aumento da concentração proporcionou um rendimento mais baixo (entrada 4), sendo isto provavelmente devido à dificuldade da agitação efetiva da suspensão formada em tolueno. Mantendo a mesma temperatura e estequiometria, foi testada novamente a acetonitrila junto de misturas tolueno/acetonitrila e DMSO/acetonitrila (entradas 5, 6 e 7). A reação na presença de DMSO apresentou degradação dos reagentes formando sólidos pretos insolúveis e liberando dimetilsulfeto indicando oxidação dos compostos orgânicos (entrada 7). Enquanto que as tentativas contendo acetonitrila foram bem efetivas, com a mistura tolueno/acetonitrila resultando em um rendimento de 27% (entrada 5) enquanto que a reação em acetonitrila pura mantida durante 20 horas em concentração maior apresentou o maior rendimento entre as variações, de aproximadamente 57% (entrada 6).

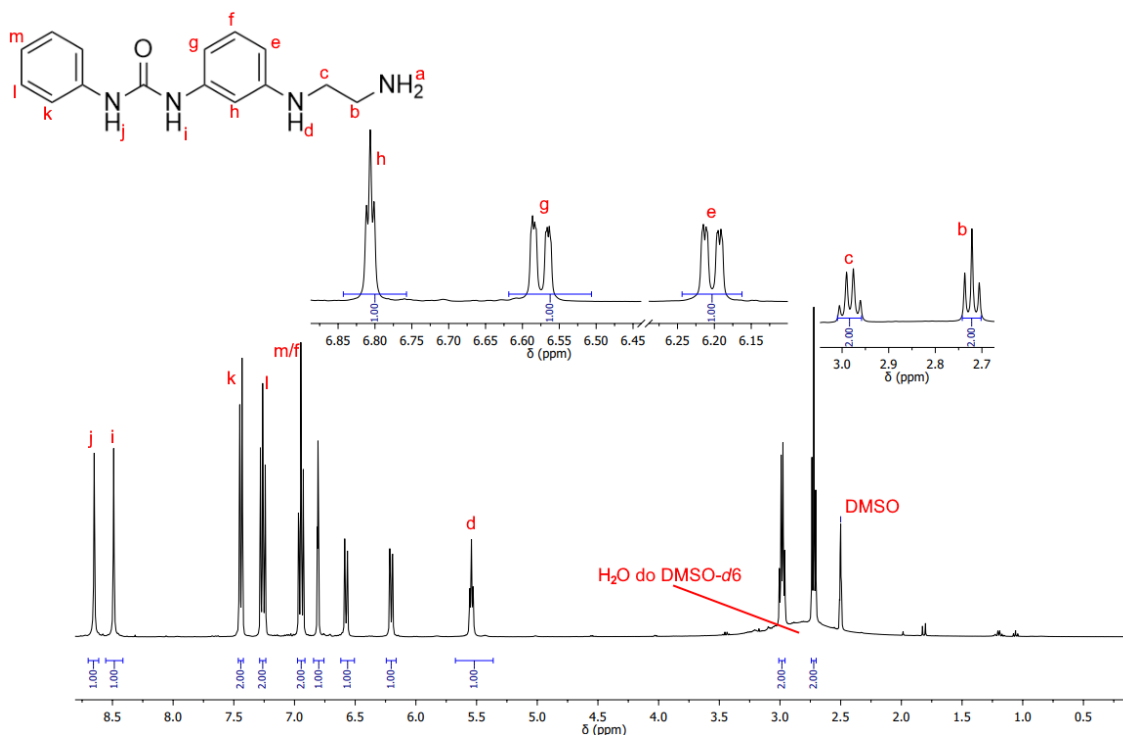
Tentativas de otimização da purificação foram pouco efetivas; com filtrações, solubilizações e recristalizações não proporcionando o produto puro, somente sendo obtido puro por cromatografia. Via cromatografia em coluna foi utilizada como fase móvel uma mistura de diclorometano e metanol na proporção de 9:1, que eluiu o reagente aminofenil-fenilureia (**8**) efetivamente enquanto que o produto ficou retido na coluna. Por fim, adicionou-se 5% de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à fase móvel. Devido à maior basicidade de aminas alifáticas comparado a aminas aromáticas, o produto é retido mais fortemente pela sílica levemente ácida presente na fase estacionária na cromatografia e só após adição de base forte que o produto eluiu efetivamente.

Por análise de espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  é observado o padrão de sinais referentes à difenilureia (Figura 14), com os sinais referente aos  $\text{H}_j$  e  $\text{H}_i$  da ureia em 8,65 e 8,49 ppm respectivamente. Na região de sinais de CH aromáticos é evidente o padrão de fenil monossustituído com o sinal referente à  $\text{H}_k$  como dubleto em 7,44 ppm,  $\text{H}_l$  como um dubleto de dubletos em 7,26 ppm e  $\text{H}_m$  em 6,95 ppm sobreposto junto do sinal referente ao  $\text{H}_f$  do anel dissubstituído. Deste anel, o hidrogênio  $\text{H}_h$  é observado como um tripleto em 6,81 ppm apresentando acoplamento com os hidrogênios  $\text{H}_g$  e  $\text{H}_e$  em 6,57 e 6,20 ppm respectivamente. O sinal em 5,54 ppm representa o hidrogênio de NH e apresenta leve desdobramento devido ao acoplamento com o CH vizinho, este sinal em 2,98 ppm é um quarteto pois o valor



do acoplamento com o NH (Hd) e o Hb, em 2,72 ppm, são bem próximos. O hidrogênio Ha do grupo amino alifático não foi observado no espectro possivelmente devido à forte interação com a água presente no DMSO-*d*<sub>6</sub> utilizado, causando que o sinal fique alargado e deslocado para a banda de água na região entre 3,5 e 2,5 ppm.

**Figura 14** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia (**15**).

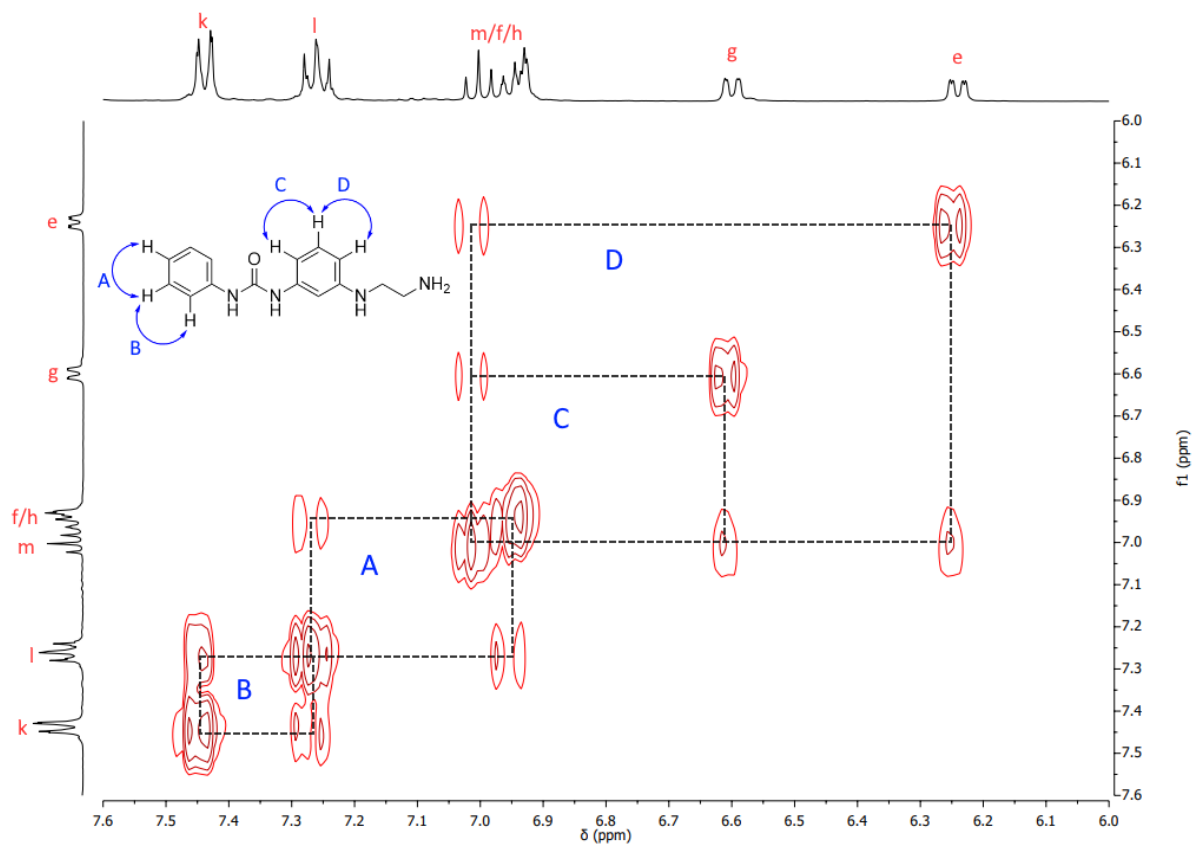


Como mencionado anteriormente, houve sobreposição dos picos referente a Hm e Hf e também observou-se um acoplamento pouco comum entre um hidrogênio de um grupo amino aromático e os hidrogênios do metileno da cadeia espaçadora. Para confirmar estes sinais foi realizada a análise por espectroscopia de RMN bidimensional de COSY com o intuito de observar os acoplamentos desses sinais. Na região de sinais CH aromáticos (Figura 15) é evidente os dois sistemas aromáticos presentes, com o fenil monossustituído apresentando os acoplamentos designados A e B no sinal em *meta* à ureia. Através deste método é possível diferenciar o hidrogênio Hf em *para* à ureia do Hm do anel dissustituído. Para este é possível evidenciar os acoplamentos C e D.

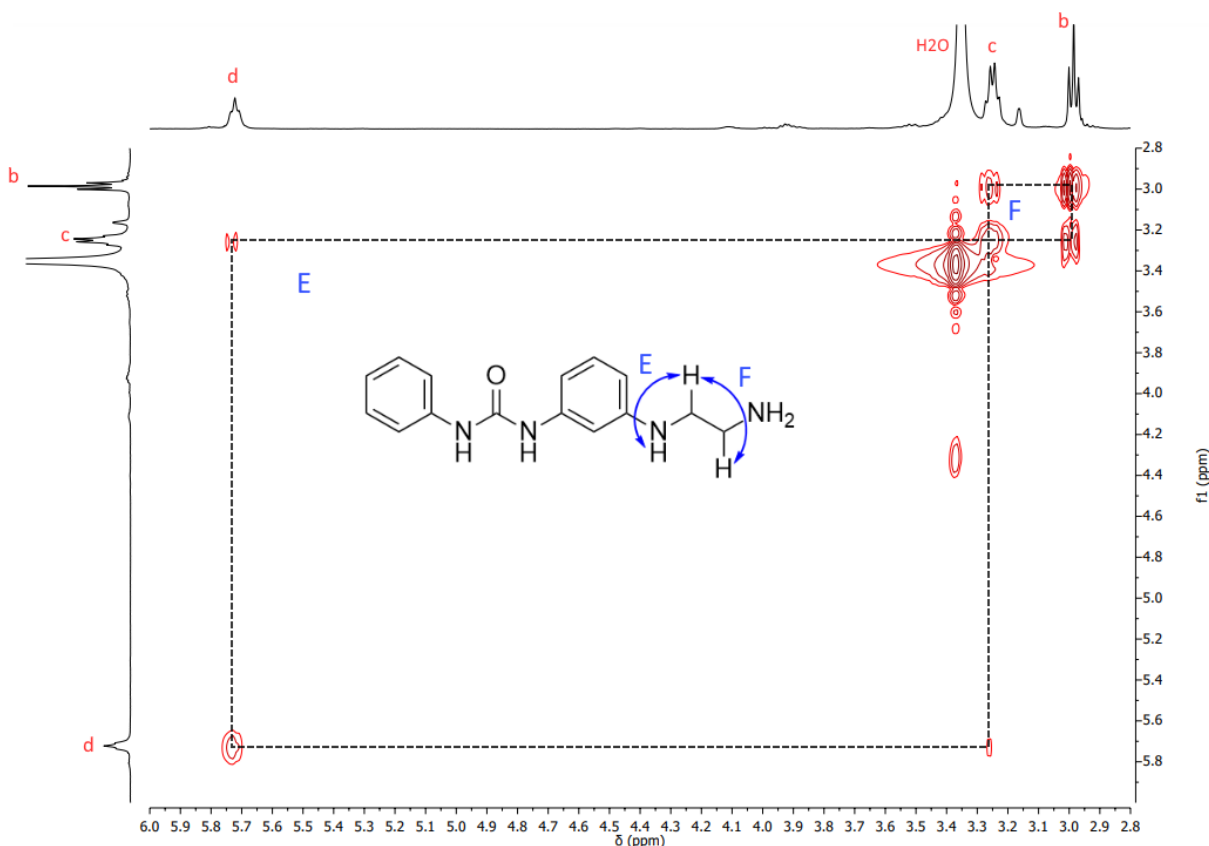
Paralelamente, na região entre 6,0 e 2,8 ppm (Figura 16) confirma-se o

acoplamento entre o sinal de NH aromático com o CH<sub>2</sub> do espaçador sendo diferente do acoplamento deste com o outros CH<sub>2</sub> da cadeia alquílica.

**Figura 15** - Ampliação do espectro de RMN COSY (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia (**15**) na região entre 7,6 e 6,0 ppm.

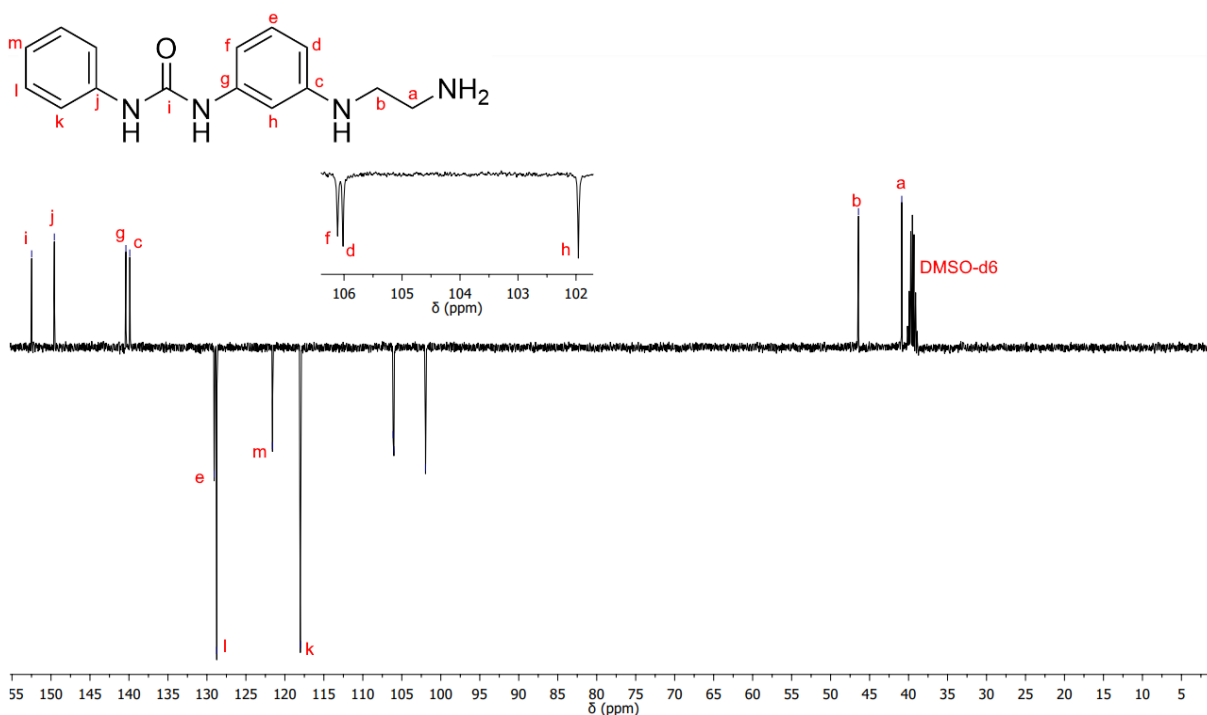


**Figura 16** - Ampliação do espectro de RMN COSY (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia (**15**) na região entre 6,0 e 2,8 ppm.



Por fim, o produto também foi caracterizado por RMN de <sup>13</sup>C APT (Figura 17). O sinal mais desblindado em 152 ppm representa o carbono carbonílico e, seguido do C<sub>j</sub> que está relativamente desblindado em 150 ppm devido ao anel apresentar menor densidade eletrônica. Os sinais C<sub>g</sub> e C<sub>c</sub> presentes em um anel aromático mais eletronicamente ativado apresentam deslocamentos similares de aproximadamente 140 ppm para ambos. Do grupo fenil da ureia é evidente os sinais dos carbonos *orto* e *meta* em 118 e 129 ppm respectivamente devido às relativas intensidades maiores que outros sinais CH similares, enquanto que o sinal do carbono em *para* está presente em 122 ppm. Para o sistema 1,3-dissubstituído, o C<sub>e</sub> é o menos blindado com sinal em 129 ppm, os sinais de C<sub>d</sub> e C<sub>f</sub> estão presentes muito próximos entre si em 106 ppm e o sinal de C<sub>h</sub> apresenta menor deslocamento químico devido à forte doação eletrônica dos substituintes no anel. Por fim os sinais dos metilenos da cadeia alquílica espaçadora estão presentes em 46 e 41 ppm sendo o carbono mais próximo ao anel o menos blindado.

**Figura 17** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-((2-aminoetil)-amino)-fenil)-3-fenilureia (**15**).



### 4.3 Síntese de híbridos adenina-difenilureia

A etapa final na síntese dos híbridos adenina-difenilureia consiste de reações de substituição nucleofílica aromática entre as 1,3-difenilureias, contendo o grupo amino sintetizados anteriormente, e a 6-cloro-9H-purina. Inicialmente, conforme métodos comuns na literatura,<sup>[20][21][22]</sup> foi utilizado n-butanol como solvente junto de trietilamina. Após 24 horas de reação a análise via CCD revelou uma mistura de compostos, estes foram separados via cromatografia em coluna porém só foram observados subprodutos de degradação e os reagentes ainda presentes. Devido à ausência do consumo dos reagentes, foi proposto que a reação não atingiu a energia de ativação necessária para formar os produtos, assim a reação foi testada novamente utilizando um solvente de ponto de ebulição mais alto, o n-pentanol, e o catalisador iodeto de potássio. Por CCD observou-se novamente uma mistura de compostos que foram separados por cromatografia em coluna. Por análise de RMN  $\text{H}^1$  foi concluído que os produtos isolados são provenientes de degradação pois apresentaram espectros drasticamente diferentes do previsto para o produto, foi proposto que os reagentes sofreram ataque nucleofílico pelo solvente n-pentanol

formando carbamatos.

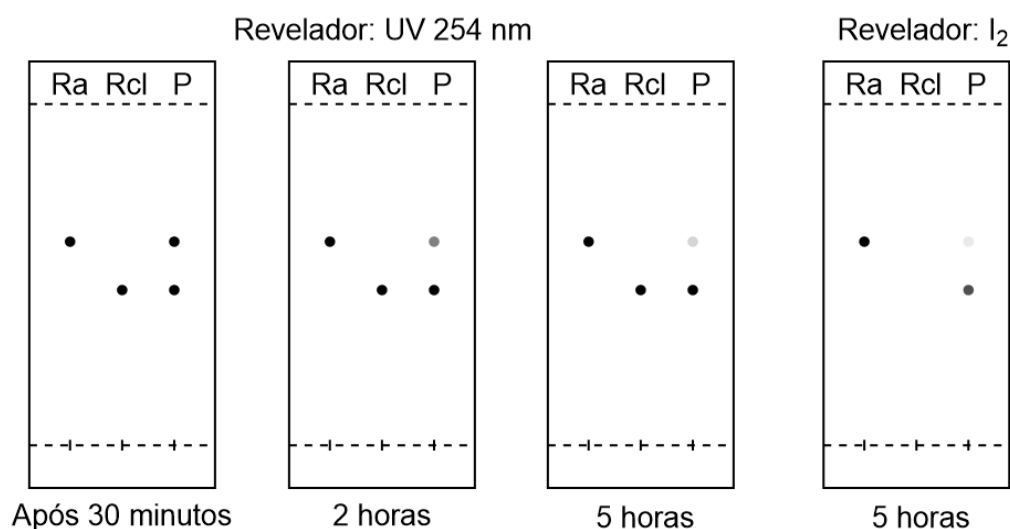
Devido às degradações observadas com o uso de solventes de alto ponto de ebulição, foi testada a reação utilizando as condições mais brandas comumente aplicada para quinazolininas utilizando apenas isopropanol. Inicialmente não foi adicionado catalisador para poder investigar a necessidade de catálise para a formação do produto. Após aproximadamente 2 horas sob refluxo formou-se um precipitado, indicando formação do produto sem a necessidade de catalisador.

#### 4.3.1 Síntese de 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia

Através da utilização do método mencionado anteriormente, foi obtido o produto final híbrido adenina-difenilureia pela reação de substituição nucleofílica aromática entre 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) e 6-cloro-9*H*-purina conduzida em isopropanol sob refluxo sem a necessidade de catalisador. Análise por CCD utilizando luz ultravioleta 254 nm como revelador evidenciou o consumo do reagente 1,3-difenilureia porém não houve surgimento de um novo sinal do produto (Figura 18). Ao utilizar vapor de iodo como revelador foi possível detectar o produto coeluinto com o reagente 6-cloro-9*H*-purina (**9**), já que este reagente não é revelado pelo iodo enquanto que o produto obtido é.

**Figura 18** - Monitoramento por CCD da síntese do híbrido adenina-difenilureia.

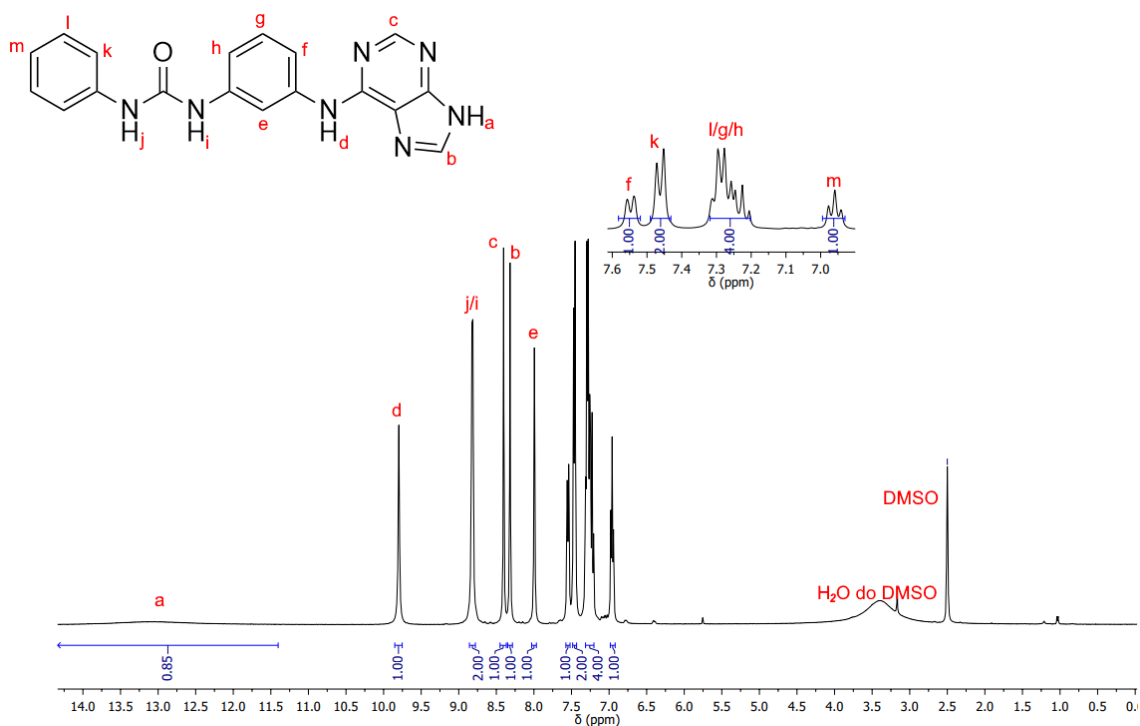
Fase móvel: DCM/MeOH 9:1. Ra: reagente 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia, Rcl: reagente 6-cloro-9*H*-purina, P: bruto reacional.



Assim, como observado por CCD, foi detectado o consumo do 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) em apenas 5 horas indicando o fim da reação. Devido à precipitação do produto, este foi isolado por simples filtração e analisado por RMN  $H^1$ . O produto foi observado porém com contaminação pelos reagentes, sendo assim necessário aprimorar o método de purificação. Inicialmente foi testada a purificação por cromatografia em coluna com fase móvel altamente polar (diclorometano e metanol 9:1) porém a baixa solubilidade do produto nesses solventes dificultou a eluição, levando a perdas altas. Tentativas de recristalização foram ineficazes, provavelmente pela insolubilidade em diversos solventes como diclorometano, álcoois, acetonitrila, THF e acetona. O único método efetivo foi repetir a filtração, porém a quente e com várias lavagens, assim finalmente o produto foi obtido puro após remoção do solvente com um rendimento de 84%.

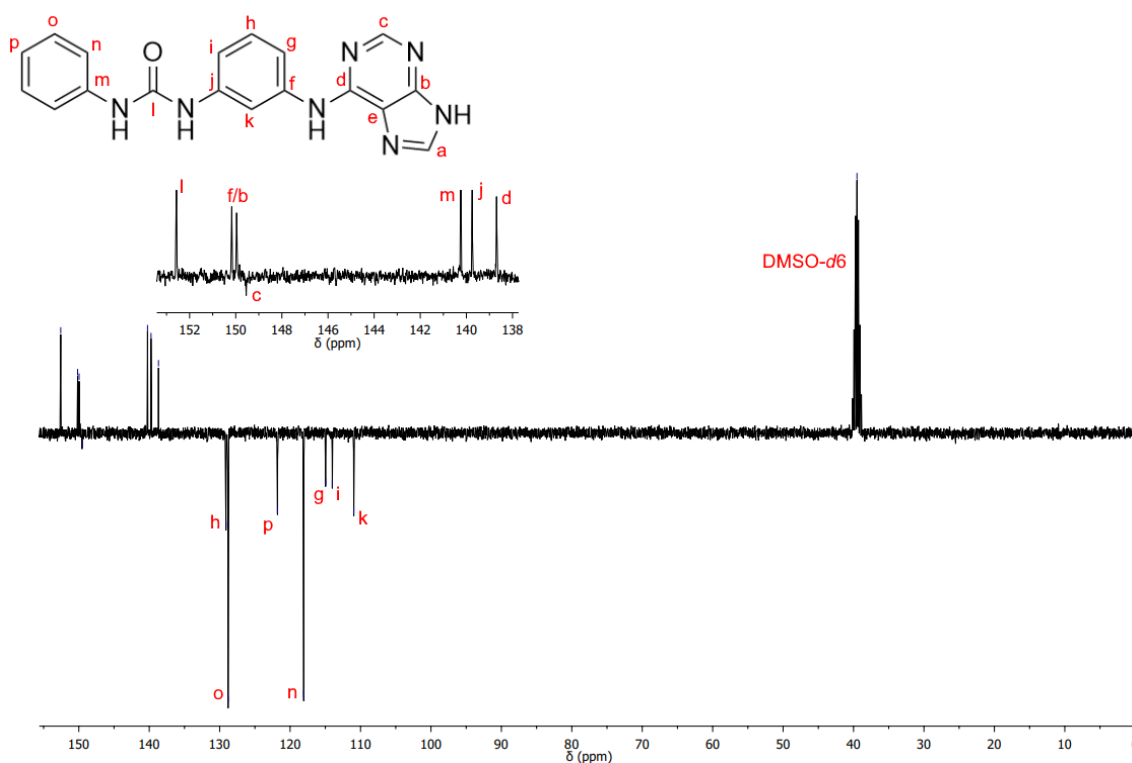
O espectro de RMN  $H^1$  do produto puro permitiu evidenciar a formação desse (Figura 19). Na região entre 14 e 12 ppm há uma banda larga relativa ao  $H_a$  imidazólico alargado devido a interações com a água presente no solvente deuterado. Este sinal é característico da estrutura da purina, dessa estrutura também estão evidentes os sinais  $H_b$  e  $H_c$  em 8,32 e 8,40 ppm. Em 9,80 ppm está presente o sinal referente ao  $H_d$ , deslocado devido à ressonância com o sistema 1,3-dissubstituído e o heterociclo pirimidínico, próxima a este estão os sinais referente ao grupo ureia sobrepostos em 8,8 ppm. Entre 8,1 e 6,8 ppm estão presentes os sinais aromáticos do fenil e do sistema 1,3-dissubstituído. Porém, relativo ao reagente 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**), o efeito de doação de densidade eletrônica é drasticamente diferente pois o grupo  $NH_2$  foi modificado, sendo agora conectado a um heterociclo diminuindo a ressonância entre esse nitrogênio e o sistema 1,3-dissubstituído, ou seja, diminuindo a doação de densidade eletrônica.

**Figura 19** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia (**16**).



Pela análise por espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  APT observa-se a estrutura difenilureia junto de alguns sinais referentes à purina adicionada (Figura 20). Especificamente os carbonos aromáticos Cb e Cd apresentam sinais em 150 e 139 ppm respectivamente, contudo não foi visualizado o sinal referente a Ce ou aos carbonos CH, Ca e Cc. O sinal próximo de 150 ppm pode ser referente ao carbono Cc porém a intensidade é próxima demais ao ruído para poder ser correlacionado conclusivamente, mas é possível que estes sinais ausentes sejam devido a sobreposições ou a altos tempos de relaxamento levando a intensidade muito baixas. O restante dos sinais de carbonos terciários apresenta padrão de intensidade relativas e deslocamentos similar ao encontrado para o reagente 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**).

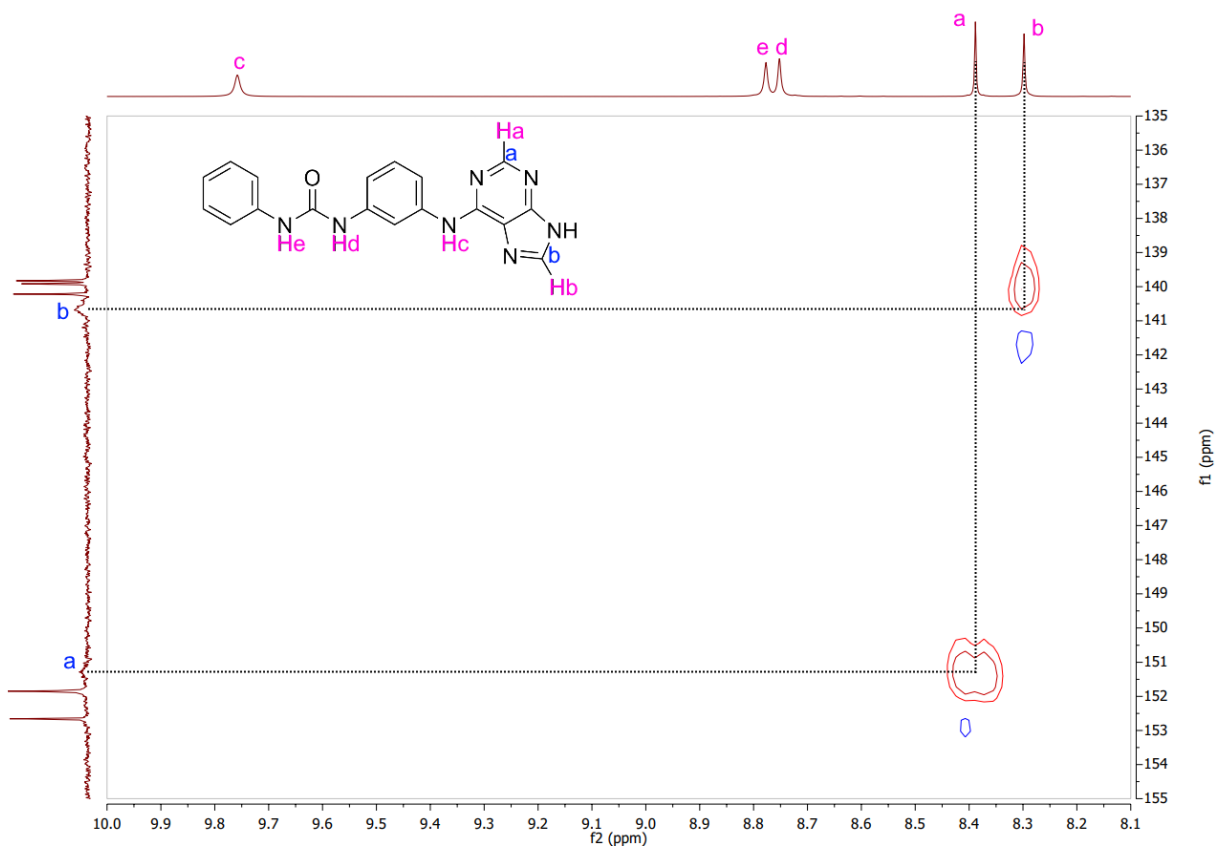
**Figura 20** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia (**16**).



Devido a dificuldade de identificar os sinais de RMN referente à purina, foi feita também a análise do espectro 2D de RMN HSQC produto (Figura 21). Primeiramente, confirma-se que os sinais em 9,8 e 8,8 ppm são referentes a NHs pois não apresentam sinais no espectro, ou seja, não têm acoplamento C-H. Enquanto que os sinais característicos da purina Ha e Hb apresentam acoplamento C-H, através desse acoplamento visível é possível identificar os sinais alargados dos carbonos Ca e Cb da purina em 151 e 141 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  desacoplado utilizado para gerar o espectro bidimensional (Figura A9, Apêndice A). Observa-se que esses sinais estavam ofuscados devido ao tempo de relaxamento alto junto do alargamento dos sinais possivelmente causados por interações dos nitrogênios do heterociclo.



**Figura 21** - Ampliação do espectro de RMN HSQC (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do produto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia (**16**) na região entre 8,1 e 10,0 ppm.



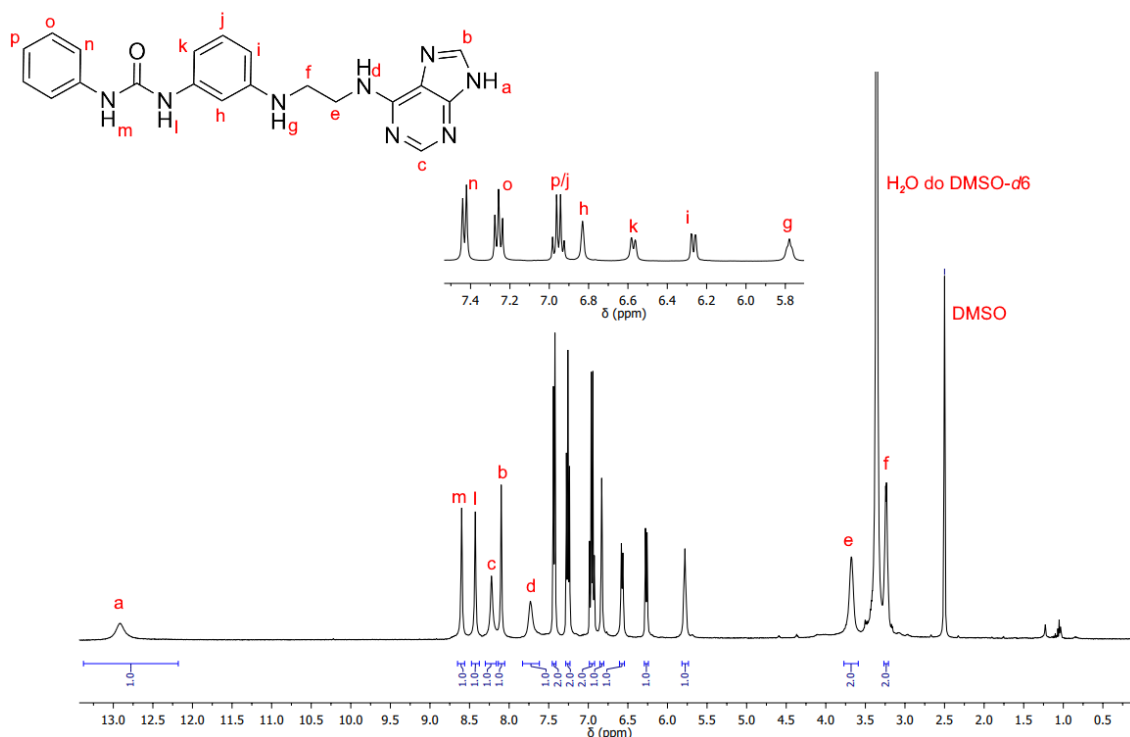
#### 4.3.2 Síntese de 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia

Similarmente à síntese do híbrido sem o espaçador, foi utilizada a condição simples de isopropanol sob refluxo sem catalisador para promover a substituição nucleofílica aromática. Para obter o híbrido com espaçador metilênico, foi utilizado o composto 1-(3-(aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia que contém um grupo amino alifática, um nucleófilo mais reativo que aminas aromáticas como utilizada anteriormente. O aspecto reacional foi similar à síntese do híbrido sem espaçador, com o aparecimento de um precipitado indicando formação do produto e, seguindo o procedimento estabelecido, após 6 horas de reação a mistura foi resfriada à temperatura ambiente, filtrado e lavado. Contudo, a massa de sólido retida na filtração era apenas 10% do rendimento máximo e, por análise de CCD, observou-se a presença do produto no filtrado indicando uma solubilidade parcial do produto em isopropanol. Devido a essa observação, o filtrado foi concentrado e resfriado para precipitar o produto na solução.

Em total o rendimento obtido foi de apenas 18%, sendo muito menor que o rendimento obtido para a síntese de 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia apesar da amina de partida ser mais nucleofílica que a utilizada na reação anterior. Propõe-se que isso se deu devido à diferença de solubilidade entre esses produtos e como isso influencia no equilíbrio da reação. Como o composto **(16)** é insolúvel no isopropanol, ao precipitar este desloca o equilíbrio reacional em direção aos produtos pois dificulta a reação reversa. Enquanto que o composto **(17)** é parcialmente solúvel a quente, assim este não proporciona o mesmo efeito.

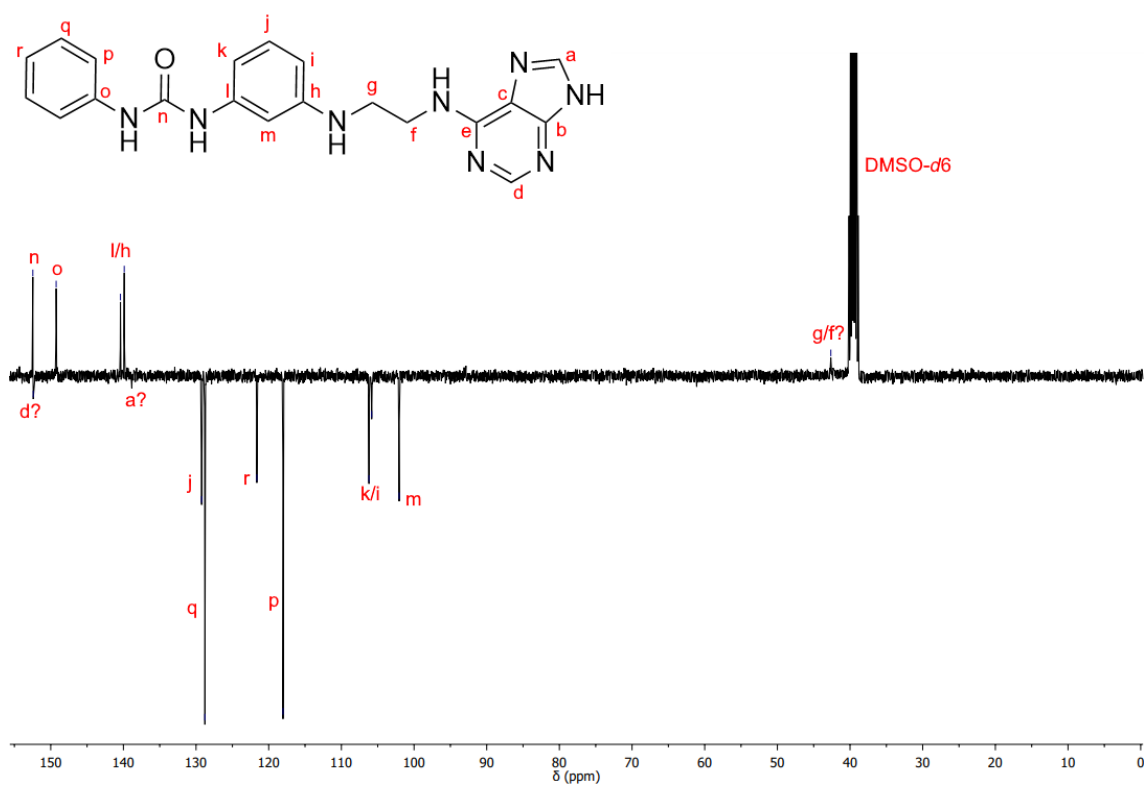
Por espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ , foi possível evidenciar a estrutura do produto formado (Figura 22). A incorporação do núcleo purina está evidente pelo sinal característico imidazólico da purina em 12,9 ppm e com os restantes hidrogênios Hb e Hc em 8,10 e 8,22 ppm respectivamente. Em relação ao espectro do produto 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia, há o surgimento de um novo sinal em 7,73 ppm referente ao NH ligado diretamente na purina que evidencia diretamente a conexão formada na reação. Enquanto que o restante da estrutura do reagente está evidente com os sinais aromáticos referentes ao fenil e ao sistema 1,3-dissubstituído entre 7,5 e 5,8 ppm, com os sinais do grupo ureia em 8,60 e 8,43 ppm, e com os sinais dos  $\text{CH}_2$  do espaçador em 3,67 e 3,24 ppm.

**Figura 22** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia (**17**).



Infelizmente a análise por espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT não foi efetiva para observar a mudança estrutural do produto em relação aos reagentes (Figura 23). Os sinais referentes à estrutura difenilureia apresentam deslocamentos muito próximos dos sinais do reagente 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia (Figura 17), contudo os sinais referentes aos carbonos da cadeia espaçadora não estão claramente aparentes com apenas um possível sinal em 43 ppm de baixa intensidade ou um sinal ofuscado pelo sinal intenso do solvente DMSO. Similarmente ao composto 1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia, os carbonos purínicos não são claramente visualizados no espectro, sendo 2 picos possivelmente correlacionados a Ca e Cd em 139 ppm e 152 ppm porém as intensidades baixas são muito próximas do ruído assim não sendo sinais conclusivos. As baixas intensidades ou ausência dos sinais purínicos podem ser devido ao alto tempo de relaxamento desses núcleos principalmente dos carbonos C0 Cb, Cb e Ce.

**Figura 23** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto 1-(3-(2-(purin-6-il)-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia (**17**).



## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Para o estabelecimento de um rota sintética dos compostos híbridos, primeiramente foram desenvolvidas duas principais metodologias para a obtenção de 1,3-difenilureias não-simétricas. Uma estratégia consiste da transamidação entre fenilenodiamina e *N*-fenilureias catalisada com L-prolina, sendo seletiva para a formação da molécula com apenas 1 grupo ureia. Os reagentes *N*-fenilureias foram facilmente obtidos pela formação do grupo ureia a partir de sal isocianato de potássio e anilinas em solução aquosa. Uma alternativa mais eficiente foi a adição de fenilenodiamina a fenilisocianato com controle estequiométrico para obter o intermediário chave 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) em condições simples de temperatura ambiente e sem uso de catalisadores. A partir dessa 1,3-difenilureia não-simétrica foi obtido outro intermediário chave, o 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia, pela substituição nucleofílica com o bromidrato de 2-bromoetilamina. Por fim, os híbridos finais foram obtidos pela substituição nucleofílica aromática entre os intermediários chave e o reagente 6-cloro-9*H*-purina (**9**).

A partir da rota sintética estabelecida, foram aprimoradas as condições reacionais das etapas que apresentaram rendimentos baixos. A reação de incorporação do grupo espaçador metilênico foi modificada pela utilização de solvente apropriado para a solubilização dos reagentes e pelo aumento da concentração desses, obtendo um rendimento de 57% comparado ao 37% inicial. Enquanto que a etapa final de substituição nucleofílica aromática inicialmente apresentou alta formação de subprodutos ao utilizar condições que envolviam temperaturas de 117°C e 138°C, ao utilizar o isopropanol produto foi obtido facilmente e sem indícios de decomposição ou reações indesejadas.

Assim, em apenas 2 ou 3 etapas sintéticas foram obtidos os compostos híbridos adenina-difenilureia e adenina-aminoetil-difenilureia como planejado, e foram caracterizados por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C evidenciando a formação desses produtos.

Estes compostos já purificados serão futuramente enviados para avaliação de atividade antiproliferativa frente a cultura de células tumorais e, posteriormente, inibição de proteínas quinases como CDKs e VEGFR-2 para testar a sua efetividade como fármacos anticâncer como planejado. Além disso, pela utilização da rota

sintética desenvolvida, como perspectiva futuras, serão sintetizados mais híbridos do núcleo purina e 1,3-difenilureia com diferentes grupos *linkers*.

## 6 PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes utilizados foram obtidos comercialmente em grau para análise (P.A) e, com exceção de acetato de etila, hexano e diclorometano que foram destilados, os solventes utilizados foram obtidos comercialmente em grau para análise (P.A). Foi utilizada sílica gel mesh 60 Å, 70-230 mesh como fase estacionária para cromatografia em coluna, com monitoramento por CCD em lâminas de alumínio Merck® 60 Å com indicador UV 254 nm.

Os pontos de fusão foram medidos com o equipamento Stuart Scientific modelo SMP3. E as análises de espectroscopia de RMN foram feitas com o espectrômetro Bruker 400, operando com campo de 9,3 Tesla e a 400 MHz para  $^1\text{H}$ , COSY e HSQC e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  APT. Os deslocamentos químicos dos espectros estão expressos em ppm ( $\delta$ ) utilizando como referência o sinal do tetrametil silano (0,0 ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz. E as multiplicidades estão representadas pelas abreviaturas de s para singleto, d para dubleto, dd para dubleto de dubletos, t para tripleto e m para multipletto.

### 6.1 Síntese de *N*-fenilureia

Seguindo o procedimento de Tiwari *et. al.*<sup>[w]</sup> a um balão de 25 mL foi adicionado 0,38 mL (4,16 mmol) de anilina e 6 mL de HCl 1M. A mistura foi colocada sob agitação para dissolver a anilina e, após a dissolução e sob agitação, foi adicionado 0,7291 g de KOCN. A mistura tornou-se branca e opaca apresentando a formação de uma espuma. A reação foi então filtrada e lavada com HCl 1M e o produto sólido retido na filtração foi seco e pesado.

Massa obtida: 0,5565 g; sólido branco; rendimento quantitativo.

Rf 0,1 (Hexano/AcOEt 1:1). PF = 149°C

### 6.2 Síntese de *N*-(4-metilfenil)-ureia

Adaptando o procedimento de Tiwari *et. al.*<sup>[w]</sup> a um balão de 25 mL foi adicionado 0,2158 g (2,01 mmol) de *p*-toluidina e 3 mL de HCl 1M. A mistura foi colocada sob agitação para dissolver a anilina e, após a dissolução e sob agitação, foi adicionado 0,3662 g de KOCN. A mistura tornou-se branca e opaca apresentando

a formação de uma espuma. A reação foi então filtrada e lavada com HCl 1M e o produto sólido retido na filtração foi seco, o produto foi purificado por recristalização utilizando solução de Etanol/H<sub>2</sub>O 3:1.

Massa obtida: 59 mg; sólido branco; rendimento = 20%.

Rf 0,1 (Hexano/AcOEt 1:1). PF = 192°C. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,43 (s, 1 H); 7,26 (d, *J* = 8,1 Hz, 2 H); 7,01 (d, *J* = 8,2 Hz, 2 H); 5,79 (s, 2 H); 2,19 (s, 3 H).

RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 156,5; 138,0; 130,3; 129,3; 118,3; 20,5.

### 6.3 Síntese de *N*-(4-bromofenil)-ureia

Seguindo o procedimento de Tiwari *et al.*<sup>[W]</sup> a um balão de 25 mL foram adicionados 0,6915g (4,02 mmol) de 4-bromoanilina e 6 mL de HCl 1M. A mistura foi colocada sob agitação para dissolver a anilina e, após a dissolução e sob agitação, foi adicionado 0,7155 g de KOCN. A mistura tornou-se branca e opaca apresentando a formação de uma espuma. A reação foi então filtrada e lavada com HCl 1M e o produto sólido retido na filtração foi seco, o produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Hexano/AcOEt 3:7).

Massa obtida: 0,1994 g; sólido branco; rendimento = 23%.

Rf 0,1 (Hexano/AcOEt 3:7). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,66 (s, 1 H); 7,37 (s, 4 H); 5,91 (s, 2 H).

RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 155,8; 140,0; 131,3; 119,6; 112,3.

### 6.4 Preparação de *m*-fenilenodiamina (7) para os procedimentos 6.5 e 6.6

A um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 3,2 g (18 mmol) de dicloridrato de *m*-fenilenodiamina, 80 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e 1 mL de H<sub>2</sub>O deionizada. Sob agitação foi adicionado K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> até não ser mais observada a liberação de gás. Por fim foi adicionado MgSO<sub>4</sub> e a mistura foi filtrada. Para o procedimento 6.5, o filtrado foi seco em rota-evaporador e bomba de alto vácuo. Para o procedimento 6.6, o filtrado foi adicionado como solução sem purificação adicional.

### 6.5 Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia (12)

Adaptando o procedimento de Nagarkar *et al.*<sup>[Z]</sup> um balão de 50 mL foi



adicionado 0,4699g (4,34 mmol) de *m*-fenilenodiamina, 0,0175g (0,152 mmol) de L-prolina e 10 mL de THF. Sob agitação, foi adicionado 0,1825g (0,849 mmol) de *N*-(4-bromofenil)-ureia e a mistura foi mantida sob refluxo por 48 horas. Após, a mistura reacional foi seca em rota-evaporador e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (fase móvel: Hexano/AcOEt 1:1 seguido de 4:6)

Massa obtida: 0,018 g; sólido marrom claro; rendimento = 7%.

Rf 0,5 (hexano/AcOEt 3:7). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,70 (s, 1 H); 8,40 (s, 1 H); 7,44-7,39 (m, 4 H); 6,88 (t, *J* = 7,9 Hz, 1 H); 6,75 (t, *J* = 2,0 Hz, 1 H); 6,55 (dd, *J* = 7,9 e 1,1 Hz, 1 H); 6,19 (dd, *J* = 7,9 e 1,2 Hz, 1 H); 5,03 (s, 2 H).

RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*6) δ: 152,2; 149,2; 140,0; 139,3; 131,5; 129,1; 119,9; 112,9; 108,3; 106,2; 103,8.

### 6.6 Síntese de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (8)

Adaptando o procedimento de Hu *et. al.*<sup>[x]</sup> a um balão de 250 mL foi adicionada uma solução de 1,911g (17,67 mmol) de *m*-fenilenodiamina em 80 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e, sob agitação, foi adicionado 1,2 mL (10,98 mmol) de fenilisocianato dissolvido em 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gota-a-gota. Após o fim da adição a mistura foi mantida sob agitação por 2 horas e em seguida filtrada. O sólido retido foi coletado e seco, o produto bruto foi suspenso em EtOH, filtrado e seco em rota-evaporador. Massa obtido: 1,418 g; sólido marrom claro; rendimento = 57%.

Rf 0,2 (DCM/MeOH 9:1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ: 8,55 (s, 1 H); 8,37 (s, 1H); 7,45 (d, *J* = 7,7 Hz, 2 H); 7,27 (t, *J* = 7,9 Hz, 2 H); 6,95 (t, *J* = 7,3 Hz, 1 H); 6,90 (dd, *J* = 8,0 e 7,9 Hz, 1 H); 6,80 (t, *J* = 1,8 Hz, 1 H); 6,57 (dd, *J* = 7,9 e 0,9 Hz, 1 H); 6,20 (dd, *J* = 7,9 e 1,2 Hz, 1 H); 5,03 (s, 2 H).

### 6.7 Síntese de 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia (15)

Adaptando o procedimento de Marshall *et. al.*<sup>[y]</sup> a um balão de 10 mL foi adicionado 0,1556 g (0,76 mmol) de bromidrato de 2-bromoetilamina, 0,3377 g (1,48 mmol) de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (8) e 1,5 mL de acetonitrila e o meio foi mantido sob refluxo por 20 horas. Após, a mistura foi resfriada, vertida em 15 mL de solução de NaOH 4M e adicionado a um funil de separação. As fases foram

separadas e a fase aquosa foi extraída com AcOEt 3x10mL. As fases orgânicas foram coletadas e secas via rota-evaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (fase móvel: DCM/MeOH 9:1 seguido de DCM/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 8:1,95:0,05).

Massa obtida: 0,118 g; sólido amarelo claro; rendimento = 57%.

Rf 0,3 (dcm/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 5:4,95:0,05). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$ : 8,65 (s, 1 H); 8,49 (s, 1 H); 7,44 (d, *J* = 7,6 Hz, 2 H); 7,26 (t, *J* = 7,9 Hz, 2 H); 6,95 (t, *J* = 8,0 Hz, 2 H); 6,81 (t, *J* = 2,0 Hz, 1 H); 6,57 (dd, *J* = 7,9 e 1,1 Hz, 1 H); 6,20 (dd, *J* = 8,1 e 1,5 Hz, 1 H); 5,54 (t, *J* = 5,5 Hz, 1 H); 2,98(q, *J* = 6,0 Hz, 2 H); 2,72 (t, *J* = 6,24 Hz, 2H).

RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$ : 152,5; 149,5; 140,4; 139,9; 129,1; 128,7; 121,6; 118,0; 106,1; 106,0; 102,0; 46,4; 40,9.

### 6.8 Síntese de 1-(3-(purin-6-il)aminofenil)-3-fenilureia (16)

A um balão de 25 mL foram adicionados 0,0775 g (0,5 mmol) de 6-cloro-9*H*-purina, 0,1235 g (0,54 mmol) de 1-(3-aminofenil)-3-fenilureia (**8**) e 5 mL de isopropanol. A solução foi mantida sob refluxo por 5 horas e, em seguida, a mistura foi resfriada, filtrada e o sólido retido foi seco sob alto vácuo e aquecimento a 100°C. Massa obtida: 0,147 g; sólido bege; rendimento = 84%.

Rf 0,5 (dcm/MeOH 9:1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$ : 13,1 (s, 1 H); 9,80 (s, 1 H); 8,82 (s, 1 H); 8,81 (s, 1 H); 8,40 (s, 1 H); 8,32 (s, 1 H); 7,99 (s, 1 H); 7,55 (d, *J* = 7,7 Hz, 2 H); 7,46 (d, *J* = 7,8 Hz, 2 H); 7,31-7,20 (m, 4 H); 6,96 (t, *J* = 7,2 Hz, 1 H).

RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$ : 152,6; 150,2; 150,0; 149,6; 140,2; 139,8; 138,7; 129,1; 128,8; 121,8; 118,1; 115,0; 114,0; 111,0.

### 6.9 Síntese de 1-(3-((2-((purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia (17)

A um balão de 10 mL foram adicionados 89 mg (0,33 mmol) de 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia, 47 mg (0,30 mmol) de 6-cloro-9*H*-purina e 3 mL de isopropanol. A solução foi mantida sob refluxo por 6 horas e a mistura foi resfriada e filtrada e o sólido retido foi seco sob alto vácuo e aquecimento a 100°C. Massa obtida: 21 mg; sólido marrom; rendimento = 18%.

Rf 0,3 (DCM/MeOH 9:1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$ : 12,9 (s, 1 H); 8,60 (s, 1

H); 8,43 (s, 1H); 8,22 (s, 1 H); 8,10 (s, 1 H); 7,73 (s, 1 H); 7,43 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2 H); 7,26 (t,  $J = 7,9$  Hz, 2 H); 6,96 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1 H); 6,94 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1 H); 6,83 (s, 1 H); 6,57 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1 H); 6,27 (dd,  $J = 8,0$  e  $1,4$  Hz, 1 H); 5,78 (s, 1 H); 3,67 (s, 2 H); 3,24 (s, 2 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 152,47; 152,42; 149,26; 140,42; 139,89; 138,85; 129,24; 128,79; 121,6; 118,04; 106,22; 105,84; 102,06; 42,70.

## REFERÊNCIAS

- [1] - Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., Lo Muzio, L. *The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review)*. International Journal of Molecular Medicine 40, 271-280 (2017)  
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3036>
- [2] - Witte, O., Dasgupta, A. & Baltimore, D. *Abelson murine leukaemia virus protein is phosphorylated in vitro to form phosphotyrosine*. Nature 283, 826–831 (1980)  
<https://doi.org/10.1038/283826a0>
- [3] - Attwood, M. M., Fabbro, D., Sokolov, A.V., Knapp, S., Schiöth, H. B. *Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design*. Nat Rev Drug Discov 20, 839–861 (2021) <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00252-y>
- [4] - Parsons, S. J. & Parsons, J. T. *Src family kinases, key regulators of signal transduction*. Oncogene 23, 7906–7909 (2004).  
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208160>
- [5] - Cohen, P., Cross, D., Jänne, P. A. *Kinase drug discovery 20 years after imatinib: progress and future directions*. Nat Rev Drug Discov 20, 551–569 (2021)  
<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00195-4>
- [6] - Asghar, U., Witkiewicz, A. K., Turner, N. C., Knudsen, E. S. *The history and future of targeting cyclin-dependent kinases in cancer therapy*. Nat Rev Drug Discov. 14130-46 (2015)  
<https://doi.org/10.1038/nrd4504>
- [7] - Chaurasiya, A., Wahan, S. K., Sahu, C., Chawla, P. A. *An insight into the rational design of recent purine-based scaffolds in targeting various cancer pathways*. Journal of Molecular Structure 1274, 1 (2023)  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134308>

[8] - Coxon, C. R., et al. *Cyclin-Dependent Kinase (CDK) Inhibitors: Structure–Activity Relationships and Insights into the CDK-2 Selectivity of 6-Substituted 2-Arylamino-purines*. *J. Med. Chem.* 60, 1746–1767 (2017)

<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01254>

[9] - Rajabi, M., Mousa, S. A. *The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment*. *Biomedicines*, 5, 34. (2017) <https://doi.org/10.3390/biomedicines5020034>

[10] - Pavlakovic, H., Havers, W., Schweigerer, L. *Multiple angiogenesis stimulators in a single malignancy: Implications for anti-angiogenic tumour therapy*. *Angiogenesis* 4, 259–262 (2001)

<https://doi.org/10.1023/a:1016045012466>

[11] - Wilhelm, S., Carter, C., Lynch, M. et al. *Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer*. *Nat Rev Drug Discov* 5, 835–844 (2006).

<https://doi.org/10.1038/nrd2130>

[12] - Viktoriya, I., Claudia, A., Ana, E. G., Michele, R., Maria, J. B. *Molecular Hybridization as a Tool for Designing Multitarget Drug Candidates for Complex Diseases*. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 19, 1694 - 1711 (2019)

<https://doi.org/10.2174/1568026619666190619115735>

[13] - Bolognesi, M. L., Cavalli, A. C., *Multitarget drug discovery and polypharmacology*. *ChemMedChem* 11, 1190-1192 (2016)

<http://doi.org/10.1002/cmdc.201600161>

[14] - Rostovtsev, V. V., Green, L. G., Fokin, V. V., Sharpless, K. B. A. *Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective Ligation of Azides and Terminal Alkynes*. *Angew. Chem., Int. Ed.* 41, 2596–2599 (2002)

[https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4)

[4](#)

[15] - Nepovimova, E., Uliassi, E., Korabecny, J., Peña-Altamira, L.E., Samez, S., Pesaresi, A., Garcia, G.E., Bartolini, M., Andrisano, V., Bergamini, C., Fato, R., Lamba, D., Roberti, M., Kuca, K., Monti, B., *Bolognesi, M.L. Multitarget drug design strategy: Quinonetacrine hybrids designed to block amyloid- $\beta$  aggregation and to exert anticholinesterase and antioxidant effects.* J. Med. Chem. 57, 8576-8589 (2014)

<http://doi.org/10.1021/jm5010804>

[16] - Nagarkar, A. G. & Telvekar, V. N. *L-Proline Catalyzed Synthesis of Various N-substituted Urea and Unsymmetrical N,N'-disubstituted Urea.* Letters in Organic Chemistry, 15, 926-930 (2018)

<https://doi.org/10.2174/1570178615666171212145348>

[17] - Curtis, N. J. *N- and O-Alkylations of Nitro-Substituted 1,3-Diphenylureas: Preparations of Propellant Stabilizer Derivatives.* Aust. J. Chem. 41, 585-95 (1988)

<https://doi.org/10.1071/CH9880585>

[18] - Rosa, N. S., Glachet, T., Ibert, Q., Lohier, J. F., Franck, X., Reboul, V. *A Straightforward Synthesis of N-Substituted Ureas from Primary Amides.* Synthesis 52, 2099– 2105 (2020)

<https://doi.org/10.1055/s-0040-1707103>

[19] - Hu, J., Zanca, F., Lambe, P., Tsuji, M., Wijeweera, S., Todisco, S., Mastroianni, P., Shirley, W., Benamara, M., Moghadam, P. Z. & Beyzavi, H. *(Thio)urea-Based Covalent Organic Framework as a Hydrogen-Bond-Donating Catalyst.* ACS Appl. Mater. Interfaces 12, 26, 29212–29217 (2020)

<https://doi.org/10.1021/acscami.0c04957>

[20] - Zatloukal, M., Gemrotová, M., Dolezal, K., Havlíček, L., Spíchal, L., Strnad, M. *Novel potent inhibitors of A. thaliana cytokinin oxidase/dehydrogenase.* Bioorg. Med. Chem. 16, 9268–9275 (2008)

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.09.008>

[21] - Busca, P., McCort, I., Prangé, T. and Le Merrer, Y. *Synthesis of C-Nucleosidic ATP Mimics as Potential FGFR3 Inhibitors*. Eur. J. Org. Chem. 2006, 2403-2409 (2006)

<https://doi.org/10.1002/ejoc.200500999>

[22] - Lanver, A., Schmalz, H.-G. *Microwave-Assisted Amination of a Chloropurine Derivative in the Synthesis of Acyclic Nucleoside Analogues*. Molecules 10, 508-515 (2005) <https://doi.org/10.3390/10020508>

[23] - Z. Wang, X. Wu, L. Wang, J. Zhang, J. Liu, Z. Song, Z. Tang. *Facile and efficient synthesis and biological evaluation of 4-anilinoquinazoline derivatives as EGFR inhibitor*, Bioorg. Med. Chem. Lett. 26, 2589–2593 (2016)

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.04.032>

[24] - Tiwari, L., Kumar, V., Kumar, B. & Mahajan, D. *A practically simple, catalyst free and scalable synthesis of: N -substituted ureas in water*. RSC Adv 8, 21585–21595 (2018)

<https://doi.org/10.1039/C8RA03761B>

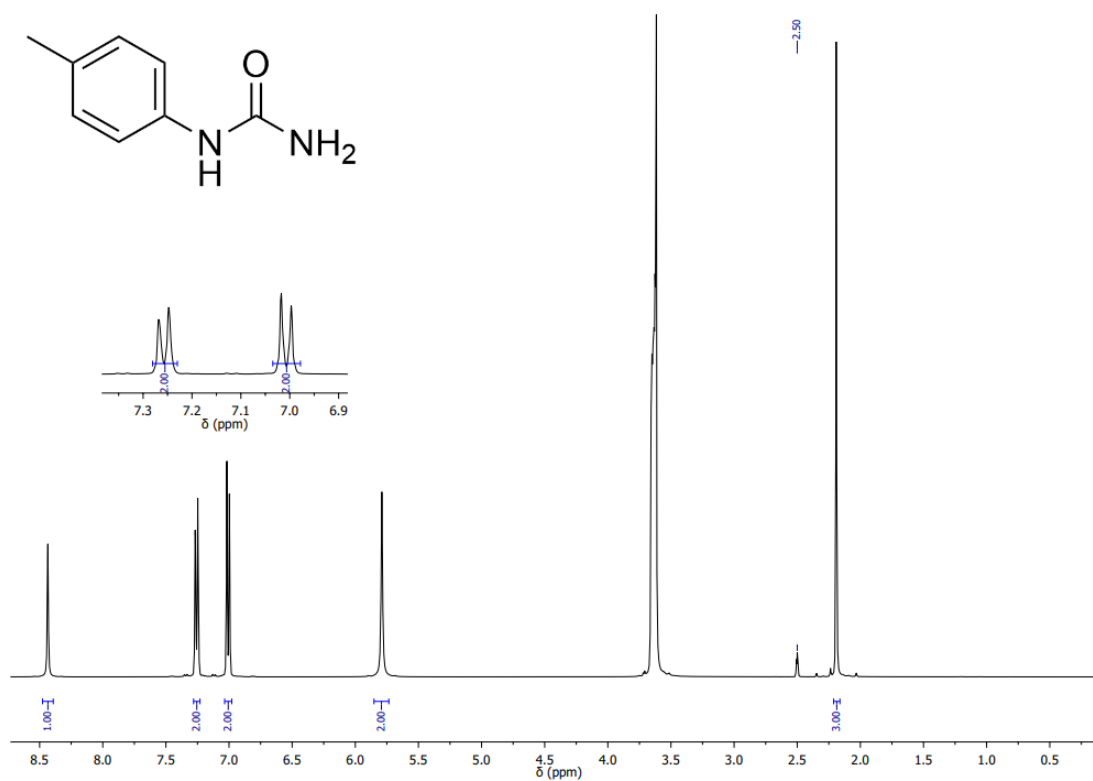
[25] - Marshall, C., Ward, M. F., Skakle, J. M. S. *Steric Variations between the Synthesis of a Stable Chiral C2-Symmetric Diimidazolidinylidene and an Electron-Rich Tetraazafulvalene*. Synthesis, 1040–1044 (2006)

<https://doi.org/10.1055/s-2006-926361>

## APÊNDICE A

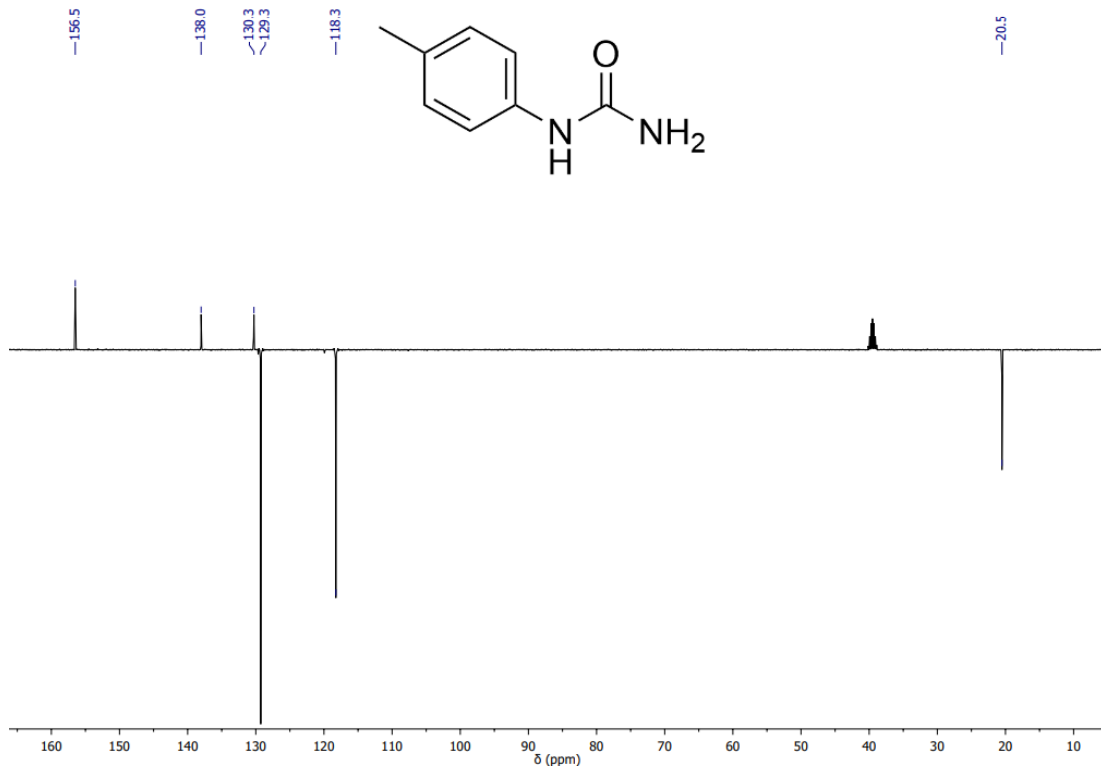
## ESPECTROS RMN

**Figura A1** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto N-(4-metilfenil)-ureia

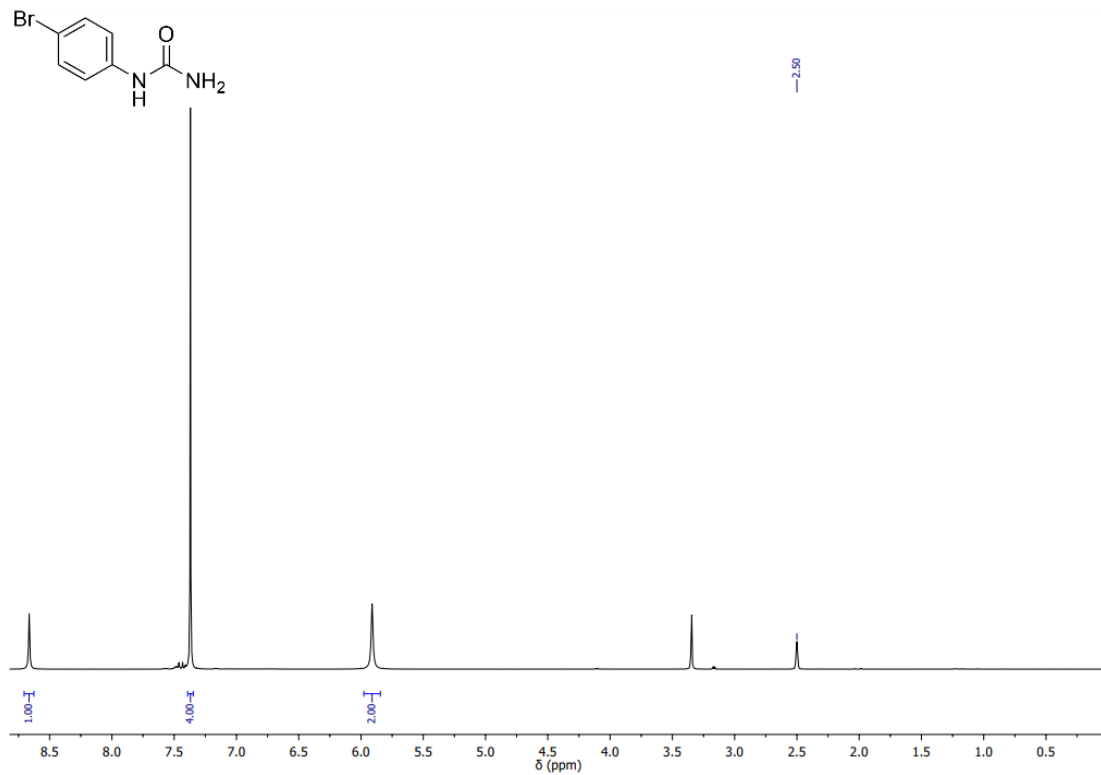




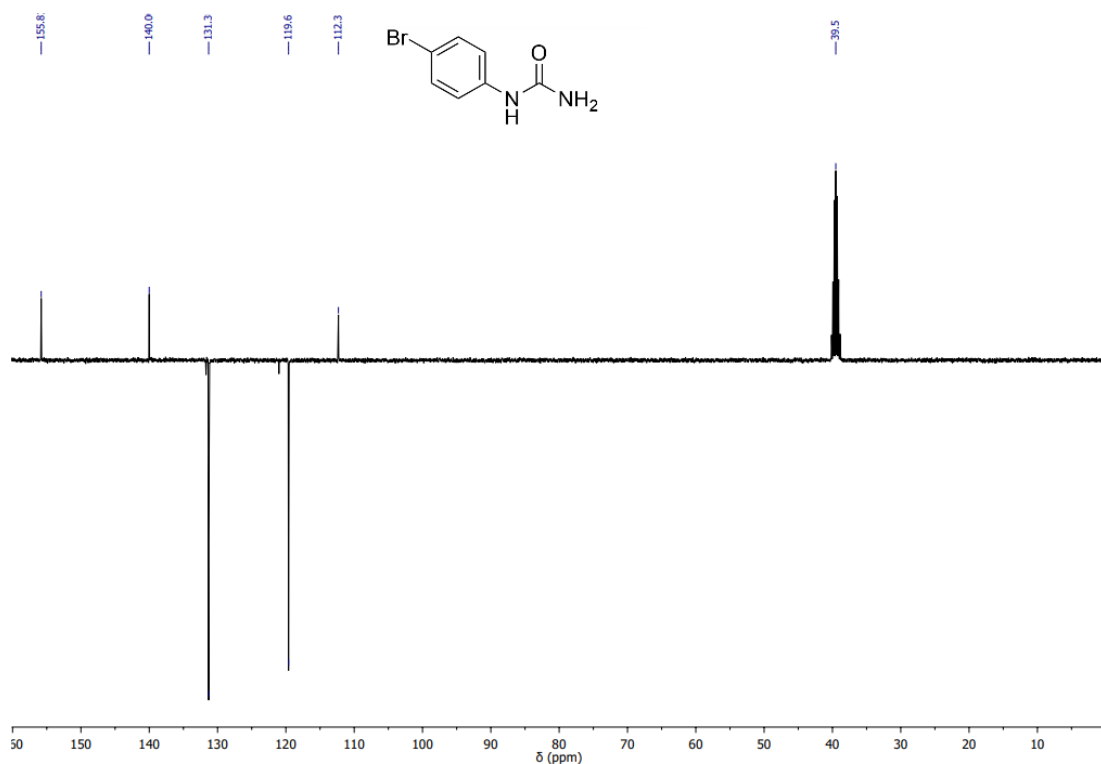
**Figura A2** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto  
N-(4-metilfenil)-ureia



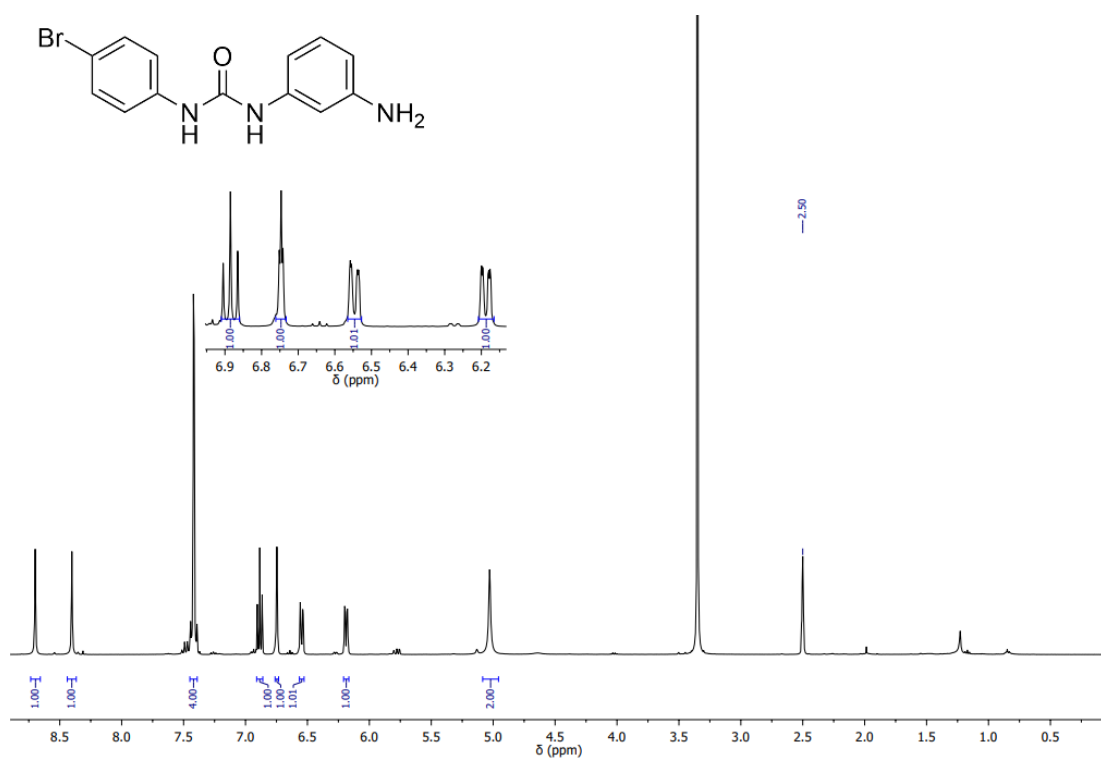
**Figura A3** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto  
N-(4-bromofenil)-ureia



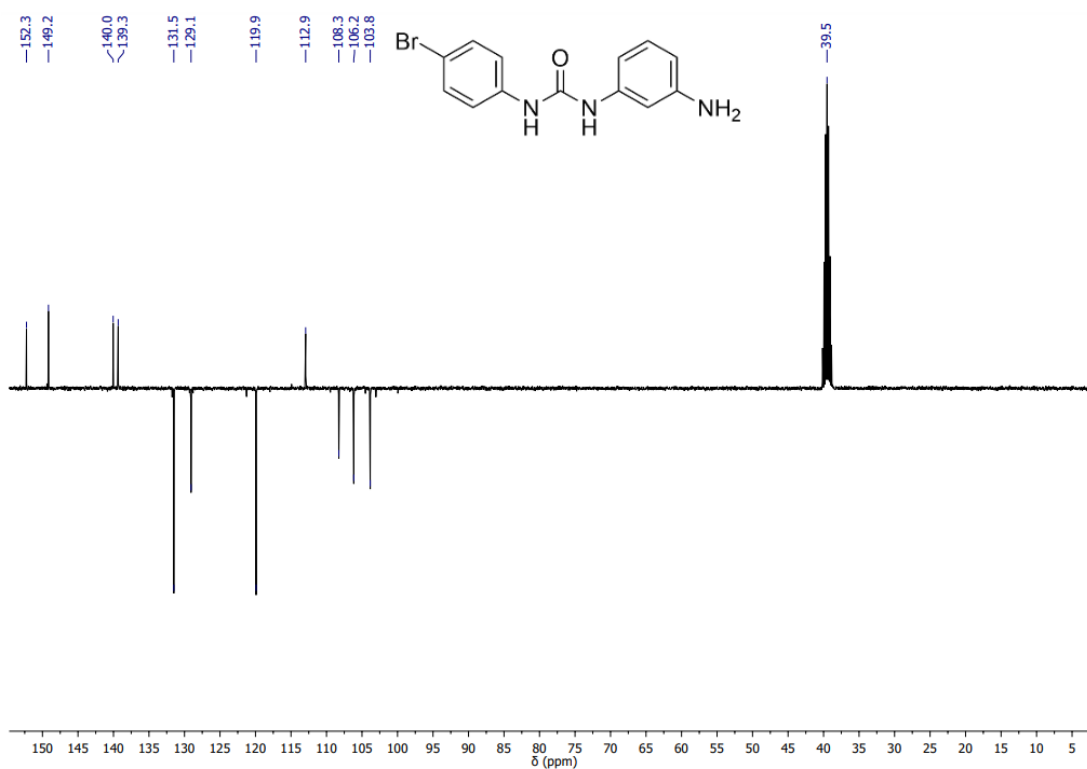
**Figura A4** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto  
N-(4-bromofenil)-ureia



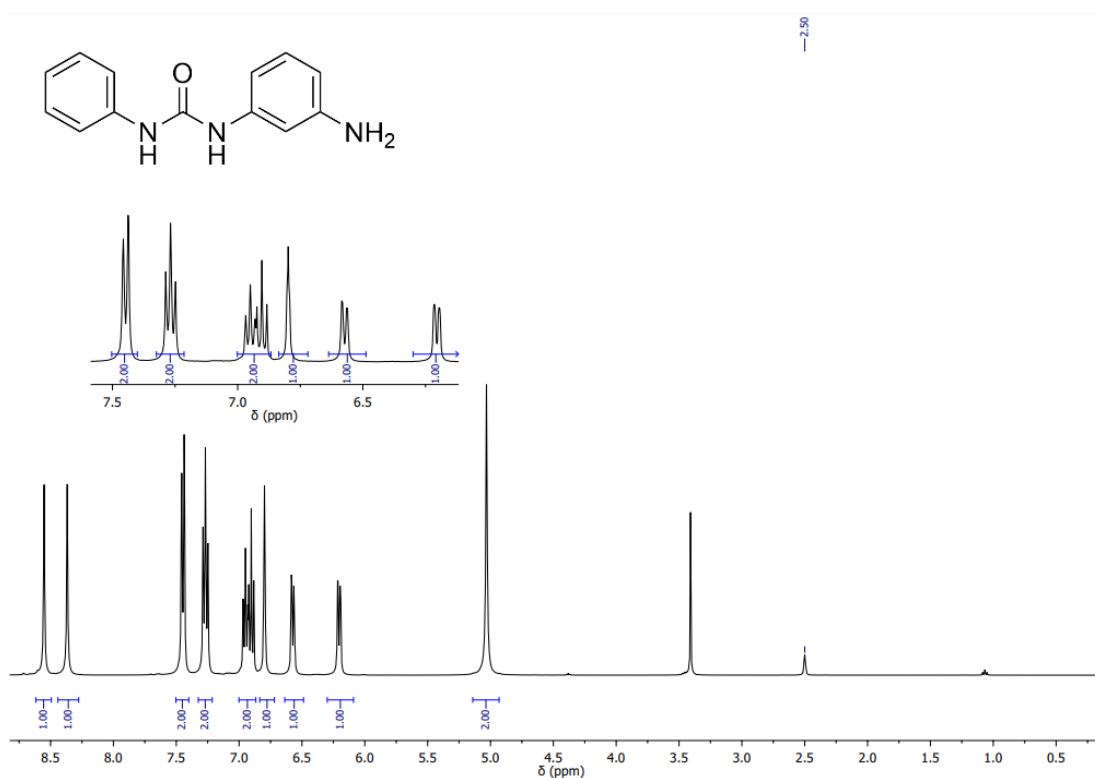
**Figura A5** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do produto  
1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)-ureia



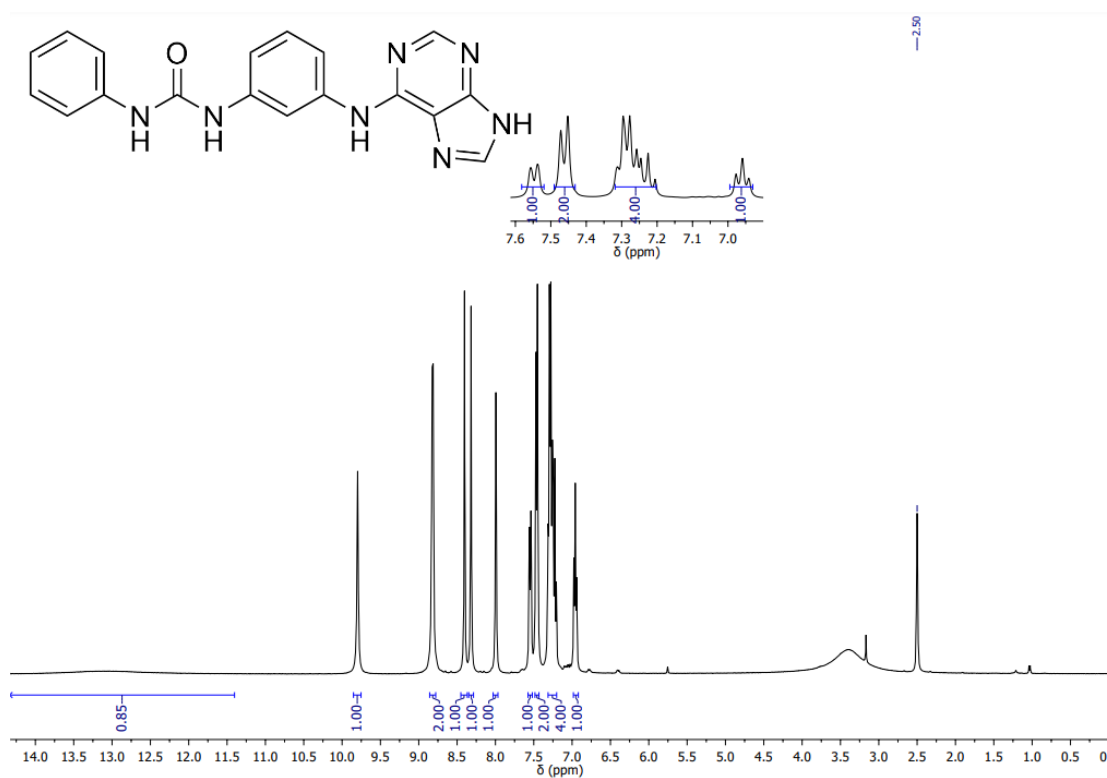
**Figura A6** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-aminofenil)-3-(4-bromofenil)ureia



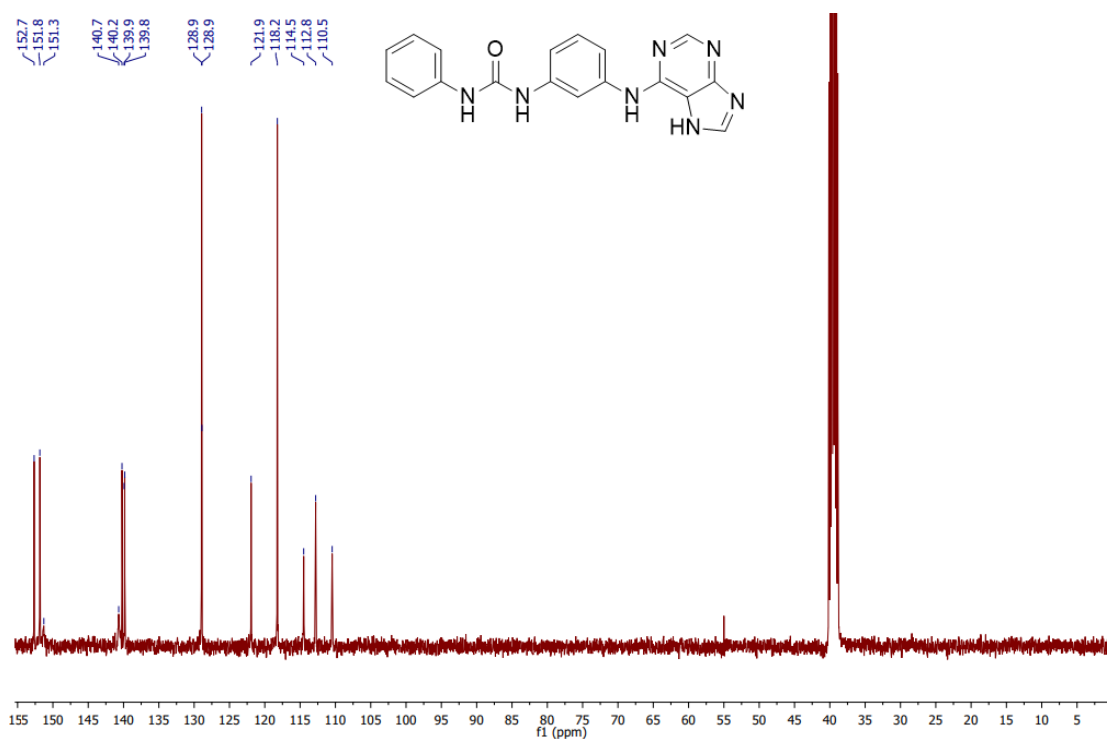
**Figura A7** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-aminofenil)-3-fenilureia



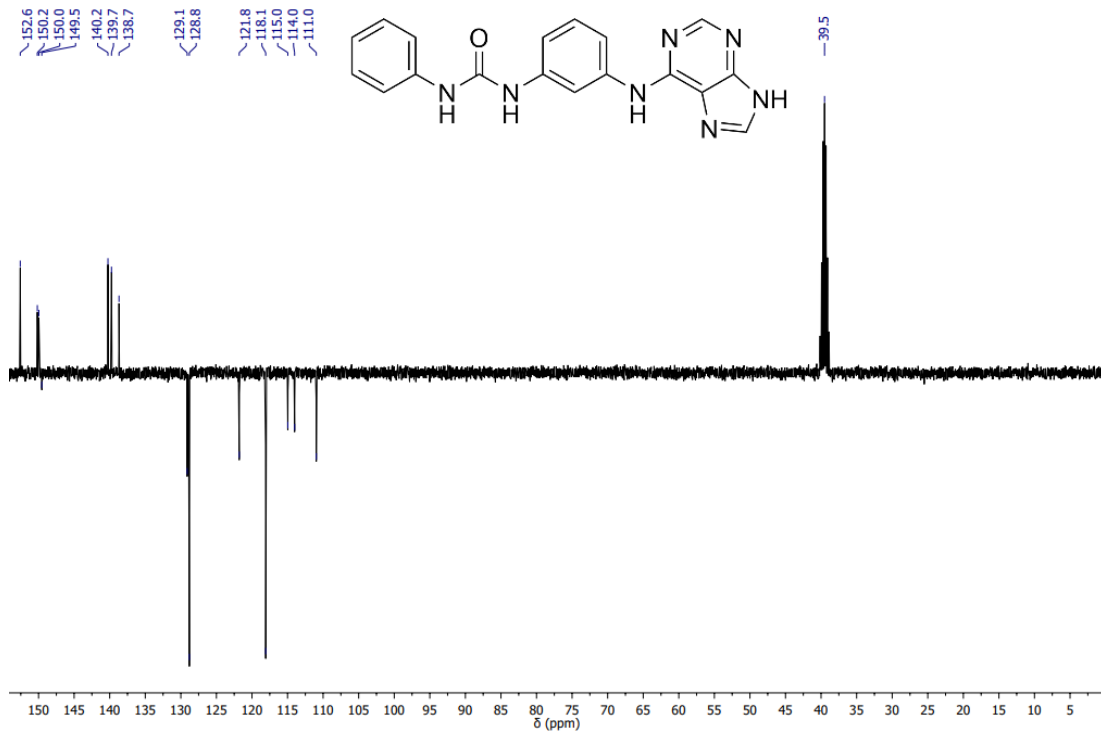
**Figura A8** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia



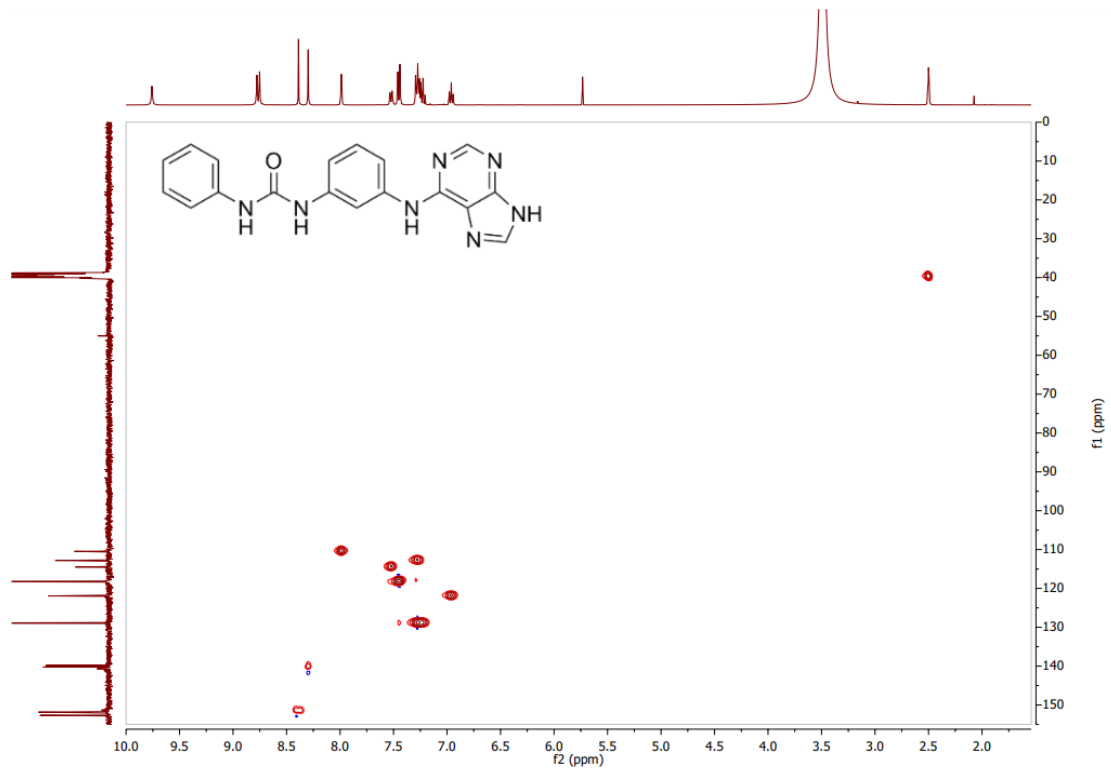
**Figura A9** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia



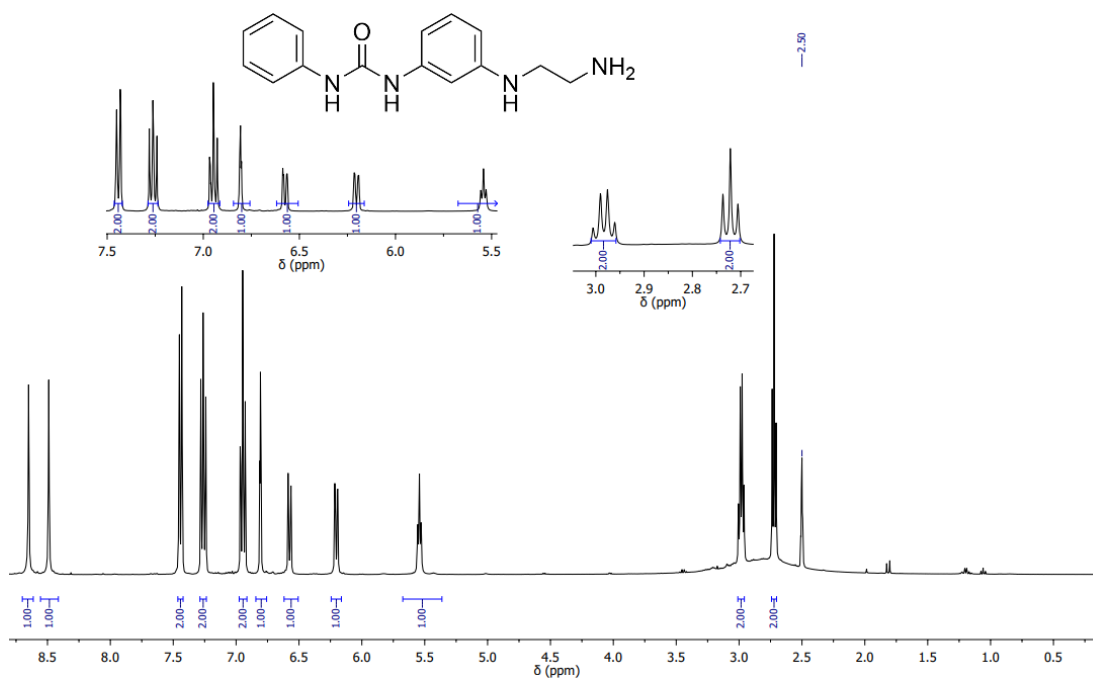
**Figura A10** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia



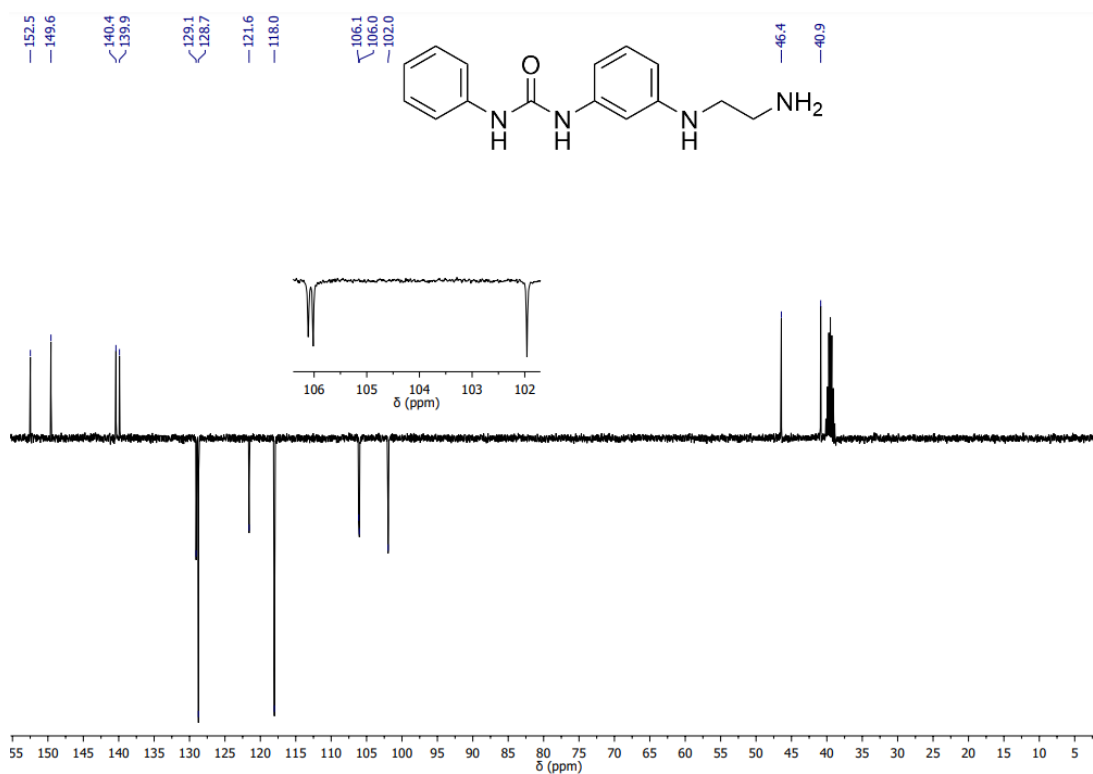
**Figura A11** - Espectro de RMN HSQC (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(purin-6-il)-aminofenil)-3-fenilureia



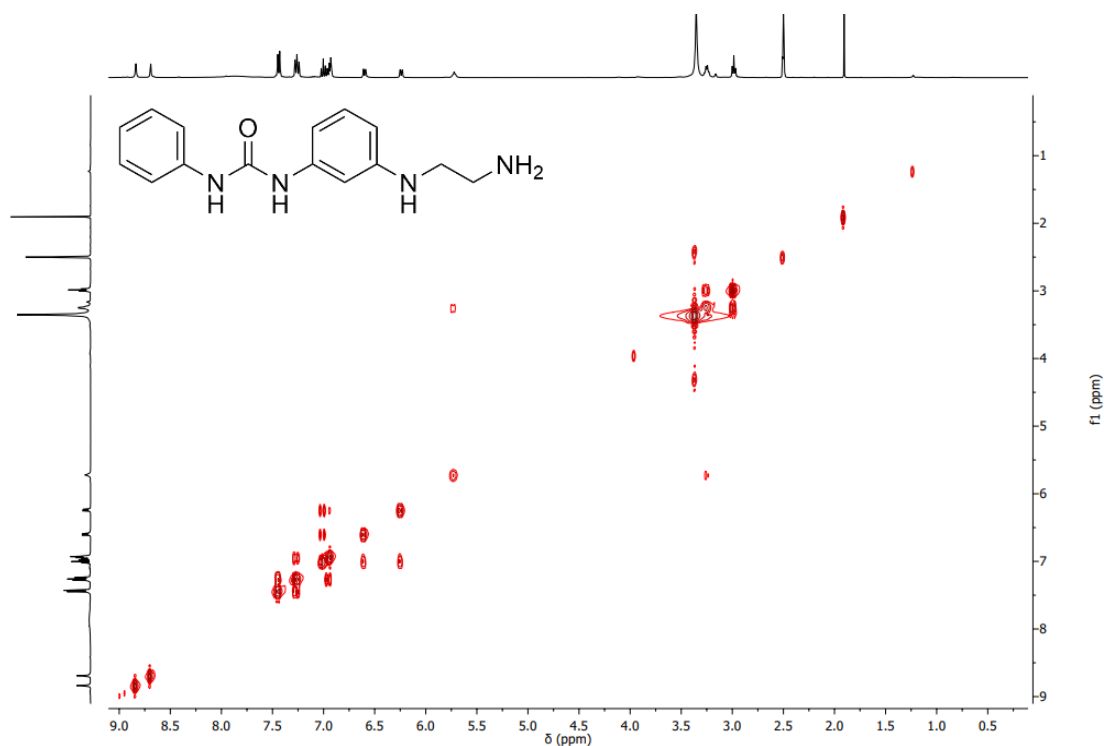
**Figura A12** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia



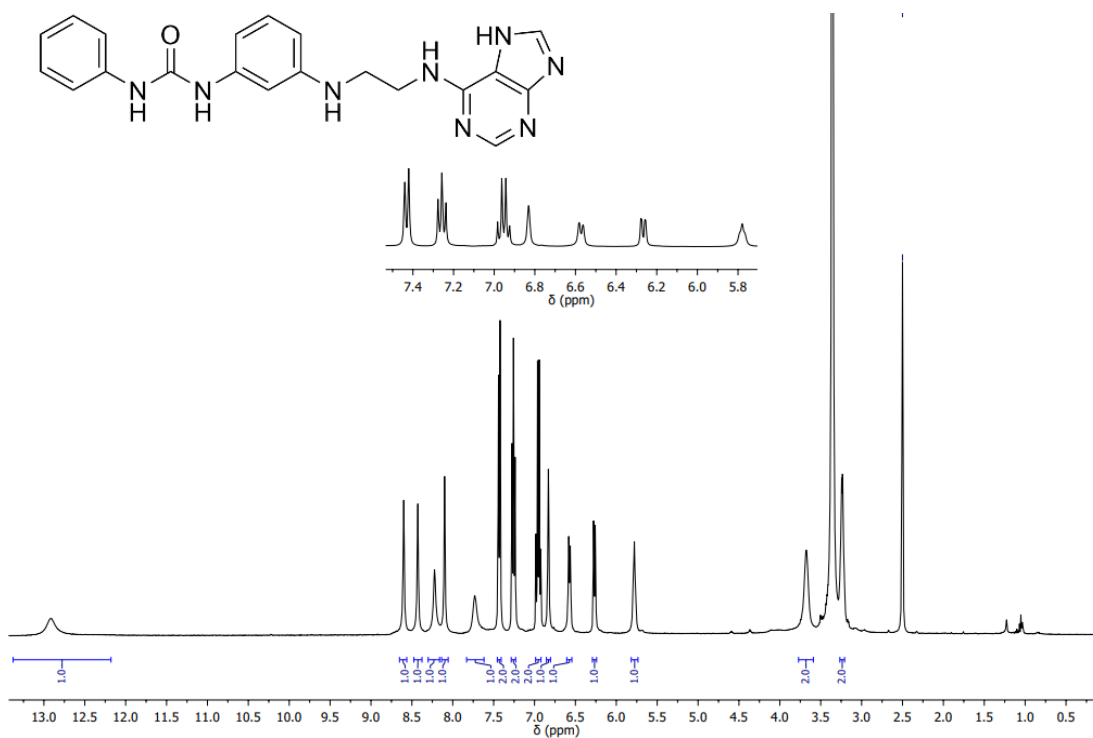
**Figura A13** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia



**Figura A14** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  COSY (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 1-(3-(2-aminoetil)-aminofenil)-3-fenilureia



**Figura A15** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto 1-(3-((2-((purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia



**Figura A16** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  APT (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do produto  
1-(3-((2-((purin-6-il)amino)etil)amino)fenil)-3-fenilureia

