

À minha Mãe

AGRADECIMENTOS

Desejo manifestar o meu agradecimento, de uma forma muito especial, à Professora Doutora Maria Fernanda Proença pela orientação científica desta tese, pelos ensinamentos que muito contribuíram para a minha formação científica, pelo apoio concedido durante a realização deste trabalho e pelas valiosas sugestões para a ultimação do presente texto, e ainda pela amizade com que sempre me distinguiu e pelo incentivo nos momentos de desânimo.

Desejo agradecer à Professora Doutora Maria João Sousa pela orientação científica deste trabalho, pelos conhecimentos científicos que me transmitiu, pela análise crítica da redacção desta tese, bem como pelo apoio, dedicação, disponibilidade e amizade que sempre demonstrou.

Gostaria ainda de expressar o meu agradecimento e gratidão:

À Professora Doutora Olga Coutinho do Departamento de Biologia da Universidade do Minho, pela possibilidade que me deu de enriquecer este trabalho com o estudo da actividade antioxidante e da toxicidade em fibroblastos dos compostos sintetizados, pela disponibilidade prestada e por todas as críticas na revisão do texto.

Ao Mestre João Pedro Silva, pela determinação da actividade antioxidante dos compostos por intermédio do método de descoloração do radical DPPH e método da degradação da desoxirribose, e ainda pela análise da citotoxicidade dos compostos em fibroblastos através do método da libertação da LDH.

À Professora Doutora Ana Paula Bettencourt do Departamento de Química da Universidade do Minho, pela possibilidade que me deu de completar este trabalho com a análise voltamétrica dos compostos sintetizados, por toda a colaboração e pelas sugestões na revisão do texto.

Ao Dr. Francisco Fernandes, pela determinação dos potenciais de pico anódico dos compostos através da técnica de voltametria cíclica.

À Professora Doutora Alice Carvalho e Professora Doutora Alice Dias, por toda a disponibilidade e apoio concedido.

Ao Doutor Magdi Zaki, à Dr.^a Yolanda Álvares e à Dr.^a Carla Correia, por todo o apoio prestado, e ainda pela amizade demonstrada.

À Dr.^a Elisa Pinto, pela disponibilidade na aquisição de espectros de RMN e na realização de análises elementares.

Aos meus colegas e amigos dos laboratórios de Química e Biologia, que de uma forma ou outra, deram o seu contributo.

À Professora Doutora Catarina Resende de Oliveira e Professora Doutora Ana Cristina Rego do Centro de Neurociências de Coimbra (CNC) e à Professora Doutora Rosa Maria Seabra da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto por todos os ensinamentos dados, que contribuíram decididamente para a minha formação científica e pela amizade que sempre me transmitiram.

À FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, pela bolsa SFRH / BD / 3185 / 2000.

À minha família e amigos mais próximos, pela ajuda incondicional e por terem partilhado comigo todos os bons e maus momentos que foi necessário ultrapassar, tendo sempre uma palavra de encorajamento.

À minha Mãe, a quem tudo devo, o meu eterno agradecimento.

RESUMO

Neste trabalho foi feita a síntese e caracterização de novos compostos que resultaram da combinação de unidades fenólicas com moléculas orgânicas, lineares ou cíclicas, contendo sobretudo átomos de azoto.

A reacção de diaminomaleonitrilo com aldeídos fenólicos permitiu gerar as iminas correspondentes que, na presença de dióxido de manganês ciclizaram para gerar 4,5-diciano-2-hidroxifenil-1*H*-imidazoles.

Foram preparadas três (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-hidroxifenil formamidas, usadas como reagentes de partida na síntese de 5-amino-4-ciano-1-hidroxifenilimidazoles e 5-amino-4-cianoformimidoil-1-hidroxifenilimidazoles, na presença de base. Esta última família de compostos foi usada na síntese de:

a) 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-hidroxifenilimidazole, 5,7-diamino-6-ciano-3-hidroxifenil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina e 5-amino-6,7-diciano-3-hidroxifenil-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina, por reacção com malononitrilo, na ausência ou na presença de base;

b) 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-hidroxifenil-1,2-dihidropurina, por reacção com acetona;

c) 6-carbamoil-2,9-dihidroxifenilpurina e 1-carbamoil-6,7-dihidro-3,6-dihidroxifenil-7-imino-imidazo[1,5-*e*]imidazole, por reacção com aldeídos fenólicos, em diferentes condições experimentais.

Foram sintetizadas várias (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(hidroxifenilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas que, na presença de base, sofreram ciclização intramolecular para gerar 6-ciano-8-hidroxifenilpurinas. Por aquecimento com dióxido de manganês, formaram-se 4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxilformimidoil)-2-hidroxifenilimidazoles a partir das mesmas *O*-alquilformamidoximas.

A reacção de malononitrilo com aldeídos fenólicos permitiu gerar hidroxibenzilidenomalononitrilo, 2-amino-3,5-diciano-6-metoxi-4-hidroxifenilpiridina e o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-6-dicianometil-4-hidroxifenil-1,4-dihidropiridina, dependendo do solvente utilizado. A reacção de malononitrilo com salicilaldeído originou uma estrutura dimérica desconhecida, que se supõe corresponder a uma unidade de cromeno substituído.

Os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua capacidade antioxidante pela técnica de voltametria cíclica, pelo método de descoloração do radical DPPH e pelo método de degradação da desoxirribose. A actividade antimicrobiana foi igualmente testada, tendo sido avaliado o efeito dos compostos em duas leveduras, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*, e nas bactérias *Bacillus subtilis* (Gram+) e *Escherichia coli* (Gram-). Dos 93 compostos sintetizados, 74 dos quais são novos, 21 apresentaram actividade antioxidante, 11 apresentaram actividade antifúngica e 5 apresentaram actividade antibacteriana relevantes.

Os compostos constituídos pelas unidades de imidazole, purina ou seus precursores lineares acoplados com as unidades 3,4-di-hidroxifenilo ou 3,4,5-tri-hidroxifenilo apresentam as actividades antifúngicas mais elevadas, possuindo paralelamente valores de potencial de oxidação baixos e actividades antioxidantes elevadas. Adicionalmente, verificou-se que a ciclização potencia a actividade antifúngica dos compostos e que existe um efeito sinérgico entre a unidade fenólica e a azotada.

ABSTRACT

This work reports the synthesis and characterization of new compounds combining phenolic units with linear or cyclic organic molecules, incorporating mainly nitrogen atoms.

The reaction between diaminomaleonitrile and phenolic aldehydes led to the corresponding imines that, in presence of manganese dioxide cyclized to generate 4,5-dicyano-2-hydroxyphenylimidazoles.

Three different (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicyanovinyl)-*N*²-hydroxyphenyl formamidines were prepared and used as starting materials in the synthesis of the corresponding 5-amino-4-cyano-1-hydroxyphenylimidazoles and 5-amino-4-cyanoformimidoyl-1-hydroxyphenylimidazoles, in the presence of base. This last family of compounds was used in the synthesis of:

a) 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicyanovinyl)-1-hydroxyphenylimidazole, 5,7-diamino-6-cyano-3-hydroxyphenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine and 5-amino-6,7-dicyano-3-hydroxyphenyl-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine, by reaction with malononitrile, in the absence or in the presence of base;

b) 6-carbamoyl-2,2-dimethyl-9-hydroxyphenyl-1,2-dihydropurine, by reaction with acetone;

c) 6-carbamoyl-2,9-dihydroxyphenylpurine and 1-carbamoyl-6,7-dihydro-3,6-dihydroxyphenyl-7-imino-imidazo[1,5-*e*]imidazole, by reaction with phenolic aldehydes, under different experimental conditions.

Several (*Z*)-*N*-[1,2-dicyano-2-(hydroxyphenylidenamino)vinyl]-*O*-alkylformamidoximes were synthesized and, in presence of base, cyclized intramolecularly to generate 6-cyano-8-hydroxyphenylpurines. Heating the same *O*-alkylformamidoximes in the presence manganese dioxide, led to the corresponding 4,5-dicyano-*N*-(*N*'-alcoxyformimidoyl)-2-hydroxyphenylimidazoles.

The reaction of malononitrile with phenolic aldehydes generated hydroxybenzylidenemalononitrile, 2-amino-3,5-dicyano-6-methoxy-4-hydroxyphenylpyridine and the triethylammonium salt of 2-amino-3,5-dicyano-6-dicyanomethyl-4-hydroxyphenyl-1,4-dihydropyridine, depending on the solvent that was used. The reaction of malononitrile with salicylaldehyde led to an unknown dimeric structure, possibly a substituted chromene.

The compounds were tested for their antioxidant activity by cyclic voltammetry, by the DPPH discoloration method and by the deoxyribose degradation assay. The antimicrobial activity of all compounds was evaluated against two yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans* and against bacteria *Bacillus subtilis* (Gram+) e *Escherichia coli* (Gram-). From 93 compounds synthesised, 74 are new, 21 presented relevant antioxidant activity, 11 presented antifungal activity and 5 presented antibacterial activity.

The imidazole and purine-based compounds or their linear precursors incorporating 3,4-dihydrophenyl and 3,4,5-trihydroxyphenyl units present the highest antifungal activities, low values for the oxidation potencial and high antioxidant activities. Additionally, the cyclization increased the antifungal activity of the compounds and a synergistic effect between the phenolic and nitrogen units was observed.

ABREVIATURAS

Abreviatura	Nome completo
Ar	grupo aromático
λ	comprimento de onda
BHA	butil-hidroxi-anisol
BHT	butil-hidroxitolueno
cat	catálise
C_{ipso}	carbono <i>ipso</i>
d	duplete
D ₂ O	água deuterada
DAMN	diaminomaleonitrilo
DBU	1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DDQ	2,3-dicloro-5,6-dicianoquinona
DEPT	Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfer (técnica de espectroscopia de RMN)
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	sulfóxido de dimetilo
DMSO-d ₆	sulfóxido de dimetilo deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPPH	radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ECS	elétrodo de calomelanos saturado
E_p	potencial de pico (V)
$E_{p/2}$	potencial a meia altura do pico (V)
Et	grupo etilo
Et ₃ N	triethylamina
f	fraco
FAB	Fast Atom Bombardment (técnica de espectrometria de massa)
HEPES	ácido <i>N</i> -2-hidroxietil-piperazina- <i>N'</i> -2-etanossulfónico
HMBC	Heteroatom Multiple Bond Correlation (Técnica de espectroscopia de RMN)
HMQC	Heteroatom Multiple Quantum Correlation (Técnica de espectroscopia de RMN)
HO [•]	radical hidroxilo
HRMS	High Resolution Mass Spectroscopy (Técnica de espectrometria de massa)
i	intenso
IC ₅₀	concentração inibitória a 50%
IV	Infravermelho
<i>l</i>	largo
LDH	enzima lactato desidrogenase
m	médio (nas descrições dos espectros de IV)
m	multiplete (nas descrições dos espectros de ¹ H RMN)
<i>m</i>	<i>meta</i>
MDA	malonildialdeído
Me	grupo metilo
ml	muito largo
mf	muito fraco

NADH	nicotinamida-adenina dinucleótido reduzida
<i>o</i>	<i>orto</i>
Ox	oxidação
<i>p</i>	<i>para</i>
p.f.	ponto de fusão
Ph	grupo fenilo
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RO•	radical alcoxilo
ROO•	radical peroxilo
ROOH	hidroperóxido lipídico
s	singleto
sl	singleto largo
sml	singleto muito largo
t	triplete
TBA	ácido tiobarbitúrico
TLC	Cromatografia em camada fina
TMS	tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Actividade Antioxidante	1
1.1.1. Considerações gerais	1
1.1.2. Radicais livres.....	2
1.1.3. Oxidação em sistemas biológicos e alimentares	3
1.1.3.1. Oxidação lipídica.....	3
1.1.3.2. Oxidação do ácido desoxirribonucleico (DNA).....	4
1.1.3.3. Oxidação de proteínas	4
1.1.4. Antioxidantes e o seu modo de acção.....	6
1.2. Actividade antimicrobiana	11
1.2.1. Considerações gerais	11
1.2.2. Compostos antifúngicos e seu modo de acção	12
1.3. Métodos usados para a síntese de compostos heterocíclicos de azoto acoplados com anéis aromáticos	15
1.3.1. Sínteses a partir de diaminomaleonitrilo	16
1.3.2. Sínteses a partir de malononitrilo	19
1.4. Avaliação das actividades antioxidante, antimicrobiana e da citotoxicidade em células animais	20
1.5. Objectivos e plano do trabalho	21
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
2.1. Compostos sintetizados a partir do DAMN	23
2.1.1. Síntese.....	23
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	23
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	24
2.1.2. Caracterização analítica e espectroscópica.....	25
2.1.2.1. Dados físicos e analíticos	25
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	25
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	26
2.1.2.2. Espectroscopia de infravermelho	27
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	27
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	28
2.1.2.3. Espectroscopia de ¹ H RMN.....	29
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	29
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	30
2.1.2.4. Espectroscopia de ¹³ C RMN.....	31
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	31
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	33
2.1.3. Actividade antioxidante	34
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	34
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	35
2.1.4. Actividade antimicrobiana.....	37
1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	37
2-Aril-4,5-diciano-1 <i>H</i> -imidazoles	39

2.2. Compostos sintetizados a partir do (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo	40
2.2.1. Síntese.....	41
(Z)- N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -arilformamidinas.....	41
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	42
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles	43
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	44
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	45
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	47
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	49
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	50
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	51
2.2.2. Caracterização analítica e espectroscópica.....	52
2.2.2.1. Dados físicos e analíticos	52
(Z)- N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -arilformamidinas.....	52
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	53
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles	53
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	54
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	54
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	55
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	56
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	57
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	58
2.2.2.2. Espectroscopia de infravermelho	58
(Z)- N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -arilformamidinas.....	58
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	59
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles	60
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	61
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	62
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	63
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	64
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	65
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	66
2.2.2.3. Espectroscopia de ¹ H RMN.....	67
(Z)- N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -arilformamidinas.....	67
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	68
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles	70
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	71
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	72
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	74
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	76
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	77
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	78
2.2.2.4. Espectroscopia de ¹³ C RMN.....	79
(Z)- N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -arilformamidinas.....	79
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	80
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles	81
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	83
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	85
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	87

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	89
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	91
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	93
2.2.3. Actividade antioxidante.....	94
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -arilformamidinas.....	94
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	96
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles.....	97
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	98
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	99
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	100
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	101
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	102
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	102
2.2.4. Actividade antimicrobiana.....	103
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -arilformamidinas.....	103
5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	105
5-Amino-1-aril-4-cianoimidazoles.....	106
9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas.....	107
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas.....	108
3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazoles.....	109
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles.....	111
5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	111
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas.....	112
2.3. Compostos sintetizados a partir das (<i>Z</i>)- <i>N</i> -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	113
2.3.1. Síntese.....	114
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	114
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	115
8-Aril-6-cianopurinas.....	117
2.3.2. Caracterização analítica e espectroscópica.....	119
2.3.2.1. Dados físicos e analíticos.....	119
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	119
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	120
8-Aril-6-cianopurinas.....	122
2.3.2.2. Espectroscopia de infravermelho.....	122
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	122
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	124
8-Aril-6-cianopurinas.....	126
2.3.2.3. Espectroscopia de ¹ H RMN.....	127
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	127
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	131
8-Aril-6-cianopurinas.....	133
2.3.2.4. Espectroscopia de ¹³ C RMN.....	134
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	134
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	139
8-Aril-6-cianopurinas.....	133
2.3.3. Actividade antioxidante.....	144
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas.....	144
2-Aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N</i> '-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	146
8-Aril-6-cianopurinas.....	148

2.3.4. Actividade antimicrobiana.....	148
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkuilformamidoximas	148
2-Aril-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles.....	151
8-Aril-6-cianopurinas	153
2.4. Compostos sintetizados a partir do malononitrilo.....	154
2.4.1. Síntese.....	154
Benzilidenomalononitrilos e derivados	154
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas	157
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	159
2.4.2. Caracterização analítica e espectroscópica.....	160
2.4.2.1. Dados físicos e analíticos	160
Benzilidenomalononitrilos e derivados	160
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	161
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	162
2.4.2.2. Espectroscopia de infravermelho	163
Benzilidenomalononitrilos e derivados	163
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	165
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	166
2.4.2.3. Espectroscopia de ¹ H RMN.....	167
Benzilidenomalononitrilos e derivados	167
Sal de trietilamónio de 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	169
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	171
2.4.2.4. Espectroscopia de ¹³ C RMN.....	172
Benzilidenomalononitrilos e derivados	172
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	174
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	177
2.4.3. Actividade antioxidante.....	179
Benzilidenomalononitrilos e derivados	179
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	180
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	181
2.4.4. Actividade antimicrobiana.....	182
Benzilidenomalononitrilos e derivados	182
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4- dihidropiridinas e piridinas.....	184
2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas.....	185
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	186
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	197
4.1. Técnicas Gerais.....	197
4.1.1. Instrumentação	197
4.1.2. Cromatografia.....	198

4.2. Procedimentos experimentais para a síntese dos compostos	198
4.2.1. Síntese dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos.....	199
1-Amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno	199
1-Amino-1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)eteno	199
1-Amino-1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)eteno	200
1-Amino-1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)eteno	200
1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)eteno	200
1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno	201
4.2.2. Síntese das 4,5-diciano-2-aril-1 <i>H</i> -imidazoles	201
4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	201
4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	202
4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	202
4,5-Diciano-2-(4'-hidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	203
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	203
Tentativa de síntese da 4,5-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole	204
4.2.3. Síntese das (<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -arilformamidinas.....	204
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(4-metoxifenil)formamidina	204
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(2-hidroxifenil)formamidina.....	204
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(3-hidroxifenil)formamidina.....	205
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(4-hidroxifenil)formamidina.....	205
4.2.4. Síntese dos 5-amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles.....	206
5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-metoxifenil)imidazole.....	206
5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(2'-hidroxifenil)imidazole	206
5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(3'-hidroxifenil)imidazole	206
5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-hidroxifenil)imidazole	207
4.2.5. Síntese dos 5-amino-1-aril-4-cianoimidazoles	207
5-Amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole	207
5-Amino-4-ciano-1-(2'-hidroxifenil)imidazole.....	208
5-Amino-4-ciano-1-(3'-hidroxifenil)imidazole.....	208
5-Amino-4-ciano-1-(4'-hidroxifenil)imidazole.....	208
4.2.6. Síntese das 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas	209
6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina	209
6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(2'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina.....	209
6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(3'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina.....	210
6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina.....	210
4.2.7. Síntese das 2-aril-9-aril-6-carbamoilpurinas.....	211
2-(4'-Metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-carbamoilpurina	211
2-(4'-Metoxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina.....	211
2-(2'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina.....	212
2-(3'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina.....	212
2-(4'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina.....	213
2-(3',4'-Dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina	213
Tentativa de síntese da 2-(3',4',5'-trihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina.....	214
4.2.8. Síntese dos 3-aril-6-aril-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5- <i>e</i>]	
imidazoles.....	214
1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(2'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazole.....	214
1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(4'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazole.....	215

1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazole.....	215
4.2.9. Síntese dos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles	216
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole	216
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(2'-hidroxifenil)imidazole.....	216
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(3'-hidroxifenil)imidazole.....	217
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-hidroxifenil)imidazole.....	217
4.2.10. Síntese das 5,7-diamino-3-aril-6-ciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas	218
5,7-Diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina	218
5,7-Diamino-6-ciano-3-(2'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	218
5,7-Diamino-6-ciano-3-(3'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	219
5,7-Diamino-6-ciano-3-(4'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	219
4.2.11. Síntese das 5-amino-3-aril-6,7-diciano-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridinas	219
5-Amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina	219
5-Amino-6,7-diciano-3-(2'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	220
5-Amino-6,7-diciano-3-(3'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	220
5-Amino-6,7-diciano-3-(4'-hidroxifenil)-3 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i>]piridina.....	221
4.2.12. Síntese das (<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- <i>O</i> -alquilformamidoximas	221
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima	221
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima	221
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima	222
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima	222
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima.....	223
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima.....	223
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	223
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	224
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	224
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	225
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	225
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima	226
4.2.13. Síntese dos 2-aril-4,5-diciano- <i>N</i> -(<i>N'</i> -alcoxilformimidoil)imidazoles	226
4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole	226
4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole	226
4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole	227
4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole.....	227
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole	228
4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole	228
4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole.....	229
4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole.....	229
4,5-Diciano-2-(4'-hidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole.....	230
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole.....	230
4.2.14. Síntese das 8-aril-6-cianopurinas.....	231
6-Ciano-8-(4'-metoxifenil)purina.....	231
6-Ciano-8-(2'-hidroxifenil)purina	231
6-Ciano-8-(3'-hidroxifenil)purina	231

6-Ciano-8-(4'-hidroxifenil)purina	232
6-Ciano-8-(3',4'-dihidroxifenil)purina	232
4.2.15. Síntese dos benzilidenomalononitrilos e derivados	233
4-Metoxibenzilidenomalononitrilo	233
3-Hidroxibenzilidenomalononitrilo	233
4-Hidroxibenzilidenomalononitrilo	233
3,4-Dihidroxibenzilidenomalononitrilo	234
3,4,5-Trihidroxibenzilidenomalononitrilo	234
4.2.15.1. Reacção de 2-hidroxibenzaldeído com malononitrilo	235
Síntese do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4 <i>H</i> -cromeno	235
Síntese do dímero de 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo	235
4.2.16. Síntese do sal de trietilamónio das 2-amino-4- <i>aril</i> -3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas	236
Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina	236
Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina	236
Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina	237
Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina	237
Tentativa de síntese do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4'-dihidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina	238
Tentativa de síntese do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4',5'-trihidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina	238
4.2.17. Síntese das 2-amino-4- <i>aril</i> -3,5-diciano-6-metoxipiridinas	239
2-Amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-metoxipiridina	239
2-Amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina	239
2-Amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina	239
2-Amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina	240
2-Amino-3,5-diciano-4-(3',4'-dihidroxifenil)-6-metoxipiridina	240
Tentativa de síntese da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4',5'-trihidroxifenil)-6-metoxipiridina	241
4.3. Avaliação da actividade antioxidante	241
4.3.1. Técnica de voltametria cíclica	241
4.3.2. Método de descoloração do radical DPPH	243
4.3.3. Método da degradação da desoxirribose	244
4.4. Avaliação da actividade antimicrobiana	245
4.4.1. Actividade antifúngica	246
4.4.2. Actividade antibacteriana	247
4.5. Avaliação da citotoxicidade em células animais	248
4.5.1. Método da libertação da LDH	248
5. BIBLIOGRAFIA	249
ANEXO	255

1. INTRODUÇÃO

1.1. Actividade Antioxidante

1.1.1. Considerações gerais

A síntese e caracterização de novos antioxidantes é uma área de grande importância e interesse, principalmente devido à sua potencial aplicação na indústria alimentar e farmacêutica [1].

Nos sistemas alimentares, os antioxidantes endógenos conferem uma certa protecção contra a oxidação. Contudo, estes antioxidantes são geralmente destruídos durante o processamento e/ou armazenamento do produto, tornando necessária a adição de antioxidantes exógenos. Os antioxidantes exógenos retardam efectivamente o início da oxidação nos produtos alimentares. De facto, estes antioxidantes têm-se tornado um grupo indispensável de aditivos alimentares principalmente devido às suas propriedades únicas de conservação dos produtos alimentares sem alterarem as qualidades sensoriais ou nutricionais do alimento.

O estudo de antioxidantes é, nos dias de hoje, um campo essencial na síntese e estudo de compostos com actividade farmacológica [2, 3, 4, 5]. Os antioxidantes têm um papel importante na prevenção e/ou desenvolvimento de várias patologias degenerativas. Deste modo estão a decorrer estudos para determinar se os antioxidantes podem ser usados na medicina preventiva e na terapêutica, em muitas doenças incluindo doenças cardiovasculares, cancro, artrite, isquémia cerebral, doenças de Parkinson e de Alzheimer e mesmo no processo normal de envelhecimento.

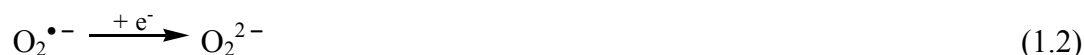
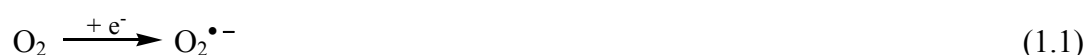
Devido à preocupação sobre efeitos deletérios eventualmente causados pelos antioxidantes clássicos, um trabalho extensivo está a ser conduzido para procurar novos compostos que possam ser usados para substituir os antioxidantes potencialmente tóxicos. Vários antioxidantes, tais como, o butil-hidroxitolueno (BHT) e o butil-hidroxi-anisol (BHA) começam a ter um uso restrito devido à sua toxicidade [1].

Como resultado, há todo o interesse tanto na indústria alimentar, como na medicina preventiva e terapêutica no desenvolvimento de antioxidantes eficientes e seguros.

1.1.2. Radicais livres

Para avaliar a importância da actividade antioxidante é essencial conhecer o mecanismo de formação de radicais livres e a subsequente degradação dos componentes dos sistemas biológicos. Os radicais livres, originados por ganho ou perda de um electrão ou mesmo por ruptura homolítica de uma ligação covalente, são espécies que contêm um ou mais electrões desemparelhados e, como tal, são altamente reactivos [1, 6].

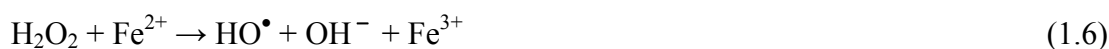
A molécula de oxigénio é considerada um radical livre, na medida em que apresenta dois electrões desemparelhados localizados em diferentes orbitais antiligantes, permitindo-lhe reagir com outros radicais. Se um electrão é adicionado à molécula de oxigénio no estado fundamental, ele deve então entrar numa das orbitais antiligantes produzindo, deste modo, o radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$). A adição de mais um electrão ao radical superóxido produz, então, o anião peróxido (O_2^{2-}). Nos sistemas biológicos, o produto da redução do oxigénio por adição de dois electrões é o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), enquanto o produto da reacção por adição de quatro electrões é a água. Estas reacções estão descritas sumariamente nas equações a seguir representadas (eq. 1.1-1.4). Nos sistemas biológicos, a redução do oxigénio molecular a água inicia-se com formação do radical superóxido, prossegue via formação do anião peróxido, sendo finalmente transformado em água; os electrões adquiridos provêm da cadeia transportadora de electrões na mitocôndria e bactérias.



O radical superóxido tem reactividade moderada e, em geral, a lesão provocada nos sistemas biológicos por este radical é, provavelmente, devido à sua conversão, noutras espécies mais reactivas [3, 7].

O papel do ferro na iniciação das reacções de oxidação tem sido examinado em vários sistemas [4, 8]. O ião Fe^{3+} pode iniciar as reacções de oxidação desde que um agente redutor esteja presente para reduzir o Fe^{3+} a Fe^{2+} . Em muitos casos, o radical superóxido pode actuar como o agente redutor, embora outros agentes redutores, como

o ascorbato, possam, também reduzir o Fe^{3+} . Quando o Fe^{3+} é reduzido pelo radical superóxido, o Fe^{2+} originado pode reagir com o peróxido de hidrogénio dando origem ao radical hidroxilo e regenerando o Fe^{3+} , segundo a reacção de Haber-Weiss abaixo descrita (eq. 1.5-1.6):



Os radicais hidroxilo podem, também, ser formados directamente a partir da reacção do ião Fe^{2+} com o H_2O_2 pela reacção de Fenton (eq. 1.6).

O radical hidroxilo é o radical mais reactivo que se conhece, pois ataca e danifica quase todas as moléculas existentes nos sistemas biológicos [4].

1.1.3. Oxidação em sistemas biológicos e alimentares

Nos sistemas biológicos, os radicais livres podem ser produzidos através dos processos metabólicos normais, do metabolismo xenobiótico e da exposição a radiações ionizantes. Podem ser produzidos na membrana plasmática, componentes solúveis do citosol, mitocôndrias, retículo endoplasmático, membrana nuclear e peroxissomas [1, 6].

Na indústria alimentar, são libertados iões de ferro durante o processamento dos alimentos (principalmente carnes) que podem catalisar a produção de radicais hidroxilo [9]. Os radicais hidroxilo podem também ser gerados nos alimentos irradiados para esterilização ou prevenção da germinação.

Os radicais livres podem atacar biomoléculas, nomeadamente lipídios, DNA e proteínas, alterando as suas estruturas e conseqüentemente as suas funções [6].

1.1.3.1. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é um processo autocatalítico mediado por metais de transição residuais, irradiação, calor ou por uma espécie suficientemente reactiva, como por exemplo, o radical hidroxilo que exista na amostra [10, 11]. Deste modo, o processo de oxidação lipídica pode ser iniciado por Fe^{2+} , pois este, através da reacção de Fenton,

pode levar à produção do radical hidroxilo. Sob condições homeostáticas normais o ferro está ligado a proteínas mas em situações patológicas pode haver libertação deste metal e o aparecimento consequente das suas propriedades pró-oxidantes [11, 12]. O mecanismo da reacção de oxidação lipídica pode ser dividido em três passos distintos: iniciação, propagação e termo. As reacções de iniciação têm lugar por subtracção de um átomo de hidrogénio a uma molécula de ácido gordo poliinsaturado (R) por um radical livre, produzindo um radical lipídico (R^\bullet) (Fig. 1.1). Na etapa de propagação, o radical lipídico reage com o oxigénio produzindo o radical peroxilo (ROO^\bullet), o qual reage com outras moléculas produzindo outros radicais lipídicos e hidroperóxidos (ROOH). Estas reacções são cíclicas, finalizando quando ocorre a etapa de terminação. Nesta etapa, os vários radicais lipídicos ligam-se formando produtos não radicalares. Como resultado do processo de oxidação lipídica, os ácidos gordos poliinsaturados sofrem degradação, produzindo moléculas de maior peso molecular e várias moléculas de cadeia curta de natureza cetónica, aldeídica, ácidos orgânicos ou hidrocarbonetos com toxicidade para os seres vivos [1, 6]. A formação do malonildialdeído (MDA) é frequentemente utilizada como parâmetro de quantificação da oxidação lipídica [13].

1.1.3.2. Oxidação do ácido desoxirribonucleico (DNA)

Os radicais livres, especialmente o radical hidroxilo, oxidam o DNA provocando mutagénese, carcinogénese e morte celular [3]. O ataque do radical HO^\bullet ao DNA provoca várias modificações químicas nesta macromolécula, tal como a conversão da adenina em 8-hidroxi-adenina e a guanina em 8-hidroxi-guanina, as quais são excretadas na urina na forma 8-oxo-adenina e 8-oxo-guanina (Fig. 1.2) [14, 15].

1.1.3.3. Oxidação de proteínas

Os radicais livres podem oxidar as proteínas e modificar os aminoácidos, por exemplo, a histidina pode ser convertida em 2-oxo-histidina pelo ataque do radical HO^\bullet (Fig. 1.3.) [16]. Por esta razão, a 2-oxo-histidina tem sido utilizada como biomarcador do “stress” oxidativo.

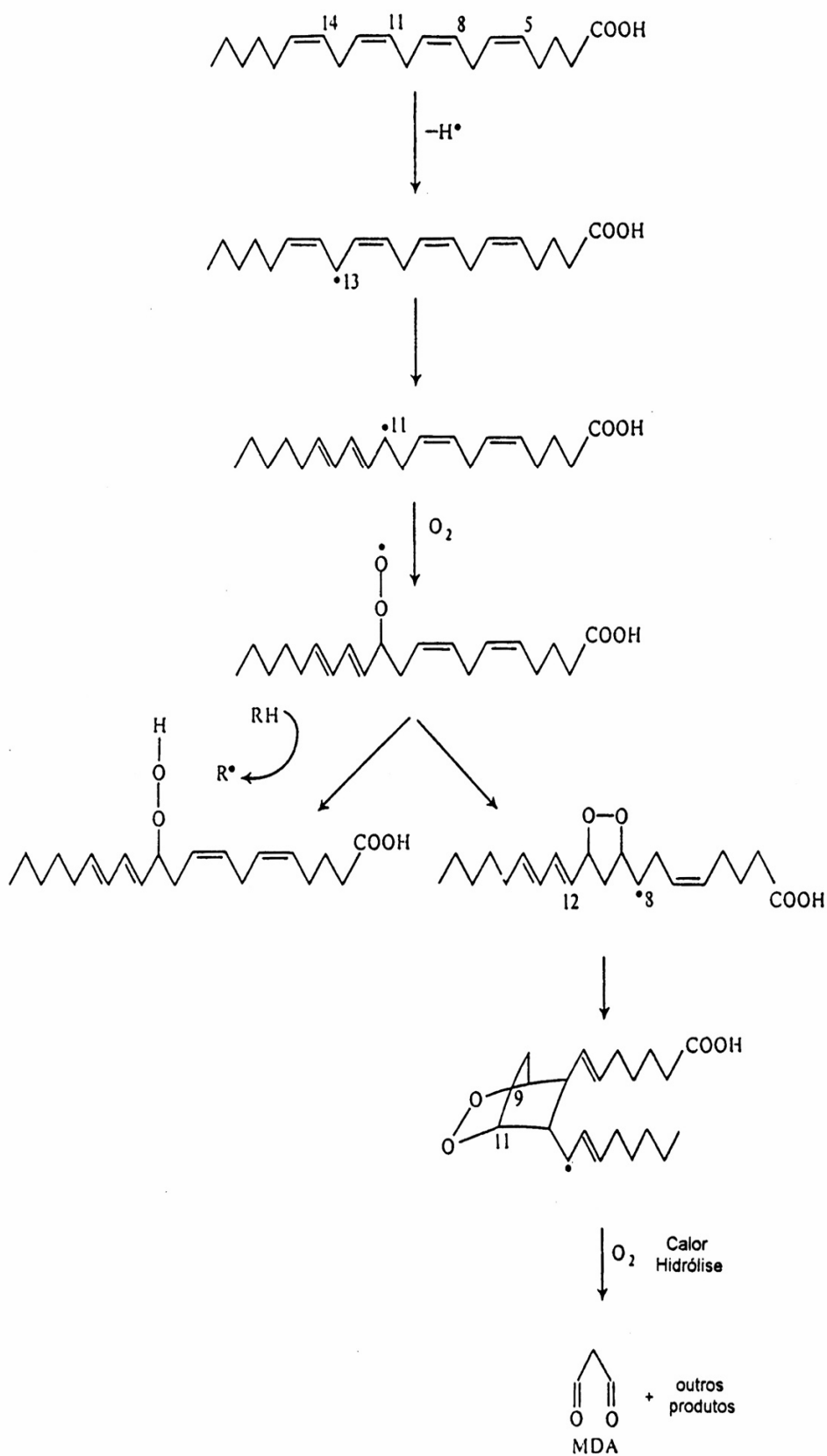


Figura 1.1. Representação do processo de oxidação lipídica. Adaptado de [6].

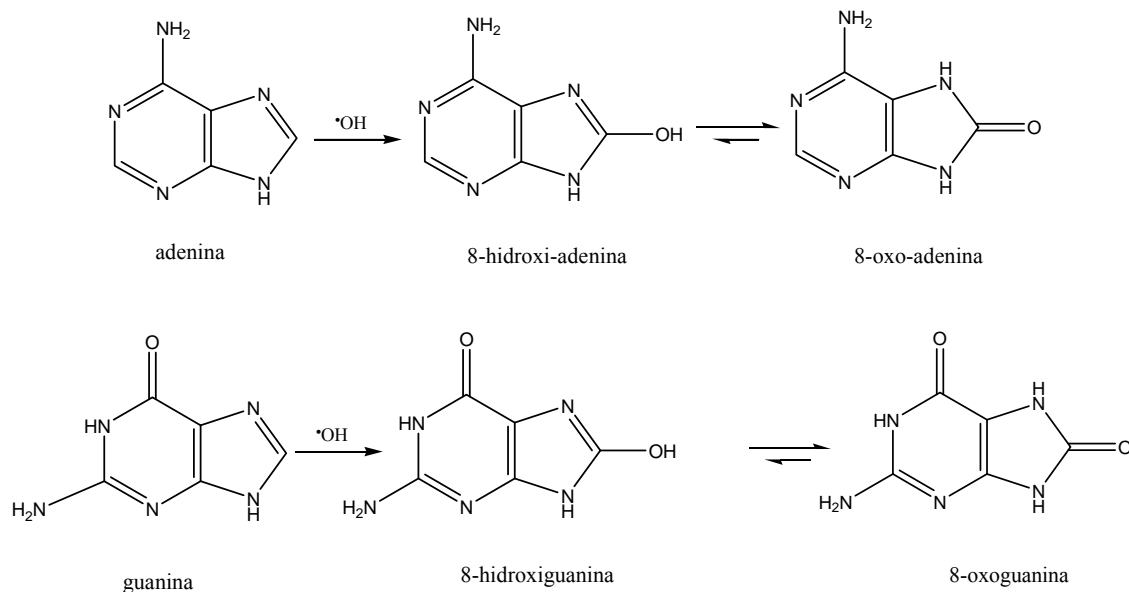


Figura 1.2. Produtos resultantes da oxidação das bases do DNA. Adaptado de [14].

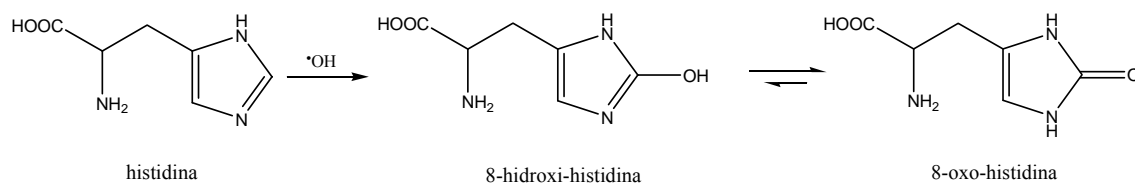


Figura 1.3. Oxidação do aminoácido histidina. Adaptado de [14].

A duração do período de indução da oxidação nos sistemas biológicos é dependente da presença de componentes minoritários que aumentam o período de indução e são conhecidos como antioxidantes ou diminuem o período de indução e são conhecidos como pró-oxidantes [1, 17].

Recentemente, tem-se tornado evidente que os radicais livres também têm um papel na regulação de muitas vias de sinalização intracelular, importantes para o crescimento celular normal. Deste modo, é necessário regular os radicais livres mas não os erradicar completamente [18].

1.1.4. Antioxidantes e o seu modo de acção

Entende-se por antioxidante, o composto que é capaz de, em pequenas concentrações, quando comparadas com as do substrato oxidável, retardar ou prevenir

significativamente a oxidação do substrato [19]. Com base na sua função, os antioxidantes podem ser classificados como primários ou “scavengers” e secundários ou preventivos.

Os antioxidantes primários, designados por AH, são compostos químicos capazes de doarem átomos de hidrogénio ou electrões aos radicais livres [1, 6]. Quando presentes em quantidades residuais podem atrasar ou inibir o passo de iniciação por reagirem com um radical (eq. 1.7). Como consequência, reduzem os radicais a espécies químicas não radicalares, sendo eles próprios convertidos em radicais oxidados (A^\bullet).



O radical formado (A^\bullet) deve apresentar baixa reactividade ficando, assim, impossibilitado de reagir com os componentes biológicos. Contudo, os radicais livres formados a partir do antioxidante (A^\bullet) podem-se ligar aos outros radicais mais reactivos (R^\bullet), formando complexos estáveis não radicalares (eq. 1.8) [6]. Embora o acoplamento de radicais esteja associado a uma entalpia de activação muito pequena, a ocorrência destas reacções é controlada pela concentração dos radicais, a qual é responsável pela frequência de colisões entre eles e também pela estereoquímica, uma vez que só há ligação se os radicais colidirem com a orientação correcta.



Os antioxidantes secundários são compostos que retardam a velocidade da iniciação da cadeia de oxidação por mecanismos diferentes da via seguida pelos antioxidantes primários [1, 6]. Os antioxidantes secundários reduzem a velocidade da oxidação por vários processos como, por exemplo, sequestrando os iões metálicos e absorvendo a radiação UV. Para que um antioxidante secundário funcione eficazmente é necessária a presença de um antioxidante primário.

A primeira condição a que um composto deve obedecer para ser um antioxidante eficaz é ser um bom “scavenger” de radicais livres, sendo importante notar que a classe a que pertence o maior número de substâncias conhecidas que possuem potentes propriedades antioxidantes são os compostos fenólicos [F(OH)] [1]. Estes compostos são bons “scavengers”, sendo numerosos os trabalhos publicados acerca da sua actividade sobre radicais diversos, nomeadamente, sobre espécies reactivas de oxigénio, tais como os radicais superóxido e hidroxilo [20, 21]. Esta actividade é devida à capacidade dos grupos hidroxilo fenólicos cederem átomos de hidrogénio segundo a equação 1.9:



Para que um composto fenólico possa funcionar como um bom “scavenger” é necessário que:

- ceda com facilidade átomos de hidrogénio;
- o radical formado apresente uma boa estabilidade, o que o vai impedir de funcionar como propagador da cadeia de reacções de oxidação.

A capacidade de cedência de átomos de hidrogénio tem sido avaliada pelo potencial de oxidação do par $F(OH) / F(O^{\bullet})$ [22, 23]. A presença de grupos doadores de electrões num composto fenólico aumenta a actividade anti-radicalar [1, 24, 25, 26]. A actividade dos antioxidantes depende, também, da estabilidade do radical gerado a partir do antioxidante primário depois da subtracção do hidrogénio (A^{\bullet}). No caso dos antioxidantes fenólicos, a estabilidade do radical fenoxilo gerado é grande devido ao facto de estes compostos possuírem uma estrutura molecular capaz de uma elevada deslocalização do electrão desemparelhado no sistema aromático do radical.

Na industria alimentar, os antioxidantes naturais [α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno e ascorbato (vitamina C)] e sintéticos [BHA, BHT, *tert*-butil-hidroquinona (TBHQ), galhato de octilo (derivado do ácido gálgico) e etoxiquina] são muito usados para aumentar a durabilidade dos produtos (Fig. 1.4 e 1.5) [1]. Muitos destes compostos têm outras funções importantes. Por exemplo, os antioxidantes fenólicos, tais como, BHA, BHT e TBHQ têm propriedades antimicrobianas.

Os sistemas de defesa antioxidante dos seres vivos permitem-lhes prevenir ou minimizar a acção lesiva causada pelos radicais livres. O α -tocoferol, ascorbato e ácido úrico são antioxidantes existentes nos sistemas biológicos e actuam directamente sobre os radicais livres, originando produtos não reactivos, inofensivos para as células, impedindo, assim, a propagação da oxidação [1,6, 27, 28].

O α -tocoferol é um composto fenólico existente no interior hidrofóbico das membranas biológicas que actua, principalmente, inactivando os radicais que eventualmente possam iniciar uma reacção em cadeia, consistindo a função do α -tocoferol em ceder-lhes um átomo de hidrogénio (Fig. 1.4) [1].

O trolox é um derivado hidrossolúvel do α -tocoferol com elevada actividade antioxidante (Fig. 1.5) [1].

O ascorbato, vitamina hidrossolúvel, apresenta uma dualidade de efeitos (Fig. 1.4). Pode actuar como antioxidante, interagindo rapidamente com radicais superóxido e

hidroxilo, e como pró-oxidante, gerando radicais hidroxilo na presença de metais de transição [1].

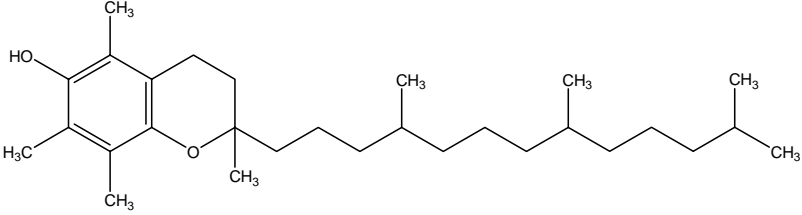
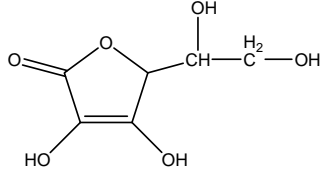
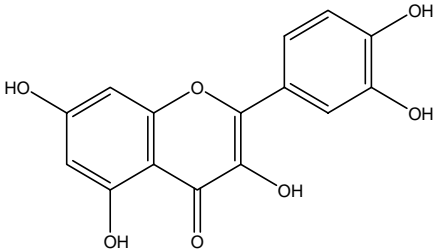
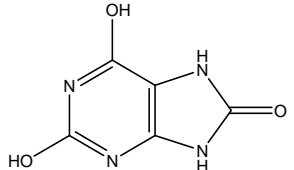
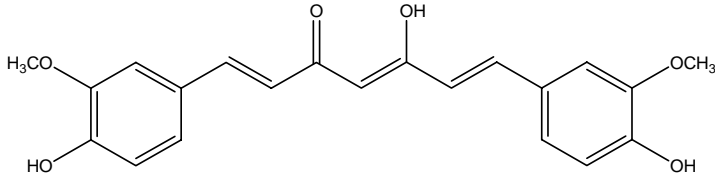
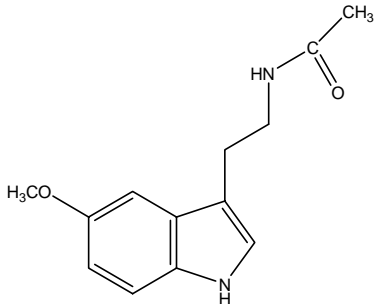
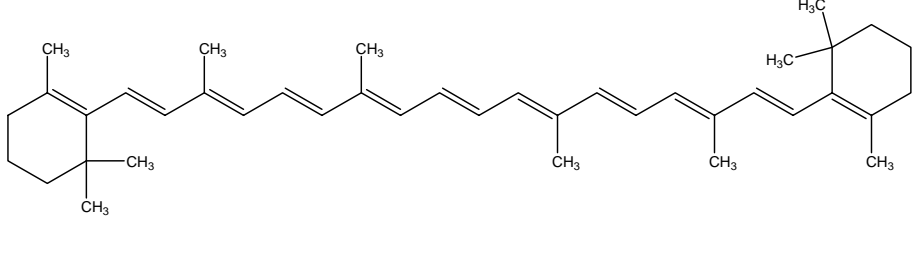
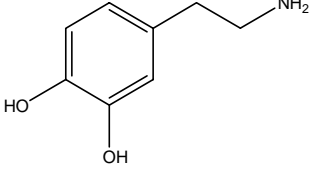
 <p>The structure shows a chromanol ring with three methyl groups and a hydroxyl group. It is connected via an oxygen atom to a long phytyl side chain consisting of three isoprenoid units and a terminal methyl group.</p>	 <p>The structure shows a five-membered lactone ring with two hydroxyl groups on the double bond and a side chain with a secondary hydroxyl group and a primary hydroxyl group.</p>
<i>α</i> -Tocoferol	Ácido ascórbico
 <p>The structure shows a flavan-3-ol core with multiple hydroxyl groups on the A and C rings, and a dihydroxyphenyl group on the C ring.</p>	 <p>The structure shows a purine ring system with hydroxyl groups at the 2, 6, and 8 positions and a carbonyl group at the 4 position.</p>
Quercetina	Ácido úrico
 <p>The structure shows a heptadienone chain with a central ketone and a hydroxyl group, flanked by two aromatic rings. One ring has a methoxy group and a hydroxyl group, while the other has a methoxy group and two hydroxyl groups.</p>	 <p>The structure shows an indole ring system with a methoxy group at the 5-position and a side chain consisting of a propyl chain and a methylamide group.</p>
Curcumina	Melatonina
 <p>The structure shows a long polyene chain with alternating double bonds, terminated by two cyclic end groups (beta-ionone rings) with methyl substituents.</p>	 <p>The structure shows a benzene ring with two hydroxyl groups at the 3 and 4 positions and a propylamine side chain at the 1 position.</p>
<i>β</i> -Caroteno	Dopamina

Figura 1.4. Estrutura de antioxidantes naturais.

A quercetina é um composto fenólico pertencente à classe dos flavonóides e apresenta uma potente actividade antioxidante (Fig. 1.4) [19]. De facto os flavonóides estão largamente distribuídos pelo reino vegetal e são uma das classes mais importantes de compostos biologicamente activos, apresentando actividade antioxidante, antibacteriana, antiviral, anticancerígena, imunoestimulante, hepatoprotectora e anti-inflamatória [29, 30]. A maior actividade anti-radicalar da quercetina relativamente aos outros flavonóides é devida principalmente à presença de dois grupos hidroxilo em posição *orto* no anel fenólico, havendo outros factores que contribuem em maior ou menor extensão para a sua actividade antioxidante conforme o sistema a ser testado, nomeadamente a complexação de iões de ferro [31, 32, 33, 34].

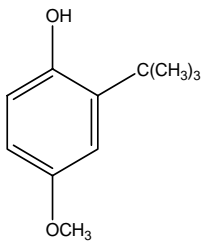
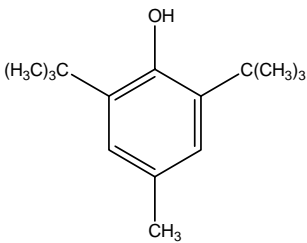
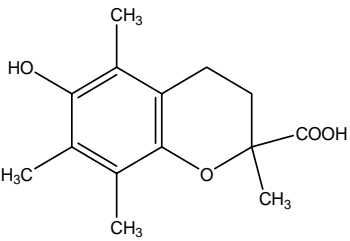
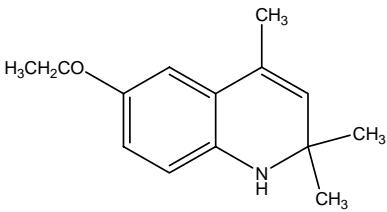
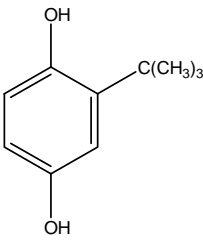
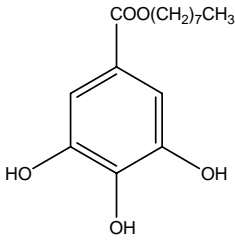
	
BHA	BHT
	
Trolox	Etoxiquina
	
TBHQ	Galhato de octilo

Figura 1.5. Estrutura de antioxidantes sintéticos.

O ácido cafeico, a curcumina e a dopamina são também compostos naturais que apresentam uma elevada actividade antioxidante (Figuras 1.4) [1, 35].

Os heterocíclicos de azoto, nomeadamente o ácido úrico, o imidazole, a histidina e a melatonina formam outra família de compostos que possuem também actividade antioxidante (Figuras 1.3 e 1.4) [28, 36, 37, 38].

1.2. Actividade antimicrobiana

1.2.1. Considerações gerais

Os compostos antimicrobianos incluem as classes de antifúngicos, antibacterianos e antivirais com potencialidade ou já em uso na terapia clínica e na agricultura [39]. Contudo na agricultura, os antifúngicos estão agrupados na classe dos pesticidas, tais como, os insecticidas e herbicidas [40, 41]. Das classes anteriores, a classe dos antifúngicos tem um especial interesse porque os fungos ocupam um lugar de destaque entre os diferentes microorganismos que são prejudiciais aos animais e plantas, sendo responsáveis por um elevado número de doenças que são combatidas recorrendo ao uso destes compostos com larga expansão nos últimos anos.

A nossa sociedade está cada vez mais dependente dos antifúngicos havendo uma grande necessidade da entrada contínua de novos compostos sintéticos no mercado devido à emergente resistência dos fungos patogénicos a alguns compostos em uso [39, 42, 43, 44, 45]. Idealmente, os antifúngicos devem apresentar uma toxicidade selectiva para os fungos e não devem exercer acção nociva em qualquer outro organismo [46, 47]. Contudo, este tipo de toxicidade selectiva ainda não se atingiu totalmente para os antifúngicos existentes no mercado, os quais são, por vezes, altamente tóxicos para as plantas, alteram a microflora natural do meio e podem provocar cancro em animais.

A presença generalizada de antifúngicos no ecossistema aquático e terrestre e o seu efeito potencial na saúde pública e no meio ambiente, constitui um problema que cada vez mais preocupa os poderes legislativos e a opinião pública [41]. Devido à elevada persistência dos antifúngicos organoclorados, o seu uso tem vindo a diminuir, sendo até mesmo proibido em alguns casos, como aconteceu com o hexaclorobenzeno e pentacloronitrobenzeno. Este tipo de compostos são considerados persistentes porque

apresentam baixa solubilidade na água, ficam adsorvidos aos sólidos suspensos ou nos sedimentos, acumulam-se no corpo dos seres vivos e constituem uma grande ameaça para a fauna e flora podendo causar efeitos negativos na biodiversidade em geral.

1.2.2. Compostos antifúngicos e seu modo de acção

Os agentes antifúngicos podem actuar por inibição no crescimento do micélio ou na reprodução por esporulação [48]. A definição engloba portanto, não só as substâncias que matam mas também aquelas que retardam ou inibem o desenvolvimento dos fungos sem lhes causar morte [39]. Agentes antibacterianos com acção antifúngica estão também incluídos sob esta designação.

Os antifúngicos podem ser classificados de várias formas, sendo a classificação química a mais usual. Nesta secção vamos abordar as classes dos compostos fenólicos, azoles N₁-substituídos, pirimidinas, benzimidazoles, piridinas e ditiocarbamatos por serem aqueles que mais se relacionam com os compostos sintetizados neste trabalho [40, 41, 49, 50].

Os compostos fenólicos, para além da sua actividade antifúngica, podem também possuir actividade antibacteriana [40, 41, 50, 51]. Como exemplos temos os antifúngicos sintéticos, 2-fenilfenol e diclorofeno usados na agricultura e os antifúngicos naturais, pirogalhole, ácido gálgico, ácido protocatéquico e ácido cafeico (Figuras 1.6 e 1.8). A acção antifúngica de vários compostos fenólicos, deve-se ao facto de estes desacoplarem a fosforilação oxidativa, evitando assim que se forme ATP pela acção da ATP sintetase. Embora o transporte de electrões continue, a célula fica privada de ATP para seu crescimento. Adicionalmente, existem antioxidantes fenólicos, nomeadamente a quercetina e o galhato de propilo que inibem a síntese do DNA em células animais [52].

Os imidazoles, tais como, miconazole e clotrimazole e os triazoles nomeadamente, fluconazole são antifúngicos sistémicos pertencentes à classe dos azoles N₁-substituídos [49, 53, 54]. Os antifúngicos sistémicos inibem o desenvolvimento da doença em zonas afastadas do local de aplicação. Estes compostos têm um largo espectro de acção nos fungos, em medicina e na agricultura, e são inibidores da biossíntese do ergosterol [40, 55, 56]. Este é um dos principais esteróis de muitos fungos onde desempenha um papel vital na estrutura e fisiologia da membrana celular.

O átomo de azoto dos azoles (N_3 do imidazole e N_4 do triazole) liga-se ao átomo de ferro do centro activo de uma enzima microsossomal do citocromo P_{450} que cataliza a desmetilação do C_{14} do 24-metilenodihidrolanosterol, inibindo o primeiro passo na síntese do ergosterol (Fig. 1.7) [45, 56, 57, 58]. Assim, os fungos tratados com estes compostos ficam privados de ergosterol, causando o colapso da parede celular, inibição do crescimento das hifas e resultando na morte celular.

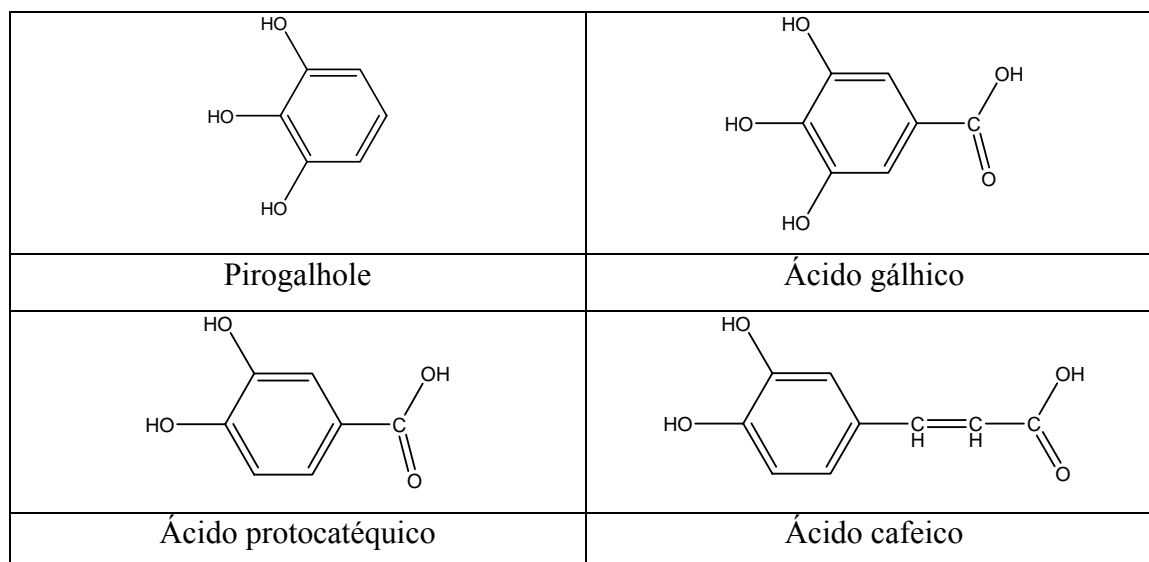


Figura 1.6. Antifúngicos naturais.

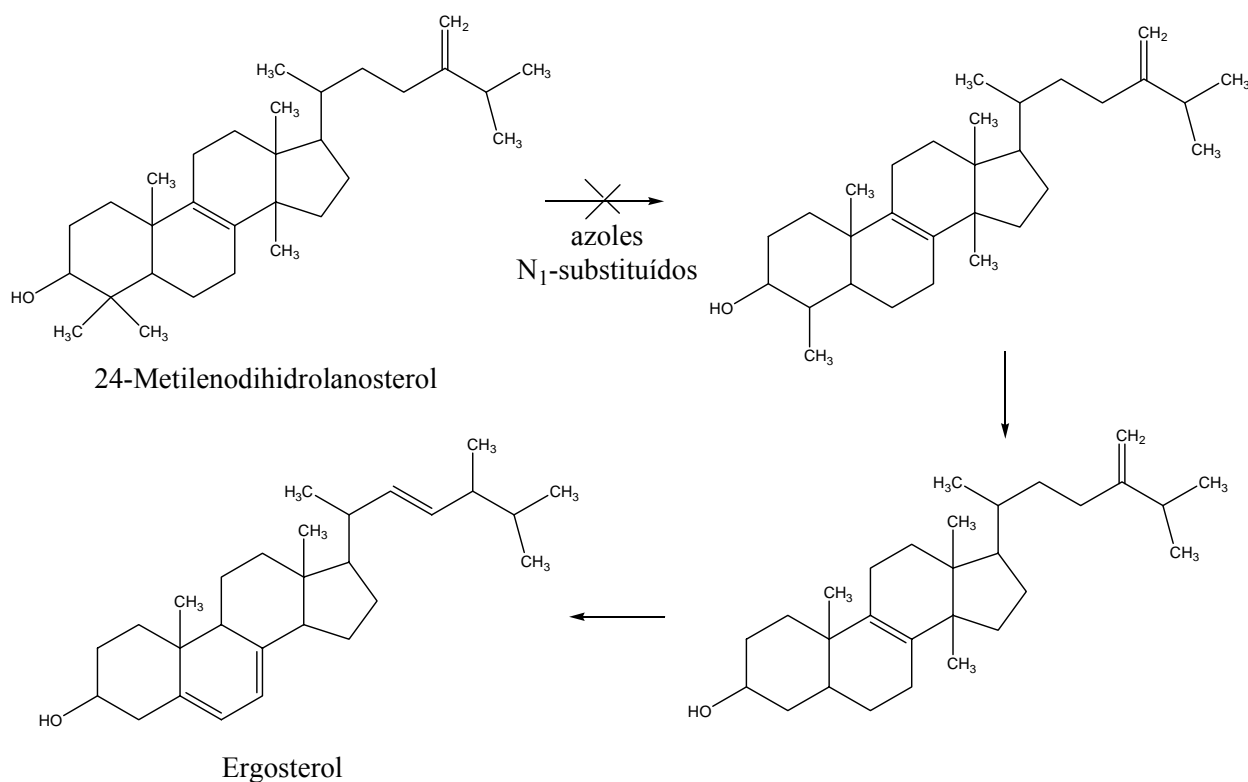


Figura 1.7. Conversão do 24-metilenodihidrolanosterol em ergosterol. Adaptado de [57].

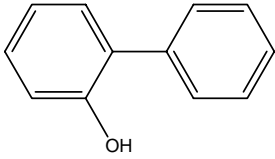
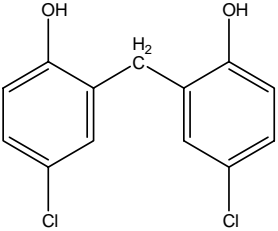
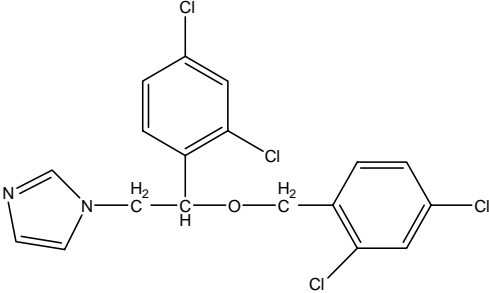
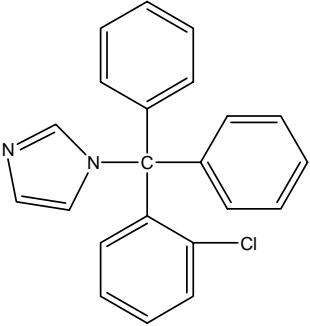
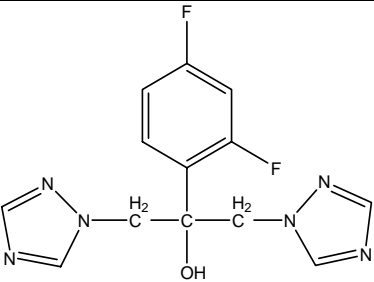
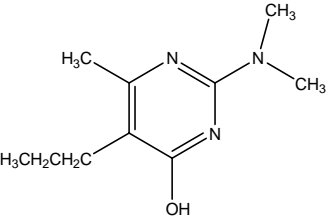
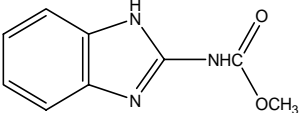
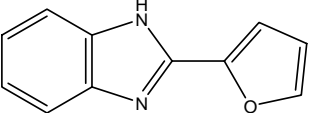
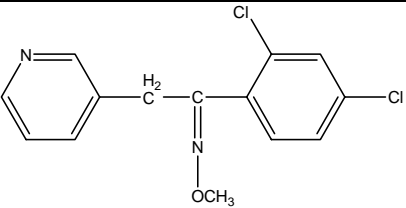
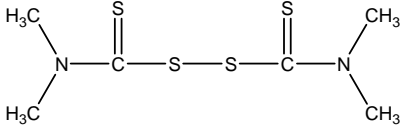
	
2-Fenilfenol	Diclorofeno
	
Miconazole	Clotrimazole
	
Fluconazole	Dimetirimol
	
Carbendazime	Fuberidazole
	
Pirifenox	Tirame

Figura 1.8. Antifúngicos sintéticos.

O dimetirimole é um antifúngico sistêmico pertencente à classe das pirimidinas, é usado na agricultura e actua como inibidor da enzima adenosina desaminase (Fig. 1.8) [41, 59].

Os benzimidazoles, tais como, carbendazime e fuberidazole, são fungicidas sistémicos e são usados na agricultura, actuando como inibidores da mitose [40, 41, 61].

O pirifenox é um antifúngico sistémico que pertence à classe das piridinas e é usado na agricultura, actuando como inibidor da biossíntese do ergosterol [41].

A actividade antifúngica dos ditiocarbamatos como o tirame, poderá dever-se à capacidade de quelatar iões metálicos de transição, nomeadamente o ião ferro e cobre [40, 41].

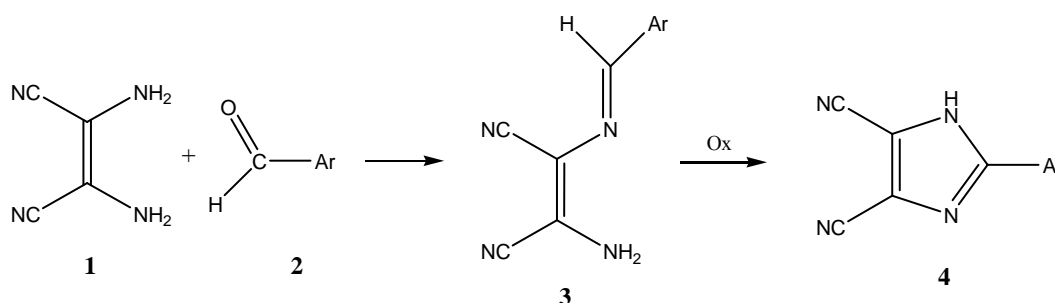
1.3. Métodos usados para a síntese de compostos heterocíclicos de azoto acoplados com anéis aromáticos

Da exposição apresentada, verifica-se que os compostos fenólicos e heterocíclicos de azoto ocupam lugar de destaque dentro da classe dos antioxidantes e antifúngicos. Contudo, os compostos sintéticos pertencentes às duas classes anteriores não apresentam os dois grupos funcionais na mesma molécula, embora existam estudos publicados que mostram o efeito sinérgico entre um antioxidante fenólico e um antifúngico azole [60, 62, 63, 64]. Adicionalmente, os antifúngicos pertencentes à classe de heterociclos de azoto estão geralmente acoplados a grupos aromáticos com átomos de cloro e flúor. Deste modo, propusemo-nos sintetizar compostos heterocíclicos de azoto acoplados a grupos fenólicos com diferenças pontuais nas suas estruturas de forma a ser possível realizar um estudo, onde se relaciona actividade antioxidante e antifúngica e estrutura química. Este estudo permitirá verificar quais as características estruturais dos compostos que têm maior importância nas suas actividades antioxidante e antifúngica.

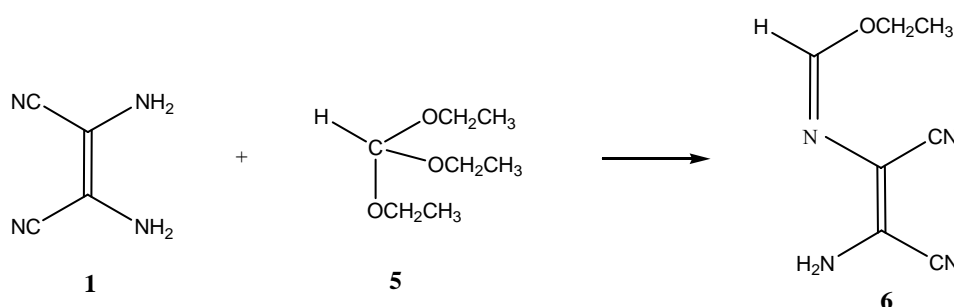
Em seguida, vão ser apresentadas as reacções usadas para a síntese de compostos heterocíclicos de azoto, tais como, imidazoles, purinas, imidazopiridinas e piridinas acoplados com unidades aromáticas. As unidades fenólicas, dos compostos sintetizados neste projecto, foram introduzidas a partir de hidroxibenzaldeídos e hidroxianilinas nos compostos precursores lineares, sendo importante referir que existe no mercado uma variedade muito maior de hidroxibenzaldeídos relativamente a hidroxianilinas.

1.3.1. Sínteses a partir de diaminomaleonitrilo

Foi publicada em trabalhos anteriores, a síntese dos 2-aryl-4,5-dicianimidazoles **4** a partir da reacção do diaminomaleonitrilo (DAMN) **1** com aldeídos aromáticos **2**, seguida da ciclização da base de Schiff **3** na presença de um agente oxidante. A reacção ocorre na presença de 1 equivalente de diclorodicianobenzoquinona (DDQ) em acetonitrilo, tendo sido os produtos isolados com rendimentos de 20-66 % após 4 dias sob refluxo [65, 66]. Contudo, a reacção na presença de 1 equivalente de *N*-clorosuccinimida com nicotinamida em DMF fica completa após 3 horas em agitação magnética à temperatura de 40 °C com rendimentos de 66-74 % [67].



A função imidato é muito utilizada em síntese como precursora de outras classes de compostos, por reacção com nucleófilos apropriados [68, 69, 70, 71]. No caso presente foi sintetizado o (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** por reacção do DAMN **1** com ortoformiato de etilo **5** com rendimento de 100 % [72]. O produto é isolado na forma de cristais aciculares brancos após refluxo em dioxano durante 1-2 horas.



As amidinas **8** foram sintetizadas a partir da reacção do imidato **6** com aminas aromáticas **7** na presença de catálise de cloreto de anilíneo com rendimentos de 35-95 % [68].

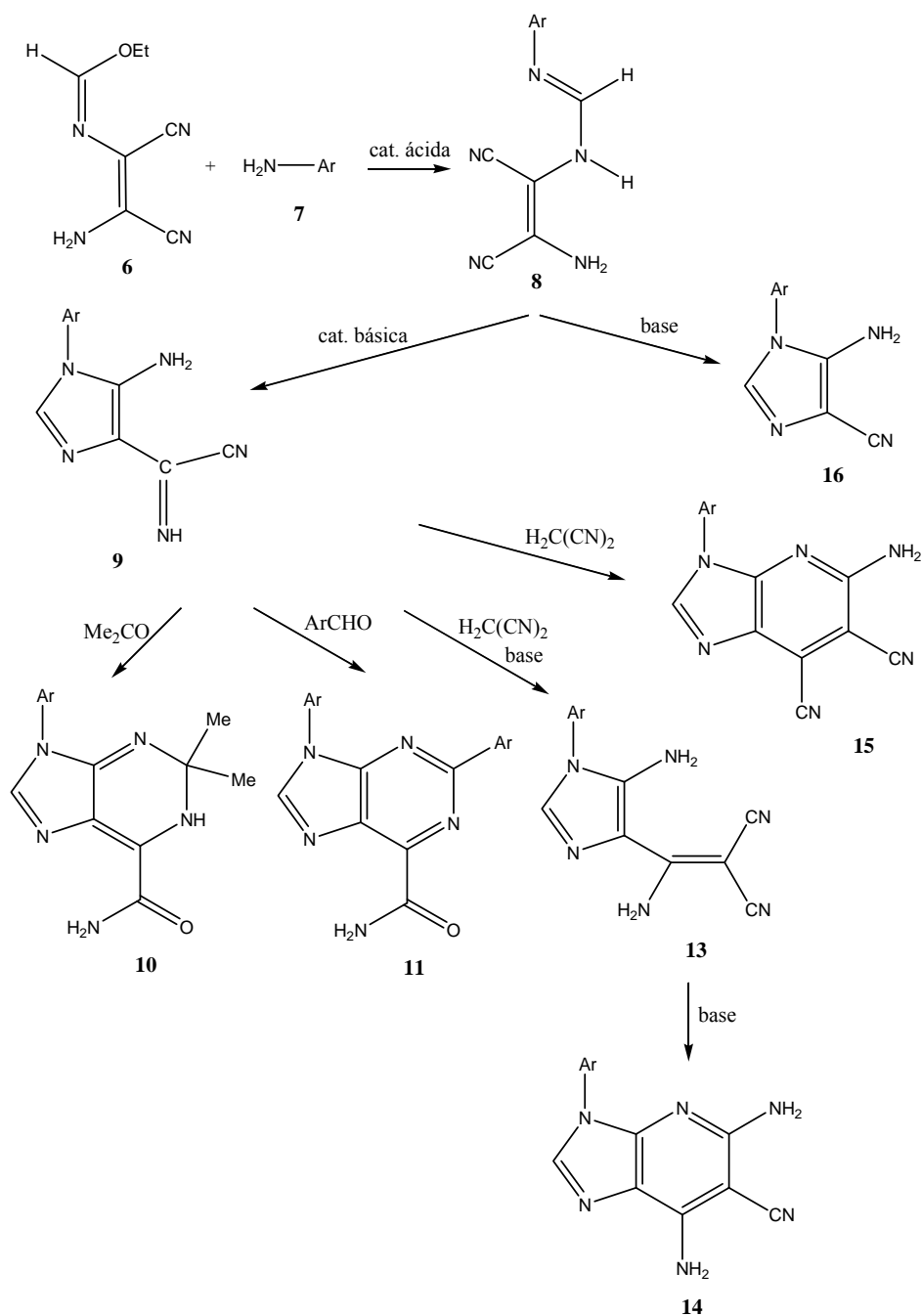
Os 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **9** constituem um grupo importante de compostos, uma vez que são intermediários de um processo desenvolvido no nosso laboratório que permite a síntese selectiva de estruturas heterocíclicas fundidas com o núcleo de imidazole, nomeadamente dihidropurinas, purinas e imidazopiridinas [68, 69, 70]. Os cianoformimidoilimidazoles **9** foram obtidos a partir das amidinas **8** correspondentes em presença de uma quantidade catalítica de DBU com rendimentos de 53-96 % [68]. Na presença de hidróxido de sódio ou de potássio, as amidinas **8** evoluem para gerar os 5-amino-4-cianoimidazoles **16** com rendimentos de 63-96 % [68, 73]. Estes compostos podem ser usados como precursores na síntese de estruturas heterocíclicas fundidas com o anel de imidazole, em particular o anel de purina, embora as sínteses necessitem geralmente de temperaturas elevadas.

As 2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **10** podem ser obtidas a partir da reacção dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **9** com acetona ou directamente a partir das amidinas **8** com acetona em presença de DBU com rendimentos de 59-93 % [69].

As 6-carbamoilpurinas **11** foram obtidas a partir da reacção dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **9** com os aldeídos aromáticos **2** com rendimentos de 58-79 % [69, 71]. A reacção ocorre na presença de um pequeno excesso de aldeído aromático em etanol ou metanol à temperatura ambiente.

A partir da reacção dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **9** com malononitrilo **12** na presença de DBU, obtiveram-se os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **13** que precipitaram do meio reaccional com rendimentos de 93-95 % [70]. Estes compostos evoluem para as 5,7-diamino-3-aril-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **14** correspondentes após refluxo na presença de trietilamina ou DBU com rendimentos de 40-80 % [70].

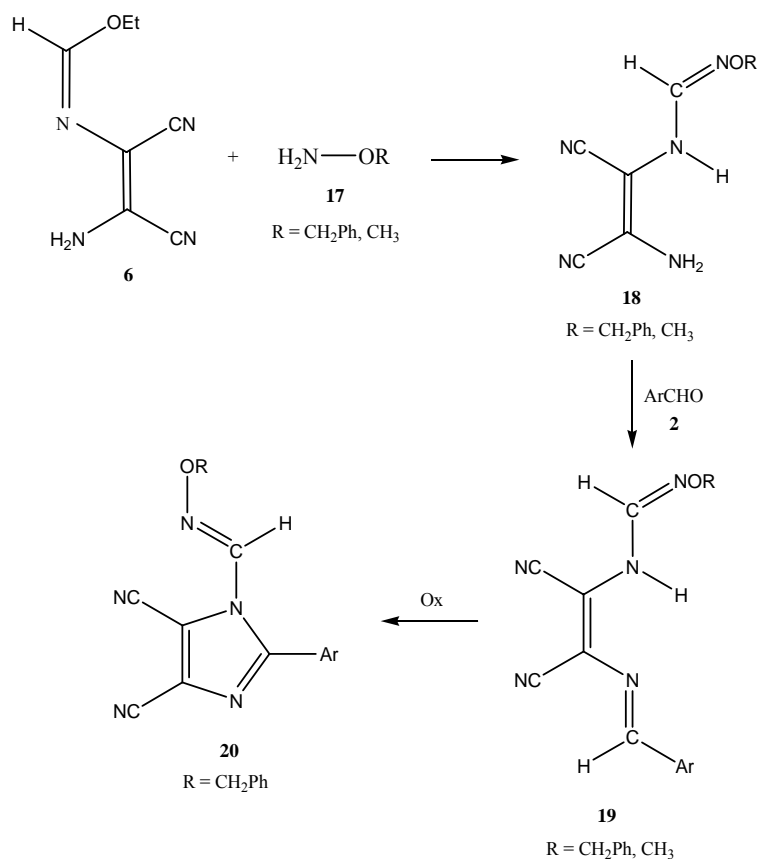
As 5-amino-3-aril-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **15** podem ser obtidas a partir da reacção dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **9** com malononitrilo **12** na ausência de base com rendimentos de 90-98 % [70].



A reacção do imidato **6** com as alcoxilaminas NH_2OR **7** ($\text{R} = \text{CH}_2\text{Ph}$ e CH_3) origina as (Z) - N -(2-amino-1,2-dicianovinil)- O -alquilformamidoximas **8** com rendimentos de 65-97 %, que foram utilizadas como reagentes de partida na síntese dos compostos que se seguem [74].

As (Z) - N -[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]- O -alquilformamidoximas **19** foram obtidas a partir da reacção das O -alquilformamidoximas **8** com os aldeídos aromáticos **2** com rendimentos de 62-88 % [75].

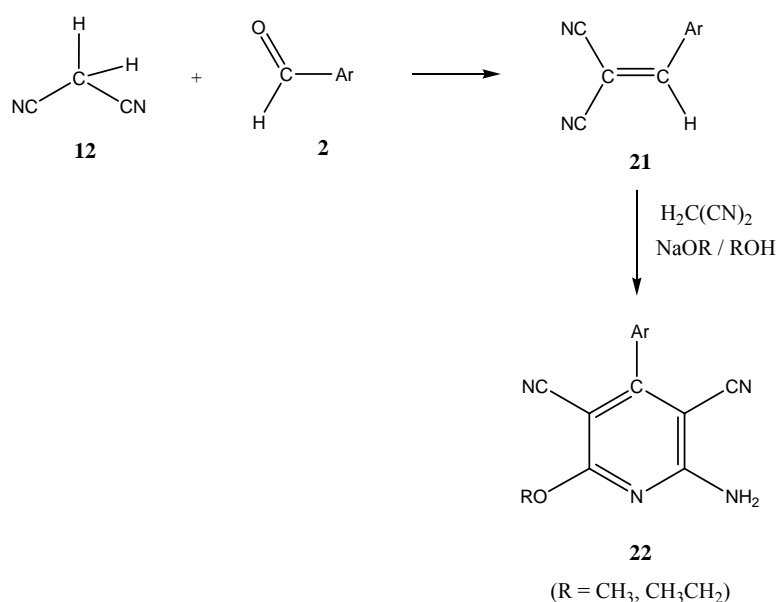
Em trabalho anterior, foi descrita a ciclização intramolecular das (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoximas **19** para gerar as 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazoles **20** correspondentes [75]. A reacção ocorre na presença de 1 equivalente de DDQ numa mistura variável de acetonitrilo e clorofórmio, tendo sido os produtos isolados com rendimentos de 61-83 %, depois de 3-7 dias à temperatura ambiente ou aproximadamente 10 horas sob refluxo.



1.3.2. Sínteses a partir de malonitrilo

A literatura refere a síntese de vários benzilidenomalononitrilos **21** a partir da reacção do malononitrilo **12** com os aldeídos aromáticos **2** (inclusive hidroxibenzaldeídos) em presença de catálise básica com rendimentos de 30-94 % [76].

As 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-alcoxipiridinas **22** foram sintetizadas a partir do malononitrilo **12** com benzilidenomalononitrilos **21** na presença de um sistema alcóxido de sódio e álcool, nomeadamente NaOCH₃/CH₃OH ou NaOCH₂CH₃/CH₃CH₂OH com rendimentos de 86-93 % [77, 78, 79].



1.4. Avaliação das actividades antioxidante, antimicrobiana e da citotoxicidade em células animais

A actividade antioxidante dos compostos sintetizados foi avaliada por intermédio da técnica de voltametria cíclica, método de descoloração do radical DPPH e método da degradação da desoxirribose.

O estudo voltamétrico dos compostos foi realizado pelo grupo de Química Física e Química Analítica do Departamento de Química da Universidade do Minho.

O método de descoloração do radical DPPH e o método da degradação da desoxirribose foram realizados pelo grupo da Professora Doutora Olga Coutinho do Departamento de Biologia da Universidade do Minho.

Os valores das concentrações inibitórias mínimas de crescimento (MIC) dos compostos em estudo foram determinados para as leveduras *Saccharomyces cerevisia* PYCC 4072 e *Candida albicans* PYCC 3436^T e para as bactérias *Bacillus subtilis* (Gram positiva) e *Escherichia coli* HB101 (Gram negativa).

A citotoxicidade dos compostos foi determinada pelo grupo da Professora Doutora Olga Coutinho do Departamento de Biologia da Universidade do Minho, através do método da libertação da enzima lactato desidrogenase (LDH) da linha celular de fibroblastos denominada L929 para o meio extracelular. Esta linha celular tem sido usada frequentemente em estudos de citotoxicidade de novos compostos [80].

1.5. Objectivos e plano do trabalho

Este trabalho teve como objectivo sintetizar e caracterizar novos compostos orgânicos de azoto (ver anexo), nomeadamente bases de Schiff, amidinas, *O*-alquilformamidoximas, benzilidenomalononitrilos, imidazoles, imidazopiridinas, dihidropurinas, purinas, imidazo-imidazoles, dihidropiridinas e piridinas, acoplados com unidades fenólicas (2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo, 4-hidroxifenilo, 3,4-dihidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo) ou com a unidade 4-metoxifenilo de forma a obter compostos com potencial actividade antioxidante e antifúngica e estabelecer uma relação entre a estrutura química e a actividade, ou seja, identificar as características estruturais ideais a que deve obedecer um composto para ser um antioxidante e/ou antifúngico eficaz.

A actividade antioxidante, dos compostos sintetizados, foi estudada sequencialmente por três métodos e comparada com o antioxidante de referência trolox. Primeiro, determinou-se o potencial de pico anódico de todos os compostos pela técnica de voltametria cíclica e para os compostos com os potenciais mais baixos de cada série, determinou-se a actividade anti-radicalar pelo método de descoloração do radical DPPH. Finalmente, determinou-se a actividade antioxidante para os compostos que apresentaram uma actividade anti-radicalar significativa por intermédio do método da degradação da desoxirribose.

A actividade antifúngica de todos os compostos foi determinada em duas espécies de leveduras, os quais foram comparados com os antifúngicos de referência, miconazole e fluconazole. *Candida albicans* é o fungo oportunista mais frequentemente encontrado em infecções sistémicas e, portanto, existe um grande interesse actual no desenvolvimento de novos antifúngicos com acção nesta levedura. Foram também estudados os efeitos dos compostos em *Saccharomyces cerevisiae*, dado que esta levedura tem uma grande importância como organismo modelo e embora não seja patogénica em condições normais pode provocar infecções graves em pessoas com o sistema imunológico afectado como, por exemplo, em doentes com SIDA [81, 82]. Do atrás exposto pode-se concluir que um bom antifúngico deve ser altamente tóxico para os fungos, ter toxicidade nula ou baixa para os outros organismos, ter relativa estabilidade de modo a ser activo antes de se degradar e ser facilmente degradado após actuação com riscos mínimos para o ambiente e os seres vivos. Deste modo, estudou-se a citotoxicidade dos compostos em fibroblastos de forma a obtermos informação

toxicológica nas células dos mamíferos [80]. Estes compostos foram posteriormente testados na bactéria *Bacillus subtilis* (Gram+) e *Escherichia coli* (Gram-) para avaliação das suas actividades antibacterianas, em comparação com o agente antibacteriano de referência cloranfenicol. Este estudo, para além da sua importância fundamental na avaliação de possíveis alterações na flora bacteriana natural do meio, poderá assumir interesse aplicado relevante, sobretudo se pensarmos nas potencialidades das bactérias como possíveis agentes biológicos para a biodegradação destes compostos.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na secção 2.1, o DAMN **1** foi o reagente de partida comum a todos os compostos sintetizados enquanto nas secções 2.2 e 2.3, o DAMN **1** foi utilizado na síntese do imidato **6** que por sua vez foi o reagente de partida comum aos outros compostos. Contudo, de modo a agrupar os compostos de uma forma sistemática, considerou-se que os compostos da secção 2.2 eram resultantes do imidato **6** e os compostos da secção 2.3, eram resultantes das alquilformamidoximas **18**.

Na secção 2.4, o malononitrilo **12** foi o reagente de partida de todos os compostos preparados.

2.1. Compostos sintetizados a partir do DAMN

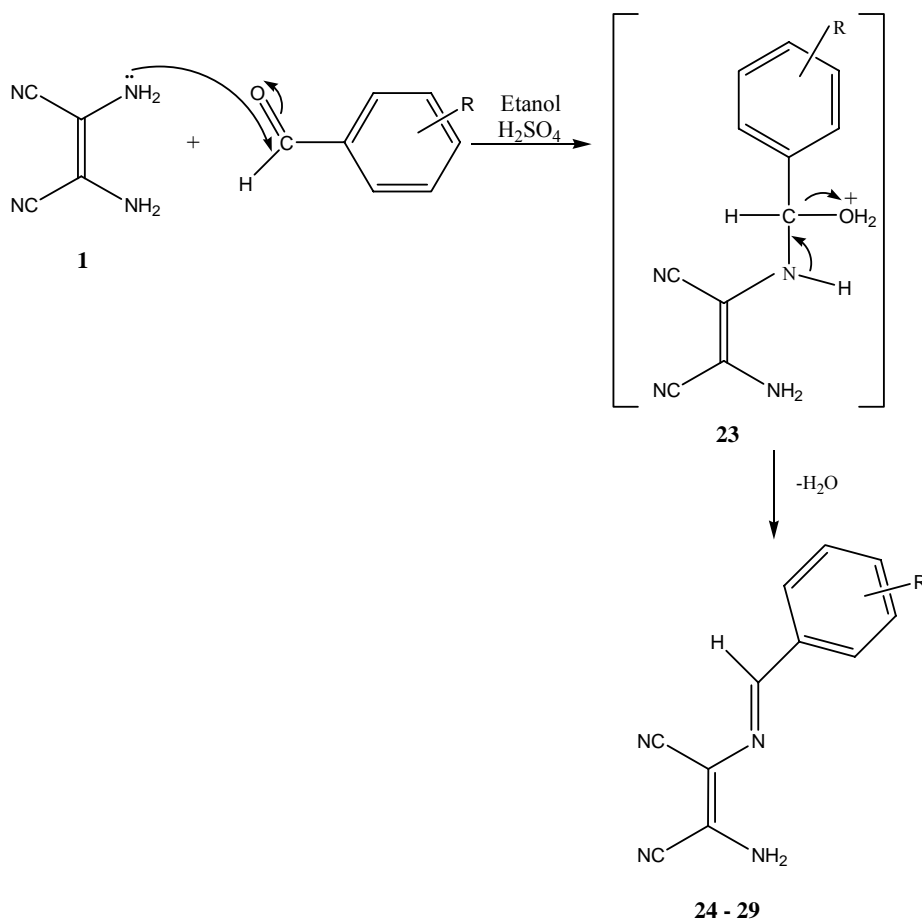
2.1.1. Síntese

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

Por reacção de diaminomaleonitrilo **1** com aldeídos aromáticos sob agitação magnética em etanol e na presença de uma quantidade catalítica de ácido sulfúrico, obtiveram-se os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29** com os rendimentos de 81-97%, ao fim de aproximadamente 10 minutos à temperatura ambiente.

Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das bases de Schiff **24-29** são apresentados na secção 2.1.2.

O mecanismo sintético seguinte mostra que a reacção deve ocorrer por ataque nucleofílico do azoto de uma das duas aminas primárias presentes no DAMN **1** ao carbono carbonílico do aldeído aromático com formação do intermediário aminol **23**, seguido de eliminação de uma molécula de água e formação das bases de Schiff **24-29**. Esta reacção é catalisada por ácido, quer activando o grupo carbonilo quer facilitando a eliminação de uma molécula de água.

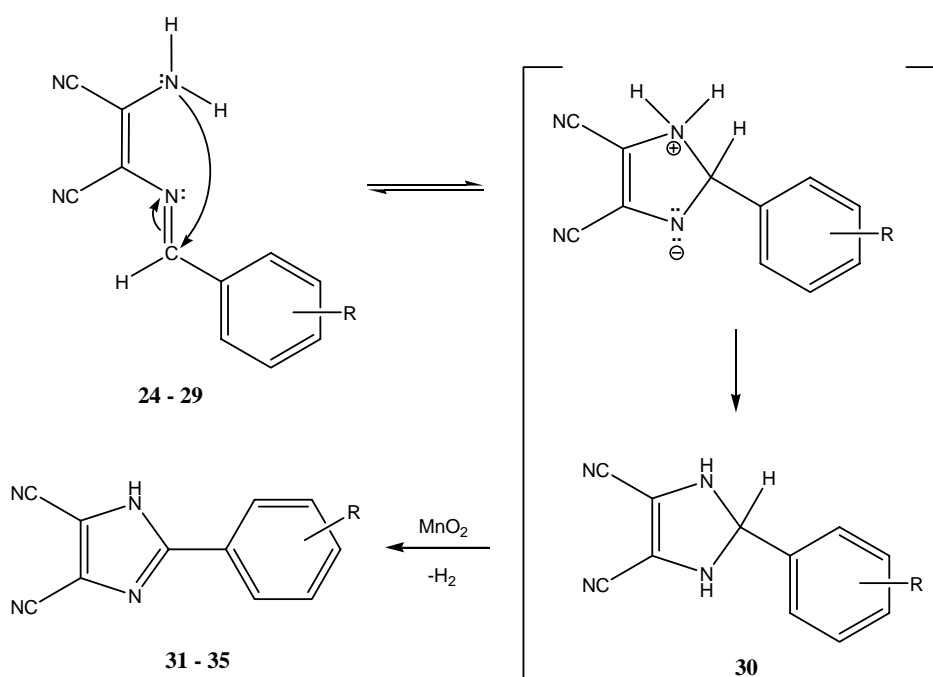


2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

Os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29** evoluíram para os 4,5-diciano-2-aryl-1H-imidazoles **31-35** correspondentes na presença de um largo excesso de dióxido de manganês (MnO₂) sob refluxo durante um período que variava entre 8 horas a 5 dias e foram isoladas com rendimentos de 50-70 %. O MnO₂ é um agente oxidante muito fraco que tem a vantagem de permitir a ciclização oxidativa sem oxidar as unidades fenólicas [83]. No caso do 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24** foi ainda necessário adicionar uma quantidade catalítica de ácido tosilico, além do MnO₂, para ocorrer a ciclização intramolecular. Não foi possível obter o imidazole a partir do 3,4,5-trihidroxibenzaldeído porque ocorreu extensa degradação do meio reaccional.

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ¹H e ¹³C RMN dos 4,5-diciano-imidazoles **31-35** são apresentados na secção 2.1.2.

O mecanismo proposto para a ciclização intramolecular dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29** para gerar os 4,5-diciano-imidazoles **31-35** envolve inicialmente o ataque nucleofílico ao carbono C₄ da função imina por parte do azoto da amina primária pertencente ao grupo vinílico, resultando na formação da estrutura de dihidro-imidazole **30**. Finalmente, ocorre a oxidação desta estrutura intermediária induzida pelo MnO₂. Esta ciclização oxidativa parece também ser catalizada por ácido que deve permitir a activação da função imina.

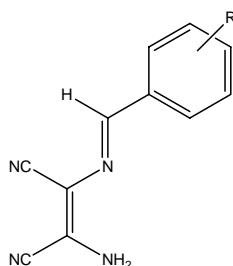


2.1.2. Caracterização analítica e espectroscópica

2.1.2.1. Dados físicos e analíticos

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

As estruturas das bases de Schiff sintetizadas **25-29** foram atribuídas com base nos dados de espectroscopia de IV, ¹H e ¹³C RMN e análise elementar. Os dados analíticos apoiavam a fórmula empírica de todos os compostos, embora os compostos **27**, **28** e **29** estivessem na forma hidratada. Os dados físicos e analíticos apresentam-se a seguir.

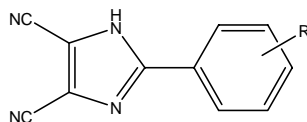
Tabela 2.1. Dados físicos e analíticos para os 1-amino-2-arylidenamino-1,2-(diciano)etenos **25-29**.

Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
25	2-OH	97	251-254	C ₁₁ H ₈ N ₄ O	62,3 (62,3)	3,8 (3,8)	26,1 (26,4)
26	3-OH	82	231-233	C ₁₁ H ₈ N ₄ O	62,3 (62,3)	3,9 (3,8)	26,3 (26,4)
27	4-OH	87	226-228	C ₁₁ H ₈ N ₄ O.1,1H ₂ O	57,2 (57,0)	4,4 (4,4)	24,0 (24,2)
28	3,4-OH	81	219-222	C ₁₁ H ₈ N ₄ O ₂ .1,1H ₂ O	53,5 (53,5)	4,1 (4,1)	22,7 (22,7)
29	3,4,5-OH	92	> 300 ^a	C ₁₁ H ₈ N ₄ O ₃ .0,1H ₂ O	53,7 (53,7)	3,5 (3,4)	22,6 (22,8)

^a Decomposição.

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

As estruturas dos imidazoles sintetizados **32-35** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ¹H e ¹³C RMN e análise elementar. Os dados analíticos apoiavam a fórmula empírica de qualquer um dos compostos, estando todos na forma hidratada.

Tabela 2.2. Dados físicos e analíticos para os 2-aryl-4,5-diciano-1H-imidazoles **32-35**.

Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)		
					C	H	N
32	2-OH	50	> 300 ^a	C ₁₁ H ₆ N ₄ O.0,9H ₂ O	58,6 (58,3)	3,6 (3,5)	24,4 (24,7)
33	3-OH	70	264-267	C ₁₁ H ₆ N ₄ O.0,6H ₂ O	59,8 (59,6)	3,5 (3,3)	25,0 (25,3)
34	4-OH	63	279-281	C ₁₁ H ₆ N ₄ O.1,9H ₂ O	54,0 (54,1)	4,2 (4,0)	22,8 (22,9)
35	3,4-OH	55	> 300 ^a	C ₁₁ H ₆ N ₄ O ₂ .1,2H ₂ O	53,2 (53,2)	3,4 (3,4)	22,5 (22,6)

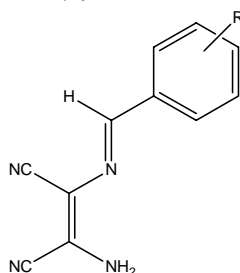
^a Decomposição.

2.1.2.2. Espectroscopia de infravermelho

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

Os espectros de infravermelho dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **25-29** apresentam as bandas atribuídas às vibrações de estiramento da ligação N-H da função amina vinílica, da ligação O-H e entre os carbonos sp² e os hidrogénios da função fenólica na região entre 3473 e 3169 cm⁻¹. As duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N da molécula são intensas e surgem a 2244-2201 cm⁻¹. As bandas devidas às vibrações de deformação angular da ligação N-H e às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C aparecem na zona entre 1626-1512 cm⁻¹. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao do 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24**, sendo neste último mais simples na região 3500-3100 cm⁻¹ devido à ausência da ligação O-H do grupo arilo, as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N são igualmente intensas e surgem a 2234 e 2204 cm⁻¹ [67].

Tabela 2.3. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29**.

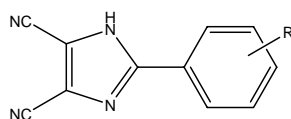


Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
24 [67]	4-OCH ₃	3461m, 3311i, 3156m	2234i, 2204i	1618i, 1603i, 1579m, 1564m, 1514m	1460i, 1427m, 1313m, 1305m, 1254i, 1166m, 1106f
25	2-OH	3465i, 3404m, 3343i, 3191m	2244i, 2207m	1626i, 1615i, 1608i, 1562i	1496m, 1279i, 1230m, 1213m, 1157m, 1118m
26	3-OH	3401i, 3379i, 3299i, 3205i	2244i, 2205i	1625i, 1611i, 1587i, 1561i	1491mf, 1396i, 1288i, 1225i, 1215i, 1150f
27	4-OH	3455m, 3410m(l), 3322i, 3272i, 3184m	2231i, 2207i	1625i, 1610i, 1589i, 1567i, 1512i	1306m, 1264i, 1235i, 1207i, 1162i, 1112m
28	3,4-OH	3465i, 3349i, 3297m, 3169i(l)	2230i, 2201i	1603i, 1590i, 1565i, 1528m	1340m, 1299i, 1264i, 1193i, 1167i, 1102i
29	3,4,5-OH	3473i, 3445i, 3359i, 3256i, 3182m	2242i, 2205i	1606i, 1591i, 1561m, 1529i	1401m, 1338i, 1311i, 1231i, 1190i, 1177i, 1136i

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

Os espectros de IV dos 4,5-diciano-2-aril-1H-imidazoles **32-35** apresentam as bandas atribuídas às vibrações de estiramento da ligação N-H no anel do imidazole, da ligação O-H e C_{sp2}-H da função fenólica na região entre 3484-3148 cm⁻¹. As vibrações de estiramento das duas ligações C≡N da molécula correspondem a duas bandas intensas que surgem no intervalo 2250-2233 cm⁻¹. As bandas devidas às vibrações de deformação angular da ligação N-H e às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C aparecem na zona entre 1675-1506 cm⁻¹. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-1H-imidazole **31**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N a 2226 e 2206 cm⁻¹ [67].

Tabela 2.4. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para os 2-aril-4,5-diciano-1H-imidazoles **31-35**.



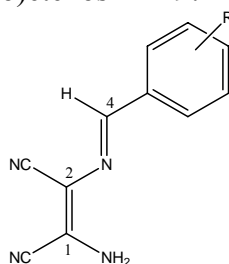
Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
31 [67]	4-OCH ₃	3463m, 3378m, 3313i	2226i, 2206i	1667i, 1614i, 1583i, 1564m	1491i, 1443i, 1415m, 1310m, 1256i, 1187m, 1166m, 1108m
32	2-OH	3441f, 3335f, 3240i,	2250i, 2237i	1675m, 1607i, 1551m, 1521m	1473i, 1403m, 1351i, 1308m, 1293m, 1264m, 1226i, 1154m, 1111m
33	3-OH	3471m, 3369i, 3223i	2248i, 2242i	1664i, 1612m, 1590i, 1567i, 1529m	1490i, 1409m, 1392m, 1328m, 1287m, 1229i, 1207i, 1107m
34	4-OH	3435m, 3387f, 3148i(l)	2242m, 2233i	1648i, 1613i, 1593i	1492i, 1403i, 1311m, 1281i, 1241i, 1177i, 1123i
35	3,4-OH	3484i, 3366i, 3183i(l)	2245i, 2236i	1656i, 1620i, 1605i, 1543m, 1506i	1397i, 1323m, 1289i, 1256i, 1227m, 1183i, 1118m

2.1.2.3. Espectroscopia de ¹H RMN

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

Os espectros de ¹H RMN dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **25-29** apresentam um singlete a δ 7,98-8,58 ppm correspondente ao próton ligado ao átomo de carbono C₄. Os prótons do grupo amino existente na posição vinílica surgem como um singlete a δ 7,56-7,88 ppm, sinal que desaparece após a adição de D₂O. O grupo OH da unidade fenólica surge a δ 9,09-10,42 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,81-8,03 ppm. Adicionalmente, podemos observar que o composto **25** com o substituinte 2-hidroxifenilo apresenta os sinais de C₄-H e OH deslocados para campo mais baixo devido provavelmente à existência de uma ponte de hidrogénio intramolecular entre o hidrogénio do grupo hidroxilo e o azoto da função imina.

Tabela 2.5. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) para os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29**.



Comp	R	C ₄ -H	NH ₂	Ar
24 [67]	4-OCH ₃	8,19(s;1H)	7,75(s;2H)	8,0(d;J _{9,0} ;2H); 7,0(d;J _{9,0} ;2H); 3,82(sl;3H)
25	2-OH	8,58(s;1H)	7,84(s;2H)	6,92(dd;J _{1,8} ;J _{2,6} ;1H;H' ₃); 7,32(dt;J _{1,7} ;J _{2,1} ;1H;H' ₄); 6,88(t;J _{7,8} ;1H;H' ₅); 8,03(dd;J _{1,7} ;J _{2,1} ;1H;H' ₆); 10,42(s;1H;OH')
26	3-OH	8,16(s;1H)	7,88(s;2H)	7,37(t;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 6,90(ddd;J _{1,8} ;J _{2,4} ;J _{3,0} ;1H;H' ₄); 7,25(t;J _{8,1} ;1H;H' ₅); 7,43(d;J _{8,1} ;1H;H' ₆); 9,64(s;1H;OH')
27	4-OH	8,14(s;1H)	7,65(s;2H)	7,86(d;J _{8,7} ;2H;H' ₂₊₆); 6,82(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 10,21(sl;1H;OH')
28	3,4-OH	8,06(s;1H)	7,60(s;2H)	7,40(d;J _{2,0} ;1H;H' ₂); 6,81(d;J _{8,1} ;1H;H' ₅); 7,29(dd;J _{1,8} ;J _{2,0} ;1H;H' ₆); 9,15(sl;1H;OH'); 9,80(sl;1H;OH')
29	3,4,5-OH	7,98(s;1H)	7,56(s;2H)	6,93(s;2H;H' ₂₊₆) 9,09(sl;>2H;OH')

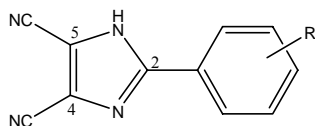
Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes compostos são semelhantes ao da 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24** [67].

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

Os espectros de ¹H RMN do 4,5-diciano-2-aril-1H-imidazole **32-35** apresentam um singlete muito largo correspondente ao protão N₁-H entre δ 10,00 e 16,00 ppm. Este sinal não é visível no espectro do composto **35** devido provavelmente a ser uma banda muito larga, espalhada por toda a linha de base, ou trocar facilmente com a água residual existente no DMSO-d₆. O protão O-H surge a δ 9,38-13,00 ppm e desaparece por a adição de D₂O. No composto **32**, este sinal aparece sobreponível com o N₁-H e corresponde, no espectro, a uma banda muito larga entre 10 e 13 ppm. É possível que este facto esteja relacionado com a existência de uma ponte de hidrogénio intramolecular entre o protão fenólico e o azoto do anel de imidazole, que se traduz numa situação praticamente equivalente para ambos os protões. Os protões aromáticos

surtem no intervalo δ 6,84-7,94 ppm. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são semelhantes ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-1*H*-imidazole **31** [67].

Tabela 2.6. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para os 2-aril-4,5-diciano-1*H*-imidazoles **31-35**.



Comp	R	NH	Ar
31 [67]	4-OCH ₃	13,4 (sl;<1H)	7,92(d;J _{8,1} ;2H); 7,10(d;J _{8,1} ;2H); 3,82(s;3H)
32	2-OH	10,0-13,0(sml;>1H)	7,02(d;J _{7,8} ;1H;H' ₃); 7,34(dt;J _{1,7,8} ;J _{2,1,5} ;1H;H' ₄); 6,94(t;J _{7,8} ;1H;H' ₅); 7,94(dd;J _{1,7,8} ;J _{2,1,5} ;1H;H' ₆); 10-13(sml;>1H;OH')
33	3-OH	12,0-16,0(sml;<1H)	7,35-7,50(m;2H;H' ₂₊₆); 6,91(ddd;J _{1,7,8} ;J _{2,4} ;J _{3,1,2} ;H' ₄); 7,33(t;J _{7,8} ;1H;H' ₅); 9,86(s;1H;OH')
34	4-OH	12,0-16,0(sml;<1H)	7,80(d;J _{9,0} ;2H;H' ₂₊₆); 6,89(d;J _{9,0} ;2H;H' ₃₊₅); 10,16(s;1H;OH')
35	3,4-OH	^a	7,38(d;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 6,84(d;J _{8,1} ;1H;H' ₅); 7,28(dd;J _{1,8,1} ;J _{2,1} ;1H;H' ₆); 9,38(s;1H;OH'); 9,63(s;1H;OH')

^a Não é visível no espectro.

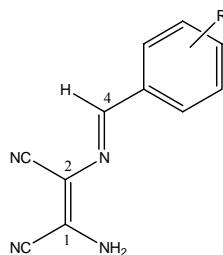
2.1.2.4. Espectroscopia de ^{13}C RMN

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

Nos estudos de espectroscopia de ^{13}C RMN dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **25-29** utilizou-se a técnica de HMQC (Heteroatom Multiple Quantum Correlation) e HMBC (Heteroatom Multiple Bond Correlation). O espectro de HMQC mostra o acoplamento a 1 ligação entre o ^1H - $^{13}\text{C}_4$ e entre os prótons e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro de HMBC observou-se o

acoplamento a três ligações entre o C₄-¹H e ¹³C₂, entre o C₄-¹H e os carbonos na posição *orto* do fenol, entre os prótons na posição *orto* da unidade fenólica e o ¹³C₄, entre os hidrogénios do grupo amino e o carbono do ciano ligado a C₁ (¹H₂N-C₁-¹³C≡N), entre os ¹H₂N-C₁ e ¹³C₂ e o acoplamento a duas ligações entre o C₄-¹H e o carbono na posição *ipso* do fenol. Assim, atribuiu-se o desvio químico de C₁ a δ 125,14-126,84 ppm, C₂ a δ 102,72-103,70 ppm, C₄ a δ 152,82-156,09 ppm, C≡N ligado a C₁ a 114,46-114,81, C≡N em C₂ a 113,42-114,07 e os carbonos da unidade fenólica a δ 108,68-161,01 ppm. Verifica-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos mas o composto **25** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o sinal do C₄ ligeiramente desviado para campo mais alto. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes compostos são semelhantes ao do 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24** [67].

Tabela 2.7. Dados espectroscópicos de ¹³C RMN (DMSO-d₆) para os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29**.

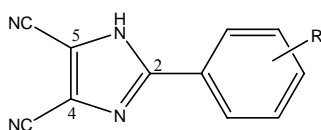


Comp	R	C ₁	C ₂	C ₄	CN	Ar
24 [67]	4-OCH ₃	125,89	103,14	154,75	114,62; 113,89	162,12; 131,03; 128,42; 114,28; 55,45
25	2-OH	126,05	103,42	152,82	114,58 (C ₁); 113,42 (C ₂)	121,24(C' ₁);158,15(C' ₂); 116,42(C' ₃);133,20(C' ₄); 119,43(C' ₅);128,90(C' ₆)
26	3-OH	126,84	102,72	155,37	114,46 (C ₁); 113,82 (C ₂)	136,84(C' ₁);115,26(C' ₂); 157,68(C' ₃);118,79(C' ₄); 129,70(C' ₅);120,28(C' ₆)
27	4-OH	125,45	103,42	155,11	114,73 (C ₁); 113,96 (C ₂)	126,93(C' ₁);131,24(C' _o); 115,72(C' _m);161,01(C' _p)
28	3,4-OH	125,26	103,61	155,64	114,79 (C ₁); 114,03 (C ₂)	127,41(C' ₁);115,52(C' ₂); 145,67(C' ₃);149,71(C' ₄); 115,50(C' ₅);122,75(C' ₆)
29	3,4,5-OH	125,14	103,70	156,09	114,81 (C ₁); 114,07 (C ₂)	126,12(C' ₁);108,68(C' _o); 146,08(C' _m);137,97(C' _p)

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

O espectro de HMQC dos 4,5-diciano-2-aril-1H-imidazoles **32-35** mostra o acoplamento directo entre os prótons e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre os prótons na posição *orto* da unidade fenólica e o $^{13}\text{C}_2$. Deste modo, atribuiu-se o sinal de C_2 a δ 149,29-151,82 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a δ 111,41-111,72 ppm, os carbonos da unidade fenólica a δ 113,01-159,98 ppm. Os sinais correspondentes ao C_4 e C_5 não são visíveis no espectro. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para os carbonos. Verifica-se que os valores de deslocamento químico de C_2 nestes imidazoles são desviados para campo ligeiramente mais alto relativamente ao carbono equivalente C_4 nos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **25-29** precursores, indicando uma variação da densidade electrónica neste átomo de carbono resultante da ciclização do anel de imidazole.

Tabela 2.8. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para os 2-aril-4,5-diciano-1H-imidazoles **31-35**.



Comp	R	C_2	C_4/C_5	CN	Ar
31 [67]	4-OCH ₃	150,93	^a	114,24	161,27; 127,91; 120,83; 114,62; 55,41
32	2-OH	149,29	^a	111,54	113,80(C' ₁);155,43(C' ₂); 116,49(C' ₃);132,14(C' ₄); 119,67(C' ₅);128,65(C' ₆)
33	3-OH	151,06	^a	111,41	128,75(C' ₁);113,01(C' ₂); 157,89(C' ₃);117,98(C' ₄); 130,37(C' ₅);116,98(C' ₆)
34	4-OH	151,52	^a	111,56	118,57(C' ₁);128,18(C' _o); 115,95(C' _m);159,94(C' _p)
35	3,4-OH	151,82	^a	111,72	119,06(C' ₁);113,69(C' ₂); 145,71(C' ₃);148,29(C' ₄); 115,95(C' ₅); 118,27(C' ₆)

^a Não é visível no espectro.

Podemos também verificar que o deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica nestes imidazoles está desviado para campo mais alto em relação ao dos etenos **25-29** correspondentes, indicando que este átomo de carbono

passou a estar ligado a uma estrutura com maior capacidade de retirar electrões, resultante da formação do anel de imidazole com dois substituintes ciano. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes compostos são concordantes ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-1*H*-imidazole **31** [67].

2.1.3. Actividade antioxidante

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

O rastreio da actividade antioxidante dos compostos sintetizados foi realizado inicialmente através de medições do potencial de oxidação, uma vez que estudos prévios indicam que estes potenciais estão relacionados com a actividade antioxidante primária ou anti-radicalar [24, 84, 85].

Analisando a tabela 2.9, verifica-se que os compostos **24-27** com os substituintes 4-metoxifenilo, 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo no anel aromático têm potenciais de pico anódicos bastante elevados. Enquanto que os compostos **28** e **29** com os substituintes 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo têm potenciais de pico baixos, apresentando mesmo o último composto um potencial de pico de 113 mV, potencial inferior ao do antioxidante de referência trolox. Estas diferenças no potencial de oxidação sugerem que a unidade fenólica é a principal responsável pela facilidade com que estes compostos se oxidam.

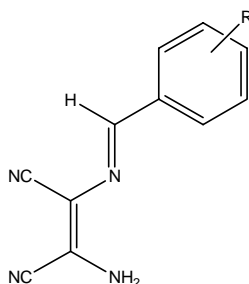
No teste de descoloração do DPPH, determinou-se que a concentração do composto **29** necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50 % (IC₅₀) é de $3,7 \pm 0,7 \mu\text{M}$, sendo entre duas a três vezes inferior ao do trolox ($9,0 \pm 0,2 \mu\text{M}$) e confirmando-se que este composto tem uma actividade anti-radicalar muito potente.

No teste da degradação da desoxirribose, verificou-se que o composto **29** inibe a degradação da desoxirribose para um valor inferior a 50 %. O efeito protector deste composto foi aproximadamente o dobro em relação ao trolox, para igual capacidade anti-radicalar (concentrações de IC₅₀ determinados no teste de descoloração do DPPH). Este resultado tem grande importância porque o par oxidante ascorbato/Fe²⁺ pode induzir uma produção excessiva de radicais livres em sistemas biológicos “in vivo” em várias situações patológicas em que esteja envolvida uma alteração da homeostase do

ferro intracelular [2, 86, 87]. Portanto, há todo o interesse em identificar novos compostos capazes de actuarem como antioxidantes eficientes nestas condições.

O composto **29** apresenta uma actividade antioxidante mais potente do que o trolox devido provavelmente à sua capacidade quelante do ião ferro, removendo Fe^{3+} do complexo Fe^{3+} -EDTA e formando um complexo com ferro que não pode induzir a formação dos radicais hidroxilo na reacção de Fenton, contribuindo para a sua superioridade antioxidante [88, 89]. Adicionalmente, verificou-se que o potencial de pico anódico do composto **29** é inferior aos dos seus dois reagentes de partida, apresentando o diaminomaleonitrilo **1** e o 3,4,5-trihidroxibenzaldeído **2** valores de potencial de pico de 335 e 196 mV, respectivamente.

Tabela 2.9. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para os 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29**.



Comp	R	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μM)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
24	4-OCH ₃	830	-	-	-
25	2-OH	688	649	-	-
26	3-OH	740	-	-	-
27	4-OH	476	361	-	-
28	3,4-OH	248	185	-	-
29	3,4,5-OH	113	40	$3,7 \pm 0,7$	$37,9 \pm 2,3$
Trolox		173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

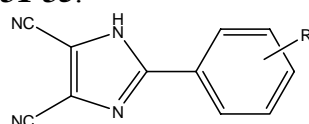
Os compostos **31-35** pertencentes a este grupo têm potenciais de oxidação mais elevados do que os compostos precursores lineares respectivos (Tabelas 2.9 e 2.10).

Este aumento dos potenciais com a ciclização é devido provavelmente ao facto da estrutura cíclica ter uma capacidade remotora de electrões superior à estrutura linear o que torna mais difícil a oxidação do composto. Nos espectros de ^{13}C RMN, verificou-se que o carbono *ipso* (C'_1) do grupo arilo estava deslocado para um campo mais baixo depois de ocorrer a ciclização, comprovando que o grupo arilo passou a estar ligado a uma estrutura com maior capacidade remotora de electrões depois de ocorrer a ciclização (Tabelas 2.7 e 2.8).

O composto **35** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo no anel aromático apresenta um potencial de pico anódico de 254 mV, sendo o mais baixo desta série, continua ser inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV), tem um valor de IC_{50} para a descoloração do DPPH de $12,0 \pm 1,0 \mu\text{M}$, valor ligeiramente superior ao do trolox, concluindo-se que tem uma actividade anti-radicalar eficiente. Este composto inibiu a degradação da desoxirribose para um valor de $41,0 \pm 3,5 \%$, demonstrando que tem uma capacidade de protecção aproximadamente duas vezes maior relativamente ao trolox, devido provavelmente à capacidade superior de complexação do ião ferro pelo nosso composto.

O composto **32** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem um potencial de pico de 783 mV e apresenta um IC_{50} superior a $400 \mu\text{M}$ no teste de descoloração do DPPH, comprovando a sua fraca actividade anti-radicalar.

Tabela 2.10. Dados de potencial de pico anódico e actividade antioxidante para os 2-aril-4,5-diciano-1H-imidazoles **31-35**.



Comp	R	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μM)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
31	4-OCH ₃	1066	1029	-	-
32	2-OH	783	758	> 400	-
33	3-OH	896	712	-	-
34	4-OH	620	534	-	-
35	3,4-OH	254	166	$12,0 \pm 1,0$	$41,0 \pm 3,5$
Trolox		173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

2.1.4. Actividade antimicrobiana

1-Amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

A actividade antimicrobiana dos compostos sintetizados foi avaliada pelo método de microdiluição em meio de cultura líquido de modo a determinar a concentração mínima inibitória (MIC) que impedia o crescimento celular para um valor superior a 80 % em duas espécies de leveduras, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* e em duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* (Gram-) e *Bacillus subtilis* (Gram+) (Tab. 2.11).

Os compostos foram testados em concentrações crescentes até à concentração de 400 μM sempre que eram solúveis no meio de cultura, só se ultrapassando esta concentração quando se observava uma inibição parcial do crescimento celular.

De forma a avaliar a toxicidade dos compostos activos determinou-se a viabilidade celular em fibroblastos com o teste de libertação da LDH, uma medida da perda da integridade membranar.

Nos estudos da actividade antibacteriana observou-se que nenhum composto deste grupo inibiu mais de 80 % o crescimento da *Escherichia coli* mas o composto **29** com o substituinte 3,4,5-tri-hidroxifenilo na concentração de 600 μM teve uma inibição de aproximadamente 70 % (Tab. 2.11). Verificou-se também que o composto **29**, na concentração de 400 μM , foi o único composto que inibiu o crescimento do *Bacillus subtilis* mais de 80 %, enquanto que o antibiótico cloranfenicol teve um valor de MIC de 12,5 μM .

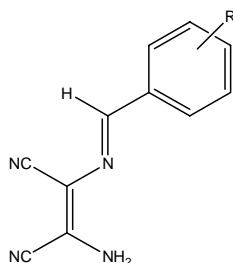
Nos estudos da actividade antifúngica verificou-se que o composto **29** apresentou um valor de MIC de 50 μM e o composto **25**, na concentração de 200 μM , reduziu em aproximadamente 50 % o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*, enquanto que os antifúngicos fluconazole e miconazole apresentaram MICs de 50 e 100 μM , respectivamente. Em *Candida albicans*, o composto **29** apresentou um MIC de 100 μM e o composto **25**, na concentração de 200 μM , só reduziu o crescimento aproximadamente 60 %, por sua vez os antifúngicos fluconazole e miconazole apresentaram MICs de 1,56 e 0,78 μM , respectivamente.

A maior actividade antimicrobiana do composto **29** parece estar relacionada de alguma forma com o menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar deste composto em relação aos outros desta série. Isto está de acordo com

estudos anteriores que mostram que a actividade dos compostos antifúngicos era potenciada com a adição de um antioxidante fenólico [60, 62]. Deste modo, podemos concluir que existe um efeito sinérgico entre a unidade fenólica 3,4,5-tri-hidroxifenilo e a unidade vinílica comum a todos os compostos desta série.

No estudo toxicológico efectuado para o composto **29** na concentração de 400 μM verificou-se que não houve um aumento significativo da enzima lactato desidrogenase no meio extracelular, indicando que não houve alteração da viabilidade celular dos fibroblastos avaliada pela integridade da membrana plasmática.

Tabela 2.11. Valores de concentração mínima inibitória (MIC) para os 1-amino-2-arylidenamino-1,2-(diciano)etenos **24-29** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
24	4-OCH ₃	> 150	> 150	> 150	> 150	-
25	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
26	3-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
27	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
28	3,4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
29	3,4,5-OH	> 600	400	50	100	91,1 \pm 3,3 (400 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluc (Fluconazole), Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

Adicionalmente, verificamos que os compostos **27**, **28** e **29** com os substituintes 4-hidroxifenilo, 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo respectivamente, têm uma maior solubilidade do que os compostos **25** (2-hidroxifenilo) e **26** (3-hidroxifenilo) nos meios aquosos, sendo o composto **24** (4-metoxifenilo) o menos solúvel. Para alguns compostos a concentração máxima testada foi limitada pela solubilidade destes

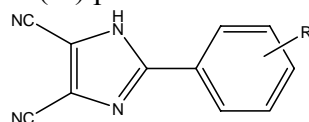
compostos. Assim, os valores indicados na tabela 2.11 representam na maioria das situações (quando o valor de MIC não foi encontrado) os valores de concentração mais elevados em que os compostos são solúveis nos meios de cultura.

2-Aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

Na avaliação da actividade antibacteriana observou-se que nenhum composto desta série induziu uma inibição superior a 80 % no crescimento de *Escherichia coli*, mas o composto **32** com o substituinte 2-hidroxifenilo na concentração de 500 μM teve uma inibição de aproximadamente 50 % (Tab. 2.12). Para *Bacillus subtilis*, observou-se que o composto **35** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um valor de MIC de 500 μM , sendo muito mais elevado do que o do cloramfenicol.

Na avaliação da actividade antifúngica verificou-se que o composto **35** apresentou um valor de MIC de 400 μM para *Saccharomyces cerevisiae*, sendo mais elevado do que os do fluconazole e miconazole. Para *Candida albicans*, o composto **35** apresentou um valor de MIC de 600 μM , sendo igualmente muito superior aos do fluconazole e miconazole.

Tabela 2.12. Valores de MIC para os 2-aril-4,5-diciano-1H-imidazoles **31-35** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%) Fibroblastos
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	
31	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200	-
32	2-OH	> 500	> 400	> 400	> 400	-
33	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
34	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
35	3,4-OH	> 400	500	400	600	88,5 \pm 7,7 (600 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

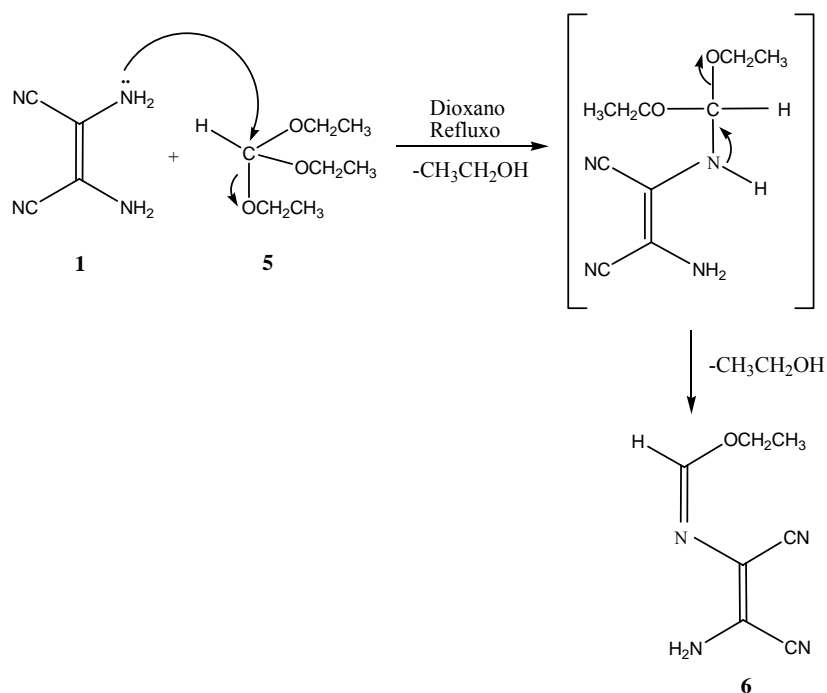
Fluc (Fluconazole), Mico (Miconazole) e Clora (Cloramfenicol).

Paralelamente aos elevados valores de MIC verificou-se que o composto **35**, na concentração de 600 μM , não é tóxico para os fibroblastos dado que não houve uma libertação significativa da LDH para o meio extracelular, indicando uma boa integridade da membrana plasmática.

Parece também estar relacionada a maior actividade antimicrobiana do composto **35** com o seu menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar relativamente aos outros compostos deste grupo. Adicionalmente, parece ter havido um aumento da potência antimicrobiana com a ciclização porque o composto **28** que é o precursor linear do composto **35** não tinha actividade antimicrobiana significativa.

2.2. Compostos sintetizados a partir do (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo

Nesta secção, o imidato **6** foi utilizado como reagente de partida na síntese de todos os compostos, tais como, amidinas, imidazoles, dihidropurinas, purinas, imidazoimidazoles, imidazopiridinas. Este composto foi obtido por reacção do diaminomaleonitrilo **1** (DAMN) com ortoformiato de etilo **5** após refluxo em dioxano [72]. Esta reacção ocorre por ataque nucleofílico de um dos grupos amino do DAMN ao carbono central da função ortoéster, com libertação de duas moléculas de etanol, como esquematizado abaixo:



2.2.1. Síntese

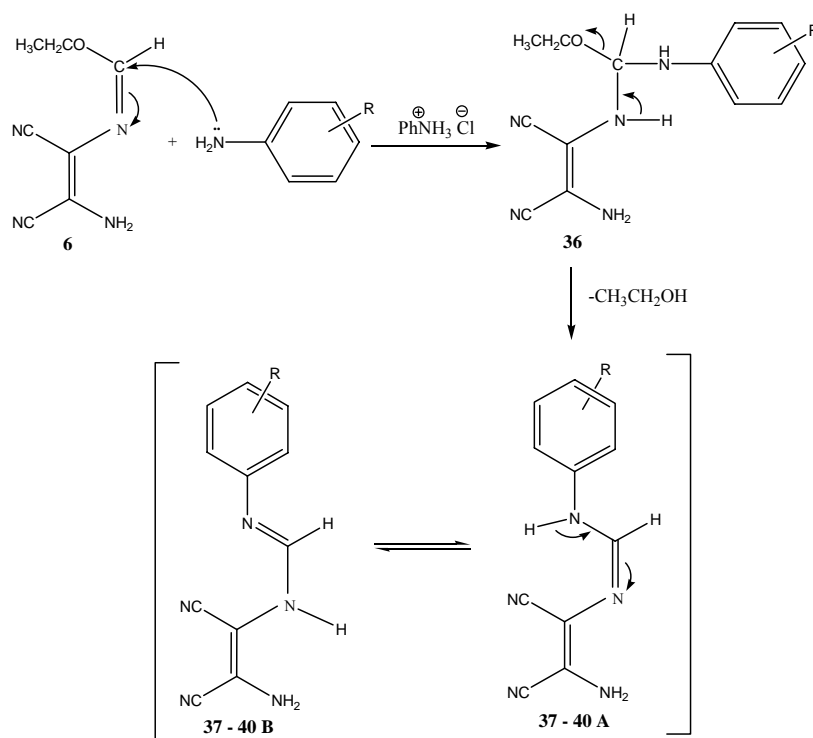
(Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas

As amidinas **37-40** foram sintetizadas fazendo reagir o imidato **6** com as aminas aromáticas na presença de catálise ácida e foram isoladas com um rendimento de 85-95 % ao fim de 24-43 horas sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C.

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das amidinas **37-40** são apresentados na secção 2.2.2.

A velocidade das reacções parece depender do carácter nucleofílico da amina. De facto, verificou-se que a 4-metoxi-anilina e 4-hidroxi-anilina reagiram mais rapidamente e com velocidades comparáveis, seguindo-se da 2-hidroxi-anilina e a 3-hidroxi-anilina que correspondeu à reacção mais lenta. Esta observação está de acordo com o maior efeito dador de electrões dos grupos hidroxilo na posição *para* e *orto* relativamente à *meta*. Contudo, dado que as condições experimentais variaram ligeiramente nas várias reacções, não podemos excluir que outra explicação possa estar na origem desta diferença. No caso da 2-hidroxi-anilina poderá estar envolvida uma ponte de hidrogénio intramolecular, entre o protão fenólico e o azoto da amina, o que reduz a nucleofilia deste átomo.

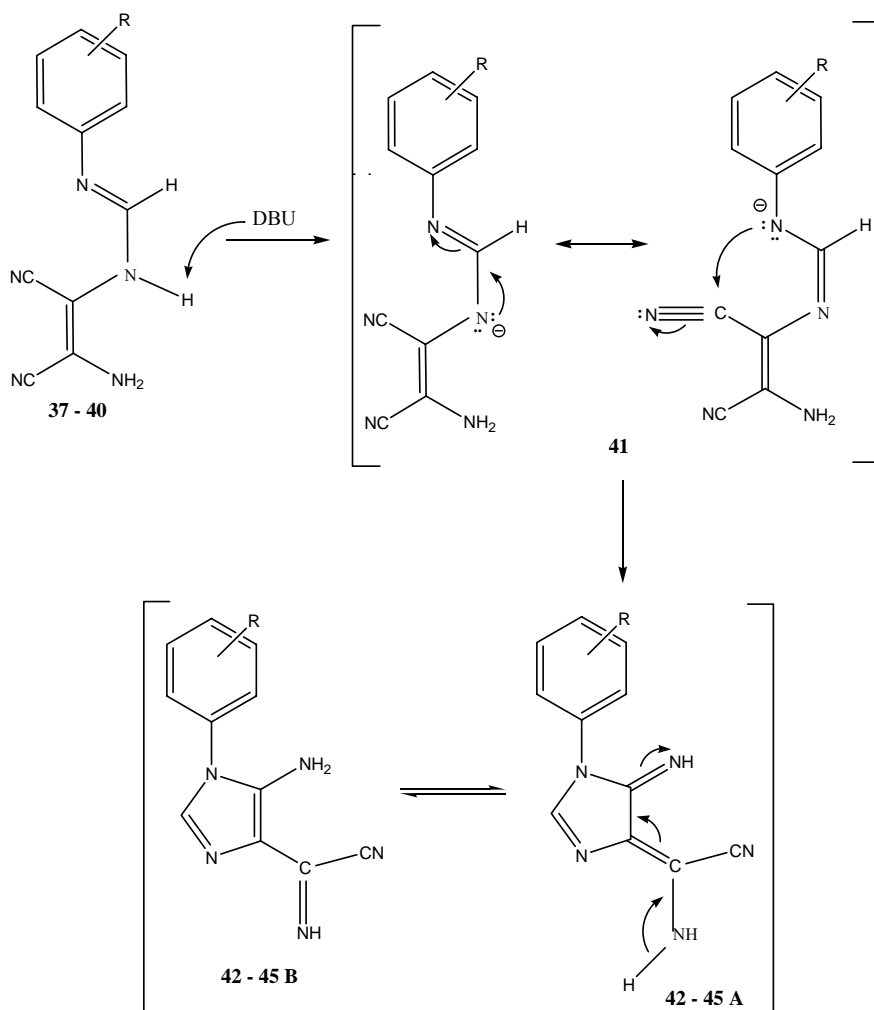
O mecanismo da reacção está representado a seguir:



O primeiro passo da reacção corresponde ao ataque nucleofílico da amina aromática ao carbono central da função imidato com formação do intermediário **36**, ataque que é facilitado pela protonação do imidato **6** com o cloreto de anilíneo. Segue-se a eliminação de uma molécula de etanol e formação da amidina pretendida, que pode existir em duas formas tautoméricas **37-40 A** e **B** e para cada uma delas, em duas conformações distintas.

5-Amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles

Por adição de uma quantidade catalítica de DBU, 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undec-7-eno, às suspensões das amidinas **37-40** no solvente apropriado, sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C, estas evoluíram para os cianoformimidazolimidazoles **42-45** correspondentes durante um período que variava entre 27 horas a 5 dias e foram isoladas com rendimentos de 85-98 %.



Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN dos cianoformimidoilimidazoles **42-45** são apresentados na secção 2.2.2.

O mecanismo proposto para a ciclização intramolecular das amidinas **37-40** para gerar os cianoformimidoilimidazoles **42-45** envolve um ataque nucleofílico do átomo de azoto N_1 da amidina ao grupo ciano mais próximo, sendo este ataque favorecido pela presença de base que se supõe ser responsável pela formação da espécie aniónica **41**. O produto pode existir em duas formas tautoméricas **42-45 A e B**.

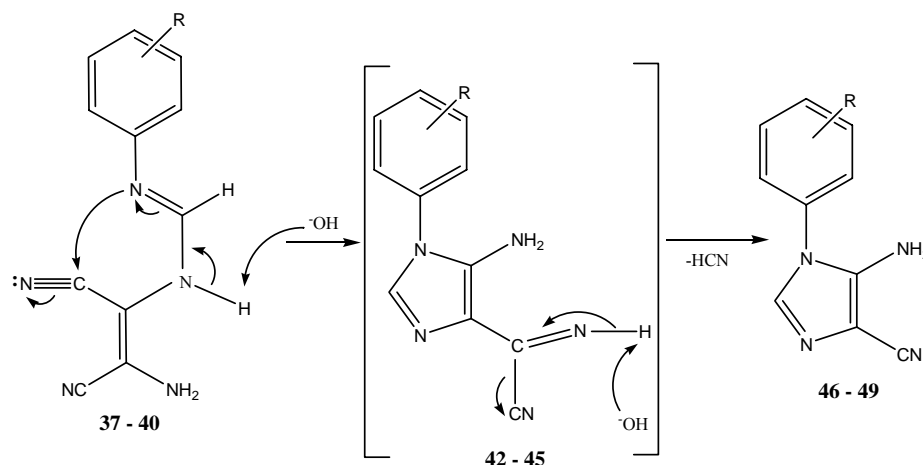
5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

Os 5-amino-4-cianoimidazoles podem também ser usados como precursores na síntese de purinas mas têm demonstrado uma reactividade muito inferior face sobretudo a compostos carbonílicos, relativamente aos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles correspondentes [73].

Os 5-amino-4-cianoimidazoles **46-49** foram obtidos a partir das amidinas **37-40** em hidróxido de sódio aquoso (2 M) sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C durante 1 hora 30 min a 3 horas com rendimentos de 71-89 %, depois de neutralizar a base em solução com uma quantidade equimolar de HCl 37 %.

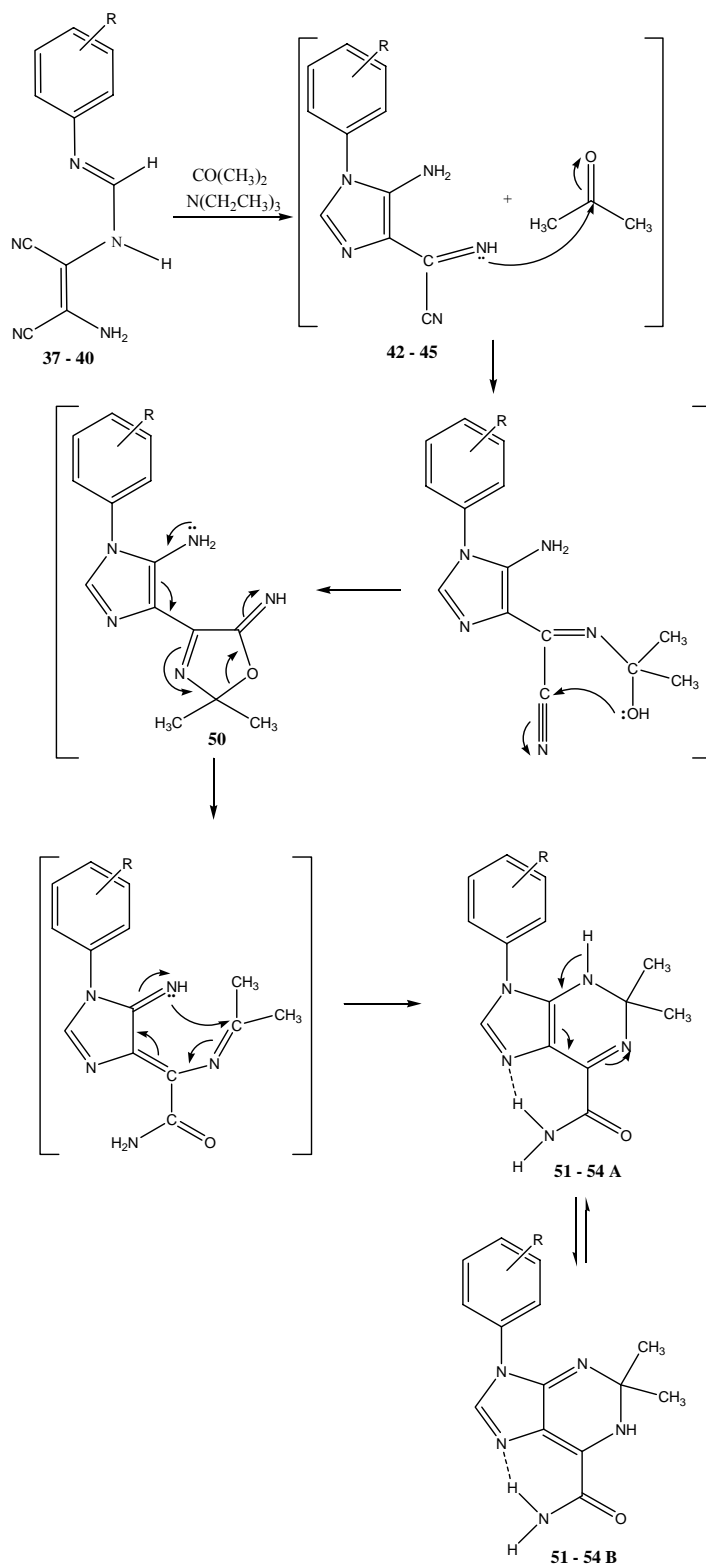
Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN dos imidazoles **46-49** são apresentados na secção 2.2.2.

O mecanismo esquematizado abaixo mostra que o NaOH catalisa inicialmente a reacção de ciclização intramolecular das amidinas **37-40** para gerar os cianoformimidoilimidazoles **42-45**, que podem eliminar HCN originando os cianoimidazoles **46-49** pretendidos.



9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

As amidinas **37-40** evoluíram para as 2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54** respectivas em presença de acetona e trietilamina sob agitação magnética à temperatura ambiente durante um período de 23 horas a 6 dias e com os rendimentos de 65-85%.



Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das 1,2-dihidropurinas **51-54** são apresentados na secção 2.2.2.

No mecanismo proposto observa-se que as amidinas **37-40** ciclizam inicialmente para os cianoformimidoilimidazoles **42-45** respectivos na presença de base. Segue-se o ataque nucleofílico do azoto imínico presente no grupo cianoformimidoilo ao carbono carbonílico da acetona. Ocorre uma segunda ciclização intramolecular por ataque nucleofílico do oxigénio ao grupo ciano e forma-se uma estrutura intermediária **50** com um segundo anel de 5 membros. Esta estrutura sofre abertura do anel gerando um grupo amida e uma imina, que participa numa nova ciclização intramolecular com formação do anel de 6 membros produzindo as dihidropurinas **51-54**.

Estas dihidropurinas **51-54** podem existir em duas formas tautoméricas (**51-54 A** e **B**), uma vez que o protão pode estar no azoto N_1 ou N_3 . Adicionalmente, um dos protões do grupo amida parece estar envolvido numa ponte de hidrogénio intramolecular com o azoto N_7 atendendo a que no espectro de ^1H RMN se observam sempre dois singletos distintos para estes protões.

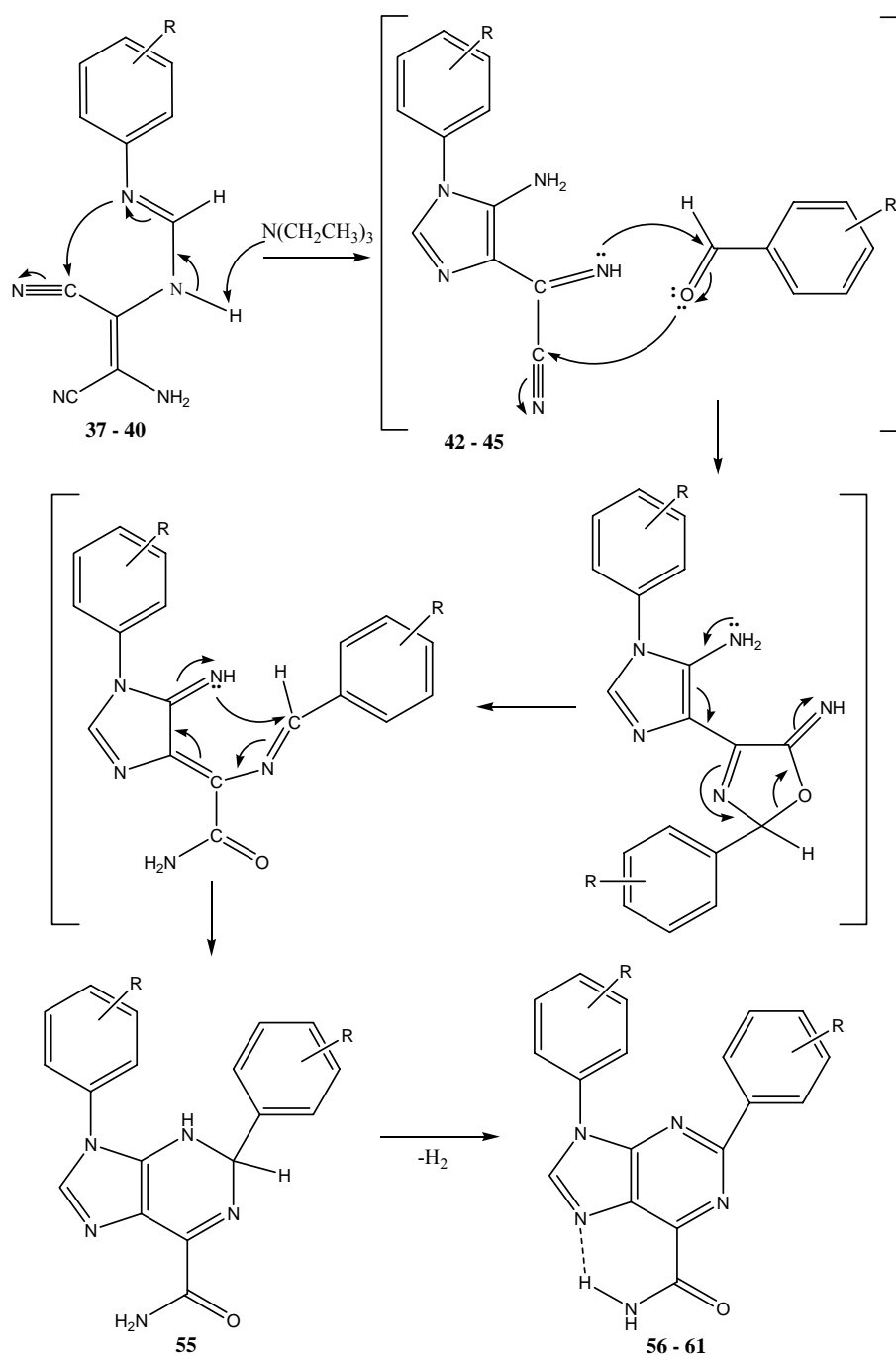
2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

A partir da reacção das amidinas **37** e **40** com os aldeídos aromáticos, obtiveram-se as 6-carbamoilpurinas **56-61** na presença de trietilamina, à temperatura ambiente durante um período de 3-18 dias e com os rendimentos de 43-79 %. A formação das dihidropurinas intermediárias foi detectada por TLC, mas a facilidade com que estes compostos são oxidados para gerar a estrutura aromática só tornou possível obter a purina no estado puro. Verificou-se que o processo de oxidação pode ocorrer em solução e também no estado sólido. Não foi possível obter a purina a partir do 3,4,5-trihidroxibenzaldeído porque ocorreu degradação da mistura reaccional.

Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das 6-carbamoilpurinas **56-61** são apresentados na secção 2.2.2.

O mecanismo de síntese das 1,2-dihidropurinas **55** obtidas a partir de aldeídos aromáticos é semelhante ao descrito para a síntese de 2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54**, apresentado na secção anterior. Contudo, estas dihidropurinas são facilmente oxidadas para gerar a purinas **56-61** correspondentes com eliminação de hidrogénio molecular, resultando no aumento da conjugação do sistema heterocíclico devido à

formação de uma ligação dupla entre o átomo de carbono C₂ e o átomo de azoto adjacente.



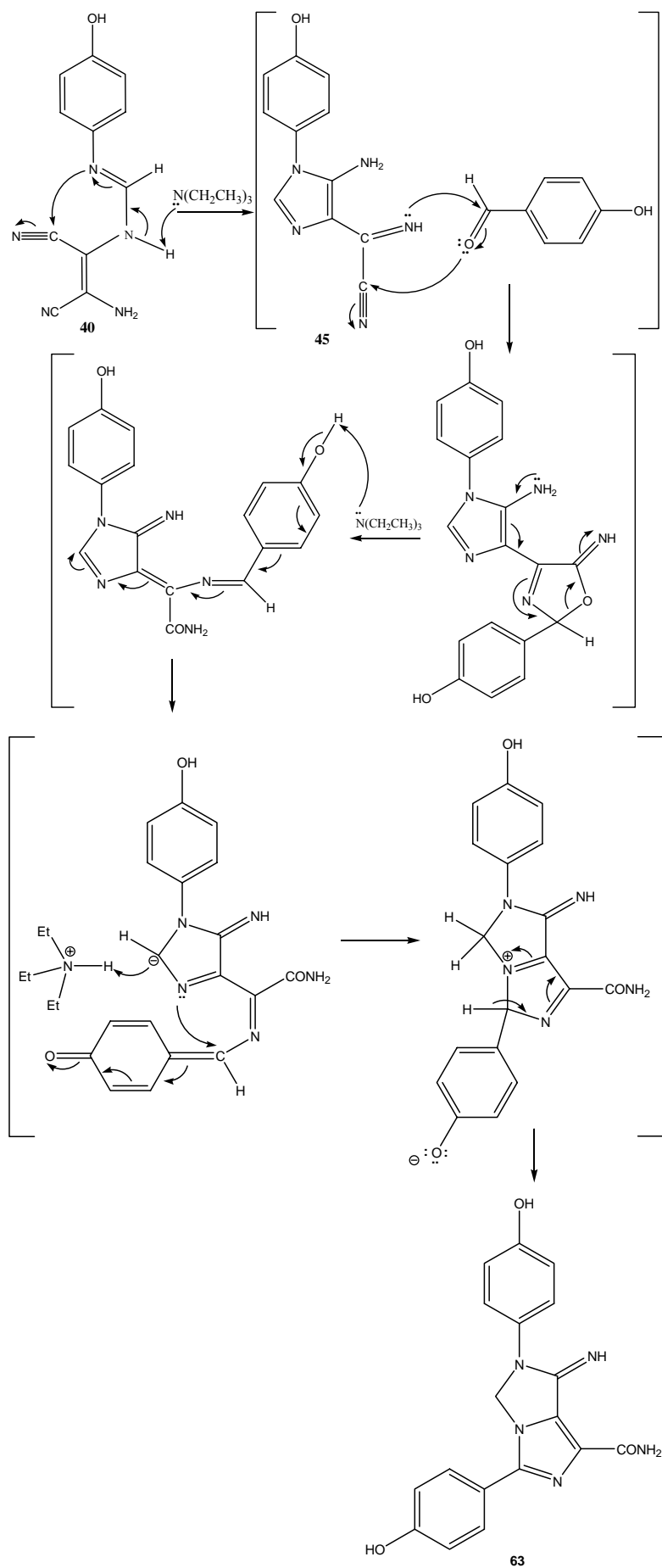
Adicionalmente, observou-se que ocorre uma via de síntese competitiva minoritária com formação de uma estrutura nova de imidazo-imidazole quando o reagente de partida é 2-hidroxibenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído ou 3,4-dihidroxibenzaldeído. Esta estrutura foi considerada um contaminante nas condições reaccionais actuais, mas a sua síntese será discutida na secção seguinte pois, foi possível isolá-la com rendimentos mais elevados.

3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles

Quando a reacção entre a amidina **40** e aldeídos aromáticos incorporando um grupo hidroxilo nas posições 2 ou 4 do anel, na presença de trietilamina, é realizada à temperatura de 0-4 °C e em atmosfera de azoto, o produto isolado é o imidazo[1,5-*e*]imidazole **62-64**. Este composto foi isolado com rendimentos de 34-76 % ao fim de 9-17 dias. Os rendimentos obtidos nestas reacções não puderam ser melhorados pois ocorre competitivamente a reacção de síntese das 6-carbamoilpurinas.

Os dados espectroscópicos de IV, ¹H e ¹³C RMN dos imidazo[1,5-*e*]imidazoles **62-64** são apresentados na secção 2.2.2.

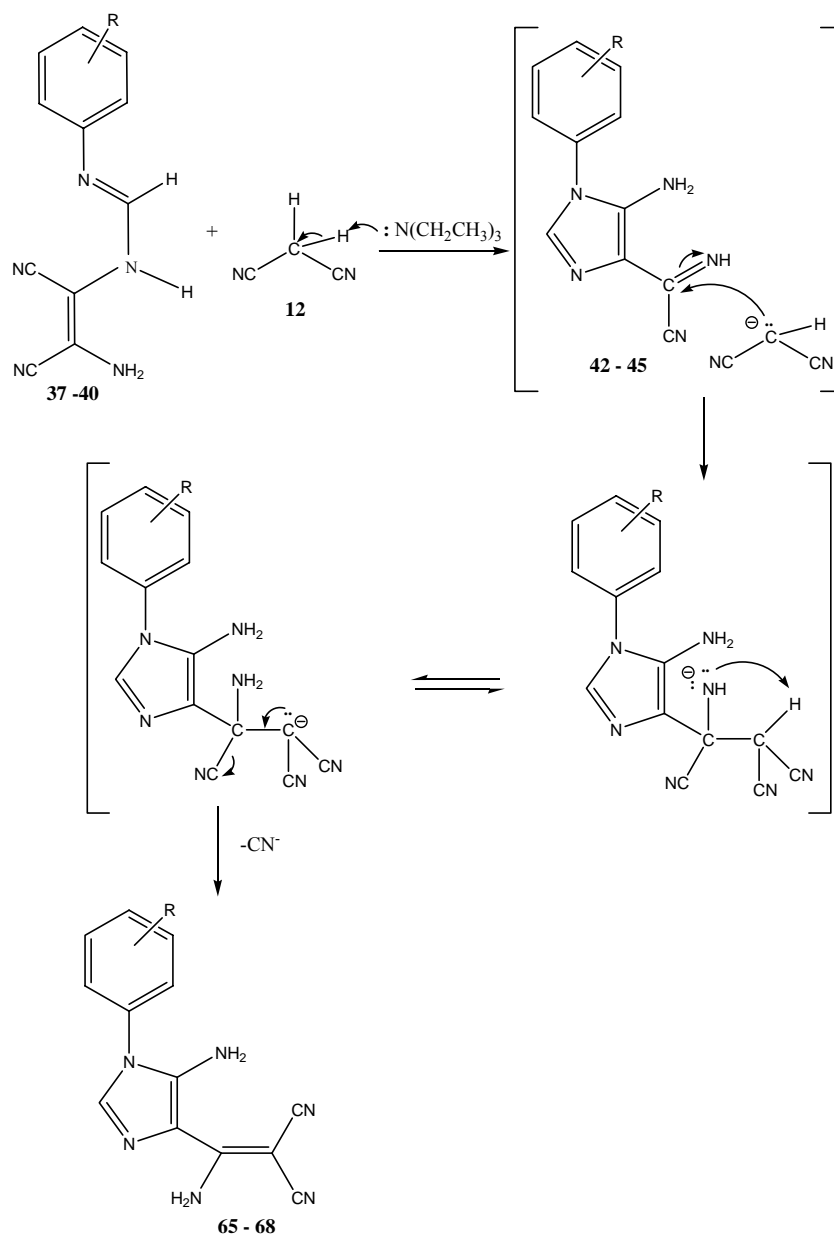
O mecanismo sintético proposto para a formação destes compostos, aqui ilustrado pela reacção com 4-hidroxibenzaldeído, é inicialmente semelhante ao das 1,2-dihidropurinas **51-54**, com a ciclização da amidina **40** para gerar o cianoformimidoilimidazole **45**, formação da estrutura intermediária com um segundo anel de 5 membros e posterior abertura deste anel. Esta estrutura aberta evolui para outra forma tautomérica, um processo provavelmente catalizado por base. Este tautómero permite a ciclização intramolecular por ataque nucleofílico do azoto N₃ da imidazolina e formação do imidazo-imidazole. Só foi possível obter os imidazo-imidazoles com o substituinte 2-hidroxifenilo, 4-hidroxifenilo e 3,4-di-hidroxifenilo na posição C₃, uma vez que só os grupos hidroxilo na posição *orto* e *para* do aldeído aromático inicial possibilitam a formação da forma tautomérica que permite esta ciclização intramolecular. O controlo cuidadoso das condições reaccionais e em particular da temperatura, permite que a reacção prossiga no sentido da formação do imidazo[1,5-*e*]imidazole **62-64** (produto cinético) ou da 6-carbamoilpurina **58, 60 e 61** (produto termodinâmico).



5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

A partir da reacção das amidinas **37-40** com malononitrilo **12**, obtiveram-se os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68** com rendimentos de 69-81 %, na presença de trietilamina, sob agitação magnética, à temperatura de 0-4 °C durante aproximadamente 24 horas.

Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN dos imidazoles **65-68** são apresentados na secção 2.2.2.



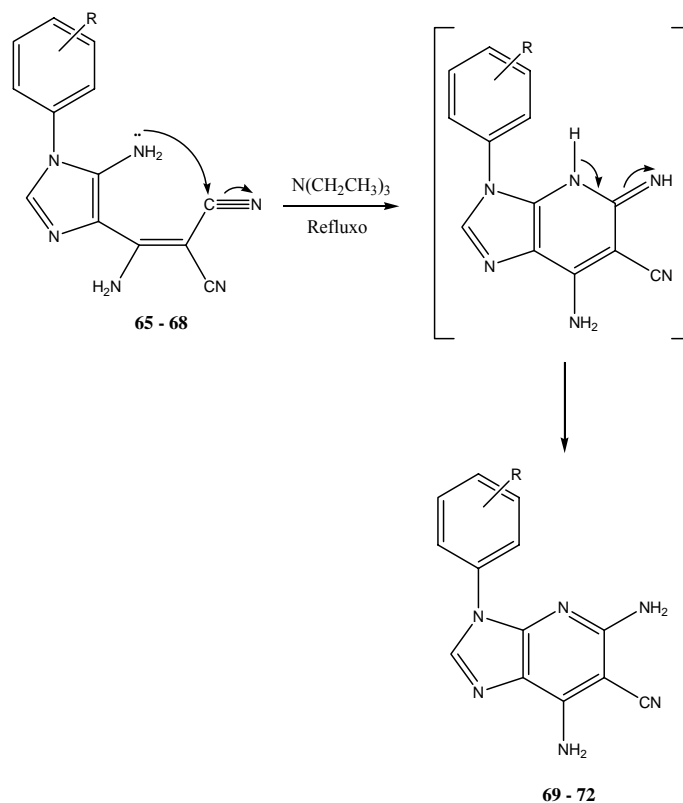
O mecanismo proposto para esta reacção, pressupõe ciclização intramolecular das amidinas **37-40** para gerar os cianoformimidoilimidazoles **42-45** correspondentes. Segue-se o ataque nucleofílico do anião do malononitrilo ao carbono do grupo cianoformimidoilo, gerando um carbanião estabilizado por ressonância, que rapidamente evolui para o alqueno com eliminação do ião cianeto e formação dos imidazoles **65-68**.

5,7-Diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68** evoluem para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **69-72** correspondentes na presença de trietilamina sob refluxo durante um período que varia de 23 horas a 3 dias e foram isoladas com os rendimentos de 60-84 %.

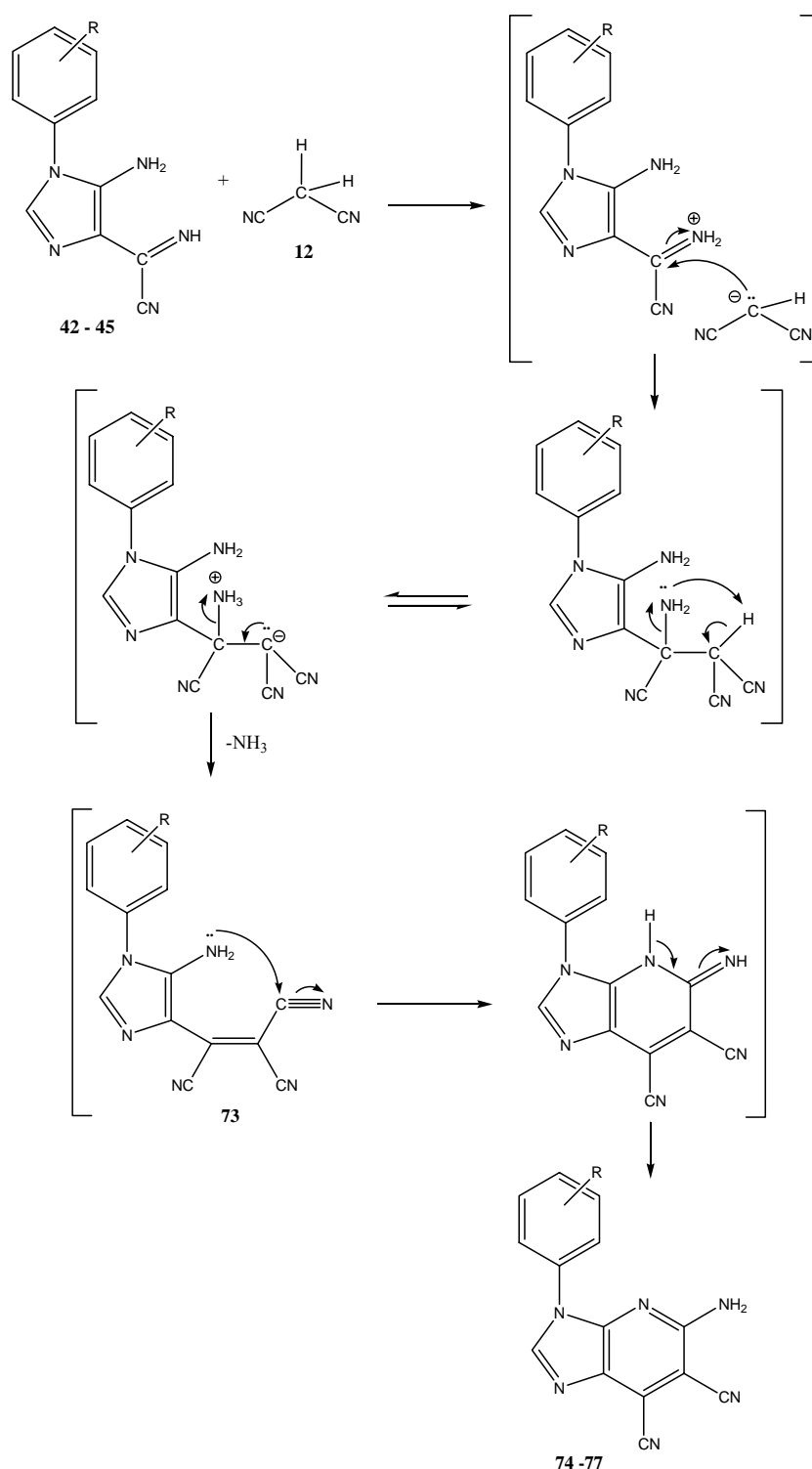
Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das imidazo[4,5-*b*]piridinas **69-72** são apresentados na secção 2.2.2.

O mecanismo proposto para a ciclização intramolecular dos imidazoles **65-68** para gerar as imidazo[4,5-*b*]piridinas **69-72** envolve ataque nucleofílico do azoto da função amino a um dos grupos ciano, ataque que é favorecido pela presença de base.



5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Quando a reacção dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **42-45** com malononitrilo **12**, é realizada na ausência de base, formam-se as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **74-77** com os rendimentos de 86-92 %. O produto é isolado ao fim de 23 horas a 3 dias à temperatura de 0-4 °C.



Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das imidazo[4,5-*b*]piridinas **74-77** são apresentados na secção 2.2.2.

Neste mecanismo sintético, os imidazoles **42-45** podem actuar como bases fracas face ao malononitrilo e a carga positiva gerada nesta molécula acelera o ataque nucleofílico pelo anião do malononitrilo ao carbono do grupo cianoformimidoilo. Forma-se o aducto que, na ausência de outra base externa, elimina uma molécula de amoníaco, produzindo o imidazole intermediário **73**. Esta estrutura nunca foi isolada pois cicliza rapidamente com formação do produto final **74-77**.

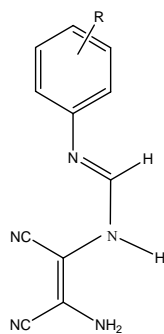
2.2.2. Caracterização analítica e espectroscópica

2.2.2.1. Dados físicos e analíticos

(*Z*)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas

As estruturas das amidinas sintetizadas **38-40** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H ^{13}C RMN e análise elementar. Os dados físicos e analíticos apresentam-se na tabela 2.13.

Tabela 2.13. Dados físicos e analíticos para as (*Z*)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas **38-40**.

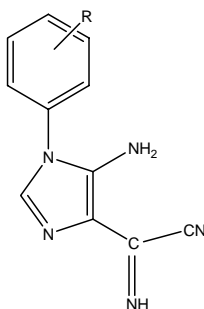


Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valor obtido/ calculado (%)		
					C	H	N
38	2-OH	95	148-150	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}$	58,3 (58,2)	4.1 (4,0)	30.6 (30,8)
39	3-OH	85	175-178	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}$	58,2 (58,2)	4.1 (4,0)	30,5 (30,8)
40	4-OH	86	156-158	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}$	58,2 (58,2)	4.1 (4,0)	30,7 (30,8)

5-Amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles

As estruturas dos cianoformimidoilimidazoles sintetizados **43-45** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H , ^{13}C RMN e análise elementar (Tab. 2.14). Os dados analíticos apoiavam a fórmula empírica de todos os compostos, embora os compostos **44** e **45** estivessem parcialmente hidratados.

Tabela 2.14. Dados físicos e analíticos para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45**.

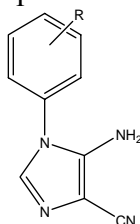


Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valor obtido/ calculado (%)		
					C	H	N
43	2-OH	94	146-149	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}$	58,3 (58,2)	4,1 (4,0)	30,6 (30,8)
44	3-OH	83	189-191	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}_0,1\text{H}_2\text{O}$	58,2 (57,9)	4,1 (4,0)	30,3 (30,7)
45	4-OH	85	148-150	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}_0,3\text{H}_2\text{O}$	56,9 (56,8)	4,2 (4,2)	29,9 (30,1)

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

As estruturas dos 4-amino-5-cianoimidazoles sintetizados **47-49** foram atribuídas com base nas espectroscopias de IV, ^1H , ^{13}C RMN e análise elementar (Tab. 2.15). Os dados obtidos na análise elementar permitiram concluir que todos os compostos se apresentavam parcialmente hidratados.

Tabela 2.15. Dados físicos e analíticos para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49**.

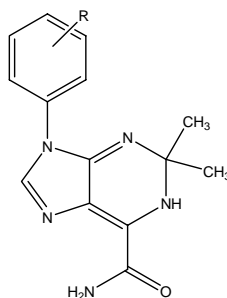


Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)		
					C	H	N
47	2-OH	71	231-233	C ₁₀ H ₈ N ₄ O.0,1H ₂ O	59,8 (59,7)	4,1 (4,1)	27,5 (27,8)
48	3-OH	77	244-247	C ₁₀ H ₈ N ₄ O.0,2H ₂ O	58,9 (58,9)	4,2 (4,2)	27,4 (27,5)
49	4-OH	83	269-272	C ₁₀ H ₈ N ₄ O.0,7H ₂ O	56,7 (56,5)	4,7 (4,4)	26,1 (26,4)

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

Adicionalmente a uma análise elementar correcta, foi possível confirmar as estruturas das dihidropurinas sintetizadas **52-54** por análise dos dados espectroscópicos de IV, ¹H RMN e ¹³C RMN, obtidos para estes compostos (Tab. 2.16).

Tabela 2.16. Dados físicos e analíticos para as 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **52-54**.



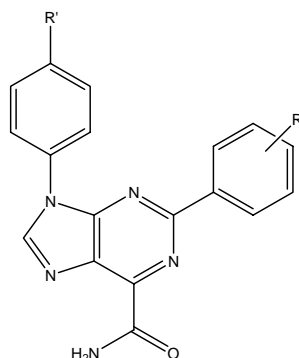
Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)		
					C	H	N
52	2-OH	65	188-190	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₂	58,9 (58,9)	5,3 (5,3)	24,4 (24,6)
53	3-OH	85	218-220	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₂	59,0 (58,9)	5,6 (5,3)	24,9 (24,6)
54	4-OH	78	225-227	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₂	58,9 (58,9)	5,3 (5,3)	24,7 (24,6)

2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

As estruturas das purinas sintetizadas **57-61** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ¹H e ¹³C RMN, massa e análise elementar (Tab. 2.17).

Os dados obtidos na análise elementar dos compostos **57**, **58** e **59** estavam de acordo com as estruturas propostas, embora parcialmente hidratados. Não foi possível obter análises elementares correctas para os compostos **60** e **61**, tendo sido obtidos os espectros de massa pela técnica de FAB e as suas fórmulas empíricas confirmadas através de espectrometria de massa de alta resolução (HRMS).

Tabela 2.17. Dados físicos e analíticos para as 2-aryl'-9-aryl''-6-carbamoyl-purinas **57-61**.

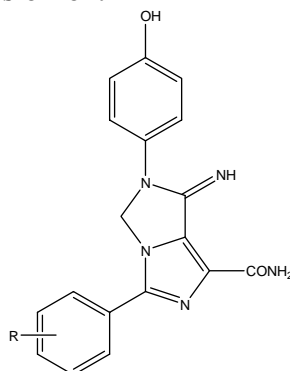


Comp	R	R'	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)			m/z^b (M+1) ⁺ (M)
						C	H	N	
57	4-OCH ₃	4-OH	50	>300 ^a	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₃ . 1,6H ₂ O	58,5 (58,5)	4,4 (4,7)	17,9 (18,0)	-
58	2-OH	4-OH	79	> 300 ^a	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ . 0,2H ₂ O	61,8 (61,7)	4,0 (3,8)	19,7 (20,0)	-
59	3-OH	4-OH	66	> 300 ^a	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₃ . 1,0H ₂ O	59,4 (59,1)	4,2 (4,2)	18,8 (19,1)	-
60	4-OH	4-OH	55	221-224	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₃	348,1101 ^c (348,1052)			348 (347)
61	3,4-OH	4-OH	65	> 300 ^a	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₄	364,1052 ^c (364,1001)			364 (363)

^a Decomposição. ^b FAB. ^c HRMS.

3-Aryl'-6-aryl''-1-carbamoyl-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles

As estruturas dos imidazo-imidazoles **62-63** sintetizados foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ¹H ¹³C RMN, massa e análise elementar (Tab. 2.17). Foi obtida análise elementar correcta apenas do composto **63**, apresentando-se na forma hidratada. Os espectros de massa dos compostos **62** e **64** foram obtidos usando a técnica de FAB e foi possível confirmar as suas fórmulas moleculares através de espectrometria de massa de alta resolução.

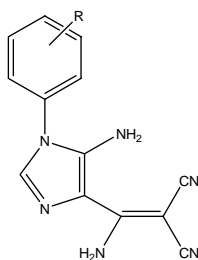
Tabela 2.17. Dados físicos e analíticos para os 3-aryl'-6-aryl''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles **62-64**.

Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)			m/z^b (M+1) ⁺ (M)	
					C	H	N		
62	2-OH	34	> 300 ^a	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₃	350,1249 ^c (350,1208)			350 (349)	
63	4-OH	76	281-284	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₃ . 1,3H ₂ O	58,1 (58,0)	4,5 (4,8)	18,6 (18,8)		-
64	3,4-OH	67	> 300 ^a	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₄	366,1201 ^c (366,1158)			366 (365)	

^a Decomposição. ^b FAB. ^c HRMS.

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

As estruturas dos imidazoles **66-68** sintetizados foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, UV, ¹H e ¹³C RMN e análise elementar (Tab. 2.18). Os dados analíticos apoiavam a fórmula empírica de qualquer um dos compostos, estando todos parcialmente hidratados.

Tabela 2.18. Dados físicos e analíticos para as 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68**.

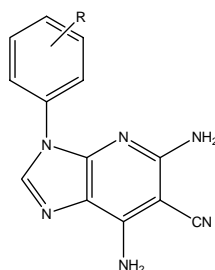
Comp	R	Rend (%)	p.f. ^a (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
66	2-OH	79	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,1H ₂ O	58,3 (58,3)	3,9 (3,8)	31,1 (31,4)
67	3-OH	81	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,1H ₂ O	58,5 (58,4)	3,9 (3,8)	31,1 (31,4)
68	4-OH	73	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,9H ₂ O	55,4 (55,3)	4,2 (4,2)	29,4 (29,7)

^a Decomposição.

5,7-Diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

As estruturas das imidazopiridinas sintetizadas **70-72** foram atribuídas com base nas espectroscopias de IV, ¹H e ¹³C RMN, espectrometria de massa e análise elementar (Tab. 2.19). Foi obtida análise elementar correcta para os compostos **70** e **71**, apresentando-se ambos parcialmente hidratados. Não foi possível obter análise elementar correcta para o composto **72** e o seu espectro de massa foi obtido pela técnica de FAB. Este composto foi submetido adicionalmente a espectrometria de massa de alta resolução e o pico m/z 267 relativo ao ião molecular (M+1)⁺ provou corresponder à fórmula molecular proposta, uma vez que o valor obtido (267,0999) concorda com o valor calculado (267,0950) para C₁₃H₁₀N₆O.

Tabela 2.19. Dados físicos e analíticos para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **70-72**.



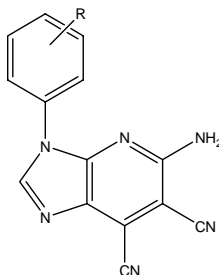
Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/(calculados) (%)			m/z ^a (M+1) ⁺ (M)
					C	H	N	
70	2-OH	84	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,3H ₂ O	57,9 (57,6)	4,0 (3,9)	30,6 (31,0)	
71	3-OH	60	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O.0,2H ₂ O	58,1 (58,1)	4,0 (3,9)	31,0 (31,3)	
72	4-OH	62	> 300	C ₁₃ H ₁₀ N ₆ O	267,0999 ^b (267,0950)			267 (266)

^a FAB. ^b HRMS.

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

As estruturas das piridinas sintetizadas **75-77** foram confirmadas por análise elementar e pelas técnicas espectroscópicas habituais (Tab. 2.20).

Tabela 2.20. Dados físicos e analíticos para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **75-77**.



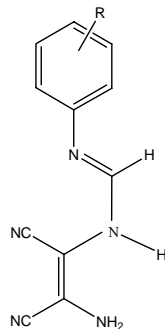
Comp	R	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
75	2-OH	86	> 300	C ₁₄ H ₈ N ₆ O.0,1H ₂ O	60,7 (60,7)	3,1 (3,0)	30,3 (30,3)
76	3-OH	92	> 300	C ₁₄ H ₈ N ₆ O.0,1H ₂ O	60,5 (60,5)	3,1 (3,0)	30,3 (30,3)
77	4-OH	87	> 300	C ₁₄ H ₈ N ₆ O.0,1H ₂ O	60,3 (60,3)	3,2 (3,0)	30,2 (30,2)

2.2.2.2. Espectroscopia de infravermelho**(Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arilformamidinas**

Os espectros de infravermelho das (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arilformamidinas **38-40** apresentam as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações N-H dos grupos amino e amidina, das ligações O-H e das ligações C-H para os átomos de carbono com hibridização sp² na região 3461-3129 cm⁻¹ (Tab. 2.21). Algumas destas bandas são largas o que sugere a existência de pontes de hidrogénio intermoleculares. As duas bandas intensas entre 2232-2205 cm⁻¹ correspondem às vibrações de estiramento das duas ligações C≡N. A região compreendida entre 1700-1500 cm⁻¹ é caracterizada por um conjunto de bandas intensas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C e às vibrações de

deformação angular da ligação N-H. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao da (Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -(4-metoxifenil)formamidina **37**, sendo este último mais simples na região 3500-3100 cm^{-1} devido à ausência da ligação O-H do grupo arilo. As duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ surgem a 2227 e 2190 cm^{-1} [68].

Tabela 2.21. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as (Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas **37-40**.



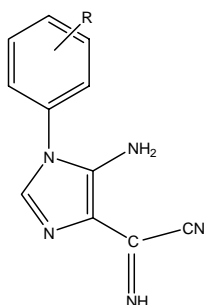
Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
37 [68]	4-OCH ₃	3464i, 3347i, 3210f, 3146m	2227i, 2190i	1639i, 1613i, 1598i, 1553i, 1511i	1463i, 1418m, 1392m, 1332m, 1293m, 1241i, 1216m, 1183m, 1137m
38	2-OH	3430i, 3335i, 3254m, 3160m	2219i, 2212i	1652i, 1605i, 1523m, 1512m	1454i, 1361i, 1341i, 1308i, 1264i, 1239m, 1222i, 1189i, 1178i, 1151m, 1096i
39	3-OH	3422i, 3396i, 3312i, 3253f	2232i, 2205i	1655i, 1614i, 1600i, 1584i, 1524m	1497m, 1454i, 1361i, 1331i, 1324i, 1268m, 1240m, 1225m, 1187m, 1165i
40	4-OH	3461i, 3349i, 3312i, 3239i, 3129m	2219i, 2206i	1644i, 1599i, 1571i, 1517i, 1508i	1460i, 1422i, 1317i, 1244i, 1228i, 1201i, 1172i

5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles

Nos espectros de IV dos 5-amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45** surgem as bandas correspondentes às vibrações de estiramento N-H, O-H e C_{sp^2} -H entre 3566-3115 cm^{-1} (Tab. 2.22). A vibração de estiramento da banda $\text{C}\equiv\text{N}$ surge a 2226-2214 cm^{-1} como uma banda de intensidade muito fraca, apenas visível nos compostos **43** e **45**. Na região entre 1710-1500 cm^{-1} aparecem as bandas correspondentes às

vibrações de estiramento dos grupos C=N, C=C e às vibrações de deformação angular N-H. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao do 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-metoxifenil)imidazole **42**, não sendo visível a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C≡N [68].

Tabela 2.22. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **42-45**.



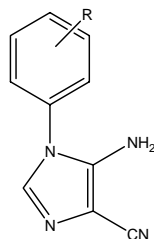
Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
42 [68]	4-OCH ₃	3417m, 3311i, 3278i, 3119m	-	1629i, 1602i, 1577i, 1546i, 1522i, 1501i	1401m, 1324m, 1311m, 1199m, 1189m, 1173m, 1118m
43	2-OH	3453i, 3324i, 3288i, 3116mf	2214mf	1652i, 1627i, 1605i, 1583i, 1561i, 1500i	1421i, 1305m, 1276m, 1221m, 1177m, 1122m
44	3-OH	3416m, 3303m, 3284i, 3164m, 3125m	-	1636i, 1625i, 1605i, 1579i, 1546i, 1507m	1490m, 1400m, 1353m, 1312m, 1279m, 1257f, 1212m, 1197m, 1170m
45	4-OH	3566m, 3432i, 3324i, 3293i, 3272i, 3115i	2226mf	1658i, 1633i, 1608i, 1581i, 1551i, 1519i	1458i, 1397m, 1320i, 1314m, 1283i, 1245i, 1214m, 1185i, 1176i, 1115m

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

Nos espectros de IV dos 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49** surge uma banda de forte intensidade a 2214-2211 cm^{-1} , atribuída à vibração de estiramento do grupo ciano (Tab. 2.23). Na região 3453-3116 cm^{-1} surgem as bandas devidas às vibrações de estiramento das ligações N-H, O-H e C_{sp2}-H. As vibrações de estiramento das ligações C=C e C=N e de deformação angular N-H aparecem representadas por várias bandas intensas entre 1644 e 1515 cm^{-1} . Os espectros destes compostos são muito

semelhantes ao do 5-amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole **46**, surgindo a banda correspondente à vibração de estiramento das ligações C≡N a 2219 cm⁻¹ [68].

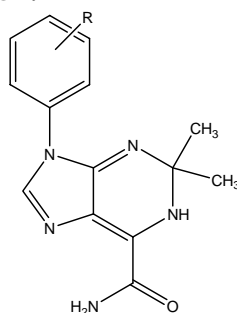
Tabela 2.23. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **46-49**.



Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
46 [68]	4-OCH ₃	3343m, 3309i, 3175i, 3127m	2219i	1650i, 1577i, 1520i	1445i, 1365m, 1302m, 1258i, 1231m, 1218m, 1185m, 1172m, 1108m
47	2-OH	3453i, 3337i, 3239f, 3190f, 3122m	2211i	1633i, 1605i, 1572i, 1522i, 1513m	1463i, 1413i, 1361i, 1301i, 1278i, 1245i, 1236i, 1168m, 1118m
48	3-OH	3417i, 3292i, 3235f, 3187f, 3130m	2212i	1634i, 1605i, 1575i, 1515i	1447i, 1367i, 1314m, 1273i, 1249m, 1223m, 1212i, 1183m, 1158m
49	4-OH	3384m, 3305m, 3263f, 3237mf, 3116m	2214i	1644i, 1601m, 1584i, 1518i	1459i, 1373i, 1282m, 1274m, 1246i, 1225m, 1180m, 1169m, 1105m

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

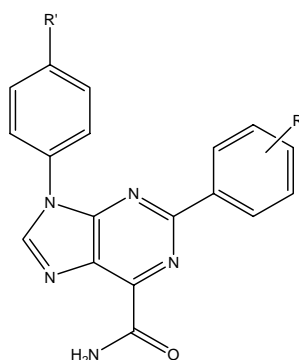
Nos espectros de IV das 9-aryl-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **52-54** observa-se um conjunto de bandas correspondentes às vibrações de estiramento N-H, O-H e C_{sp2}-H entre 3396 e 3116 cm⁻¹ (Tab. 2.24). A banda resultante da vibração de estiramento da ligação C=O da função amida surge entre 1686-1698 cm⁻¹. A 1673-1500 cm⁻¹ surge um conjunto de bandas atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C e à deformação angular N-H. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao da 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina **51**, surgindo a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C=O da função amida a 1689 cm⁻¹ [69].

Tabela 2.24. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as 9-aryl-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54**.

Comp	R	4000-3000	1700-1500	1500-1100
51 [69]	4-OCH ₃	3380i, 3309m, 3260m, 3185i, 3135f	1689i, 1655m, 1613i, 1588m, 1546i, 1516i	1443i, 1419m, 1364m, 1305m, 1201m, 1291m, 1200m, 1184i, 1159m, 1114m
52	2-OH	3370i, 3327i, 3277i, 3116f	1686i, 1673i, 1644i, 1575i, 1524i	1401m, 1308m, 1302i, 1271m, 1255m, 1193m, 1180i, 1095m
53	3-OH	3396i, 3352i, 3260f, 3192i, 3116f	1697i, 1650i, 1627i, 1611i, 1598i, 1585i, 1524i	1479i, 1297i, 1273i, 1257m, 1242i, 1207i, 1179i, 1131m
54	4-OH	3386i, 3312i, 3147m, 3122m	1698i, 1645i, 1592m, 1585i, 1534i, 1520i	1470m, 1363i, 1304i, 1270i, 1241i, 1193i, 1180i, 1136m, 1108m

2-Aril'-9-aryl''-6-carbamoilpurinas

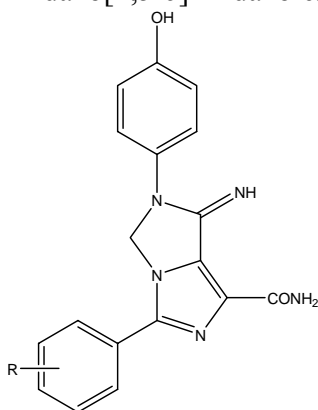
Nos espectros de IV das 2-aryl'-9-aryl''-6-carbamoilpurinas **57-61** surgem as bandas de estiramento das ligações N-H, O-H e C_{sp2}-H entre 3440 e 3160 cm^{-1} (Tab. 2.25). A banda resultante da vibração de estiramento da ligação C=O da função amida surge na região 1704-1679 cm^{-1} . As bandas que aparecem entre 1623-1519 cm^{-1} incluem as vibrações de deformação angular da ligação N-H e as vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C. Os espectros destes compostos são muito parecidos ao da 2-(4'-metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-carbamoilpurina **56**, que apresenta a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C=O da função amida a 1643 cm^{-1} [71].

Tabela 2.25. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as 2-*aril'*-9-*aril''*-6-carbamoilpurinas **56-61**.

Comp	R	R'	4000-3000	1700-1500	1500-1100
56 [71]	4-OCH ₃	4-OCH ₃	3374i, 3179m(l), 3117m	1643i, 1609m, 1592m, 1568i, 1517i	1492m, 1445i, 1349m, 1301m, 1281m, 1250i, 1228m, 1205m, 1172m, 1172m, 1108m
57	4-OCH ₃	4-OH	3418m, 3395f, 3327m, 3306m, 3167m	1687i, 1623m, 1606i, 1586i, 1545m, 1520i	1499m, 1411m, 1325m, 1297m, 1272i, 1247i, 1233i, 1208m, 1183m, 1167i, 1104m
58	2-OH	4-OH	3386i, 3313m, 3260m, 3160m	1704i, 1607i, 1592i, 1573m, 1525i	1495i, 1408i, 1302i, 1282i, 1257i, 1201i, 1172i, 1123f, 1109m
59	3-OH	4-OH	3442i, 3326m, 3279m, 3202m	1686i, 1618m, 1598i, 1578i, 1520i, 1500m	1422m, 1351i, 1343i, 1308m, 1275i, 1228i, 1197i, 1180m, 1166m
60	4-OH	4-OH	3442m, 3353m, 3307m, 3191m	1686i, 1609i, 1586i, 1571i, 1519i	1494i, 1420i, 1346i, 1271i, 1229i, 1164i, 1109m
61	3,4-OH	4-OH	3440m, 3323m(l), 3192m	1679i, 1606i, 1586i, 1567i, 1519i	1483m, 1412m, 1354i, 1279i, 1228i, 1194m, 1170m, 1118f

3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles

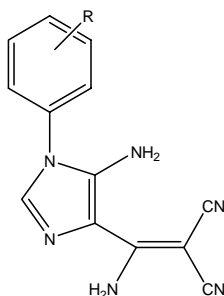
Entre 3440-3170 cm^{-1} , os espectros de IV dos 3-*aril'*-6-*aril''*-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles **62-64** apresentam as bandas de estiramento das ligações N-H, O-H e C_{sp2}-H (Tab. 2.26). A banda resultante da vibração de estiramento da ligação C=O surge na região 1679-1671 cm^{-1} . As bandas correspondentes às vibrações de deformação angular da ligação N-H e às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C surgem a 1664-1517 cm^{-1} .

Tabela 2.26. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para os 3-aryl'-6-aryl''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles **62-64**.

Comp	R	4000-3000	1700-1500	1500-1100
62	2-OH	3425m, 3358m, 3297i, 3265m	1674i, 1661i, 1630i, 1611i, 1588i, 1520i	1486i, 1387i, 1363i, 1302m, 1280i, 1265i, 1241i, 1171i, 1137i, 1101m
63	4-OH	3440m, 3310m, 3170m	1671i, 1656i, 1618i, 1593i, 1538m, 1518i	1447i, 1402i, 1279i, 1269i, 1239i, 1176m, 1138m, 1102f
64	3,4-OH	3410m, 3338m, 3298m, 3178m	1679i, 1664i, 1645i, 1598i, 1568i, 1517i	1447i, 1399m, 1285i, 1279i, 1253m 1148m, 1127m, 1121m

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

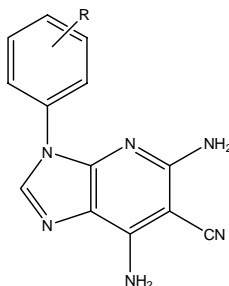
Nos espectros de IV dos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68** surgem duas bandas de forte intensidade a $2221-2180 \text{ cm}^{-1}$, atribuídas às vibrações de estiramento dos grupos ciano (Tab. 2.27). A complexidade registada entre 3464 e 3066 cm^{-1} é devido à presença das bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações N-H, O-H e $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$. As bandas atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C=C e C=N e de deformação angular N-H aparecem entre $1676-1504 \text{ cm}^{-1}$. Os espectros destes compostos são muito parecidos ao do 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole **65**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ a 2220 e 2196 cm^{-1} [70].

Tabela 2.27. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68**.

Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
65 [70]	4-OCH ₃	3447m, 3361i, 3314m, 3278m, 3218m, 3114m	2220i, 2196i	1648i, 1619m, 1570m, 1545i, 1517i	1500m, 1300m, 1249m, 1208m, 1185m,
66	2-OH	3417i, 3404i, 3354m, 3309i, 3225i, 3111m	2221i, 2199i	1655i, 1642i, 1597i, 1572i, 1548i	1499i, 1307i, 1266i, 1237m, 1214i, 1156m
67	3-OH	3464i, 3377i, 3336i, 3208i, 3116m, 3066f	2205i, 2180i	1676i, 1631i, 1607i, 1569i, 1529i, 1504i	1488i, 1308m, 1290m, 1237m, 1210m, 1188m
68	4-OH	3459i, 3366i, 3335i, 3225i, 3116m, 3078f	2212i, 2193i	1644i, 1622i, 1567m, 1551i, 1519i, 1507i	1483m, 1300f, 1276m, 1240m, 1211m, 1173m

5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Nos espectros de IV das 5,7-diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **70-72** surge uma banda de forte intensidade corespondente à vibração de estiramento do grupo ciano entre 2208-2200 cm^{-1} (Tab. 2.28). Na região entre 3475 e 3066 cm^{-1} surgem as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações N-H, O-H e C_{sp^2} -H. As bandas atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C=C e C=N e de deformação angular N-H aparecem entre 1657 e 1509 cm^{-1} .

Tabela 2.28. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as 5,7-diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **69-72**.

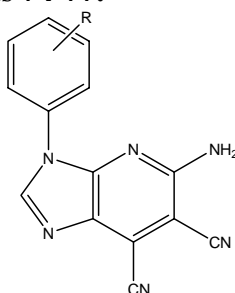
Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
69 [70]	4-OCH ₃	3477m, 3336i, 3214m, 3135f, 3078f	2202i	1655m, 1636i, 1608m, 1575i, 1526i, 1502m	1414m, 1336m, 1304m, 1260i, 1214m, 1189m, 1107m
70	2-OH	3455i, 3307m, 3301m, 3179i(l), 3066m	2208i	1657i, 1631i, 1598i, 1578i, 1524i	1498i, 1417i, 1333m, 1298i, 1280i, 1214m, 1162m, 1123m
71	3-OH	3448i, 3352i, 3319i, 3262m, 3203i, 3112m	2200i	1652i, 1629i, 1595i, 1581i, 1509i	1498i, 1407i, 1330i, 1304i, 1276m, 1227i, 1203i, 1160m
72	4-OH	3475m, 3461m, 3379i, 3300m, 3177m, 3117m	2203i	1638i, 1627i, 1611i, 1581i, 1522i	1498i, 1418i, 1336i, 1283i, 1244m, 1224i, 1163m, 1112m

Os espectros destes compostos são semelhantes ao da 5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **69**, surgindo a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C≡N a 2202 cm⁻¹ [70].

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas

Nos espectros de IV das 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **75-77** observa-se um conjunto de bandas correspondentes às vibrações de estiramento N-H, O-H e C_{sp2}-H entre 3483 e 3120 cm⁻¹ (Tab. 2.29). As duas bandas resultantes das vibrações de estiramento da ligação C≡N surgem entre 2230-2192 cm⁻¹. Entre 1640 e 1501 cm⁻¹ surge um conjunto de bandas atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C e à deformação angular N-H. Os espectros destes compostos são semelhantes ao da 5-amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **74**, aparecendo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N a 2239 e 2226 cm⁻¹ [70].

Tabela 2.29. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **74-77**.



Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
74 [70]	4-OCH ₃	3463m, 3362i, 3241m, 3107m	2226i, 2201f	1650i, 1607i, 1568m, 1524i, 1512m	1480m, 1425m, 1405m, 1299i, 1261m, 1251i, 1209m, 1189m, 1179m, 1131f
75	2-OH	3483i, 3355i, 3222m, 3120i	2230i, 2214f	1640i, 1611i, 1600i, 1575i, 1520i, 1501m	1476i, 1426m, 1401m, 1308i, 1271i, 1234f, 1210m, 1156m, 1134f
76	3-OH	3447i, 3321i, 3202i, 3137m	2218i, 2192f	1640i, 1617i, 1610i, 1596i, 1575i, 1521i	1497i, 1435i, 1398i, 1349i, 1307i, 1279m, 1211i, 1192i, 1164f
77	4-OH	3435i, 3305i, 3195i, 3129i	2218i, 2196f	1629i, 1612i, 1602i, 1581i, 1523i, 1504i	1482i, 1422i, 1411i, 1309i, 1302i, 1289i, 1217i, 1163i, 1126f

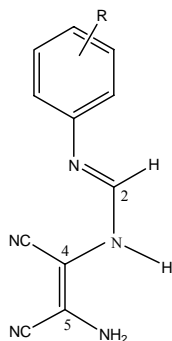
2.2.2.3. Espectroscopia de ¹H RMN

(Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arilformamidinas

Os espectros de ¹H RMN das (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arilformamidinas **38-40** apresentam um singlete largo a δ 7,74-8,00 ppm correspondente ao protão ligado ao átomo de carbono da função amidina (Tab. 2.30). O grupo amino existente no substituinte vinílico surge como um singlete largo a δ 6,25-6,37 ppm integrando para 2H e o protão N₃-H da função amidina aparece a campo um pouco mais baixo a δ 9,11-9,29 ppm também como um singlete largo. O protão do grupo hidroxilo da função fenólica surge como um singlete largo a δ 9,73-9,93 ppm integrando para 1H. As bandas relativas aos grupos amino e hidroxilo surgem geralmente como picos largos e desaparecem por adição de D₂O, devido à facilidade com que os protões directamente ligados a átomos de azoto e/ou oxigénio trocam com outros protões amínicos e/ou hidroxílicos existentes noutras moléculas e/ou com o solvente. Os protões aromáticos surgem no intervalo δ 6,42-8,34 ppm e as bandas correspondentes aos protões na posição *orto* são sempre largas, tal como acontece para o protão da função amidina. Este alargamento de bandas verificou-se anteriormente para outras amidinas N-arílicas com substituintes dadores de electrões. A observação experimental de que o alargamento das bandas no espectro de ¹H RMN diminui quando se sobe a temperatura e de que não existe ponto isobéstico no espectro de UV quando se varia a concentração da amostra,

sugere que este alargamento é devido à barreira de rotação em torno da ligação arilo-N₁ e C₂-N₃ da amidina e não ao equilíbrio tautomérico que também poderia existir na amidina [68]. Adicionalmente, podemos observar uma excelente concordância dos valores registados para todos os prótons da amidina. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas amidinas são semelhantes ao da (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-metoxifenil)formamidina **37** [68].

Tabela 2.30. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) para as (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-arilformamidinas **37-40**.



Comp	R	C ₂ -H	NH	NH ₂	Ar
37 [68]	4-OCH ₃	7,42-7,90 ^a (m;3H)	9,90(sl;1H)	6,40(sl;2H)	7,42-7,90 ^a (m;3H); 6,92(d;J8,0;2H); 3,78(s;3H,OCH ₃)
38	2-OH	8,00(sl;1H)	9,22(sl;1H)	6,37(sl;2H)	6,75-6,85(m;3H;H' ₃₊₄₊₅); 8,34(sml;1H;H' ₆); 9,86(sl;1H,OH')
39	3-OH	7,84(sl;1H)	9,29(sl;1H)	6,33(sl;2H)	6,79(sl;1H;H' ₂); 6,42(dt;J ₁ 8,1;J ₂ 1,5;1H;H' ₄); 7,08(t;J8,1;1H;H' ₅); 7,89(sml;1H;H' ₆); 9,93(s;1H,OH')
40	4-OH	7,74(sl;1H)	9,11(sl;1H)	6,25(sl;2H)	7,56(sl;2H;H' ₂₊₆); 6,72(d;J9,0;2H;H' ₃₊₅); 9,73(sl;1H,OH')

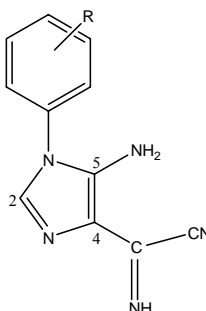
^a A integração da área do multiplete corresponde a 3 prótons (1 ligado ao C₂ e 2 do grupo arilo).

5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles

Os espectros de ¹H RMN dos 5-amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45** sintetizados apresentam o singlete correspondente ao próton presente na posição C₂ para valores de δ 7,26-7,42 ppm, sinal que surge a campo mais alto quando comparado com as amidinas correspondentes, indicando que houve ciclização para o anel de

imidazole (Tab. 2.31). O grupo amino existente em C₅ surge como um singlete largo com integração de 2H a δ 7,90-7,60 e desaparece por adição de D₂O. A δ 11,10-10,99 ppm surge o singlete correspondente ao próton ligado ao átomo de azoto do grupo cianoformimidoilo devido ao efeito retirador de electrões pelo grupo ciano que torna este próton bastante ácido. O próton do grupo OH do fenol não é visível no espectro provavelmente por ser uma banda muito larga espalhada em toda a linha de base ou trocar facilmente com a água residual existente no DMSO-d₆. Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,85-7,36 ppm. Pode verificar-se que os deslocamentos químicos dos vários prótons no anel de imidazole não variam praticamente com o substituinte fenólico. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são comparáveis ao do 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-metoxifenil)imidazole **42** [68].

Tabela 2.31. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **42-45**.



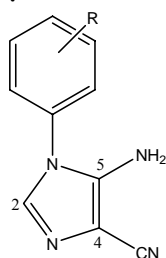
Comp	R	C ₂ -H	NH	NH ₂	Ar ^a
42 [68]	4-OCH ₃	7,37 (s;1H)	11,04 (s;1H)	6,60 (s;1H)	7,42(d;J _{6,9} ;H' ₂₊₆); 7,11(d;J _{6,9} ;H' ₃₊₅); 3,81(s;3H;OCH ₃)
43	2-OH	7,26 (s;1H)	10,9 (s;1H)	7,90 (sml;2H)	7,08(dd;J _{1,8} ,1;J _{2,1} ,2;1H;H' ₃); 7,33(dt;J _{1,7} ,8;J _{2,1} ,8;1H;H' ₄); 6,94(dt;J _{1,7} ,5;J _{2,1} ,2;1H;H' ₅); 7,27(dd;J _{1,7} ,5;J _{2,1} ,8;1H;H' ₆)
44	3-OH	7,42 (s;1H)	11,10 (s;1H)	7,78 (sml;2H)	6,85-6,91(m;3H;H' ₂₊₄₊₆); 7,36(t;J _{8,1} ;1H;H' ₅)
45	4-OH	7,33 (s;1H)	10,99 (s;1H)	7,60 (sml;2H)	7,27(d;J _{8,7} ;H' ₂₊₆); 6,91(d;J _{8,7} ;H' ₃₊₅)

^a A banda correspondente ao próton do grupo OH não é visível no espectro.

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

Os espectros de ^1H RMN dos 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49** apresentam o próton ligado ao carbono C_2 a δ 7,21-7,35 ppm integrando para 1H, tendo este sinal praticamente o mesmo valor de deslocamento químico relativamente aos 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles **43-45** (Tab. 2.32). O NH_2 ligado a C_5 surge a δ 5,87-6,12 ppm e o grupo O-H da função fenólica surge como um singlete afilado a δ 9,92-10,32 ppm, desaparecendo por adição de D_2O . Os prótons aromáticos do fenol surgem no intervalo δ 6,80-7,33 ppm. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são parecidos ao do 5-amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole **46** [68].

Tabela 2.32. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **46-49**.



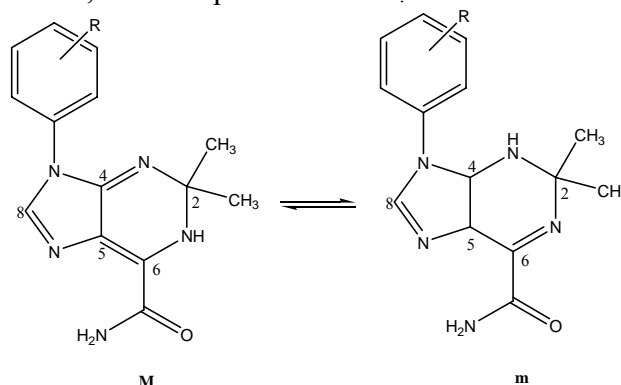
Comp	R	$\text{C}_2\text{-H}$	NH_2	Ar
46 [68]	4-OCH ₃	7,41(s;1H)	6,10(sl;2H)	7,15(d;J ₉ ;2H); 7,39(d;J ₉ ;2H); 3,81(s;3H,OCH ₃)
47	2-OH	7,21(s;1H)	5,87(s;2H)	7,05(dd;J ₁ 8,1;J ₂ 1,2;1H;H' ₃); 7,32(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,5;1H;H' ₄); 6,92(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,2;1H;H' ₅); 7,23(dd;J ₁ 7,8;J ₂ 1,5;1H;H' ₆); 10,32(s;1H,OH')
48	3-OH	7,35(s;1H)	6,12(s;2H)	6,80(s;1H;H' ₂); 6,87?(d;J ₉ ;1H;H' ₄); 7,33(t;J ₇ 8;1H;H' ₅); 6,84?(d;J ₉ ;1H;H' ₆); 9,97(s;1H,OH')
49	4-OH	7,27(s;1H)	6,02(s;2H)	7,21(d;J ₉ ;2H;H' ₂₊₆); 6,87(d;J ₉ ;2H;H' ₃₊₅); 9,92(s;1H,OH')

? A atribuição dos núcleos de hidrogénio assinalados pode ser feita ao contrário.

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

Os espectros de ^1H RMN das 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **52-54** são muito semelhantes aos das 1,2-dihidropurinas análogas sintetizadas anteriormente e que apresentam dois tautómeros em solução [69] (Tab. 2.33). No tautómero maioritário, o próton presente em C_8 surge a δ 7,75-8,19 ppm. O próton do grupo NH surge a δ 6,42-6,50 ppm, devendo estar na posição N_1 por analogia com os resultados reportados na literatura [69] e desaparece por adição de D_2O . Os 6 prótons dos dois grupos metilo em C_2 são quimicamente equivalentes e surgem num único pico a δ 1,37-1,40 ppm, devido à rápida interconversão entre as duas posições. Os dois prótons do grupo amida não são equivalentes e surgem em duas bandas a δ 7,92-8,07 ppm e δ 8,10-8,21 ppm, devido à possibilidade de existir uma ponte de hidrogénio intramolecular entre um dos prótons do grupo NH_2 e o N_7 , dificultando ainda mais a livre rotação em torno da ligação C-N. O grupo O-H do fenol aparece a δ 9,58-9,71 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,67-7,47 ppm. Só os sinais de $\text{C}_8\text{-H}$ (δ 7,60 ppm) e N-H (6,02 ppm) correspondentes ao tautómero minoritário da 1,2-dihidropurina **54** substituída com o grupo 4-hidroxifenilo são visíveis no espectro, provavelmente porque os restantes sinais são bandas largas e tendem a desaparecer na linha de base confundindo-se com ela. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas dihidropurinas são semelhantes ao da 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina **51** [69].

Tabela 2.33. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para as 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54**^a.



Comp	R	C ₈ -H	CH ₃	NH	NH ₂	Ar
51 (M/m= 4/1) [69]	4- OCH ₃	M: 8,13 (s;1H) m: 7,61 (s;1H)	1,50 (s;6H)	M: 6,60 (s;1H) m: 6,04 (s;1H)	8,32 (sl;1H); 8,24 (sl;1H)	7,77(d;J _{8,7} ;2H;H' ₂₊₆); 7,12(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 3,87(s;1H,OCH ₃)
52	2-OH	7,75 (sl;1H)	1,39 (s;6H)	b	8,21 (s;1H); 8,07 (sl;1H)	6,98(dd;J ₁ 7,7;J ₂ 0,9;1H;H' ₃); 7,21(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,2;1H;H' ₄); 6,90(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,2;1H;H' ₅); 7,36(dd;J ₁ 7,5;J ₂ 0,9;1H;H' ₆); OH ^b
53	3-OH	8,05 (sl;1H)	1,40 (s;6H)	6,50 (s;1H)	8,17 (s;1H); 8,06 (sl;1H)	6,67 [?] (sl;1H; H' ₄); 7,00-7,40 [?] (m;3H;H' ₂ +H' ₅ +H' ₆); 9,71(s;1H,OH [?])
54 (M/m= 5/1)	4-OH	M: 8,19 (s;1H) m: 7,60 (s;1H)	1,37 (s;6H)	M: 6,42 (s;1H) m: 6,02 (s;1H)	8,10 (s;1H); 7,93 (s;1H)	7,47(sl;2H;H' ₂₊₆); 6,83(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 9,58(s;1H,OH [?])

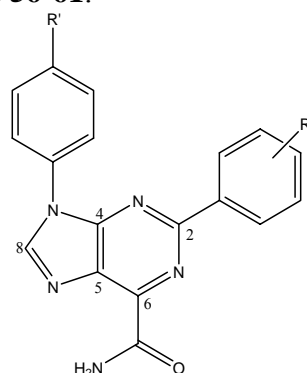
^a Só é feita a diferenciação entre as espécies **M** e **m** quando são detectados no espectro os picos referentes à espécie menos abundante **m**, caso contrário o valor refere-se à espécie mais abundante **M**.

^b Não é visível no espectro.

[?] A atribuição dos núcleos de hidrogénio assinalados pode ser feita ao contrário.

2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

Nos espectros de ¹H RMN das 2-aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas sintetizadas **57-61** observamos que o protão em C₈ aparece no intervalo a δ 8,88-9,14 ppm (Tab. 2.34). Os dois protões não equivalentes do grupo amida surgem em duas bandas a δ 8,54-8,05 ppm e δ 8,56-8,43 ppm e desaparecem por adição de D₂O. Os protões OH dos dois substituintes fenólicos presentes em C₂ e N₉ surgem a δ 13,68-9,00 ppm na forma de dois singletos ou como um singletto muito largo integrando para os vários protões hidroxílicos. Os protões aromáticos surgem no intervalo δ 6,83-8,35 ppm. No caso da purina **57** surge um singletto a δ 3,82 correspondente ao grupo metoxilo do anel aromático ligado na posição C₂ da purina.

Tabela 2.34. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para as 2-aryl'-9-aryl''-6-carbamoilpurinas **56-61**.

Comp	R	R'	C ₈ -H	NH ₂	Ar
56 [71]	4-OCH ₃	4-OCH ₃	8,94(s;1H)	8,51(s;1H); 8,08(s;1H)	Ar-2: 8,46(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H' ₂₊₆); 7,18(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H' ₃₊₅); 3,83(s;3H,OCH ₃ ') Ar-9: 7,85(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,4;2H;H'' ₂₊₆); 7,02(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,4;2H;H'' ₃₊₅); 3,86(sml;1H,OCH ₃ '')
57	4-OCH ₃	4-OH	8,93(s;1H)	8,52(s;1H); 8,09(s;1H)	Ar-2: 8,44(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,1;2H;H' ₂₊₆); 7,05(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,1;2H;H' ₃₊₅); 3,82(s;3H,OCH ₃ ') Ar-9: 7,70(dd;J ₁ 6,6;J ₂ 2,1;2H;H'' ₂₊₆); 7,01(dd;J ₁ 6,6;J ₂ 2,1;2H;H'' ₃₊₅); 10,07(sml;1H,OH'')
58	2-OH	4-OH	9,14(s;1H)	8,56(s;1H); 8,54(s;1H)	Ar-2: 6,90-7,00(m;2H;H' ₃ +H' ₅); 7,38(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,2;1H;H' ₄); 8,36(dd;J ₁ 8,4;J ₂ 1,5;1H;H' ₆); 13,68(s;1H,OH') Ar-9: 7,71(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H'' ₂₊₆); 7,03(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H'' ₃₊₅); 10,00(s;1H,OH'')
59	3-OH	4-OH	8,96(s;1H)	8,47(s;1H); 8,11(s;1H)	Ar-2: 7,92(t;J ₁ 8;1H;H' ₂); 6,89(dd;J ₁ 7,8;J ₂ 1,8;1H;H' ₄); 7,31(t;J ₁ 7,8;1H;H' ₅); 7,96(d;J ₁ 8,1;1H;H' ₆); 9,59 [?] (s;1H,OH') Ar-9: 7,70(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H'' ₂₊₆); 7,02(dd;J ₁ 6,9;J ₂ 2,1;2H;H'' ₃₊₅); 9,95 [?] (s;1H,OH'')

Comp	R	R'	C ₈ -H	NH ₂	Ar
60	4-OH	4-OH	8,90(s;1H)	8,48(s;1H); 8,05(s;1H)	Ar-2: 8,35(dd;J _{16,9} ;J _{22,1} ;2H;H' ₂₊₆); 6,88(dd;J _{16,9} ;J _{22,1} ;2H;H' ₃₊₅); 9,6-10,2(sml;2H,OH')
61	3,4-OH	4-OH	8,88(s;1H)	8,43(s;1H); 8,06(s;1H)	Ar-2: 7,91(d;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 6,83(d;J _{8,4} ;1H;H' ₅); 7,86(dd;J _{18,4} ;J _{22,1} ;1H;H' ₆); 9-10(sml;3H,OH')
					Ar-9: 7,70(dd;J _{16,9} ;J _{22,1} ;2H;H'' ₂₊₆); 7,01(dd;J _{16,9} ;J _{22,1} ;2H;H'' ₃₊₅); 9,6-10,2(sml;2H,OH'')
					Ar-9: 7,68(dd;J _{16,9} ;J _{21,8} ;2H;H'' ₂₊₆); 7,01(dd;J _{16,9} ;J _{21,8} ;2H;H'' ₃₊₅); 9-10(sml;3H,OH'')

[?] A atribuição dos núcleos de hidrogénio assinalados pode ser feita ao contrário.

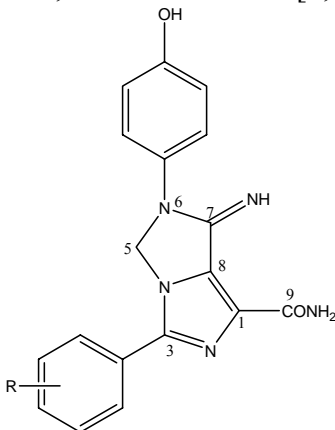
O composto **58** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o sinal do grupo hidroxilo desviado para campo mais baixo (δ 13,68 ppm *versus* δ 9,6-10,6 ppm nas restantes purinas) devido provavelmente à existencia de uma ponte de hidrogénio intramolecular entre o grupo OH na posição *orto* do fenol e N₁/N₃, aumentando o seu carácter ácido. Adicionalmente, os valores de deslocamento químico do protão C₈-H nestas purinas estão todos desviados para campo mais baixo relativamente ao protão equivalente na 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina **54**, indicando uma diferença no grau de aromaticidade nestas duas estruturas. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas purinas são semelhantes ao da 2-(4'-metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-(carbamoil)purina **56** [71].

3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles

Nos espectros de ¹H RMN dos 3-aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles **62-64** observamos que os protões C₅-H₂ são equivalentes e aparecem no intervalo a δ 6,10-6,18 ppm (Tab. 2.35). Os dois protões não equivalentes do grupo amida surgem em duas bandas a δ 7,55-7,63 ppm e δ 7,59-8,27 ppm e o protão imínico em N₇ surge a δ 8,86-9,08 ppm, integrando cada sinal para 1H e desaparecem por adição de D₂O. Os protões OH dos dois substituintes fenólicos presentes em C₃ e N₆

surtem a δ 8,50-11,38 ppm na forma de dois singletos ou como um singlete muito largo integrando para os vários prótons hidroxílicos. Os prótons aromáticos surtem no intervalo δ 6,79-7,82 ppm.

Tabela 2.35. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para os 3-*aril*'-6-*aril*'-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles **62-64**.



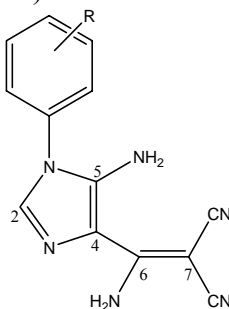
Comp	R	CH ₂	NH ₂	NH	Ar
62	2-OH	6,18(s;2H)	7,63(s;1H); 8,27(s;1H)	9,08(s;1H)	Ar-3: 7,04(d;J8,1;1H;H' ₃); 7,39(t;J7,2;1H;H' ₄); 6,93-7,00(m;1H;H' ₅); 7,69(d;J6,9;1H;H' ₆); 11,38(s;1H,OH') Ar-6: 7,82(d;J8,4;2H;H'' ₂₊₆); 6,80(d;J8,4;2H;H'' ₃₊₅); 9,33(s;1H,OH'')
63	4-OH	6,12(s;2H)	7,59(s;1H); 7,55(s;1H)	8,86(s;1H)	Ar-3: 7,80(d;J9;2H;H' ₂₊₆); 6,91(d;J8,4;2H;H' ₃₊₅); 9,96 [?] (s;1H,OH') Ar-6: 7,81(d;J9,0;2H;H'' ₂₊₆); 6,79(d;J9,0;2H;H'' ₃₊₅); 9,26 [?] (s;1H,OH'')
64	3,4-OH	6,10(s;2H)	7,70(s;1H); 7,56(s;1H)	8,87(sl;1H)	Ar-3: 7,38(d;J1,8;1H;H' ₂); 6,87(d;J8,1;1H;H' ₅); 7,22(dd;J1,8,1;J2,1,8;1H;H' ₆); 8,5-10,0(sml;3H,OH') Ar-6: 7,67(sl;2H;H'' ₂₊₆); 6,81(d;J9,0;2H;H'' ₃₊₅); 8,5-10,0(sml;3H,OH'')

[?] A atribuição dos núcleos de hidrogénio assinalados pode ser feita ao contrário.

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

Os espectros de ^1H RMN dos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68** apresentam um singlete correspondente ao próton $\text{C}_2\text{-H}$ a δ 7,41-7,53 ppm (Tab. 2.36). Os dois singletos correspondentes aos grupos amino ligados a C_5 e C_6 surgem a δ 5,50-5,70 ppm e δ 7,66-7,74 ppm, respectivamente, cada um integrando para dois prótons e desaparecem com a adição de D_2O . O próton OH surge a δ 9,90-10,35 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,80-7,36 ppm. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são semelhantes ao do 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole **65** [70].

Tabela 2.36. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para as 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68**.

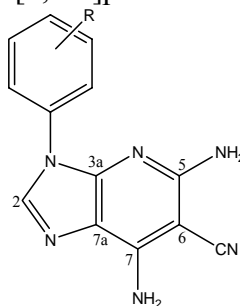


Comp	R	$\text{C}_2\text{-H}$	NH_2	Ar
65 [70]	4- OCH_3	7,49(s;1H)	5,64(s;2H); 7,71(s;2H)	7,36(d;J9,0;2H); 7,11(d;J9,0;2H); 3,81(sl;3H;OCH ₃)
66	2-OH	7,41(s;1H)	5,50(s;2H;no C_5); 7,66(s;2H;no C_6)	7,07(dd;J _{18,1} ;J _{20,9} ;1H;H' ₃); 7,34(dt;J _{17,5} ;J _{21,5} ;1H;H' ₄); 6,94(dt;J _{17,5} ;J _{21,2} ;1H;H' ₅); 7,23(dd;J _{17,8} ;J _{21,5} ;1H;H' ₆); 10,35(sl;1H;OH')
67	3-OH	7,53(s;1H)	5,70(s;2H;no C_5); 7,74(s;2H;no C_6)	6,80(t;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 6,90(dd;J _{18,1} ;J _{22,1} ;1H;H' ₄); 7,36(t;J _{8,1} ;1H;H' ₅); 6,84(d;J _{8,1} ;1H;H' ₆); 9,99(s;1H;OH')
68	4-OH	7,45(s;1H)	5,59(s;2H;no C_5); 7,69(s;2H;no C_6)	7,22(d;J _{8,7} ;2H;H' ₂₊₆); 6,90(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 9,90(sl;1H;OH')

5,7-Diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Os espectros de ^1H RMN das 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **70-72** apresentam um singletto correspondente ao próton na posição C_2 a δ 7,88-8,14 ppm (Tab. 2.37). Os dois singletos correspondentes aos grupos amino ligados a C_5 e C_7 surgem a δ 6,15-6,19 ppm e δ 6,98-7,05 ppm, respectivamente, cada um integrando para dois prótons e desaparecem com a adição de D_2O . O próton O-H surge a δ 9,76-10,04 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,80-7,47 ppm. Nestes compostos, o sinal do próton $\text{C}_2\text{-H}$ está desviado para campo mais baixo em relação aos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68** precursores, traduzindo um aumento de aromaticidade resultante da formação do anel de piridina. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas imidazopiridinas são semelhantes ao da 5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3H-imidazo[4,5-b]piridina **69** [70].

Tabela 2.37. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **69-72**.

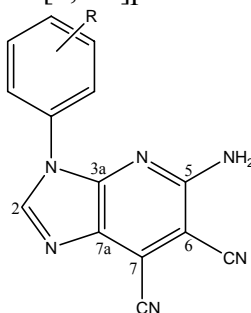


Comp	R	$\text{C}_2\text{-H}$	NH_2	Ar
69 [70]	4- OCH_3	8,09(s;1H)	6,17(s;2H); 7,01(s;2H)	7,63(d;J9,0;2H); 7,07(d;J9,0;2H); 3,80(s;3H; OCH_3)
70	2-OH	7,88(s;1H)	6,15(s;2H;no C_5); 6,98(s;2H;no C_7)	7,03(dd;J ₁ 8,1;J ₂ 1,2;1H;H' ₃); 7,27(td;J ₁ 7,5;J ₂ 1,5;1H;H' ₄); 6,91(td;J ₁ 7,5;J ₂ 1,2;1H;H' ₅); 7,34(dd;J ₁ 8,1;J ₂ 1,5;1H;H' ₆); 10,04(s;1H;OH')
71	3-OH	8,14(s;1H)	6,19(s;2H;no C_5); 7,04(s;2H;no C_7)	7,13-7,17(m;2H;H' ₂₊₆); 6,80(dd;J ₁ 8,1;J ₂ 1,8;1H;H' ₄); 7,30(t;J8,7;1H;H' ₅); 9,83(s;1H;OH')
72	4-OH	8,05(s;1H)	6,16(s;2H;no C_5); 7,05(s;2H;no C_7)	7,47(d;J9,0;2H;H' ₂₊₆); 6,87(d;J9,0;2H;H' ₃₊₅); 9,76(s;1H;OH')

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Os espectros de ^1H RMN das 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **75-77** apresentam o próton ligado ao carbono C_2 a δ 8,53-8,73 ppm e o grupo NH_2 ligado ao C_5 a δ 7,31-7,35 ppm, estando estes sinais deslocados para campo mais baixo em relação às 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **70-72** correspondentes (Tab. 2.38). Esta diferença deve-se certamente à substituição do grupo NH_2 pelo grupo CN na posição C_7 com um efeito retirador de electrões. O próton do grupo hidroxilo da função fenólica surge como um singlete a δ 9,87-10,25 ppm integrando para 1H e desaparece com adição de D_2O . Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,87-7,49 ppm. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas imidazopiridinas são semelhantes ao da 5-amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3H-imidazo[4,5-b]piridina **74** [70].

Tabela 2.38. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **74-77**.



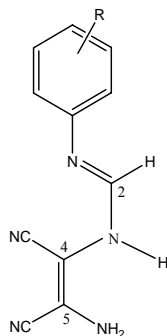
Comp	R	$\text{C}_2\text{-H}$	NH_2	Ar
74 [70]	4-OCH ₃	8,71(s;1H)	7,30(s;2H)	7,64(d;J _{6,1} ;2H); 7,12(d;J _{6,1} ;2H); 3,82 (s;3H)
75	2-OH	8,53(s;1H)	7,31(s;2H)	7,06(dd;J _{1,8} ,1;J _{2,1} ,2;1H;H' ₃); 7,34(dt;J _{1,8} ,1;J _{2,1} ,8;1H;H' ₄); 6,95(dt;J _{1,7} ,8;J _{2,1} ,2;1H;H' ₅); 7,41(dd;J _{1,8} ,1;J _{2,1} ,8;1H;H' ₆); 10,25(s;1H;OH')
76	3-OH	8,73(s;1H)	7,35(s;2H)	7,13(d;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 7,15 [?] (d;J _{8,4} ;1H;H' ₄); 7,35(t;J _{7,8} ;1H;H' ₅); 6,87 [?] (dd;J _{1,8} ,4;J _{2,1} ;1H;H' ₆); 9,98(sl;1H;OH')
77	4-OH	8,65(s;1H)	7,31(s;2H)	7,49(d;J _{9,0} ;2H;H' ₂₊₆); 6,92(d;J _{9,0} ;2H;H' ₃₊₅); 9,87(s;1H;OH')

[?] A atribuição dos núcleos de hidrogénio assinalados pode ser feita ao contrário.

2.2.2.4. Espectroscopia de ^{13}C RMN**(Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas**

Na interpretação dos espectros de ^{13}C RMN das (Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas **38-40** foram usadas as técnicas de DEPT 45°, HMQC e HMBC (Tab. 2.39). O HMQC e HMBC são técnicas bidimensionais de correlação ^1H - ^{13}C que permitem a determinação da relação entre o próton e o carbono. O HMQC é selectivo para o acoplamento directo ^1H - ^{13}C , tendo sido possível através da análise do seu espectro verificar o acoplamento a uma ligação entre os prótons e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica, mas não foi possível observar o acoplamento directo entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$. Assim, utilizou-se a técnica de DEPT 45° para confirmar o desvio químico de C_2 , pois esta técnica permite identificar todos os átomos de carbono ligados a hidrogénios. O HMBC mostra acoplamentos a maiores distâncias, tendo sido possível observar no seu espectro o acoplamento a três ligações entre os hidrogénios do grupo amino vinílico e $^{13}\text{C}_4$ ($^1\text{H}_2\text{-N-}^{13}\text{C}_5\text{-}^{13}\text{C}_4$) e ainda entre estes hidrogénios e o carbono do nitrilo ligado a C_5 ($^1\text{H}_2\text{-N-}^{13}\text{C}_5\text{-}^{13}\text{C}\equiv\text{N}$).

Tabela 2.39. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as (Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidinas **37-40**.



Comp	R	C_2	C_4	C_5	CN	Ar
37 [68]	4-OCH ₃	150,9	109,6	122,3	118,8; 119,9	118,1; 124,5; 136,6; 159,1; 59,1(OCH ₃)
38	2-OH	148,29	105,55	118,72	114,89(C ₄); 115,90(C ₅)	120,15 (C' ₁);146,44(C' ₂); 114,43(C' ₃);123,34(C' ₄); 119,54 (C' ₅);127,23(C' ₆)
39	3-OH	147,56	105,47	118,83	114,70(C ₄); 115,76(C ₅)	140,33(C' ₁);109,29(C' ₂); 157,91(C' ₃);110,12(C' ₄); 129,90(C' ₅);108,89(C' ₆)
40	4-OH	146,81	106,02	118,03	114,96(C ₄); 116,06(C ₅)	131,22(C' ₁);120,70(C' ₂₊₆); 115,54(C' ₃₊₅);153,37(C' ₄)

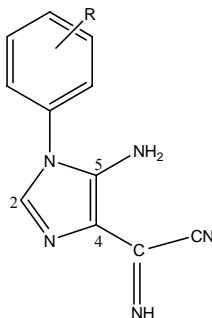
Adicionalmente, o espectro de HMBC mostrou o acoplamento a três ligações entre ^1H e ^{13}C aromáticos do fenol e desta forma foi possível confirmar a atribuição dos valores dos deslocamentos químicos destes carbonos feita pela análise do espectro de HMQC. Foi com estes dados que finalmente se fez a atribuição dos desvios químicos de C_2 a δ 146,81-148,29 ppm, C_4 a δ 105,47-106,02 ppm, C_5 a δ 118,03-118,83 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ ligado a C_4 a δ 114,70-114,96 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ ligado a C_5 a δ 115,76-116,06 ppm e os carbonos do fenol a δ 108,89-157,91 ppm. Comparando os desvios químicos dos carbonos destas amidinas verificou-se uma excelente concordância dos valores registados para todos os carbonos, indicando que o substituinte fenólico em N_1 praticamente não afecta a densidade electrónica nos carbonos da amidina. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas amidinas são semelhantes ao da (*Z*)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -(4-metoxifenil)formamidina **37** [68].

5-Amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles

Na interpretação dos espectros de ^{13}C RMN dos 5-amino-1-aril-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45** foram usadas as técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.40). O espectro de HMQC mostrou o acoplamento directo entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$ e entre os ^1H - ^{13}C aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_4$ e entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_5$. Assim, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 131,99-132,84 ppm, C_4 a δ 115,82-116,29 ppm, C_5 a δ 143,75-144,84 ppm, C_6 a δ 142,94-143,10 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a δ 113,34-113,54 ppm e os carbonos do fenol a δ 111,55-158,55 ppm. Comparando os desvios químicos dos carbonos destes imidazoles continua a verificar-se uma excelente concordância entre os valores registados para todos os carbonos. Adicionalmente, verificou-se que os valores de deslocamento químico de C_2 nestes imidazoles são desviados para campo mais alto quando comparados com as amidinas **38-40** correspondentes, indicando uma variação da densidade electrónica neste átomo de carbono resultante da ciclização para formar o anel de imidazole. Podemos também verificar que o deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica nestes imidazoles está ligeiramente desviado para campo mais alto em relação ao das amidinas **39** e **40** correspondentes, indicando que este átomo de carbono do fenol passou a estar ligado a uma estrutura com menor

capacidade de doar electrões, após a ciclização. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são semelhantes ao do 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-metoxifenil)imidazole **42** [68].

Tabela 2.40. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **42-45**.



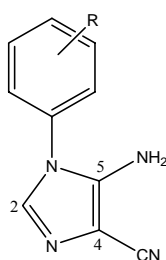
Comp	R	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	CN	Ar
42 [68]	4-OCH ₃	132,31	116,13	144,18	143,06	113,39	126,42(C' ₁); 126,64(C' ₂₊₆); 115,02(C' ₃₊₅); 159,31(C' ₄); 55,56(OCH ₃)
43	2-OH	132,84	115,82	144,84	142,94	113,54	120,69(C' ₁); 152,71(C' ₂); 116,97(C' ₃); 130,53(C' ₄); 119,60(C' ₅); 128,17(C' ₆)
44	3-OH	131,99	116,29	143,75	143,06	113,34	134,73(C' ₁); 115,65(C' ₂); 158,55(C' ₃); 115,04(C' ₄); 130,80(C' ₅); 111,55(C' ₆)
45	4-OH	132,39	116,07	144,24	143,10	113,45	124,79(C' ₁); 126,68(C' ₂₊₆); 116,29(C' ₃₊₅); 157,91(C' ₄)

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

A interpretação dos espectros de ^{13}C RMN dos 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49** foi feita com o auxílio das técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.41). No espectro de HMQC observou-se o acoplamento a uma ligação entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$

e entre os ^1H - ^{13}C aromáticos pertencentes ao fenol. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_4$, entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_5$ e entre os hidrogénios do grupo amino ligado a C_5 e o $^{13}\text{C}_4$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_5\text{-}^{13}\text{C}_4$). Deste modo, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 132,48-133,15 ppm, C_4 a δ 90,08-90,88 ppm, C_5 a δ 147,21-148,12 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a δ 117,14-117,43 ppm e os carbonos do fenol a δ 112,13-158,44 ppm. Continua a verificar-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destes imidazoles.

Tabela 2.41. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **46-49**.



Comp	R	C_2	C_4	C_5	CN	Ar
46 [68]	4- OCH_3	136,80	94,70	151,60	121,20	129,30; 132,70; 133,80; 136,60; 119,10; 130,50; 131,10; 163,40; 59,70(OCH_3)
47	2-OH	133,15	90,08	148,12	117,43	120,77(C'_1);152,76(C'_2); 116,94(C'_3);130,60(C'_4); 119,61(C'_5);128,45(C'_6)
48	3-OH	132,48	90,88	147,21	117,14	134,78(C'_1);112,13(C'_2); 158,44(C'_3);115,80 [?] (C'_4); 130,72(C'_5);115,61 [?] (C'_6)
49	4-OH	132,87	90,42	147,67	117,34	124,96(C'_1);127,16(C'_{2+6}); 116,21(C'_{3+5});157,86(C'_4)

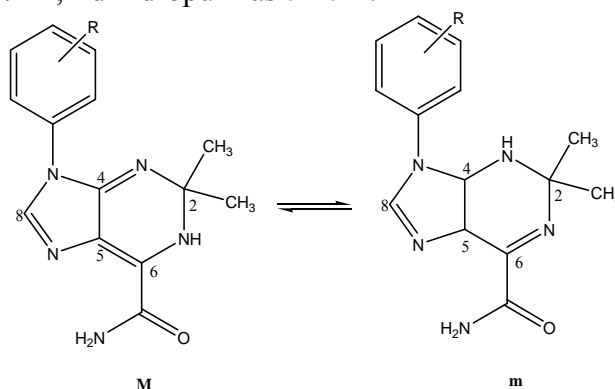
[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

Observa-se que os valores de deslocamento químico de C_2 nestes imidazoles não variam praticamente quando comparados com os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45**. Destas duas observações, podemos verificar que o deslocamento químico do carbono C_2 não parece ser influenciado nem pelo substituinte presente em N_1 , nem em C_4 . Contudo, verificou-se que os valores de deslocamento químico de C_4 nestes imidazoles são desviados para campo mais alto quando comparados com os cianoformimidoilimidazoles **43-45**, estando de acordo com o maior efeito retirador de electrões do grupo CN relativamente ao grupo cianoformimidoilo. Podemos também verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na

posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estes imidazoles estão a campo muito semelhante relativamente ao carbono equivalente nos cianoformimidoilimidazoles **43-45** respectivos, indicando que estas duas estruturas de imidazole têm aproximadamente a mesma capacidade de retirar electrões da unidade fenólica. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são semelhantes ao do 5-amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole **46** [68].

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

Na caracterização por espectroscopia de ^{13}C RMN das 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **52-54** utilizou-se a técnica de DEPT 45°, HMQC e HMBC (Tab. 2.42). Tal como acontecia nos espectros de ^1H RMN, os espectros de ^{13}C mostram também bandas largas devido à presença em solução das duas formas tautoméricas possíveis que, para cada um dos átomos de carbono do anel, apresentam deslocamentos químicos muito próximos, de acordo com um estudo feito anteriormente sobre o equilíbrio tautomérico nestes compostos [69]. Este alargamento de bandas é a causa mais provável para a não visualização dos sinais de C_4 , C_5 e C_6 no composto **52**, por estes desaparecerem na linha de base. O espectro de HMQC mostra o acoplamento a 1 ligação entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes ao fenol e o acoplamento entre os protões dos dois grupos metilo e os carbonos aos quais estão directamente ligados. Não foi possível observar o acoplamento directo entre ^1H - $^{13}\text{C}_8$. Deste modo, utilizou-se a técnica de DEPT 45° para confirmar o desvio químico de C_8 . No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a duas ligações entre os protões dos dois grupos metilo e o carbono C_2 ($^1\text{H}_3\text{C}$ - $^{13}\text{C}_2$) em todos os compostos. O acoplamento a quatro ligações entre os protões dos dois grupos metilo e o carbono C_4 ($^1\text{H}_3\text{C}$ - C_2 - N_3 - $^{13}\text{C}_4$) e ainda com o C_6 ($^1\text{H}_3\text{C}$ - C_2 - N_1 - $^{13}\text{C}_6$) só foi observado no composto **53**. Como os sinais do tautómero minoritário só foram detectados em alguns casos, será apresentado unicamente o conjunto de picos atribuídos ao tautómero maioritário. Assim, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 72,07-72,12 ppm, C_4 a δ 132,32-132,61 ppm, C_5 a δ 118,23-118,28 ppm, C_6 a δ 155,46-155,62 ppm, C_8 a δ 144,44-145,23 ppm, $\text{C}=\text{O}$ a δ 162,23-162,44 ppm, CH_3 a δ 28,66-29,11 ppm e os carbonos fenólicos a δ 107,83-157,87 ppm. Continua a verificar-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destas dihidropurinas.

Tabela 2.42. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as 9-aryl-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54**^a.

Comp	R	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	C ₈	C=O	CH ₃	Ar
51 [69]	4-OCH ₃	72,12	132,50	118,22	156,80	144,91	162,33	29,12	128,95(C' ₁); 122,44(C' ₂₊₆); 114,28(C' ₃₊₅); 157,07(C' ₄); 55,39(OCH ₃)
52	2-OH	72,07	b	b	b	144,86	162,44	28,66	123,25(C' ₁); 150,97(C' ₂); 118,23(C' ₃); 128,69(C' ₄); 119,53(C' ₅); 125,54(C' ₆)
53	3-OH	72,12	155,62	118,23	132,61	144,44	162,23	M: 29,11 m: 27,72	136,94(C' ₁); 110,89 [?] (C' ₂); 157,87(C' ₃); 112,58 [?] (C' ₄); 129,83(C' ₅); 107,83 [?] (C' ₆)
54	4-OH	72,09	132,32	118,28	155,46	145,23	162,36	M: 29,09 m: 27,63	127,42(C' ₁); 122,86(C' ₂₊₆); 115,47(C' ₃₊₅); 155,88(C' ₄)

^a Só é feita a diferenciação entre as espécies **M** e **m** quando são detectados no espectro os picos referentes à espécie menos abundante **m**, caso contrário o valor refere-se à espécie mais abundante **M**.

^b Não são observados no espectro.

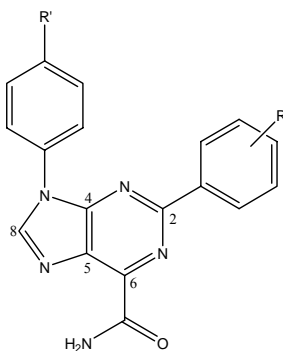
[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

Podemos observar que os valores de deslocamento químico de C₈ nestas dihidropurinas estão a campo mais baixo relativamente ao carbono equivalente C₂ nos 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles **43-45** e nos 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49** como já se tinha observado para os prótons ligados a estes carbonos no espectro de ^1H RMN, traduzindo uma variação da densidade electrónica neste átomo de carbono. Podemos também verificar que os valores de deslocamento

químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a N₉ estão a campo ligeiramente mais baixo relativamente ao carbono equivalente nos imidazoles **43-45** e imidazoles **47-49**, indicando que esta dihidropurina é uma estrutura com menor capacidade de retirar electrões do que as duas estruturas de imidazole. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas dihidropurinas são semelhantes ao da 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina **51** [69].

2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

A caracterização por espectroscopia de ¹³C RMN das 2-aril-9-aril'-6-carbamoilpurinas sintetizadas **57-61** foi feita com o auxílio da técnica de DEPT 45°, HMQC e HMBC (Tab. 2.43). O espectro de HMQC mostra o acoplamento directo entre o ¹H-¹³C₈ e entre os ¹H-¹³C aromáticos pertencentes ao fenol. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre C₈-¹H e ¹³C₄, entre C₈-¹H e ¹³C₅, entre o C₂ e os protões na posição *orto* da unidade fenólica ligada a este carbono, entre um dos protões do ¹H₂N e ¹³C₆ e ainda nos compostos **57**, **58** e **59** observou-se o acoplamento a duas ligações entre o outro protão do ¹H₂N e o carbono do ¹³C=O. Finalmente, fez-se a atribuição do desvio químico de C₂ a δ 157,51-158,35 ppm, C₄ a δ 153,74-153,94 ppm, C₅ a δ 129,18-129,92 ppm, C₆ a δ 144,66-148,15 ppm, C₈ a δ 146,74-148,59 ppm, C=O a δ 162,59-164,74 ppm, OCH₃ a δ 55,33 ppm e os carbonos fenólicos a δ 114,70-159,71 ppm. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para os carbonos destas purinas, excepto para o carbono C₆ da purina **58** que se desvia para campo mais alto. Adicionalmente, os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada ao carbono N₉ nestas purinas estão todos desviados para campo ligeiramente mais alto relativamente ao carbono equivalente ligado ao N₉ na 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina **54**. Isto só não acontece para a purina **59**, com o substituinte 3-hidroxifenilo ligado a C₂, que tem este sinal a campo ligeiramente mais baixo. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas purinas são semelhantes ao da 2-(4'-metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-carbamoilpurina **56** [71].

Tabela 2.43. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as 2-*aril'*-9-*aril''*-6-carbamoilpurinas **56-61**.

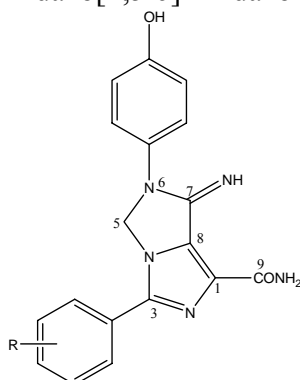
Comp	R	R'	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	C ₈	C=O	Ar
56 [71]	4-OCH ₃	4-OCH ₃	157,72	153,87	129,71	147,65	146,71	164,56	161,30; 158,84; 129,75; 129,51; 127,11; 124,95; 114,68; 113,80; 55,45(OCH ₃); 55,18(OCH ₃)
57	4-OCH ₃	4-OH	157,51	153,94	129,57	148,06	147,07	164,73	Ar-2: 129,60(C' ₁); 129,79(C' ₂₊₆); 113,99(C' ₃₊₅); 161,34(C' ₄); 55,33(OCH ₃ ') Ar-9: 125,63(C'' ₁); 125,41(C'' ₂₊₆); 116,04(C'' ₃₊₅); 157,61(C'' ₄)
58	2-OH	4-OH	158,35	153,74	129,45	144,66	148,59	162,59	Ar-2: 118,49 (C' ₁); 159,71(C' ₂); 118,95 (C' ₃); 132,84(C' ₄); 117,84(C' ₅); 128,54(C' ₆) Ar-9: 125,17(C'' ₁); 125,65(C'' ₂₊₆); 116,08(C'' ₃₊₅); 157,73(C'' ₄)

Comp	R	R'	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	C ₈	C=O	Ar
59	3-OH	4-OH	157,67	153,85	129,92	148,15	147,42	164,59	Ar-2: 138,38(C' ₁); 114,70(C' ₂); 157,61(C' ₃); 117,61(C' ₄); 129,63(C' ₅); 119,05(C' ₆) Ar-9: 129,63(C'' ₁); 125,57(C'' ₂₊₆); 116,00(C'' ₃₊₅); 157,48(C'' ₄)
60	4-OH	4-OH	158,00	153,94	129,32	148,02	146,83	164,74	Ar-2: 128,06(C' ₁); 129,93(C' ₂₊₆); 115,40(C' ₃₊₅); 159,89(C' ₄) Ar-9: 125,71(C'' ₁); 125,41(C'' ₂₊₆); 116,01(C'' ₃₊₅); 157,37(C'' ₄)
61	3,4-OH	4-OH	158,21	153,87	129,18	148,09	146,74	164,72	Ar-2: 128,48(C' ₁); 115,35(C' ₂); 145,23(C' ₃); 148,19(C' ₄); 115,58(C' ₅); 120,33(C' ₆) Ar-9: 125,69(C'' ₁); 125,54(C'' ₂₊₆); 115,99(C'' ₃₊₅); 157,40(C'' ₄)

3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles

A interpretação dos espectros de ¹³C RMN dos 3-aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles **62-64** foi feita com o auxílio das técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.44). No espectro de HMQC observou-se, para todas os compostos, o acoplamento a uma ligação entre o ¹H-¹³C₅ e entre os ¹H-¹³C aromáticos pertencentes às unidades fenólicas.

Tabela 2.44. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) para os 3-aryl'-6-aryl''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles **62-64**.



Comp	R	C ₁	C ₃	C ₅	C ₇	C ₈	C ₉	Ar
62	2-OH	128,82	139,87	64,74	150,72	132,86	163,46	Ar-3: 112,50(C' ₁); 156,35(C' ₂); 117,14(C' ₃); 131,17(C' ₄); 119,38(C' ₅); 126,94(C' ₆) Ar-6: 131,40(C'' ₁); 120,62(C'' ₂₊₆); 115,22(C'' ₃₊₅); 153,34(C'' ₄)
63	4-OH	130,22	140,73	64,21	151,14	132,83	164,10	Ar-3: 119,50(C' ₁); 128,01(C' ₂₊₆); 115,82(C' ₃₊₅); 158,81(C' ₄) Ar-6: 131,24(C'' ₁); 120,81(C'' ₂₊₆); 115,32(C'' ₃₊₅); 153,56(C'' ₄)
64	3,4-OH	130,30	141,04	64,42	151,15	132,72	164,06	Ar-3: 119,82(C' ₁); 113,84(C' ₂); 145,77(C' ₃); 147,27(C' ₄); 115,95(C' ₅); 118,05(C' ₆) Ar-6: 131,01(C'' ₁); 121,42(C'' ₂₊₆); 115,43(C'' ₃₊₅); 153,95(C'' ₄)

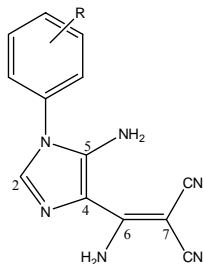
No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o $^1\text{H}-^{13}\text{C}_5$ e $^{13}\text{C}_7$, entre o $^1\text{H}-^{13}\text{C}_5$ e $^{13}\text{C}_8$, entre um dos hidrogénios do grupo amida e o $^{13}\text{C}_1$ ($^1\text{H}-\text{N}-\text{CO}-^{13}\text{C}_1$) e entre os hidrogénios na posição *orto* da unidade fenólica ligada a C_3 e o $^{13}\text{C}_3$. No espectro do composto **62** observou-se o acoplamento a duas ligações entre o hidrogénio do grupo imino ligado a C_7 e o $^{13}\text{C}_7$ ($^1\text{H}-\text{N}-^{13}\text{C}_7$) e ainda o acoplamento a três ligações entre o mesmo hidrogénio e o $^{13}\text{C}_8$ ($^1\text{H}-\text{N}-\text{C}_7-^{13}\text{C}_8$). Adicionalmente, no espectro do composto **63** observou-se o acoplamento a três ligações entre o $^1\text{H}-^{13}\text{C}_5$ e o $^{13}\text{C}_3$ ($^1\text{H}-\text{N}-\text{C}_5-\text{N}_4-^{13}\text{C}_3$). Finalmente, atribuiu-se o desvio químico de C_1 a δ 128,82-130,30 ppm, C_3 a δ 139,87-141,04 ppm, C_4 a δ 111,55-111,89 ppm, C_5 a δ 64,21-64,74 ppm, C_7 a δ 150,72-151,15 ppm, C_8 a δ 132,72-132,86 ppm, $\text{C}=\text{O}$ a δ 163,46-164,10 ppm e os carbonos dos substituintes fenólicos a δ 112,50-158,81 ppm. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destes imidazoles. Podemos verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada ao carbono C_3 nestes imidazo-imidazoles estão a campo bastante mais alto relativamente ao carbono equivalente ligado ao C_2 das 2-aril-9-aril-6-carbamoilpurinas **58-61** respectivas, indicando que este imidazo-imidazole é uma estrutura com maior capacidade de retirar electrões desta unidade fenólica do que a estrutura de purina. Contudo, os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a N_6 no imidazo-imidazole **63** estão a campo ligeiramente mais baixo relativamente ao carbono equivalente ligado ao N_9 na purina **60**, indicando que este imidazo-imidazole tem menor capacidade de retirar electrões desta unidade fenólica do que a purina **60**.

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

A interpretação dos espectros de ^{13}C RMN dos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68** foi feita com o auxílio das técnicas de HMQC e HMBC (Fig. 2.45). No espectro de HMQC observou-se o acoplamento a uma ligação entre o $^1\text{H}-^{13}\text{C}_2$ e entre os $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2-^1H e $^{13}\text{C}_4$ e entre o C_2-^1H e $^{13}\text{C}_5$, para todos os compostos. No espectro do composto **66** observou-se ainda o acoplamento a três ligações entre os hidrogénios do grupo amino ligado a C_6 e o $^{13}\text{C}_4$ ($^1\text{H}_2-\text{N}-\text{C}_6-^{13}\text{C}_4$) e $^{13}\text{C}_7$ ($^1\text{H}_2-\text{N}-\text{C}_6-^{13}\text{C}_7$). Deste modo, atribuiu-se o desvio químico

de C₂ a δ 132,84-133,71 ppm, C₄ a δ 111,55-111,89 ppm, C₅ a δ 141,70-142,66 ppm, C₆ a δ 162,99-163,17 ppm, C₇ a δ 43,16-43,87 ppm, C \equiv N a δ 118,10-118,28 ppm e os carbonos do fenol a δ 112,40-158,52 ppm. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destes imidazoles.

Tabela 2.45. Dados espectroscópicos de ¹³C RMN (DMSO-d₆) para os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68**.



Comp	R	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	CN	Ar
65 [70]	4-OCH ₃	133,20	111,80	142,10	163,10	43,70	118,10	159,40; 127,40; 126,40; 115,00; 114,60; 55,50
66	2-OH	133,71	111,55	142,66	162,99	43,16	118,28	120,78(C'' ₁); 152,86(C'' ₂); 116,67(C'' ₃); 130,65(C'' ₄); 119,61(C'' ₅); 128,53(C'' ₆)
67	3-OH	132,84	111,89	141,70	163,17	43,87	118,10	134,77(C'' ₁); 115,91 [?] (C'' ₂); 158,52(C'' ₃); 112,40 [?] (C'' ₄); 130,81(C'' ₅); 115,91 [?] (C'' ₆)
68	4-OH	133,27	111,60	142,20	163,14	43,54	118,18	124,83(C'' ₁); 127,42(C'' ₂₊₆); 116,28(C'' ₃₊₅); 157,97(C'' ₄)

[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

Observa-se que os valores de deslocamento químico de C₂ nestes imidazoles não variam praticamente quando comparados com os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidoilimidazoles **43-45** e 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **47-49**. Assim, podemos verificar que, para o mesmo substituinte em N₁, o deslocamento químico do carbono C₂ não parece ser influenciado pelo substituinte presente em C₄. Contudo, verificou-se que os valores de deslocamento químico de C₄ nestes enaminoimidazoles

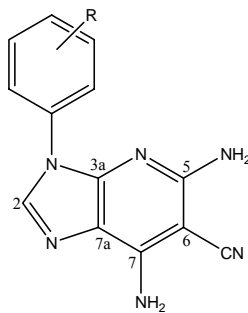
são ligeiramente desviados para campo mais alto quando comparados com os cianoformimidoilimidazoles **43-45** e desviados para campo mais baixo quando comparados com os cianoimidazoles **47-49**, estando de acordo com o maior efeito retirador de electrões do grupo ciano relativamente ao grupo enamino e este por sua vez, tendo um efeito retirador ligeiramente mais forte do que o do grupo cianoformimidoilo. Podemos também verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estes enaminoimidazoles são muito semelhantes aos do carbono equivalente nos cianoformimidoilimidazoles **43-45** e cianoimidazoles **47-49** respectivos, indicando que estas três estruturas de imidazole têm aproximadamente o mesmo efeito electrónico sobre a unidade fenólica. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes imidazoles são semelhantes ao do 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole **65** [70].

5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Na interpretação dos espectros de ^{13}C RMN das 5,7-diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **70-72** utilizou-se as técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.46). No espectro de HMQC observou-se o acoplamento a uma ligação entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$ e entre os ^1H - ^{13}C aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_{3a}$, entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_{7a}$, entre os hidrogénios do grupo amino ligado a C_7 e o $^{13}\text{C}_6$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_7\text{-}^{13}\text{C}_6$) e o $^{13}\text{C}_{7a}$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_7\text{-}^{13}\text{C}_{7a}$), entre os hidrogénios dos grupo amino ligado a C_5 e o $^{13}\text{C}_6$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_5\text{-}^{13}\text{C}_6$) e ainda, no espectro do composto **72** observou-se o acoplamento a quatro ligações entre os hidrogénios do grupo amino ligado a C_5 e o $^{13}\text{C}_{3a}$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_5\text{=N}_4\text{-}^{13}\text{C}_{3a}$). Assim, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 137,81-139,45 ppm, C_{3a} a δ 147,44-148,54 ppm, C_5 a δ 159,03-159,05 ppm, C_6 a δ 69,51-69,78 ppm, C_7 a δ 150,60-150,67 ppm, C_{7a} a δ 115,15-116,06 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a δ 117,09-117,26 ppm e os carbonos do fenol a δ 110,78-158,01 ppm. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destas imidazopiridinas. Podemos observar que os valores de deslocamento químico de C_2 nestas imidazopiridinas estão a campo mais baixo relativamente ao carbono equivalente nos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **66-68** como já se tinha observado para os protões ligados

a estes carbonos no espectro de ^1H RMN, traduzindo a influência do aumento de aromaticidade do heterociclo. Podemos também verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estas imidazopiridinas são ligeiramente superiores relativamente aos do carbono equivalente nos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arylimidazoles **66-68**, indicando que esta imidazopiridina é uma estrutura com menor capacidade de retirar electrões da unidade fenólica do que a estrutura de imidazole precursor. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas imidazopiridinas são semelhantes ao da 5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **69** [70].

Tabela 2.46. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **69-72**.

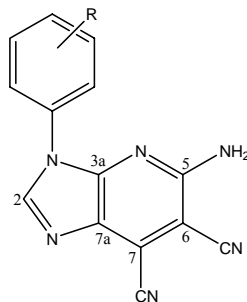


Comp	R	C ₂	C _{3a}	C ₅	C ₆	C ₇	C _{7a}	CN	R
69 [70]	4-OCH ₃	138,0	147,6	159,0	69,5	150,6	115,8	117,1	158,3; 128,3; 125,2; 114,4; 55,5
70	2-OH	139,45	148,54	159,04	69,51	150,60	115,15	117,26	122,37(C' ₁); 152,00(C' ₂); 116,77(C' ₃); 129,65(C' ₄); 119,21(C' ₅); 128,62(C' ₆)
71	3-OH	137,81	147,44	159,05	69,78	150,67	116,06	117,09	136,33(C' ₁); 114,09(C' ₂); 158,01(C' ₃); 114,27(C' ₄); 130,08(C' ₅); 110,78(C' ₆)
72	4-OH	138,20	147,72	159,03	69,64	150,67	115,80	117,23	126,79(C' ₁); 125,52(C' ₂₊₆); 115,67(C' ₃₊₅); 156,77(C' ₄)

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

A interpretação dos espectros de ^{13}C RMN das 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **75-77** foi feita por intermédio das técnicas de HMQC, HMBC e DEPT 45° (Tab. 2.47). No espectro de HMQC observou-se o acoplamento a uma ligação entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$ e entre os ^1H - ^{13}C aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_{3a}$, entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_{7a}$, entre os hidrogénios dos grupo amino ligado a C_5 e o $^{13}\text{C}_6$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_5$ - $^{13}\text{C}_6$) e ainda, o acoplamento a quatro ligações entre os hidrogénios do grupo amino ligado a C_5 e o $^{13}\text{C}_{3a}$ ($^1\text{H}_2\text{-N-C}_5=\text{N}_4$ - $^{13}\text{C}_{3a}$).

Tabela 2.47. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **74-77**.



Comp	R	C ₂	C _{3a}	C ₅	C ₆	C ₇	C _{7a}	CN	Ar
74 [70]	4-OCH ₃	146,8	149,9	158,0	86,6	114,3	128,1	115,2; 113,2	159,1; 126,8; 125,9; 114,6; 55,6
75	2-OH	148,24	150,81	158,11	86,24	114,03	127,57	115,31; 113,23	120,80(C' ₁); 152,92(C' ₂); 116,73(C' ₃); 130,63(C' ₄); 119,22(C' ₅); 128,70(C' ₆)
76	3-OH	146,51	149,66	158,04	86,83	114,45	128,29	115,25; 113,18	134,97(C' ₁); 111,31(C' ₂); 158,23(C' ₃); 114,63 [?] (C' ₄); 130,39(C' ₅); 115,38 [?] (C' ₆)
77	4-OH	146,92	149,93	157,97	86,51	114,20	128,04	115,25; 113,17	125,26(C' ₁); 126,06(C' ₂₊₆); 115,83(C' ₃₊₅); 157,59(C' ₄)

[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

Deste modo, atribuiu-se o desvio químico de C₂ a δ 146,51-148,24 ppm, C_{3a} a δ 149,66-150,81 ppm, C₅ a δ 157,97-158,11 ppm, C₆ a δ 86,24-86,83 ppm, C₇ a δ 114,03-114,45 ppm, C_{7a} a δ 127,57-128,29 ppm, C \equiv N a δ 113,17-115,31 ppm e os carbonos do fenol a δ 111,31-158,23 ppm. Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destas imidazopiridinas. Podemos observar que os deslocamentos químicos de C₂ nestas imidazopiridinas estão a campo mais baixo relativamente ao carbono equivalente nas 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **70-72**, como já se tinha observado para o próton ligado a este carbono no espectro de ¹H RMN, traduzindo uma variação da densidade electrónica neste átomo de carbono. Podemos também verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estas imidazopiridinas são semelhantes relativamente ao mesmo carbono nas 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **70-72** equivalentes, indicando que estas duas imidazopiridinas são estruturas com um efeito electrónico análogo sobre a unidade fenólica. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas imidazopiridinas são semelhantes ao da 5-amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **74** [70].

2.2.3. Actividade antioxidante

(*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-arylformamidas

No estudo da actividade antioxidante dos compostos utilizaram-se os valores dos seus potenciais de oxidação, uma vez que nos dão uma indicação da facilidade com que os compostos se oxidam [24].

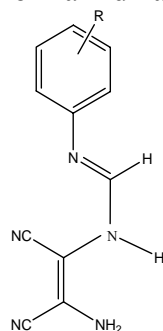
Os compostos **37** e **39** com os substituinte 4-metoxifenilo e 3-hidroxifenilo respectivamente, no anel aromático têm potenciais de oxidação bastante elevados, o composto **38** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem um valor de potencial intermédio e o composto **40** com o substituinte 4-hidroxifenilo apresenta um potencial de pico de 265 mV, o mais baixo desta série, embora mais alto do que o do antioxidante de referência trolox (173 mV) (Tab. 2.48).

No teste de descoloração do DPPH, o composto **40** apresenta um valor de IC₅₀ de 4,6 ± 0,7 µM, sendo aproximadamente metade do valor observado para o trolox (9,0

$\pm 0,2 \mu\text{M}$). Esta diferença entre os resultados obtidos por voltametria cíclica e pelo método de descoloração de DPPH sugere que a actividade anti-radicalar não pode ser explicada unicamente com base nos valores de potencial de oxidação, ou seja, a facilidade com que os compostos se oxidam.

No teste da degradação da desoxirribose, com o composto **40** e o trolox nas concentrações dos IC_{50} determinados no teste de descoloração do DPPH, de forma a terem a mesma actividade anti-radicalar, verificou-se que o composto **40** reduz para $39,8 \pm 3,2 \%$ a degradação da desoxirribose, sendo este efeito protector duas vezes superior ao observado para o trolox ($76,6 \pm 2,6 \%$). Este composto tem uma actividade antioxidante maior do que o trolox devido provavelmente à sua capacidade quelante do ião ferro.

Tabela 2.48. Dados de potencial de pico anódico e actividade antioxidante para as (Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -arilformamidas **37-40**.



Comp	R	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μM)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
37	4-OCH ₃	409	337	-	-
38	2-OH	352	296	$9,2 \pm 1,4$	$39,1 \pm 3,5$
39	3-OH	528	417	-	-
40	4-OH	265	210	$4,6 \pm 0,7$	$39,8 \pm 3,2$
Trolox	-	173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

Verificou-se também que o imidato de partida e a 4-hidroxi-anilina têm potenciais de pico com os valores de 267 e 127 mV, respectivamente. O composto **40** resultante da reacção entre estes dois reagentes apresenta um potencial de 265 mV, muito semelhante ao do imidato e superior ao da 4-hidroxi-anilina. Este resultado indica que o composto **40** é mais dificilmente oxidado do que a 4-hidroxi-anilina. A maior

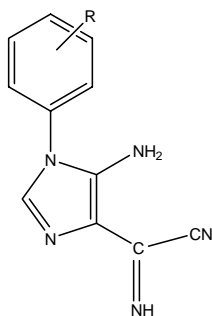
estabilidade à oxidação do composto **40** relativamente à 4-hidroxi-anilina está de acordo com o previsto, uma vez que a 4-hidroxi-anilina é um pró-oxidante [90, 91, 92] enquanto que os *p*-alquilaminofenóis apresentam actividade antioxidante [93].

O composto **38** com o substituinte 2-hidroxifenilo apresenta um potencial de pico de 352 mV, superior ao da 2-hidroxi-anilina (181 mV) e tem um valor de IC₅₀ para a descoloração do DPPH de $9,2 \pm 1,4 \mu\text{M}$, semelhante ao do trolox. Nas concentrações de IC₅₀ determinadas no teste anterior, o composto **38** inibe a degradação da desoxirribose para um valor inferior a 50 % e tem uma capacidade protectora de aproximadamente duas vezes superior relativamente à do trolox.

Assim, podemos concluir que o potencial de oxidação fornece informação importante acerca da facilidade com que os compostos se oxidam mas não existe sempre uma correlação directa entre os potenciais de pico anódicos e a actividade antioxidante primária.

5-Amino-1-aril-4-cianoformimidazolimidazoles

Os compostos **42-45** têm potenciais de oxidação mais elevados do que os compostos precursores lineares **37-40** correspondentes (Tabelas 2.48 e 2.49). Este aumento dos valores dos potenciais com a ciclização é devida provavelmente à estrutura cíclica ter uma capacidade dadora de electrões menor que a estrutura linear, o que torna mais difícil a oxidação do composto. Nos espectros de ¹³C RMN, verificou-se que o carbono *ipso* (C₁) do grupo arilo estava deslocado para um campo ligeiramente mais alto depois da ciclização, indicando que o grupo arilo passou a estar ligado a uma estrutura com menor capacidade dadora de electrões depois de ocorrer a ciclização (Tabs. 2.39 e 2.40). Os compostos **43** e **45** com os substituintes 2-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo respectivamente, no anel aromático têm valores de IC₅₀ superiores a 400 μM , o que está de acordo com os resultados obtidos por voltametria cíclica, indicando que têm uma actividade anti-radicalar muito fraca ou inexistente. De facto, verificou-se que os potenciais de pico dos compostos **43** e **45** são bastante superiores aos da 2-hidroxi-anilina (181 mV) e 4-hidroxi-anilina (127 mV), respectivamente.

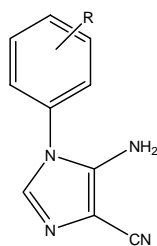
Tabela 2.49. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante primária para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidazoles **42-45**.

Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)
42	4-OCH ₃	800	-	-
43	2-OH	636	550	> 400
44	3-OH	736	631	-
45	4-OH	750	-	> 400
Trolox	-	173	107	9,0 ± 0,2

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

Todos os compostos deste grupo apresentam valores de potencial de pico anódico muito elevados, sendo o composto **47** substituído com 2-hidroxifenilo no anel aromático, o que tem o potencial de pico mais baixo de valor igual a 640 mV, sendo também bastante superior ao da 2-hidroxi-anilina (181 mV) (Fig. 2.50). Verificou-se que este composto tem um IC₅₀ para a descoloração do DPPH superior a 400 μM, indicando que este grupo não tem actividade antioxidante primária significativa.

Tabela 2.50 Potencial de pico anódico e actividade antioxidante primária para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **46-49**.

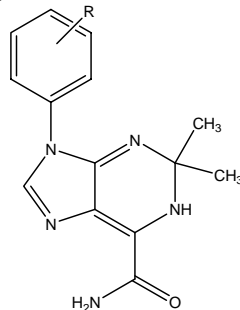
Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)
46	4-OCH ₃	850	-	-
47	2-OH	640	588	> 400
48	3-OH	752	660	-
49	4-OH	894	810	-
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

Os compostos deste grupo apresentam potenciais de oxidação muito semelhantes (Tab.2.51). O facto do composto **51**, com o substituinte 4-metoxifenilo no anel aromático ter o seu valor de potencial de pico incluído neste intervalo, sugere que a unidade que sofre oxidação é provavelmente a dihidropurina e não a unidade fenólica.

Tabela 2.51. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para as 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
51	4-OCH ₃	332	262	-	-
52	2-OH	322	250	-	-
53	3-OH	318	251	12,4 ± 1,0	41,6 ± 2,9
54	4-OH	334	272	-	-
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

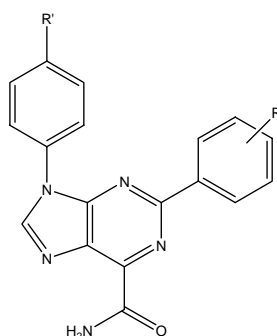
O composto **53** substituído com 3-hidroxifenilo apresenta um potencial de pico de 318 mV e um valor de IC₅₀ para a descoloração do DPPH de 12,4 ± 1,0 μM,

ligeiramente superior ao do trolox. Nas concentrações respectivas de IC_{50} , este composto reduziu a degradação da desoxirribose para um valor de $41,6 \pm 2,9 \%$, tendo uma capacidade protectora de aproximadamente duas vezes superior ao do trolox. Verifica-se que embora o composto **53** apresente um potencial de oxidação bastante mais elevado do que o do trolox, tem quase a mesma actividade anti-radicalar, avaliada pelo teste de descoloração do DPPH e uma actividade antioxidante maior que o trolox, avaliada pelo teste de degradação da desoxirribose.

2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

A purina **56** com os dois grupos arilo substituídos com 4-metoxifenilo nas posições C_2 e C_9 apresenta um voltamograma onde não se observa nenhum pico de oxidação significativo no intervalo -500 a 1100 mV (Tab. 2.52).

Tabela 2.52. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para as 2-aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas **56-61**.



Comp	R	R'	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μ M)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
56	4-OCH ₃	4-OCH ₃	-	-	-	-
57	4-OCH ₃	4-OH	645	-	-	-
58	2-OH	4-OH	686	604	-	-
59	3-OH	4-OH	1000	-	-	-
60	4-OH	4-OH	653	-	-	-
61	3,4-OH	4-OH	256	188	$7,8 \pm 0,1$	$39,9 \pm 1,3$
Trolox	-	-	173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

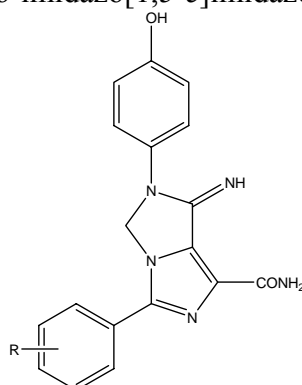
As purinas **57** e **60** com o grupo fenólico substituído com 4-hidroxifenilo na posição N₉ apresentam potenciais de oxidação muito elevados. No entanto, a purina **61** com o grupo fenólico substituído com o 3,4-di-hidroxifenilo na posição C₂ apresenta um valor de potencial de pico anódico de 256 mV, sendo superior ao da 4-hidroxi-anilina (127 mV) e inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV). Este composto apresenta um valor de IC₅₀ para a descoloração do DPPH de $7,8 \pm 0,1 \mu\text{M}$, que é ligeiramente inferior ao do trolox. Nestas concentrações, verificou-se que este composto protege a degradação da desoxirribose mais de 50 %, sendo essa protecção aproximadamente o dobro da registada para o trolox.

3-Aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles

Dos compostos deste grupo, o composto **64** substituído com o grupo 3,4-di-hidroxifenilo no anel aromático em C₃, é o que apresenta o potencial de pico mais baixo, com o valor de 316 mV, enquanto que o composto **62** apresenta um voltamograma onde não se regista nenhum pico de oxidação até 1100 mV (Tab. 2.53). Adicionalmente, verificou-se que o potencial de pico do composto **64** é também superior ao da 4-hidroxi-anilina (127 mV) e inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV).

Para o composto **64** determinou-se um valor de IC₅₀ para a descoloração do DPPH igual a $7,4 \pm 0,3 \mu\text{M}$, indicando uma actividade anti-radicalar superior à do trolox. Nestas concentrações de IC₅₀, o composto **64** tem um efeito protector superior a 50 % e aproximadamente duas vezes superior ao do trolox.

Tabela 2.53. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para os 3-aril'-6-aril''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles **62-64**.



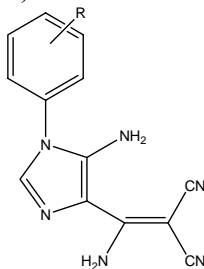
Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
62	2-OH	-	-	-	-
63	4-OH	700	-	-	-
64	3,4-OH	316	234	7,4 ± 0,3	42,3 ± 4,1
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

Todos os compostos deste grupo apresentam potenciais de oxidação bastante elevados, sendo o composto **68** substituído com o grupo 4-hidroxifenilo no anel aromático, o que tem o potencial de pico mais baixo com o valor de 690 mV, sendo bastante superior ao da 4-hidroxi-anilina (127 mV) (Fig. 2.54). Este composto tem um IC₅₀ para a descoloração do DPPH superior a 400 μM, indicando que este grupo de compostos tem uma actividade anti-radicalar fraca.

Tabela 2.54. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante primária para os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)
65	4-OCH ₃	750	-	-
66	2-OH	731	679	> 400
67	3-OH	744	672	-
68	4-OH	690	-	> 400
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

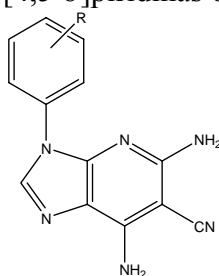
Adicionalmente, verificou-se que o composto **66** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o potencial de 731 mV, muito superior ao da 2-hidroxi-anilina (181

mV) e um IC₅₀ também superior a 400 μM, comprovando a sua fraca actividade anti-radicalar.

5,7-Diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Os compostos deste grupo apresentam potenciais de oxidação muito elevados. Para o composto **69**, o voltamograma registado não apresenta nenhum pico de oxidação até 1100 mV (Tab. 2.55). O composto **72** substituído com o grupo 4-hidroxifenilo apresenta o potencial de pico mais baixo deste grupo com o valor de 630 mV e tem o IC₅₀ para a descoloração do DPPH superior a 400 μM, indicando uma fraca ou inexistente actividade anti-radicalar. De facto, o potencial de pico deste composto é também bastante superior ao da 4-hidroxi-anilina (127 mV).

Tabela 2.55. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante primária para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **69-72**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)
69	4-OCH ₃	-	-	-
70	2-OH	650	-	> 400
71	3-OH	730	668	-
72	4-OH	630	565	> 400
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2

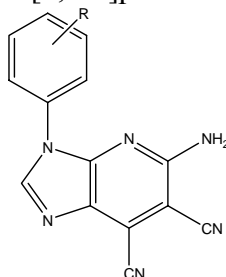
E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

Todos os compostos deste grupo têm potenciais de oxidação elevados ou, no caso do composto **74**, não se observam picos de oxidação no voltamograma traçado até

1100 mV (Tab. 2.56). O composto **77** substituído com 4-hidroxifenilo apresenta o potencial de pico mais baixo, com o valor de 675 mV, bastante superior ao da 4-hidroxi-anilina (127 mV) e tem a concentração de IC₅₀ superior a 400 µM no teste de descoloração do DPPH, o que é indicativo de uma actividade anti-radicalar fraca ou praticamente inexistente.

Tabela 2.56. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante primária para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas **74-77**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (µM)
74	4-OCH ₃	-	-	-
75	2-OH	688	615	> 400
76	3-OH	762	692	-
77	4-OH	675	608	> 400
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

2.2.4. Actividade antimicrobiana

(Z)- N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arilformamidinas

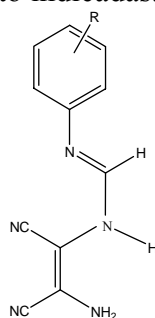
Na avaliação da actividade antibacteriana observou-se que nenhum composto deste grupo teve uma inibição significativa no crescimento de *Escherichia coli* (Tab. 2.57). Observou-se também que nenhum composto deste grupo inibiu significativamente o crescimento de *Bacillus subtilis* (Tab. 2.57).

Na avaliação da actividade antifúngica verificou-se que o composto **38** com o substituinte 2-hidroxifenilo inibiu o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* em mais de 80 % na concentração de 300 µM, enquanto que os antifúngicos fluconazole e

miconazole apresentaram valores de MIC mais baixos. Verificou-se que nenhum composto inibiu o crescimento de *Candida albicans*.

O composto **38** foi o único composto desta série que demonstrou actividade antimicrobiana e inibiu unicamente o crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Deste modo, o composto com o grupo hidroxilo na posição *orto* da unidade fenólica, apresenta a vantagem de ser um antifúngico específico de *Saccharomyces cerevisiae*.

Tabela 2.57. Valores de concentração mínima inibitória (MIC) para as (Z)- *N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-arilformamidinas **37-40** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
37	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200	-
38	2-OH	> 400	> 400	300	> 400	86,0 ± 3,6 (300 μM)
39	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
40	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole); Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

A toxicidade dos compostos activos foi estudada utilizando o teste de libertação da LDH de modo a determinar a viabilidade celular dos fibroblastos, avaliada pela integridade da membrana plasmática. Deste modo, verificou-se que o composto **38** na concentração de 300 μM não era tóxico porque não houve uma libertação significativa da LDH para o meio extracelular.

Adicionalmente, podemos verificar que o composto **37** com os substituintes 4-metoxifenilo tem uma menor solubilidade no meio de cultura do que os restantes compostos, razão pela qual a concentração máxima testada destes compostos foi de 200 μM .

5-Amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles

No estudo da actividade antibacteriana verificou-se que nenhum composto deste grupo induziu uma inibição significativa no crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis* (Tab. 2.58).

No estudo da actividade antifúngica verificou-se que o composto **43** com o substituinte 2-hidroxifenilo inibiu o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* em mais de 80 % na concentração de 500 μM , enquanto que os antifúngicos fluconazole e miconazole apresentaram MICs de 50 e 100 μM respectivamente. Observou-se que nenhum composto induziu uma inibição significativa no crescimento de *Candida albicans*.

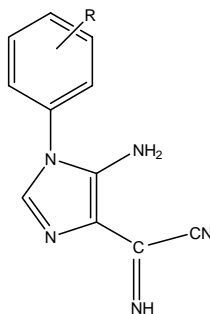
O composto **43** apresenta um valor de MIC bastante elevado para *Saccharomyces cerevisiae* mas em contrapartida verificou-se que este composto não é tóxico para os fibroblastos nesta concentração, dado que não houve um aumento significativo da libertação da LDH, indicando uma boa viabilidade celular.

O composto **43**, com o grupo hidroxilo na posição *orto* da unidade fenólica, foi o único deste grupo que teve actividade antimicrobiana e inibiu especificamente o crescimento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Este resultado está de acordo com o verificado para a série das (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-arilformamidinas **37-40**, onde se verificou igualmente que o composto **38** com o substituinte 2-hidroxifenilo apresentou a maior actividade antifúngica e foi específico para *Saccharomyces cerevisiae*.

Adicionalmente, parece ter havido um decréscimo da actividade antifúngica com a ciclização porque o composto **38**, o precursor linear do composto **43**, apresentava um valor de MIC inferior.

Mais uma vez o composto **42** com o substituinte 4-metoxifenilo apresentou a menor solubilidade da série.

Tabela 2.58. Valores de MIC para os 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidazoles **42-45** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
42	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200	-
43	2-OH	> 400	> 400	500	> 400	94,3 \pm 4,1 (500 μM)
44	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
45	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

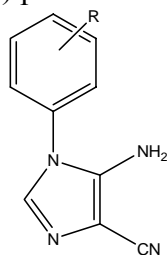
Fluco (Fluconazole); Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles

Neste estudo verificou-se que nenhum composto inibiu significativamente o crescimento celular nas duas espécies de leveduras, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* e nas duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* até à concentração máxima testada (Tab. 2.59). Esta concentração foi de 400 μM para todos os compostos, excepto para o composto **46** com o substituinte 4-metoxifenilo que devida à sua menor solubilidade no meio de cultura só foi testado até à concentração de 200 μM .

Verificou-se que a ciclização da amidina precursora no 5-amino-4-cianoimidazole diminuiu a actividade antifúngica porque a amidina **38** com o substituinte 2-hidroxifenilo inibe o crescimento da *Saccharomyces cerevisiae* em mais de 80 % na concentração de 300 μM enquanto o 5-amino-4-cianoimidazole **47** respectivo não apresenta qualquer inibição até aos 400 μM .

Tabela 2.59. Valores de MIC para os 5-amino-1-aryl-4-cianoimidazoles **46-49** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



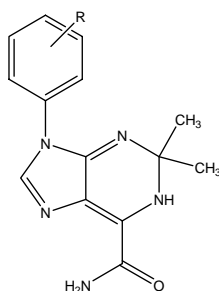
Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
46	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200
47	2-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
48	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
49	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

As dihidropurinas **51-54** não inibiram significativamente o crescimento celular das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* ou das bactérias *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* até à concentração de 400 μM , ou para o composto **51**, até à concentração de 200 μM (Tab. 2.60).

Verificamos ainda neste estudo que a ciclização da amidina precursora e posterior síntese da dihidropurina diminuiu a actividade antifúngica porque a amidina **38** inibe o crescimento da *Saccharomyces cerevisiae* enquanto a dihidropurina **52** respectiva não tem qualquer inibição até aos 400 μM .

Tabela 2.60. Valores de MIC para as 9-aryl-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas **51-54** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
51	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200
52	2-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
53	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
54	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400

2-Aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

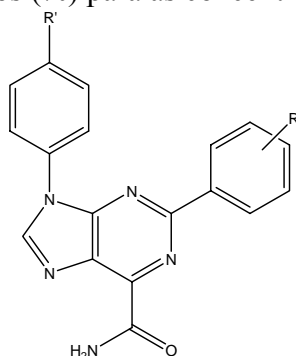
Na avaliação da actividade antibacteriana verificou-se que nenhum composto deste grupo inibiu significativamente o crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis*, até às concentrações máximas testadas (Tab. 2.61).

Na avaliação da actividade antifúngica verificou-se que o composto **61** inibiu o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* em mais de 80 % na concentração de 100 μM , enquanto que os antifúngicos fluconazole e miconazole apresentaram valores de MICs de 50 e 100 μM , respectivamente. Em *Candida albicans*, o composto **61** apresentou um valor de MIC de 100 μM . Deste modo, o composto **61** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo tem a vantagem de ter unicamente actividade antifúngica e não ter actividade antibacteriana nas duas espécies de bactérias estudadas.

A maior actividade antifúngica do composto **61** parece estar relacionada com o menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar deste composto relativamente aos outros compostos desta série. Assim, propomos a existência de um efeito sinérgico entre a unidade fenólica 3,4-di-hidroxifenilo com o resto da molécula.

No estudo toxicológico efectuado para o composto **61** na concentração de 100 μM verificou-se que não houve um aumento significativo da enzima LDH no meio extracelular, indicando que não houve alteração da viabilidade celular dos fibroblastos.

Adicionalmente, verificamos que os compostos **56-61** têm uma solubilidade reduzida nos meios de cultura.

Tabela 2.61. Valores de MIC para as 2-aryl'-9-aryl''-6-carbamoyl-purinas **56-61** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.

Comp	R'	R''	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
			<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
56	4-OCH ₃	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100	-
57	4-OCH ₃	4-OH	> 100	> 100	> 100	> 100	-
58	2-OH	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
59	3-OH	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
60	4-OH	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
61	3,4-OH	4-OH	> 200	> 200	100	100	99,1 ± 1,5 (100 μM)
Fluco	-	-	-	-	50	1,56	-
Mico	-	-	-	-	100	0,78	-
Clora	-	-	-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole); Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

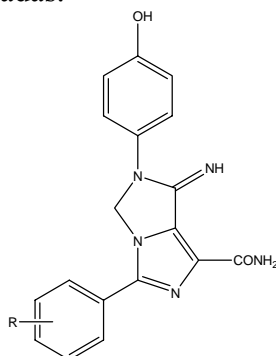
3-Aryl'-6-aryl''-1-carbamoyl-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles

No estudo da actividade antibacteriana verificou-se que nenhum composto deste grupo inibiu significativamente o crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis* até aos 200 μM (Tab. 2.62).

No estudo da actividade antifúngica verificou-se que o composto **64** apresentou um MIC de 100 μM para *Saccharomyces cerevisiae*, sendo igual ao valor de MIC do miconazole. Em *Candida albicans*, o composto **64** apresentou um MIC de 50 μM, sendo mais elevado do que os valores de MIC do fluconazole e miconazole para esta levedura. O composto **64** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo demonstrou

unicamente actividade antifúngica e não inibiu significativamente o crescimento das bactérias testadas.

Tabela 2.62. Valores de MIC para as 3-aryl'-6-aryl''-1-carbamoyl-7-imino-6,7-dihydroimidazo[1,5-e]imidazoles **62-64** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R'	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
62	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
63	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
64	3,4-OH	> 200	> 200	100	50	103,2 \pm 2,1 (100 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole); Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

Tal como se verificou com os compostos da série anterior (2-aryl'-9-aryl''-6-carbamoyl-purinas **56-61**) a maior actividade antifúngica do composto **64** parece também estar relacionada com o seu menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar relativamente aos outros compostos deste grupo.

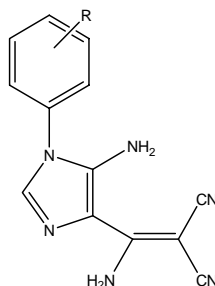
Na concentração de 100 μM , o composto **64** não foi tóxico para os fibroblastos dado que não houve qualquer alteração na integridade da membrana plasmática.

Observamos igualmente que os compostos **62-64** são pouco solúveis nos meios de cultura.

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

Os imidazoles **66-68** não inibiram significativamente o crescimento celular das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* e das bactérias *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* até aos 150 μM , ou para o composto **65** que tem menor solubilidade no meio de cultura, até uma concentração de 100 μM (Tab. 2.63). Verifica-se que estes compostos têm uma solubilidade muito reduzida no meio aquoso, limitando deste modo a possibilidade de testar a sua actividade antimicrobiana para concentrações mais elevadas.

Tabela 2.63. Valores de MIC para os 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles **65-68** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.

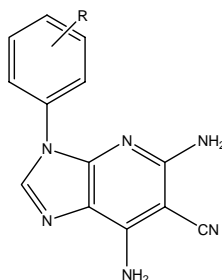


Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
65	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100
66	2-OH	> 150	> 150	> 150	> 150
67	3-OH	> 150	> 150	> 150	> 150
68	4-OH	> 150	> 150	> 150	> 150

5,7-Diamino-3-aryl-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas

As imidazopiridinas **69-72** resultantes da ciclização dos imidazoles precursores **65-68** com formação do anel piridina também não inibiram significativamente o crescimento celular das duas espécies de leveduras e das duas espécies de bactérias (Tabs. 2.63 e 2.64). A ciclização originou, no entanto, um aumento de solubilidade dos compostos no meio de cultura.

Tabela 2.64. Valores de MIC para as 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **69-72** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.

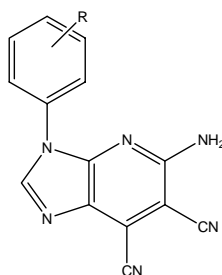


Comp	R	Atividade antibacteriana MIC (μM)		Atividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
69	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200
70	2-OH	> 300	> 300	> 300	> 300
71	3-OH	> 300	> 300	> 300	> 300
72	4-OH	> 300	> 300	> 300	> 300

5-Amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas

As imidazopiridinas **74-77** que diferem das imidazopiridinas **69-72** apenas por substituição do grupo amino por um grupo ciano no anel da piridina também não inibiram significativamente o crescimento das leveduras e das bactérias e têm uma menor solubilidade relativamente a estes compostos em meio aquoso (Tab. 2.65).

Tabela 2.65. Valores de MIC para as 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas **74-77** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.

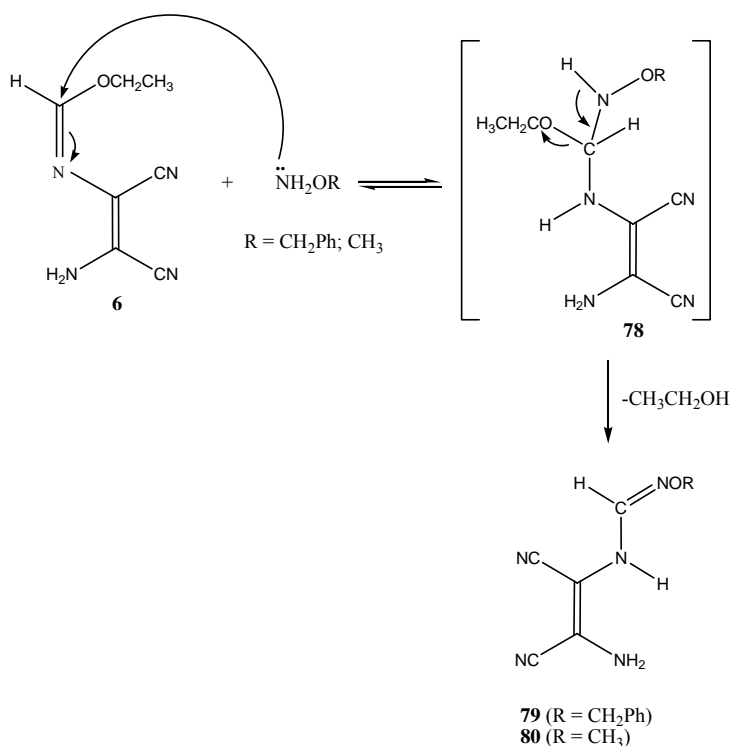


Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
74	4-OCH ₃	> 150	> 150	> 150	> 150
75	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200
76	3-OH	> 200	> 200	> 200	> 200
77	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200

2.3. Compostos sintetizados a partir das (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-alkuilformamidoximas

Nesta secção, a (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-benzilformamidoxima **79** e (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-metilformamidoxima **80**, obtidas por reacção do imidato **6** e alcoxilaminas NH₂OR (R = CH₂Ph e CH₃), foram utilizadas como reagente de partida na síntese de todos os compostos [75].

Esta reacção ocorre por ataque nucleofílico da alcoxilamina ao carbono da função imidato com formação do intermediário **78**, seguido de eliminação de uma molécula de etanol e formação da amidoxima O-substituída pretendida **79-80**, como esquematizado a seguir:



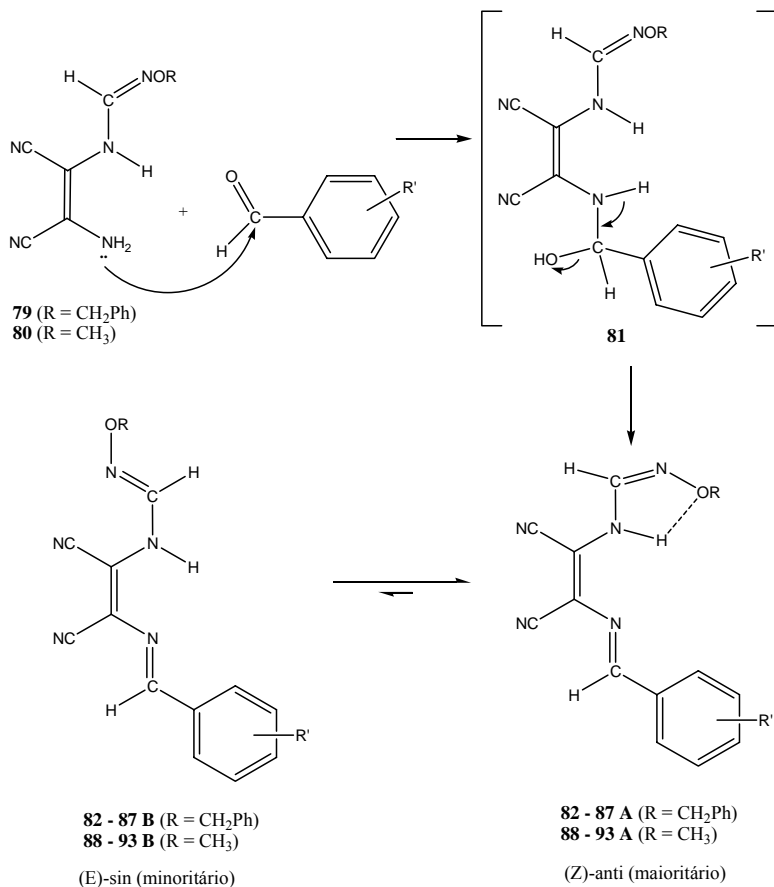
2.3.1. Síntese

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas

Por reacção da *O*-benzilformamidoxima **79** ou da *O*-metilformamidoxima **80** com os aldeídos aromáticos na presença de uma quantidade catalítica de ácido tosílico durante um período de 10-30 minutos, obtiveram-se as (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alkilformamidoximas correspondentes **82-93** com rendimentos de 65-97%.

Os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN destes compostos **82-93** são apresentados na secção 2.3.2.

O mecanismo sintético seguinte mostra que a reacção deve ocorrer por ataque nucleofílico do azoto da amina primária presente na unidade vinílica da *O*-alkilformamidoxima **79-80** ao carbono carbonílico dos aldeídos aromáticos com formação do intermediário aminol **81**, seguido de eliminação de uma molécula de água e formação das *O*-alkilformamidoximas **82-93** com um grupo imino, conforme está representado no esquema que se segue.



Nos espectros de ^1H RMN destes compostos **82-93**, observam-se dois conjuntos de picos em proporções diferentes (5-8 para 1), pertencentes a duas espécies existentes em solução de DMSO- d_6 . Provavelmente, existe uma mistura das configurações (*Z*)-*anti* (espécie maioritária **A**) e (*E*)-*sin* (espécie minoritária **B**) como acontece para amidoximas análogas descritas na literatura [75]. Embora os factores que determinam a estabilidade relativa dos isómeros continuem ainda pouco claros, sabe-se que para estas amidoximas o isómero (*Z*)-*anti* é mais estável que o isómero (*E*)-*sin*, devido à existência de uma ponte de hidrogénio intramolecular entre o oxigénio e o protão $\text{N}_3\text{-H}$.

2-Aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles

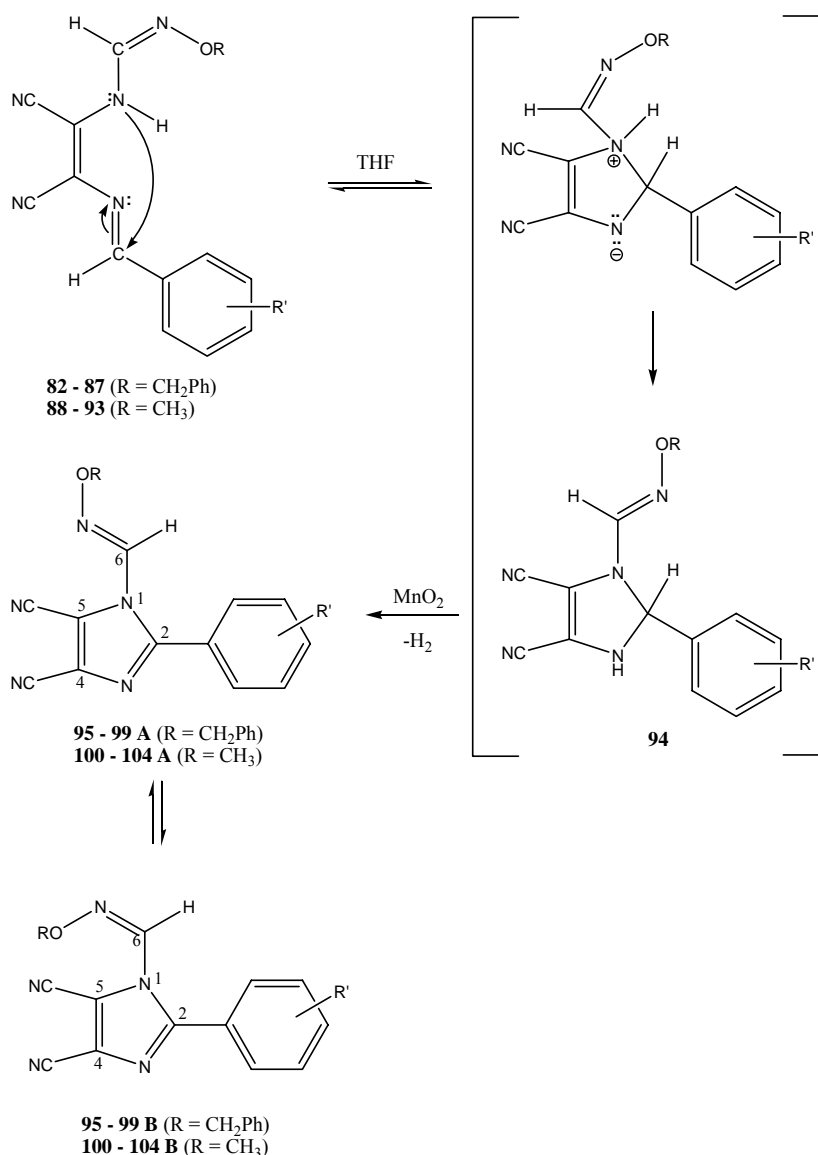
As (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoximas **82-87** e as (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoximas **88-93** evoluíram para os 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazoles **95-99** e os 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazoles **100-104** correspondentes em tetrahidrofurano na presença de dióxido de manganês (MnO_2) sob refluxo durante um período que variou entre 25 horas a 7 dias e foram isoladas com rendimentos de 40-83 %.

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN destes compostos **95-104** são apresentados na secção 2.3.2.

O MnO_2 é um reagente que tem sido muito usado, em particular na desidrogenação de compostos heterocíclicos [83]. Assim, é provável que a ciclização intramolecular das formamidoximas **82-93** ocorra por ataque nucleofílico do átomo de azoto N_3 ao carbono C_7 de função imina para gerar a espécie intermediária **94**. A desidrogenação de **94** por acção do MnO_2 , deve permitir a formação do 2-arilimidazole final, deslocando o primeiro passo do equilíbrio no sentido da formação do produto.

Nos espectros de ^1H RMN, observam-se dois conjuntos de picos pertencentes a duas espécies existentes em solução em proporções diferentes (6-8 para 1), tal como acontece para benziloxiformimidoilimidazoles análogos, descritos na literatura [75]. Possivelmente, esta duplicação de sinais é devida ao grupo oxima estar presente em solução na forma dos isómeros *E* e *Z*, embora factores estereoquímicos devam dificultar a formação da conformação *Z*.

Os dados de cristalografia de Raio X obtidos para o 2-fenil-4,5-diciano-*N*-(*N*'-benziloxiformimidoil)imidazole indicam que o anel de imidazole é planar, com todos os substituintes no plano do anel. A análise do comprimento das ligações indica que a conjugação se entende desde o grupo fenilo em C₂ aos dois grupos ciano em C₄ e C₅. Em contrapartida, o substituinte em N₁ não parece estar conjugado com o anel de imidazole, atendendo ao elevado comprimento da ligação N₁-C₆ (1,407 Å) e ao pequeno comprimento da ligação C₆-N₇ (1,270 Å), típicos de oximas não conjugadas. Verifica-se também que, no estado sólido, esta unidade apresenta a configuração *E* [75].



8-Aril-6-cianopurinas

As 8-aril-6-cianopurinas **107-111** foram obtidas a partir das (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoximas **82-87** ou das (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoximas **88-93** na presença de trietilamina durante um período que variou entre 3 a 22 horas sob refluxo ou 4 dias à temperatura ambiente e foram isoladas com rendimentos de 58-86 %. As metilformamidoximas **90** e **91** só foram utilizadas como reagentes de partida na síntese das 6-cianopurinas **109** e **110** depois de falharem as tentativas de síntese a partir das benzilformamidoximas **84** e **85**, uma vez que metilformamidoximas são compostos mais dispendiosos. Na formação das 6-cianopurinas a partir das *O*-metilformamidoximas há formação de metanol que, por ter um ponto de ebulição baixo, é facilmente eliminado do meio reaccional por evaporação. A partir das *O*-benzilformamidoximas, há formação de álcool benzílico, com um ponto de ebulição elevado e que não é facilmente eliminado por evaporação, o que dificulta muito a precipitação da purina do meio reaccional.

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das 6-cianopurinas **107-111** são apresentados na secção 2.3.2.

A observação experimental de que uma solução da amidoxima **89** em DMSO- d_6 , quando deixada à temperatura ambiente, evoluía lentamente para a purina **108**, levou a que esta evolução fosse cuidadosamente seguida por ^1H RMN, numa tentativa de clarificar o mecanismo da reacção.

Seguindo a reacção por ^1H RMN, foi possível identificar a evolução da amidoxima **89** (quantificada através dos sinais a δ 8,79 e 8,74 ppm correspondentes ao protão do grupo imino $\text{C}_7\text{-H}$ em ambas as estruturas isoméricas) para um composto identificado como sendo a pirimidina **105**. Este composto mostra o protão do grupo imino $\text{C}_9\text{-H}$ a δ 9,33 ppm e o protão da pirimidina $\text{C}_2\text{-H}$ a δ 7,51 ppm. O sinal $\text{N}_7\text{-H}$ a δ 9,72 ppm e o grupo metoxilo a δ 3,96 ppm puderam também ser identificados. A integração do protão do grupo imino $\text{C}_9\text{-H}$ foi usada para quantificar este composto na mistura.

A ciclização intramolecular no composto **105** leva à formação de uma estrutura identificada como sendo a dihidropurina **106**, atendendo sobretudo à presença de sinais a δ 6,33 (troca com D_2O e foi atribuído ao $\text{N}_9\text{-H}$) e a δ 5,67 ppm, atribuído ao $\text{C}_8\text{-H}$. Logo que o composto **106** é detectado no espectro de RMN, verifica-se a eliminação de metanol (δ 3,16 ppm) e os sinais para a purina **108** são simultaneamente formados (este

composto foi quantificado pelo sinal a δ 8,98 ppm, correspondendo ao próton C₂-H). A proporção dos compostos **89**, **105**, **106** e **108** foi registada durante 180 dias. Os resultados, representados no gráfico da figura 2.1, mostram que a amidoxima de partida desaparece completamente ao fim de 90 dias e que a purina **108** começa a ser visível no espectro ao fim de cerca de 18 dias. A pirimidina **105** é particularmente estável, chegando a constituir mais de 60 % da mistura reaccional.

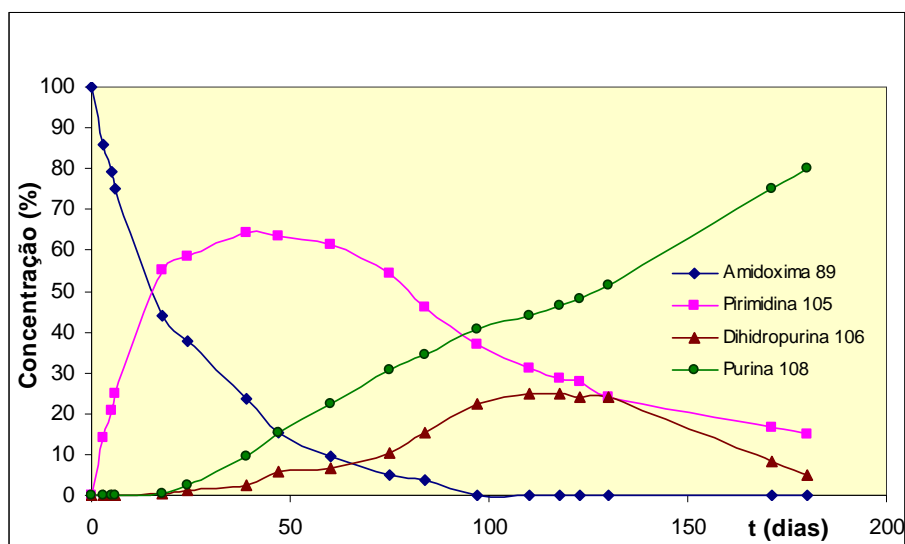
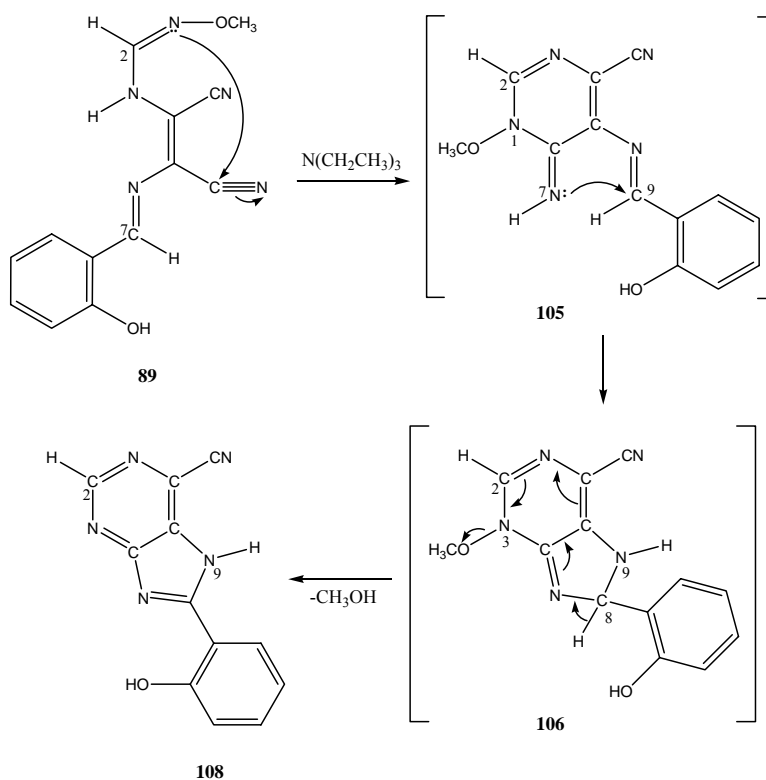
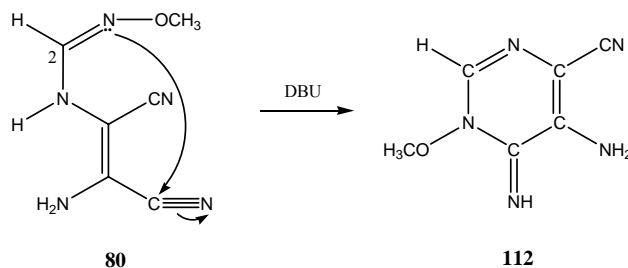


Figura 2.1. Gráfico da evolução da amidoxima **89** em DMSO-d₆ resultante do estudo de ¹H RMN.

O mecanismo sintético proposto está esquematizado a seguir:



A formação da pirimidina **105** a partir da amidoxima **89** é um processo semelhante ao que foi descrito para a amidoxima **80**, que cicliza prontamente para a pirimidina **112** na presença de DBU [74].



A ciclização intramolecular entre as funções imino para gerar a dihidropurina **106** foi agora observada pela primeira vez e o mesmo se aplica à eliminação de metanol para permitir a formação da 8-aryl-6-cianopurina **108**.

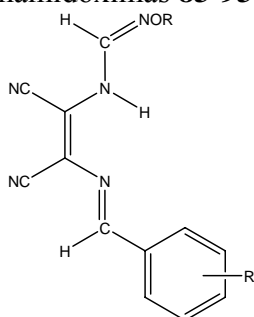
O mecanismo proposto para a síntese da 6-ciano-8-(2'-hidroxifenil)purina **108** é válido para as outras 8-aryl-6-cianopurinas **107-111** e foi possível aumentar a velocidade das reacções por adição de trietilamina.

2.3.2. Caracterização analítica e espectroscópica

2.3.2.1. Dados físicos e analíticos

(*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas

As estruturas das *O*-benzilformamidoximas **83-87** e *O*-metilformamidoximas **89-93** foram atribuídas com base na espectroscopia de IV, ^1H e ^{13}C RMN e análise elementar (Tab. 2.66). Foi obtida análise elementar correcta para todos os compostos, estando alguns deles na forma parcialmente hidratada. Os dados físicos e analíticos apresentam-se a seguir.

Tabela 2.66. Dados físicos e analíticos para as (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas **83-93**.

Comp	R'	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
R = CH₂PH							
83	2-OH	97	183-185	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₂	66,2 (66,1)	4,4 (4,4)	20,1 (20,3)
84	3-OH	65	201-203	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₂	66,1 (66,1)	4,4 (4,4)	20,0 (20,3)
85	4-OH	93	218-219	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₂ .0,3H ₂ O	65,3 (65,0)	4,8 (4,5)	19,6 (20,0)
86	3,4-OH	83	210-212	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₃ .0,1H ₂ O	62,9 (62,9)	4,3 (4,2)	19,3 (19,3)
87	3,4,5-OH	87	219-221	C ₁₉ H ₁₅ N ₅ O ₄	60,5 (60,5)	4,2 (4,0)	18,4 (18,6)
R = CH₃							
89	2-OH	84	170-172	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₂	57,8 (58,0)	4,2 (4,1)	26,0 (26,0)
90	3-OH	88	179-182	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₂ .0,1H ₂ O	58,0 (57,7)	4,2 (4,2)	25,5 (25,9)
91	4-OH	95	214-216	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₂	58,1 (58,0)	4,3 (4,1)	25,7 (26,0)
92	3,4-OH	90	229-231	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₃ .0,1H ₂ O	54,4 (54,4)	3,9 (3,9)	24,3 (24,4)
93	3,4,5-OH	78	> 300 ^a	C ₁₃ H ₁₁ N ₅ O ₄ .0,8H ₂ O	49,7 (49,5)	4,2 (4,0)	21,8 (22,2)

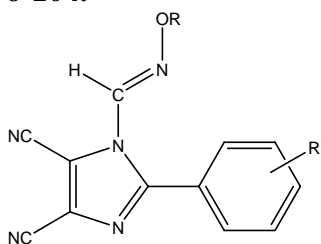
^a Decomposição.

2-Aril-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles

As estruturas dos benziloxiformimidoilimidazoles **96-99** e metoxiformimidoilimidazoles **100-104** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ¹H e ¹³C RMN, massa e análise elementar (Tab. 2.67). Foi obtida análise elementar correcta para os compostos **96-103**, apresentando-se alguns na forma

parcialmente hidratada. Não foi possível obter análise elementar correcta para o composto **104** e o seu espectro de massa foi obtido pela técnica de FAB (Fast Atom Bombardment). Este composto foi submetido adicionalmente para espectrometria de massa de alta resolução (HRMS) e o pico m/z 284 relativo ao ião molecular $(M+1)^+$ provou corresponder à fórmula molecular proposta, uma vez que o valor obtido (284,0778) concorda com o valor calculado (284,0739) para $C_{13}H_{10}N_6O$.

Tabela 2.67. Dados físicos e analíticos para os 2-aryl-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles **96-104**.



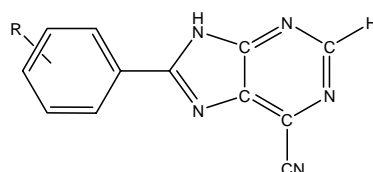
Comp	R'	Rend (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)			m/z^a (M+1) ⁺ (M)
					C	H	N	
R = CH₂PH								
96	2-OH	64	171-174	$C_{19}H_{13}N_5O_2 \cdot 0,1H_2O$	66,0 (66,0)	3,9 (3,9)	20,1 (20,3)	-
97	3-OH	59	178-180	$C_{19}H_{13}N_5O_2 \cdot 0,2H_2O$	65,9 (65,9)	4,0 (3,9)	20,3 (20,2)	-
98	4-OH	77	160-162	$C_{19}H_{13}N_5O_2 \cdot 0,2H_2O$	65,8 (65,8)	3,9 (3,9)	20,1 (20,2)	-
99	3,4-OH	64	159-162	$C_{19}H_{13}N_5O_2 \cdot 0,7H_2O$	61,4 (61,5)	4,0 (3,9)	19,2 (18,9)	-
R = CH₃								
100	4-OCH ₃	75	177-179	$C_{14}H_{11}N_5O_2 \cdot 0,1H_2O$	59,6 (59,4)	4,1 (4,0)	24,5 (24,7)	-
101	2-OH	40	196-199	$C_{13}H_9N_5O_2$	58,3 (58,3)	3,6 (3,4)	26,1 (26,2)	-
102	3-OH	81	248-250	$C_{13}H_9N_5O_2 \cdot 0,1H_2O$	58,2 (58,2)	3,5 (3,4)	26,0 (26,1)	-
103	4-OH	66	195-197	$C_{13}H_9N_5O_2 \cdot 0,1H_2O$	57,9 (57,9)	3,5 (3,5)	25,9 (26,0)	-
104	3,4-OH	65	230-233	$C_{13}H_9N_5O_3$	284,0778 ^b (284,0739)			284 (283)

^a FAB. ^b HRMS.

8-Aril-6-cianopurinas

As estruturas das 6-cianopurinas sintetizadas **107-111** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H ^{13}C RMN, massa e análise elementar. Foi obtida análise elementar correcta para os compostos **107**, **108** e **109**, apresentando-se todos parcialmente hidratados. Os espectros de massa das purinas **110** e **111** foram obtidos usando a técnica de FAB e foi possível confirmar as suas fórmulas moleculares através de espectrometria de massa de alta resolução.

Tabela 2.68. Dados físicos e analíticos para as 8-aril-6-cianopurinas **107-111**.



Comp	R	Rend (%)	p.f. ^a (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)			m/z^b (M+1) ⁺ (M)
					C	H	N	
107	4-OCH ₃	86	> 300	C ₁₃ H ₉ N ₅ O.0,2H ₂ O	61,4 (61,2)	3,9 (3,7)	27,2 (27,4)	-
108	2-OH	58	> 300	C ₁₂ H ₇ N ₅ O.0,9H ₂ O	57,2 (56,9)	3,5 (3,5)	27,3 (27,6)	-
109	3-OH	72	> 300	C ₁₂ H ₇ N ₅ O.0,6H ₂ O	58,3 (58,0)	3,7 (3,4)	28,0 (28,2)	-
110	4-OH	67	> 300	C ₁₂ H ₇ N ₅ O	238,0732 ^c (238,0684)			238 (237)
111	3,4-OH	79	> 300	C ₁₂ H ₇ N ₅ O ₂	254,0682 ^c (254,0633)			254 (253)

^a Decomposição. ^b FAB. ^c HRMS.

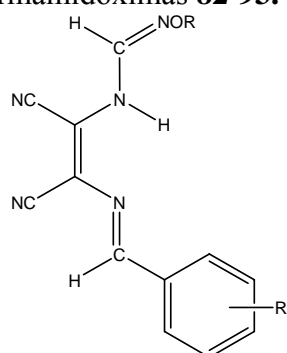
2.3.2.2. Espectroscopia de infravermelho

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas

Os espectros de infravermelho das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoximas **83-87** apresentam as bandas correspondentes às vibrações de estiramento da ligação N-H da função amidina, da ligação O-H e entre os átomos de carbono com hibridização sp^2 e os átomos de hidrogénio da função fenólica na região

entre 3517-3276 cm^{-1} (Tab. 2.69). As duas bandas entre 2234-2216 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$. A região compreendida entre 1662-1500 cm^{-1} é caracterizada por um conjunto de bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{C}$ e às vibrações de deformação angular da ligação N-H. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao da (Z)-N-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima **82**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ a 2226 e 2209 cm^{-1} [75].

Tabela 2.69. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas **82-93**.



Comp	R'	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
R = CH₂Ph					
82 [75]	4-OCH ₃	3339m	2226m, 2209m	1637m, 1600i, 1582i, 1567i, 1512i	1418i, 1366m, 1332m, 1309i, 1262i, 1213m, 1174m, 1160i, 1135m
83	2-OH	3407i, 3280f(l)	2234i, 2222m	1646i, 1623i, 1606i, 1560i	1494i, 1459i, 1403i, 1362i, 1349i, 1284i, 1252i, 1214i, 1184i, 1154i
84	3-OH	3376m, 3335m(l)	2231i, 2219m	1656i, 1612i, 1590i, 1570i	1491i, 1409i, 1364i, 1324m, 1291i, 1232m, 1212m, 1182i, 1164i, 1137m
85	4-OH	3367m, 3350i(l)	2226i, 2217m	1650i, 1614i, 1602i, 1587i, 1575i, 1515i	1498m, 1445i, 1412i, 1366i, 1352i, 1306i, 1282i, 1254i, 1224i, 1215i, 1175i, 1165i, 1158i, 1106m
86	3,4-OH	3441m, 3363i(l), 3324m	2227i, 2216m	1652i, 1596i, 1578i, 1517i	1497m, 1448i, 1415i, 1368i, 1322m, 1295i, 1244m, 1214m, 1164i, 1099i
87	3,4,5-OH	3517i, 3392i, 3276i(l)	2233i, 2224m	1662i, 1598i, 1571i, 1532i, 1500m	1420i, 1398i, 1359i, 1343i, 1309i, 1248i, 1187i, 1161i, 1148i, 1130f

Comp	R'	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
R = CH₃					
88 [75]	4-OCH ₃	3351m, 3313m, 3166f, 3072f	2229m, 2206m	1647m, 1602i, 1561i, 1513m	1460i, 1427m, 1411m, 1326m, 1305m, 1256i, 1189m, 1166i, 1114m
89	2-OH	3361m, 3169i(l), 3075f	2232i, 2215m	1652i, 1604i, 1569i	1408i, 1343i, 1310m, 1260i, 1195i, 1175m, 1152i, 1100m
90	3-OH	3382i, 3339i(l), 3072m	2234i, 2223m	1650i, 1613i, 1593i, 1576i, 1505f	1410i, 1367i, 1315m, 1297i, 1237m, 1222i, 1201m, 1186m, 1167i, 1118m
91	4-OH	3369i, 3204m(l), 3078f, 3043f	2229i, 2210i	1656i, 1604i, 1569i, 1514i	1409i, 1347i, 1303i, 1283i, 1256i, 1208i, 1176i, 1162i, 1104m
92	3,4-OH	3389i, 3326i(l), 3086mf	2233i, 2220m	1663i, 1598i, 1568i, 1530i, 1509f	1410i, 1394m, 1358i, 1307i, 1290i, 1238m, 1197i, 1175i, 1107m
93	3,4,5-OH	3353m, 3294i(l), 3168f	2229i, 2217m	1669i, 1657i, 1598i, 1567i, 1534i	1415i, 1361i, 1336i, 1319i, 1246m, 1234m, 1199m, 1151i

Os espectros de IV das (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoximas **89-93** apresentam as bandas atribuídas às vibrações de estiramento da ligação N-H, O-H e C_{sp2}-H na região entre 3389-3043 cm⁻¹. As vibrações de estiramento das duas ligações C≡N da molécula surgem no intervalo 2235-2210 cm⁻¹. As bandas devidas às vibrações de deformação angular da ligação N-H e às vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C aparecem na zona entre 1669-1505 cm⁻¹. Os espectros destes compostos são muito semelhantes ao da (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **88**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N a 2229 e a 2206 cm⁻¹ [75].

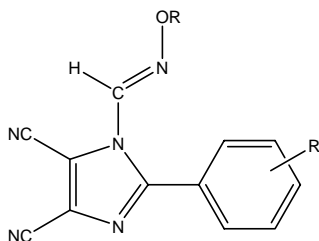
2-Aril-4,5-diciano-*N*-(*N*'-alcoxilformimidoil)imidazoles

Nos espectros de IV dos 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N*'-benziloxilformimidoil)imidazoles **97-99** surgem as bandas correspondentes às vibrações de estiramento da ligação O-H e C_{sp2}-H entre 3504-3089 cm⁻¹ (Tab. 2.70). Na região

entre 2248-2228 cm^{-1} surgem as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$. As vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ aparecem representadas por várias bandas entre 1647 e 1518 cm^{-1} . Os espectros destes compostos são muito parecidos ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **95**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ a 2234 e 2227 cm^{-1} [75].

Os espectros de IV dos 2-aryl-4,5-diciano-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazoles **100-104** apresentam as bandas atribuídas às vibrações de estiramento da ligação O-H e $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ na região 3413-3233 cm^{-1} . As duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ aparecem entre 2247-2231 cm^{-1} . As bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{C}$ aparecem na zona entre 1657-1507 cm^{-1} .

Tabela 2.70. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para os 2-aryl-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles **95-104**.



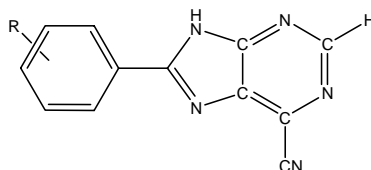
Comp	R'	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
R = CH₂Ph					
95 [75]	4-OCH ₃	3030f	2234m, 2227m	1608i, 1538m,	1478i, 1407i, 1365i, 1351m, 1334m, 1294i, 1264i, 1209m, 1179i, 1118m
96	2-OH	3195i(l), 3089i, 3035f	2248i, 2237m	1631i, 1605i, 1581i, 1550m, 1518m	1483m, 1392m, 1362m, 1306m, 1278m, 1253i, 1235i, 1210m, 1142i, 1120i
97	3-OH	3411i(l), 3035f	2244i, 2228m	1634m, 1614i, 1583i, 1528i	1484mi, 1411i, 1366i, 1313i, 1282m, 1253m, 1215i, 1160m, 1123f
98	4-OH	3422i(l), 3035f	2240m, 2230m	1629m, 1608i, 1582m, 1532f	1432i, 1403i, 1343i, 1288i, 1249m, 1212i, 1201i, 1168i, 1108m
99	3,4-OH	3504i, 3437i(l), 3041f	2244i, 2235m	1647m, 1623m, 1611i, 1600i, 1526f	1488i, 1411i, 1364i, 1339i, 1289i, 1264i, 1208i, 1203i, 1195m, 1110m

Comp	R'	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
R = CH₃					
100	4-OCH ₃	3060f	2241m, 2232i	1604i, 1574m, 1534m	1460i, 1439i, 1424i, 1407i, 1330i, 1307i, 1293i, 1266i, 1177i, 1121m
101	2-OH	3410m(l), 3233i, 3091f	2241m, 2235i	1657m, 1631i, 1609i, 1580i, 1550m, 1518m	1394m, 1332f, 1308m, 1273m, 1253i, 1231m, 1158i, 1141i, 1116m
102	3-OH	3386i(l), 3059f	2246i, 2235m	1641f, 1604f, 1585i, 1571f, 1525m	1473i, 1413i, 1369i, 1339i, 1319m, 1304m, 1281f, 1219i, 1158m, 1118f
103	4-OH	3382i(l), 3060f	2247i, 2234m	1652f, 1613i, 1593i, 1531f	1484i, 1440i, 1411i, 1364i, 1336i, 1306m, 1288i, 1224i, 1177i, 1113m
104	3,4-OH	3413i, 3338i(l)	2247i, 2231m	1638f, 1617i, 1602i, 1507i	1482m, 1415i, 1364i, 1324m, 1291i, 1244m, 1218m, 1209m, 1187m, 1131m, 1113m

8-Aril-6-cianopurinas

Nos espectros de IV das 8-aril-6-cianopurinas **107-111**, a região situada no intervalo 3532-3138 cm⁻¹ apresenta as bandas atribuídas às vibrações de estiramento da ligação N-H, O-H e C_{sp2}-H (Tab. 2.71). A banda de média ou fraca intensidade que surge a 2244-2236 cm⁻¹ corresponde à vibração de estiramento da ligação C≡N. As vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C e as deformações angulares da ligação N-H aparecem na zona 1665-1514 cm⁻¹.

Tabela 2.71. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para as 8-aril-6-cianopurinas **107-111**.



Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
107	4-OCH ₃	3423m(l)	2238m	1613i, 1596i, 1580m	1482i, 1457i, 1448i, 1426i, 1395i, 1343i, 1308m, 1279i, 1266i, 1252i, 1175i, 1123m
108	2-OH	3532i, 3280i(l)	2244m	1665m, 1625i, 1604i, 1585i, 1514m	1398i, 1366i, 1338i, 1306m, 1240i, 1176m, 1160m, 1118m
109	3-OH	3404m(l), 3153i(l)	2243f	1625i, 1613i, 1598i, 1583i, 1527i	1406m, 1325i, 1305i, 1240i, 1228i, 1175i, 1111f
110	4-OH	3454m, 3379m, 3144i(l)	2236m	1656m, 1615i, 1592i, 1563m	1481i, 1437m, 1342i, 1298i, 1283i, 1245i, 1235i, 1184i, 1177i
111	3,4-OH	3336m(l), 3138i(l)	2238f	1638m, 1613i, 1598i, 1553f	1492i, 1343i, 1294i, 1250i 1201m, 1168i, 1120f

2.3.2.3. Espectroscopia de ¹H RMN

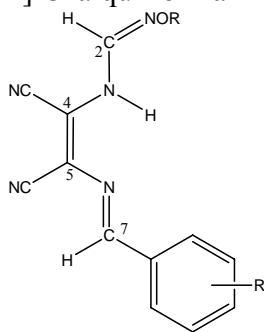
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas

Os espectros de ¹H RMN das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoximas **83-87** e das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-metilformamidoximas **89-93** são muito semelhantes aos dos compostos análogos descritos na literatura, apresentando dois conjuntos de picos atribuídos aos dois isómeros conformacionais em solução (Tab. 2.72) [75]. No isómero maioritário das benzilformamidoximas, o protão em C₂ surge a δ 7,64-7,71 ppm, o C₇-H a δ 8,21-8,77 ppm e o grupo OCH₂Ph em N₁ a 5,08-5,10 ppm (CH₂) e a 7,28-7,45 ppm (Ph). O N₃-H aparece a δ 9,11-9,42 ppm, o grupo OH na unidade fenólica a 9,41-10,75 ppm, sinais que desaparecem por adição de D₂O. Os protões aromáticos do fenol surgem no intervalo δ 6,83-7,68 ppm. Observa-se que o composto **83** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o sinal do protão C₇-H desviado para campo mais baixo devido provavelmente à proximidade do grupo OH na posição *orto* do fenol e o azoto imínico, entre os quais se pode estabelecer uma ponte de hidrogénio intramolecular, o que deve resultar numa maior desprotecção do protão em C₇. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas benzilformamidoximas são semelhantes ao da

(*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **82** [75].

No isómero maioritário das metilformamidoximas, o próton C₂-H surge para todos os compostos no intervalo de desvio químico δ 7,57-7,62 ppm como um singlete. Apenas para o composto **92** este sinal aparece como sendo um duplete, com uma constante de acoplamento com N₃-H de *J* 10,0 Hz, indicando que estes dois prótons se encontram em posição *antiperiplanar*, já que as ligações respectivas devem formar entre si um ângulo diedro próximo de 180° [94]. O N₃-H aparece a δ 9,12-9,40 ppm como um singlete largo, excepto para **92** que surge como um duplete com uma constante de acoplamento de *J* 10,0 Hz. O sinal de N₃-H desaparece com a adição de D₂O e o próton em C₂-H torna-se num singlete afilado para o composto **92**. O próton C₇-H surge a δ 8,20-8,79 ppm e o grupo OCH₃ em N₁ a 3,83-3,84 ppm. Os prótons hidroxílicos do grupo fenol surgem a 9,38-10,69 ppm como um singlete, excepto no composto **92** em que surge como dois singletos. Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,87-7,81 ppm. Tal como se verificou anteriormente para o composto **83**, observa-se que o composto **89** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o sinal do próton C₇-H desviado para campo mais baixo devido provavelmente à proximidade entre o grupo OH na posição *orto* do fenol e o C₇-H. A discussão anterior refere-se ao isómero maioritário porque alguns sinais correspondentes ao isómero minoritário não são visíveis no espectro, devido provavelmente a serem bandas largas que tendem a desaparecer na linha de base, confundindo-se com ela. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas metilformamidoximas são coincidentes ao da (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **88** [75].

Tabela 2.72. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) para as (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas **82-93**^a.



Comp	R'	C ₂ -H	C ₇ -H	NH	OCH ₂	Ph	Ar
R = CH₂Ph							
82 (M/m= 4/1) [75]	4- OCH ₃	M: 7,65 (s;1H) m: 8,23 (s;1H)	M: 8,43 (s;1H) m: 8,35 (s;1H)	9,25 (s;1H)	M: 5,09 (s;2H) m: 4,98 (s;2H)	7,35-7,45 (m;5H)	M: 7,80(d;J7,2;2H); 7,01(d;J7,2;2H); 3,85(s;3H) m: 3,84(s;3H)
83 (M/m= 7/1)	2-OH	M: 7,64 (s;1H) m: 8,24 (s;1H)	M: 8,77 (s;1H) m: 8,73 (s;1H)	9,33 (s;1H)	M: 5,08 (s;2H) m: 4,98 (s;2H)	7,30-7,45 (m;6H) ^b	M: 6,98(d;J8,4;1H;H' ₃); 7,30-7,45(m;6H;H' ₄) ^b ; 6,83(t;J7,8;1H;H' ₅); 7,66(d;J7,8;1H;H' ₆); 10,75(s;1H;OH') m: 10,58(s;1H;OH')
84 (M/m= 5/1)	3-OH	M: 7,69 (s;1H) m: 8,25 (s;1H)	M: 8,42 (s;1H) m: 8,34 (s;1H)	9,42 (sl;1H)	M: 5,10 (s;2H) m: 4,99 (s;2H)	7,35-7,45 (m;5H)	M: 7,45-7,55(m;1H;H' ₂); 6,9-7,0(m;1H;H' ₄); 7,25-7,35(m;2H;H' ₅₊₆); 9,88(s;1H;OH') m: 9,72(s;1H;OH')
85 (M/m= 7/1)	4-OH	M: 7,64 (sl;1H) m: 8,28 (s;1H)	M: 8,35 (s;1H) m: 8,17 (s;1H)	9,11 (sl;1H)	M: 5,08 (s;2H) m: 4,96 (s;2H)	7,30-7,45 (m;5H)	M: 7,68(d;J8,5;2H;H' ₂₊₆); 6,84(d;J8,5;2H;H' ₃₊₅); 10,61(s;1H;OH') m: 10,45(s;1H;OH')
86 (M/m= 7/1)	3,4- OH	M: 7,67 (s;1H) m: 8,20 (s;1H)	M: 8,29 (s;1H) m: 8,22 (s;1H)	9,19 (sl;1H)	M: 5,10 (s;2H) m: 4,97 (s;2H)	7,33-7,42 (m;5H)	M: 7,31(d;J2,1;1H;H' ₂); 6,84(d;J8,1;1H;H' ₅); 7,22(dd;J ₁ 8,4;J ₂ 2,1;1H;H' ₆); 9,48(sl;1H;OH'); 10,17(sl;1H;OH') m: 7,53(d;J ₁ 8;1H;H' ₂)
87 (M/m= 7/1)	3,4,5- OH	M: 7,71 (s;1H) m: 8,20 (s;1H)	M: 8,21 (s;1H) m: 8,14 (s;1H)	9,41 ^c (sl;4H)	M: 5,10 (s;2H) m: 4,97 (s;2H)	7,28-7,43 (m;5H)	M: 6,91(s;1H;H' ₂₊₆); 9,41(s;4H;OH') ^c m: 7,05(s;1H;H' ₂₊₆)

Comp	R'	C ₂ -H	C ₇ -H	NH	OCH ₃	Ar
R = CH₃						
88 (M/m= 5/1) [75]	4- OCH ₃	M: 7,59 (s;1H) m: 8,17 (s;1H)	M: 8,47 (s;1H) m: 8,46 (s;1H)	9,32 (sl;1H)	M: 3,85 (s;3H) m: 3,74 (s;3H)	M: 7,93(d;J _{5,5} ;2H); 7,11(d;J _{5,5} ;2H); 3,86(s;3H) m: 7,05-7,10(m;2H); 8,05-8,12(m;2H); 3,75(s;3H)
89 (M/m= 5/1)	2-OH	M: 7,57 (s;1H) m: 8,16 (s;1H)	M: 8,79 (s;1H) m: 8,74 (s;1H)	9,36 (s;1H)	M: 3,83 (s;3H) m: 3,74 (s;3H)	M: 6,98(d;J _{8,1} ;1H;H' ₃); 7,42(dt;J _{1,8,1} ;J _{2,1,8} ;1H;H' ₄); 6,94(t;J _{7,5} ;1H;H' ₅); 7,81(dd;J _{1,8,1} ;J _{2,1,5} ;1H;H' ₆); 10,69(s;1H;OH') m: 10,52(s;1H;OH')
90 (M/m= 5/1)	3-OH	M: 7,62 (s;1H) m: 8,17 (s;1H)	M: 8,42 (s;1H) m: 8,33 (s;1H)	9,40 (sl;1H)	M: 3,84 (s;3H) m: 3,74 (s;3H)	M: 7,29-7,38(m;3H;H' ₂₊₅₊₆); 6,90-7,10(m;1H;H' ₄); 9,88(s;1H;OH') m: 9,73(s;1H;OH')
91 (M/m= 5/1)	4-OH	M: 7,57 (s;1H) m: 8,13 (s;1H)	M: 8,37 (s;1H) m: 8,29 (s;1H)	9,18 (sl;1H)	M: 3,83 (s;3H) m: 3,73 (s;3H)	M: 7,80(d;J _{8,7} ;2H;H' ₂₊₆); 6,90(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 10,58(sl;1H;OH') m: 7,98(d;J _{8,7} ;2H;H' ₂₊₆); 6,86(d;J _{8,7} ;2H;H' ₃₊₅); 10,49(s;1H;OH')
92 (M/m= 7/1)	3,4- OH	M: 7,61 (d;J ₁₀ ;1 H) m: 8,06 (s;1H)	M: 8,30 (s;1H) m: 8,23 (s;1H)	M: 9,12 (d;J ₁₀ ; 1H)	M: 3,84 (s;3H) m: 3,72 (s;3H)	M: 7,34(d;J _{2,1} ;1H;H' ₂); 6,87(d;J _{8,1} ;1H;H' ₅); 7,28(dd;J _{1,8,1} ;J _{2,1} ;1H;H' ₆); 9,54(s;1H;OH'); 10,14(s;1H;OH') m: 10,1(s;1H;OH'); 9,85(s;1H;OH')
93 (M/m= 8/1)	3,4,5- OH	M: 7,62 (s;1H) m: 8,14 (s;1H)	8,20 (s;1H)	9,2 (sl;1H)	M: 3,84 (s;1H) m: 3,72 (s;1H)	M: 6,90(s;1H;H' ₂₊₆); 9,38(sl;3H;OH') m: 7,04(s;1H;H' ₂₊₆)

^a Só é feita a diferenciação entre as espécies **M** e **m** quando são detectados no espectro os picos referentes à espécie menos abundante **m**, caso contrário o valor refere-se à espécie mais abundante **M**.

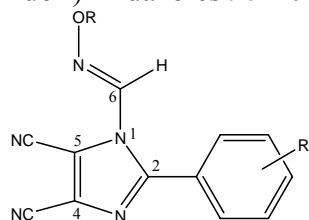
^b A integração da área compreendida entre δ 7,30-7,45 corresponde a 6 prótons (5 do grupo fenilo e 1 do fenol).

^c A integração do sinal a δ 9,41 corresponde a 4 prótons (3 OH e 1 NH).

2-Aril-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles

Os espectros de ¹H RMN dos 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazoles **96-99** e dos 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-metoxiformimidoil)imidazoles **100-104** são muito semelhantes aos dos compostos análogos sintetizados anteriormente, apresentando também dois conjuntos de picos atribuídos aos dois isómeros presentes em solução (Tab. 2.73) [75]. A espécie maioritária dos benziloxiformimidoilimidazoles **96-99** apresenta o singlete correspondente ao próton presente na posição C₆ para valores de δ 8,64-8,73 ppm, excepto para o composto **96** com o substituinte 2-hidroxifenilo, surgindo este sinal a 7,46 ppm. O grupo OCH₂Ph em N₇ surge a 5,02-5,19 ppm (CH₂) e a 7,24-7,49 ppm (Ph). O grupo OH fenólico surge a 9,68-15,00 ppm e desaparece por adição de D₂O. Os prótons aromáticos no fenol surgem no intervalo δ 6,89-7,95 ppm. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes benziloxiformimidoilimidazoles são coincidentes ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole **95** [75].

Tabela 2.73. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO) para os 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles **95-104**.



Comp	R'	C ₆ -H	OCH ₂	Ph	Ar
R = CH₂Ph					
95 (M/m= 2/1) [75]	4-OCH ₃	M: 8,60 (s;1H) m: 7,90 (s;1H)	5,13 (s;2H)	7,10-7,40 (m;5H)	7,49-7,53(m;2H); 6,90(m;2H); 3,80(s;3H;OCH ₃ ')
96	2-OH	7,46 (s;1H)	5,02 (s;2H)	7,24-7,42 (m;6H) ^a	7,00(d;J8,4;1H;H' ₃); 7,24-7,42(m;6H;H' ₄) ^a ; 6,94(t;J8,1;1H;H' ₅); 7,95(d;J7,5;1H;H' ₆); 11,00-15,00(sml;<1H;OH')
97 (M/m= 7/1)	3-OH	M: 8,73 (s;1H) m: 8,20 (s;1H)	5,19 (s;2H)	7,30-7,46 (m;6H) ^a	7,00-7,05(m;3H;H' ₂₊₄₊₆); 7,30-7,46(m;6H;H' ₅) ^a ; 10,02(s;1H;OH')
98	4-OH	8,71 (s;1H)	5,18 (s;2H)	7,35-7,49 (m;7H) ^b	7,35-7,49(m;7H;H' ₂₊₆) ^b ; 6,92(d;J8,7;2H;H' ₃₊₅); 10,34(s;1H;OH')
99	3,4-OH	8,70 (s;1H)	5,19 (s;2H)	7,35-7,45 (m;5H)	6,89(sl;2H;H' ₂₊₆); 7,06(s;1H;H' ₅); 9,68(sl;2H;OH')
R = CH₃					
Comp	R'	C ₆ -H	OCH ₃	Ar	
100 (M/m= 8/1)	4-OCH ₃	M: 8,68 (s;1H) m: 8,13 (s;1H)	3,95(s;3H)	7,63(d;J9,0;2H;H' ₂₊₆); 7,13(d;J9,0;2H;H' ₃₊₅); 3,84(s;3H;OCH ₃ ')	
101	2-OH	7,43 (s;1H)	3,77(s;1H)	7,30-7,42(m;2H;H' ₃₊₅); 7,60(t;J6,9;1H;H' ₄); 7,88(d;J6,9;1H;H' ₆); 12-15(sl;1H;OH')	
102 (M/m= 8/1)	3-OH	M: 8,69 (s;1H) m: 8,14 (s;1H)	M: 3,95(s;3H) m: 3,96(s;3H)	6,9-7,1(m;3H;H' ₂₊₄₊₆); 7,39(t;J7,2;1H;H' ₅); 10,02(s;1H;OH')	
103 (M/m= 6/1)	4-OH	M: 8,66 (s;1H) m: 8,10 (s;1H)	M: 3,95(s;3H) m: 3,96(s;3H)	7,51(d;J9,0;2H;H' ₂₊₆); 6,93(d;J9,0;2H;H' ₃₊₅); 10,33(s;1H;OH')	
104 (M/m= 6/1)	3,4-OH	M: 8,64 (s;1H) m: 8,06 (s;1H)	3,95(s;3H)	7,06(s;1H;H' ₂); 6,80-7,00(m;2H;H' ₅₊₆); 9,00-10,50 (sl;>1H;OH')	

^a A integração da área do multipeto corresponde a 6 prótons (5 do grupo fenilo e 1 da unidade fenólica).

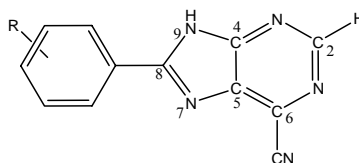
^b A integração do multipeto corresponde a 7 prótons (5 do grupo fenilo e 2 da unidade fenólica).

Analisando o espectro para a espécie maioritária dos metoxiformimidazol-imidazoles **100-104** pode verificar-se que o singlete correspondente ao próton presente na posição C₆ surge para valores de δ 8,64-8,69 ppm, excepto para o composto **101** que tem este sinal deslocado para campo mais alto (7,43 ppm). O grupo OCH₃ em N₇ surge a δ 3,77-3,95 ppm. O próton do grupo OH no fenol surge a 9,00-15,00 ppm e desaparece por adição de D₂O. Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,80-7,88 ppm. No caso do imidazole **100** surge um singlete a δ 3,84 ppm correspondente ao grupo metoxilo do anel aromático ligado na posição C₂.

8-Aril-6-cianopurinas

Os espectros de ¹H RMN das 8-aryl-6-cianopurinas **107-111** apresentam um

Tabela 2.74. Dados espectroscópicos de ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) para as 8-aryl-6-cianopurinas **107-111**.



Comp	R	C ₂ -H	NH	Ar
107	4-OCH ₃	8,90 (s;1H)	14,30 (sl;1H)	8,19(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,1;2H;H' ₂₊₆); 7,09(dd;J ₁ 7,2;J ₂ 2,1;2H;H' ₃₊₅); 3,84(s;3H;OCH ₃)
108	2-OH	9,00 (s;1H)	10-15 (sml;2H)	7,06(d;J ₇ 8;1H;H' ₃); 7,45(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 1,5;1H;H' ₄); 7,01(dt;J ₁ 7,8;J ₂ 0,9;1H;H' ₅); 8,12(dd;J ₁ 7,8;J ₂ 1,5;1H;H' ₆); 10-15(sml;2H;OH')
109	3-OH	8,98 (s;1H)	9,91 (sl;>1H)	7,75(d;J ₁ 2;1H;H' ₂); 7,01(dt;J ₁ 8,1;J ₂ 1,8;1H;H' ₄); 7,41(t;J ₇ 8;1H;H' ₅); 7,74(d;J ₇ 8;1H;H' ₆); 9,91(sl;>1H;OH')
110	4-OH	8,93 (s;1H)	13,50-15,00 (sml;1H)	8,17(d;J ₈ 7;2H;H' ₂₊₆); 6,97(d;J ₈ 7;2H;H' ₃₊₅); 10,45(s;1H;OH')
111	3,4-OH	8,80 (s;1H)	^a	7,79(d;J ₁ 8;1H;H' ₂); 6,89(d;J ₈ 1;1H;H' ₅); 7,66(dd;J ₁ 8,4;J ₂ 2,1;1H;H' ₆); OH' ^a

^a Banda muito larga espalhada em toda a linha de base.

singleto a δ 8,80-9,00 ppm correspondente ao próton ligado ao carbono na posição 2 (Tab. 2.74). O próton N_{7/9}-H surge como uma banda larga ou muito larga entre δ 9,91-15,00 ppm e o próton O-H da função fenólica aparece a δ 9,91-15,00 ppm também como uma banda larga ou muito larga, evidenciando uma extensa troca protónica com o solvente. Na purina **111**, estes dois sinais surgem como uma única banda muito larga espalhada em toda a linha de base. Os prótons aromáticos no fenol surgem no intervalo δ 6,89-8,19 ppm. No caso do composto **107** surge um singleto a δ 3,84 ppm correspondente ao OCH₃ do anel aromático ligado na posição C₈.

2.3.2.4. Espectroscopia de ¹³C RMN

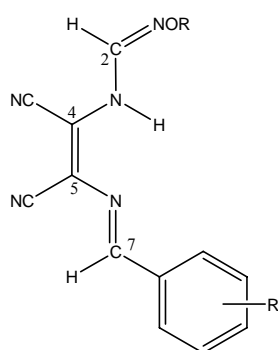
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas

Nos estudos de espectroscopia de ¹³C RMN das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoximas **83-87** e das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-metilformamidoximas **89-93** utilizou-se a técnica de HMQC, HMBC e DEPT 45° (Tab. 2.75). Os espectros apresentam dois conjuntos de picos atribuídos à presença de dois isómeros em solução, tal como acontecia nos espectros de ¹H RMN. Como os sinais da espécie minoritária só foram detectados em alguns casos, serão apresentados apenas os dados correspondentes à espécie maioritária. O espectro de HMQC das benzilformamidoximas **83-87** mostra o acoplamento a uma ligação entre o ¹H-¹³C₂, entre o ¹H-¹³C₇, entre os prótons e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica e ainda, entre os prótons e carbonos pertencentes à unidade OCH₂Ph. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C₂-¹H e ¹³C₄, entre o C₇-¹H e ¹³C₅, entre o C₇-¹H₇ e os carbonos na posição *orto* do fenol, entre os prótons na posição *orto* do fenol o ¹³C₇ e o acoplamento a duas ligações entre o C₇-¹H e o carbono na posição *ipso* do fenol. Assim, atribuiu-se o desvio químico de C₂ a δ 136,93-137,17 ppm, C₄ a δ 116,51-118,78 ppm, C₅ a δ 112,42-113,72 ppm, C₇ a δ 157,63-162,02 ppm, C≡N a 112,24-113,08, os carbonos da unidade fenólica a δ 109,33-162,61 ppm e os carbonos da unidade OCH₂Ph a 75,34-75,49 ppm (CH₂) e a 127,80-137,81 ppm (Ph). Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios químicos registados para os carbonos destes compostos, excepto para o carbono C₇ da

benzilformamidoxima **83** que se desvia para campo mais alto. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas benzilformamidoximas são semelhantes ao da (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **82** [75].

O espectro de HMQC das metilformamidoximas **89-93** mostra o acoplamento directo entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$, entre o ^1H - $^{13}\text{C}_7$, entre o O - ^{13}C - $^1\text{H}_3$ e entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro de HMBC verificou-se o acoplamento a duas ligações entre o C_7 - ^1H e o carbono na posição *ipso* do fenol e o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_4$, entre o C_7 - ^1H e $^{13}\text{C}_5$, entre o C_7 - $^1\text{H}_7$ e os carbonos na posição *orto* do fenol e ainda entre os protões na posição *orto* do fenol e o $^{13}\text{C}_7$. Deste modo, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 136,37-136,57 ppm, C_4 a δ 116,59-118,83 ppm, C_5 a δ 112,58-113,45 ppm, C_7 a δ 158,15-161,92 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a 112,28-112,90, OCH_3 a 61,72-61,84 ppm e os carbonos da unidade fenólica a δ 109,30-162,60 ppm. Observa-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para os carbonos destes compostos, excepto para o carbono C_7 da metilformamidoxima **89** que, tal como anteriormente, se desvia para campo mais alto. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destas metilformamidoximas são semelhantes ao da (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **88** [75].

Tabela 2.75. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO-d_6) para as (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas **82-93**^a.



Comp	R'	C ₂	C ₄	C ₅	C ₇	CN	OCH ₂	Ph	Ar
R = CH₂Ph									
82 [75]	4- O CH ₃	136,99	117,72	112,66	M: 160,77 m: 160	112,46; 112,26	M: 75,47 m: 75,25	M: 128,38; 128,23; 127,97; 137,23 m: 137	M: 163,38; 131,71; 127,21; 114,75; 55,66 m: 132,15; 114,40; 163,01; 55,66
83	2- OH	M: 136,94	117,89	M: 113,23	M: 157,63 m: 156,70	112,49; 112,31	M: 75,48 m: 75,29	M: 128,34; 128,12; 127,95; 137,25 m: 128,29; 128,21; 129,24	M: 120,58(C' ₁); 159,53(C' ₂); 116,86(C' ₃); 135,06(C' ₄); 119,72(C' ₅); 127,72(C' ₆) m: 121,00(C' ₁); 159,06(C' ₂); 116,56(C' ₃); 134,50(C' ₄); 119,44(C' ₅); 127,79(C' ₆)
84	3- OH	M: 136,93 m: 144,51	118,78	112,42	M: 161,76 m: 160,36	M: 112,51; 112,24 m: 112,86	M: 75,48 m: 75,31	M: 128,34; 128,02; 127,89; 137,40 m: 128,28; 128,22; 127,79	M: 135,69(C' ₁); 115,61(C' ₂); 157,85(C' ₃); 120,44(C' ₄); 130,18(C' ₅); 120,71(C' ₆) m: 137,60(C' ₁); 115,91(C' ₂); 157,71(C' ₃); 119,90(C' ₄); 129,77(C' ₅); 121,43(C' ₆)
85	4- OH	M: 136,97 m: 132,57	117,10	112,95	M: 161,02 m: 159,82	112,51; 112,30	M: 75,49 m: 75,27	M: 128,40; 128,28; 128,06; 137,18 m: 128,33; 127,84; 126,38; 137,70	M: 125,72(C' ₁); 132,12(C' ₂₊₆); 116,24(C' ₃₊₅); 162,61(C' ₄) m: 115,86(C' ₃₊₅); 162,15(C' ₄)

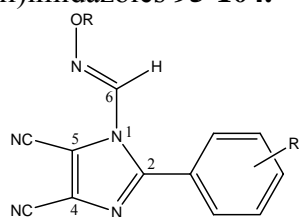
Comp	R'	C ₂	C ₄	C ₅	C ₇	CN	OCH ₂	Ph	Ar
86	3,4-OH	M: 137,03 m: 144,41	M: 116,71 m: 117,58	M: 113,41 m: 112,55	M: 161,52 m: 160,30	M: 112,80; 112,38 m: 113,20; 112,73	M: 75,39 m: 75,25	M: 127,87; 128,35; 128,00; 137,52 m: 127,77; 128,28; 128,24; 137,67	M: 126,17(C' ₁); 115,54(C' ₂); 145,97(C' ₃); 151,58(C' ₄); 115,95(C' ₅); 124,10(C' ₆) m: 126,82(C' ₁); 116,17(C' ₂); 145,79(C' ₃); 151,01(C' ₄); 115,54(C' ₅); 124,45(C' ₆)
87	3,4,5-OH	M: 137,17 m: 144,41	116,51	113,72	M: 162,02 m: 160	M: 113,08; 112,51	M: 75,34 m: 75,34	M: 128,37; 127,88; 127,80; 137,81 m: 128,30; 128,28; 137,69	M: 124,93(C' ₁); 109,33(C' ₂₊₆); 146,30(C' ₃₊₅); 139,94(C' ₄) m: 125,51(C' ₁); 109,77(C' ₂₊₆); 146,11(C' ₃₊₅); 139,40(C' ₄)
R = CH₃									
Comp	R'	C-2	C-4	C-5	C-7	CN	OCH ₃	Ar	
88 [64]	4-OC H ₃	137,49	118,74	113,96	M: 162,01 m: 160,46	113,40; 113,74	M: 62,83 m: 62,70	164,45; 132,91; 128,27; 115,44; 55,59	
89	2-OH	M: 136,37 m: 143,95	117,90	113,29	158,15	M: 112,58 112,28 m: 112,85 112,67	M: 61,72 m: 61,48	M: 120,54(C' ₁); 159,38(C' ₂); 116,79(C' ₃); 134,92(C' ₄); 119,73(C' ₅); 128,35(C' ₆) m: 120,93(C' ₁); 159,00(C' ₂); 116,53(C' ₃); 134,44(C' ₄); 119,39(C' ₅); 129,25(C' ₆)	

Comp	R'	C-2	C-4	C-5	C-7	CN	OCH₃	Ar
90	3-OH	M: 136,43 m: 143,95	M: 118,83 m: 119,76	M: 112,58 m: 111	M: 161,76 m: 160,36	M: 112,42; 112,29 m: 112,84	M: 61,84 m: 61,59	M: 135,72(C' ₁); 114,78(C' ₂); 157,84(C' ₃); 120,59(C' ₄); 130,25(C' ₅); 121,61(C' ₆) m: 136,24(C' ₁); 115,89(C' ₂); 157,73(C' ₃); 119,92(C' ₄); 129,80(C' ₅); 121,46(C' ₆)
91	4-OH	M: 136,45 m: 143,92	M: 117,11 m: 118,06	M: 113,20 m: 112,09	M: 161,20 m: 159,79	M: 112,74; 112,38 m: 113,07; 112,74	M: 61,79 m: 61,52	M: 125,76(C' ₁); 132,24(C' ₂₊₆); 116,25(C' ₃₊₅); 162,60(C' ₄) m: 126,36(C' ₁); 132,53(C' ₂₊₆); 115,84(C' ₃₊₅); 162,13(C' ₄)
92	3,4-OH	M: 136,52 m: 144	M: 116,77 m: 118	M: 113,39 m: 113,20	M: 161,55 m: 160,26	M: 112,83; 112,42	M: 61,80 m: 61,53	M: 126,20(C' ₁); 114,56(C' ₂); 146,07(C' ₃); 151,71(C' ₄); 115,88(C' ₅); 125,15 (C' ₆) m: 126,84(C' ₁); 116,11(C' ₂); 145,81(C' ₃); 151,02(C' ₄); 115,54(C' ₅); 124,49 (C' ₆)
Comp	R'	C-2	C-4	C-5	C-7	CN	OCH₃	Ar
93	3,4,5-OH	136,57	116,59	113,45	M: 161,92 m: 160	M: 112,90; 112,45	M: 61,79 m: 61,5	M: 124,88(C' ₁); 109,30(C' ₂₊₆); 146,28(C' ₃₊₅); 139,92(C' ₄) m: 125,52(C' ₁); 109,75(C' ₂₊₆); 146,12(C' ₃₊₅); 139,40(C' ₄)

^a Só é feita a diferenciação entre as espécies **M** e **m** quando são detectados no espectro os sinais referentes à espécie menos abundante **m**, caso contrário o valor refere-se à espécie mais abundante **M**.

2-Aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles

Nos estudos de espectroscopia de ¹³C RMN dos 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazoles **96-99** e dos 2-aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazoles **100-104** utilizou-se a técnica de HMQC e HMBC (Tab. 2.76). Os espectros apresentam também dois conjuntos de picos atribuídos às duas espécies presentes em solução. O espectro de HMQC dos benziloxiformimidoilimidazoles mostra o acoplamento a uma ligação entre o ¹H-¹³C₆, entre os prótons e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica e ainda entre os prótons e carbonos pertencentes à unidade OCH₂Ph. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C₆-¹H e ¹³C₂, entre o C₆-¹H e ¹³C₅ e ainda, entre os prótons na posição *orto* do fenol e o ¹³C₂. A espécie maioritária apresenta o desvio químico de C₂ a δ 151,26-151,79 ppm, C₄ a δ 123,19-123,31 ppm, C₅ a δ 110,50-111,00 ppm, C₆ a δ 139,72-142,72 ppm, C≡N a 108,74-112,17, os carbonos da unidade fenólica a δ 115,93-160,52 ppm e os carbonos da unidade OCH₂Ph a 75,42-77,16 ppm (CH₂) e a 127,87-137,61 ppm (Ph). Verifica-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para os carbonos destes compostos, excepto para o carbono C₆ do imidazole **96** que se encontra ligeiramente desviado para campo mais baixo. Verifica-se que os valores de deslocamento químico de C₂ nestes imidazoles são desviados para campo mais alto relativamente ao carbono equivalente C₇ nas benzilformamidoximas **83-87** precursoras, indicando uma variação da densidade electrónica neste átomo de carbono, resultante da formação do anel de imidazole. Podemos também verificar que o deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica nestes imidazoles está ligeiramente desviado para campo mais alto em relação ao das benzilformamidoximas correspondentes, indicando que este átomo de carbono passou a estar ligado a uma estrutura com maior capacidade de retirar electrões. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros destes benziloxiformimidoilimidazoles são semelhantes ao do 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **95** [75].

Tabela 2.76. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para os 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-alcoximimidoil)imidazoles **95-104**.


Comp	R	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	CN	CH ₂	Ph	Ar
R = CH₂Ph									
95 [75]	4-OCH ₃	M: 151,42 m: 150,40	123,78	M: 111,58 m: 112,02	138,72	M: 112,02; 108,33 m: 111,58; 108,18	77,59	135,78; 129,97; 128,34; 128,28	M: 161,92; 131,04; 128,84; 114,60; 55,43 m: 161,92; 130,53; 128,70; 116,46; 55,43
96 ^b	2-OH	151,49	^a	^a	142,72	112,12; 109,26	75,42	137,61; 128,24; 128,65; 127,87	114,29(C' ₁); 155,51(C' ₂); 116,43(C' ₃); 131,73(C' ₄); 119,53(C' ₅); 128,33(C' ₆)
97	3-OH	M: 151,26 m: 150,50	123,25	M: 111,00 m: 113	M: 139,72 m: 131,27	M: 112,02; 108,74 m: 111,83	77,16	136,10; 128,84; 128,44; 128,40	M: 127,17(C' ₁); 116,04(C' ₂); 157,73(C' ₃); 120,08 [?] (C' ₄); 130,42(C' ₅); 118,72 [?] (C' ₆) m: 127,38(C' ₁); 114,90(C' ₂); 157,88(C' ₃); 118,90(C' ₄); 130,50(C' ₅); 118,84(C' ₆)
98 ^b	4-OH	151,79	123,31	110,61	140,04	112,17; 108,93	77,13	136,18; 128,91; 128,48; 128,44	116,70(C' ₁); 131,34(C' ₂₊₆); 116,04(C' ₃₊₅); 160,52(C' ₄)
99 ^b	3,4-OH	151,70	123,19	110,50	139,90	112,09; 108,84	77,03	136,07; 128,76; 128,37; 128,31	116,80(C' ₁); 115,93(C' ₂); 145,72(C' ₃); 149,00(C' ₄); 116,31(C' ₅); 121,38(C' ₆)

Comp	R	C-2	C-4	C-5	C-6	CN	OCH ₃	R
R = CH₃								
100	4-OCH ₃	151,31	123,19	110,93	139,28	112,05; 108,77	63,18	M: 118,30(C' ₁); 131,19(C' ₂₊₆); 114,68(C' ₃₊₅); 161,74(C' ₄); 55,53(OCH ₃ ') m: 130,19(C' ₂₊₆); 114,77(C' ₃₊₅)
101	2-OH	147,39	^a	^a	142,11	111,27; 109,30	61,91	119,51(C' ₁); 151,42(C' ₂); 118,39(C' ₃); 132,67(C' ₄); 125,26(C' ₅); 130,77(C' ₆)
102	3-OH	M: 151,18 m: 146	123,11	111,29	M: 139,25 m: 131,04	112,03; 108,72	M: 63,23 m: 63,15	M: 127,17(C' ₁); 115,96(C' ₂); 157,73(C' ₃); 118,75(C' ₄); 130,47(C' ₅); 120,07(C' ₆); m: 127,20(C' ₁); 114,91(C' ₂); 157,84(C' ₃); 118,91(C' ₄); 130,59(C' ₅); 119,03(C' ₆)
103	4-OH	M: 151,69 m: 150,76	M: 123,19 m: 122,37	M: 110,80 m: 112,56	M: 139,38 m: 131,22	M: 112,13; 108,86 m: 111,97; 108,53	M: 63,17 m: 63,10	M: 116,69(C' ₁); 131,29(C' ₂₊₆); 116,04(C' ₃₊₅); 160,54(C' ₄) m: 119,00(C' ₁); 128,04(C' ₂₊₆); 115,84(C' ₃₊₅); 159,65(C' ₄)
104	3,4-OH	151,66	123,11	110,79	139,43	112,14; 108,86	63,13	116,85(C' ₁); 116,26(C' ₂); 145,76(C' ₃); 149,07(C' ₄); 116,02(C' ₅); 121,44(C' ₆)

^a Não é visível no espectro.

^b Nenhuma espécie minoritária é observada mas as bandas são largas.

[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

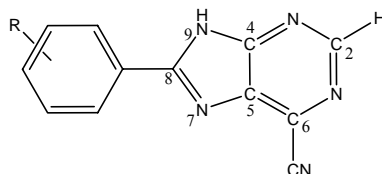
O espectro de HMQC dos metoxiformimidoilimidazoles mostra o acoplamento directo entre o ^1H - $^{13}\text{C}_6$, entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica e entre O - ^{13}C - $^1\text{H}_3$ ligado ao N_7 e ainda, no caso do composto **100**, pertencente ao substituinte arilo. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_6 - ^1H e $^{13}\text{C}_2$, entre o C_6 - ^1H e $^{13}\text{C}_5$ e ainda, entre os protões na posição *orto* do fenol e o $^{13}\text{C}_2$. A espécie maioritária apresenta o desvio químico de C_2 a δ 147,39-151,69 ppm, C_4 a δ 123,11-123,19 ppm, C_5 a δ 110,79-111,29 ppm, C_6 a δ 139,25-142,11 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a 108,72-112,14, os carbonos da unidade fenólica a δ 114,68-161,74 ppm, os carbonos da unidade OCH_3 ligado ao N_7 a 61,91-63,23 ppm e ainda, no caso do composto **100**, o grupo metoxilo pertencente ao substituinte arilo a 55,53 ppm. Verifica-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para os carbonos destes compostos, excepto para o carbono C_2 e C_6 do imidazole **101** que se desviam ligeiramente para campo mais alto e baixo, respectivamente. Verifica-se também que os valores de deslocamento químico de C_2 nestes imidazoles são desviados para campo mais alto relativamente ao carbono equivalente C_7 nas metilformamidoximas **89-93** precursoras. Podemos também verificar que o deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica nestes imidazoles está ligeiramente desviado para campo mais alto em relação ao das metilformamidoximas correspondentes.

8-Aril-6-cianopurinas

Nos estudos de espectroscopia de ^{13}C RMN das 8-aril-6-cianopurinas **107-111** utilizou-se a técnica de HMQC, HMBC e DEPT 45° (Tab. 2.77). O espectro de HMQC mostra o acoplamento directo entre o ^1H - $^{13}\text{C}_2$, entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica e ainda, no caso do composto **107**, entre O - ^{13}C - $^1\text{H}_3$ pertencente ao substituinte arilo. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_4$, entre o C_2 - ^1H e $^{13}\text{C}_6$ e ainda, entre os protões na posição *orto* do fenol e o $^{13}\text{C}_8$. Assim, atribuiu-se o desvio químico de C_2 a δ 150,53-151,93 ppm, C_4 a δ 155,91-159,01 ppm, C_5 a δ 133,64-144,83 ppm, C_6 a δ 123,62-126,03 ppm, C_8 a δ 157,74-161,29 ppm, $\text{C}\equiv\text{N}$ a 114,70-115,56, os carbonos da unidade fenólica a δ 112,24-162,54 ppm e ainda, no caso do composto **107**, OCH_3 pertencente ao substituinte arilo a 55,54 ppm. Podemos observar que os valores de deslocamento

químico de C₈ nestas purinas estão a campo mais baixo relativamente ao carbono equivalente C₂ nos benziloxiformimidazolimidazoles **95-99** e metoxiformimidazolimidazoles **100-104**, traduzindo a presença dum sistema mais conjugado. Este valor é no entanto semelhante ao de C₇ nas benzilformamidoximas **82-86** e metilformamidoximas **88-92**. Podemos também verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estas purinas estão a campo ligeiramente mais baixo relativamente ao carbono equivalente nos benziloxiformimidazolimidazoles **95-99** e metoxiformimidazolimidazoles **100-104** equivalentes, indicando que esta purina é uma estrutura com menor capacidade de retirar electrões do que as duas estruturas de imidazole correspondentes.

Tabela 2.77. Dados espectroscópicos de ¹³C RMN (DMSO-d₆) para as 8-aryl-6-cianopurinas **107-111**.



Comp	R	C ₂	C ₄	C ₅	C ₆	C ₈	CN	Ar
107	4-OCH ₃	151,51	156,53	135,80	125,18	157,74	114,85	119,92(C' ₁); 129,73(C' ₂₊₆); 114,65(C' ₃₊₅); 162,54(C' ₄)
108	2-OH	151,93	155,91	133,64	125,20	158,40	114,70	112,24(C' ₁); 158,57(C' ₂); 117,40(C' ₃); 134,08(C' ₄); 119,74(C' ₅); 128,63(C' ₆)
109	3-OH	151,77	156,78	135,49	126,03	158,45	114,88	129,38(C' ₁); 114,41(C' ₂); 157,94(C' ₃); 119,41(C' ₄); 130,39(C' ₅); 118,67(C' ₆)
110	4-OH	151,46	156,69	144,83	124,93	158,35	115,01	118,52(C' ₁); 130,12(C' ₂₊₆); 116,18(C' ₃₊₅); 161,60(C' ₄)
111	3,4-OH	150,53	159,01	136,92	123,62	161,29	115,56	120,71(C' ₁); 115,18(C' ₂); 145,72(C' ₃); 149,51(C' ₄); 115,94(C' ₅); 120,40(C' ₆)

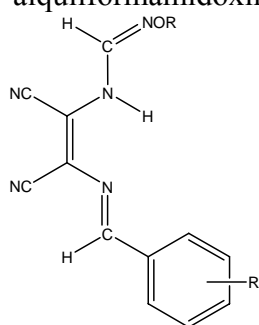
2.3.3. Actividade antioxidante

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alkilformamidoximas

O rastreio da actividade antioxidante das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoximas **82-87** e das (Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-metilformamidoximas **88-93** foi realizado inicialmente por medição dos seus potenciais de oxidação.

As benzilformamidoximas **82-84** com os substituintes 4-metoxifenilo, 2-hidroxifenilo e 3-hidroxifenilo no anel aromático apresentaram voltamogramas onde não se observou nenhum pico de oxidação até 1100 mV. Contudo, os compostos **85-87** com os substituintes 4-hidroxifenilo, 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo apresentam potenciais de oxidação baixos, tendo mesmo o último composto um potencial de pico de 106 mV, bastante mais baixo do que o potencial de pico do antioxidante de referência trolox (173 mV). Esta diferença nos potenciais de oxidação sugere que a unidade fenólica é a responsável pela facilidade com que estes compostos se oxidam. Adicionalmente, verificou-se que os compostos de partida do composto **87**, a benzilformamidoxima **79** e o 3,4,5-trihidroxibenzaldeído têm potenciais de pico anódico de 325 e 196 mV respectivamente, bastantes superiores ao potencial de pico deste composto (106 mV). No teste de descoloração do DPPH, o composto **87** tem um valor de IC₅₀ de 2,9 ± 0,3 µM, sendo aproximadamente três vezes inferior ao do trolox, confirmando que este composto tem uma actividade anti-radicalar muito potente. Nas concentrações de IC₅₀ respectivas, determinadas no teste do DPPH, o composto **87** inibiu para um valor inferior a 50 %, a degradação da desoxirribose, um efeito protector aproximadamente duas vezes superior ao do trolox. Esta diferença é provavelmente devida à capacidade quelante do ião ferro pelo composto **87** que contribui para uma actividade antioxidante muito superior à do trolox.

As metilformamidoximas **88-93** apresentaram valores de potencial de oxidação mais elevados do que as benzilformamidoximas **82-87**, o que está de acordo com o esperado, pois a benzilformamidoxima **79** tem um potencial de pico de 325 mV, que é muito mais baixo do que o potencial de pico da metilformamidoxima **80**, de 600 mV.

Tabela 2.78. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para as (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas **82-93**.

Comp	R'	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
R = CH₂Ph					
82	4-OCH ₃	-	-	-	-
83	2-OH	-	-	-	-
84	3-OH	-	-	-	-
85	4-OH	381	330	19,8 ^a	-
86	3,4-OH	186	143	2,5 ^a	-
87	3,4,5-OH	106	45	2,9 ± 0,3	42,2 ± 2,5
R = CH₃					
88	4-OCH ₃	-	-	-	-
89	2-OH	466	404	-	-
90	3-OH	850	785	-	-
91	4-OH	414	333	20,4 ^a	-
92	3,4-OH	212	153	3,9 ^a	-
93	3,4,5-OH	132	70	3,4 ± 0,3	38,7 ± 2,1
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

^a Valor retirado de [95].

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

Os compostos **89-90** com os substituintes 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo apresentam potenciais de oxidação bastante elevados e no caso do composto **88** com o substituinte 4-metoxifenilo não se observaram mesmo picos significativos no seu voltamograma. Contudo, os compostos **92** e **93** com os substituintes 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo apresentaram potenciais de oxidação baixos, tendo o último composto um potencial de pico de 132 mV. No teste de

descoloração do DPPH, o composto **93** tem um valor de IC_{50} igual a $3,4 \pm 0,3 \mu\text{M}$, aproximadamente três vezes mais baixo do que o do trolox. Nestas concentrações de IC_{50} , o composto **93** inibe a degradação da desoxirribose para um valor de $38,7 \pm 2,1 \%$ e tem uma capacidade protectora aproximadamente duas vezes superior à do trolox.

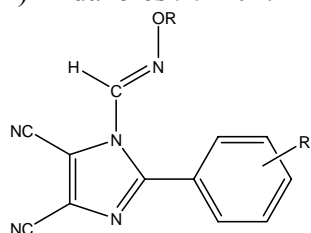
Os compostos **86** e **92** apresentaram valores de IC_{50} mais baixos do que o trolox no teste do DPPH e demonstram ter uma potente actividade antioxidante na peroxidação lípida em células animais, tendo também os compostos **85** e **91** actividades significativas. Verificou-se também que estes 4 compostos não foram tóxicos mesmo para uma concentração cinco vezes mais elevada do que o valor de IC_{50} determinado pelo método de descoloração do DPPH [95].

2-Aril-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles

Os benziloxiformimidoilimidazoles **95-99** apresentaram valores de potencial de oxidação superiores aos compostos precursores lineares correspondentes (Tabs. 2.78 e 2.79). Como já foi referido, este aumento dos potenciais de oxidação com a ciclização é devido provavelmente ao facto da estrutura cíclica ter uma capacidade remotora de electrões maior do que a estrutura linear, o que torna mais difícil a oxidação do composto. De facto, nos espectros de ^{13}C RMN, verificou-se que o carbono *ipso* (C'_{1}) do grupo arilo estava deslocado para um campo mais alto depois de ocorrer a ciclização, comprovando que o grupo arilo passou a estar ligado a uma estrutura com maior capacidade remotora de electrões depois de ocorrer a ciclização (Tabs. 2.75 e 2.76). O composto **99** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um potencial de pico de 331 mV, sendo o mais baixo desta série de compostos e inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV). Este composto apresentou um IC_{50} de $7,3 \pm 0,6 \mu\text{M}$ no teste de descoloração do DPPH, valor mais baixo do que o do trolox e indicando que tem uma actividade antioxidante primária muito potente. Nestas concentrações, o composto **99** reduziu a degradação da desoxirribose para um valor inferior a 50%, teve uma capacidade protectora aproximadamente duas vezes superior à do trolox, devido provavelmente à capacidade quelante do ião ferro. Verificou-se também que o composto **96** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem um potencial de pico de 840 mV e o valor de IC_{50} superior a $400 \mu\text{M}$ no teste do DPPH, comprovando a sua fraca actividade anti-radicalar.

Os metoxiformimidoilimidazoles **100-104** têm também potenciais de oxidação mais elevados do que os compostos precursores lineares correspondentes (Tabs. 2.78 e 2.79). O composto **104** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo tem o potencial de pico mais baixo desta série de compostos com o valor de 349 mV. No teste do DPPH, este composto tem um IC₅₀ de $6,6 \pm 0,3 \mu\text{M}$. Nestas concentrações, o composto **104** inibe a degradação da desoxirribose para um valor de $43,2 \pm 2,7 \%$, indicando que tem uma actividade antioxidante mais potente do que o trolox.

Tabela 2.79. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para os 2-aryl-4,5-diciano-*N*-(*N'*-alcoxiformimidoil)imidazoles **95-104**.



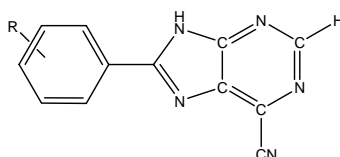
Comp	R'	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
R = CH₂Ph					
95	4-OCH ₃	-	-	-	-
96	2-OH	840	738	> 400	-
97	3-OH	767	713	-	-
98	4-OH	732	697	-	-
99	3,4-OH	331	256	$7,3 \pm 0,6$	$40,5 \pm 1,9$
R = CH₃					
100	4-OCH ₃	-	-	-	-
101	2-OH	840	753	-	-
102	3-OH	771	708	-	-
103	4-OH	779	734	-	-
104	3,4-OH	349	266	$6,6 \pm 0,3$	$43,2 \pm 2,7$
Trolox		173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

8-Aril-6-cianopurinas

Estes compostos apresentaram também valores de potencial de oxidação mais elevados comparativamente aos dos compostos precursores respectivos (Tab. 2.78 e 2.80). O composto **111** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo tem um potencial de pico anódico de 256 mV, sendo o mais baixo deste grupo de compostos e inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV) (Tab. 2.80). No teste de descoloração do DPPH, este composto apresentou um valor de IC₅₀ de 6,3 ± 1,1 μM, que sendo inferior ao do trolox comprova a sua potente actividade antioxidante primária. Nestas concentrações, o composto **111** inibe a degradação da desoxirribose para um valor inferior 40% e tem uma actividade antioxidante mais potente do que o trolox.

Tabela 2.80. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para as 8-aril-6-cianopurinas **107-111**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
107	4-OCH ₃	-	-	-	-
108	2-OH	840	716	> 400	-
109	3-OH	852	740	-	-
110	4-OH	698	602	-	-
111	3,4-OH	256	197	6,3 ± 1,1	37,7 ± 1,5
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

2.3.4. Actividade antimicrobiana

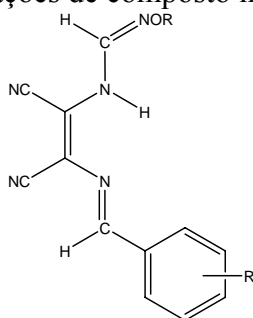
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alquilformamidoximas

Neste estudo, a actividade antimicrobiana das benzilformamidoximas **82-87** foi determinada pelo método de microdiluição em meio líquido e verificou-se que nenhum

composto inibiu significativamente o crescimento celular nas duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* (Gram-) e *Bacillus subtilis* (Gram+) até uma concentração de 200 μM (Tab. 2.81). Para este grupo de compostos não foi possível testar a concentração de 400 μM , utilizada para outros compostos deste trabalho, dada a sua baixa solubilidade em meio de cultura. No caso do composto **82** a solubilidade foi ainda inferior, quando comparada com os compostos do mesmo grupo, pelo que a máxima concentração testada foi de 100 μM . Na avaliação da actividade antifúngica observou-se que nenhum composto deste grupo inibiu mais de 80 % o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* e de *Candida albicans* mas o composto **87** com o substituinte 3,4,5-tri-hidroxifenilo na concentração de 200 μM inibiu em aproximadamente 50 % o crescimento da primeira levedura.

No estudo da actividade antibacteriana verificou-se que nenhuma *O*-metilformamidoxima **88-93** inibiu significativamente o crescimento de *Escherichia coli* e de *Bacillus subtilis* até à concentração máxima testada (Tab. 2.81). No estudo da actividade antifúngica verificou-se que o composto **93** com o substituinte 3,4,5-tri-hidroxifenilo inibiu o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* em mais de 80 %, na concentração de 50 μM , apresentando um valor de MIC igual ao do fluconazole. O composto **89** com o substituinte 2-hidroxifenilo inibiu o crescimento desta levedura em aproximadamente 50 %, na concentração de 200 μM . Em *Candida albicans*, o composto **93** apresentou um valor de MIC de 100 μM . Deste modo, o composto **93** tem a vantagem de ter unicamente actividade antifúngica e não ter actividade antibacteriana nas duas espécies de bactérias estudadas. A maior actividade antimicrobiana do composto **93** parece estar relacionada com o menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar deste composto em relação aos outros desta série.

Tabela 2.81. Valores de concentração mínima inibitória (MIC) para as (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas **82-93** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R'	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
R = CH₂Ph						
82	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100	-
83	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
84	3-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
85	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
86	3,4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
87	3,4,5-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
R = CH₃						
88	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100	-
89	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
90	3-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
91	4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
92	3,4-OH	> 200	> 200	> 200	> 200	-
93	3,4,5-OH	> 200	> 200	50	100	104,9 \pm 2,4 (100 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole), Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

Deste modo, podemos verificar a existência de um efeito sinérgico entre a unidade fenólica 3,4,5-tri-hidroxifenilo e o resto da molécula comum a todas as *O*-metilformamidoximas **88-93**.

Adicionalmente, o grupo metilo da função amidoxima parece ser importante para que estes compostos tenham actividade antifúngica uma vez que nenhuma das benzilamidoximas **82-87** inibiu significativamente o crescimento das duas leveduras para as concentrações testadas. A toxicidade dos compostos foi avaliada com o teste de libertação de lactato desidrogenase (LDH) de modo a determinar a viabilidade celular dos fibroblastos. Assim, verificou-se que o composto **93** na concentração de 100 μM não foi tóxico porque não houve uma libertação significativa de LDH para o meio extracelular.

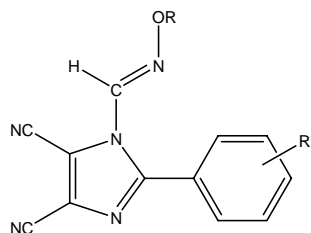
Os compostos foram testados em concentrações crescentes até à concentração de 400 μM sempre que eram solúveis, só se ultrapassando esta concentração quando já se

verificava alguma inibição. Assim, podemos verificar que os compostos deste grupo têm uma solubilidade reduzida nos meios de cultura, limitando deste modo a actividade antimicrobiana.

2-Aril-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles

Na avaliação da actividade antibacteriana verificou-se que nenhum benziloxiformimidoilimidazole **95-99** teve uma inibição significativa no crescimento de *Escherichia coli* até à concentração de 300 µM (o composto **95** com o substituinte 4-metoxifenilo só foi testado até à concentração de 100 µM devido à sua menor solubilidade no meio de cultura) (Tab. 2.82). Em *Bacillus subtilis*, o composto **96** com o substituinte 2-hidroxifenilo apresentou um MIC de 300 µM e o composto **99** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um MIC de 200 µM, enquanto que o antibiótico cloranfenicol apresentou um MIC de 12,5 µM. Estes compostos também têm uma solubilidade reduzida em meio aquoso. Na avaliação da actividade antifúngica verificou-se que o composto **99** teve um MIC de 25 µM para *Saccharomyces cerevisiae*, enquanto que os antifúngicos fluconazole e miconazole apresentaram MICs de 50 e 100 µM, respectivamente. Em *Candida albicans*, o composto **99** apresentou também um valor de MIC de 25 µM. Parece também estar relacionada a maior actividade antimicrobiana do composto **99** com o seu menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar relativamente aos outros compostos deste grupo. Adicionalmente, parece ter havido um aumento da capacidade antimicrobiana com a ciclização porque os compostos **83** e **86** que são os precursores lineares dos compostos **96** e **99** respectivamente, não tinham nenhuma actividade antimicrobiana significativa. No estudo toxicológico efectuado para os compostos **96** e **99** nas concentrações de 300 e 200 µM respectivamente, verificou-se que houve uma diminuição da viabilidade celular dos fibroblastos para aproximadamente 50 %, indicando que estes compostos são tóxicos nestas concentrações. Contudo, o composto **99** na concentração de 25 µM não é tóxico para os fibroblastos. Deste modo, podemos concluir que só o composto **99** pode ser usado como antifúngico sem efeitos tóxicos.

Tabela 2.82. Valores de MIC para os 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R'	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
R = CH₂Ph						
95	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100	-
96	2-OH	> 300	300	> 300	> 300	55,1 \pm 7,6 (300 μM)
97	3-OH	> 300	> 300	> 300	> 300	-
98	4-OH	> 300	> 300	> 300	> 300	-
99	3,4-OH	> 300	200	25	25	. 50,5 \pm 3,3 (200 μM) . 101,5 \pm 4,6 (25 μM)
R = CH₃						
100	4-OCH ₃	> 100	> 100	> 100	> 100	-
101	2-OH	> 300	> 300	> 300	> 300	-
102	3-OH	> 300	> 300	> 300	> 300	-
103	4-OH	> 300	> 300	> 300	> 300	-
104	3,4-OH	> 300	> 300	100	100	103,8 \pm 1,0 (100 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole), Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

No estudo da actividade antibacteriana verificou-se que nenhum metoxiformimidoilimidazole inibe significativamente o crescimento celular nas duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* até aos 300 μM (o composto **100** com o substituinte 4-metoxifenilo foi testado até à concentração máxima de 100 μM) (Tab. 2.82). No estudo da actividade antifúngica verificou-se que o composto **104** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um valor de MIC de 100 μM no crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*. Em *Candida albicans*, o composto **104**

apresentou um MIC de 100 μM . Deste modo, o composto **104** tem a vantagem de ter unicamente actividade antifúngica e não ter actividade antibacteriana nas duas espécies de bactérias estudadas. A maior actividade antifúngica do composto **104** parece também estar relacionada com o menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar deste composto em relação aos outros compostos desta série. Observou-se um aumento da capacidade antifúngica com a ciclização porque o composto **92** que é o precursor linear do composto **104** não tinha actividade antifúngica significativa. Adicionalmente, o grupo metilo da função amidoxima parece diminuir a actividade antifúngica nestes compostos, uma vez que o imidazole **99** (com o grupo benzilo) tem um valor de MIC inferior em relação ao imidazole **104** correspondente. O composto **104** não é tóxico para os fibroblastos na concentração de 100 μM , uma vez que a viabilidade celular não foi alterada.

8-Aril-6-cianopurinas

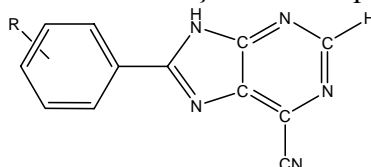
No estudo da actividade antibacteriana observou-se que nenhum composto deste grupo inibiu em mais de 80 % o crescimento de *Escherichia coli* (Tab. 2.83). No entanto, o composto **108** com o substituinte 2-hidroxifenilo na concentração de 400 μM apresentou uma inibição de aproximadamente 50 %. Na concentração de 400 μM , verificou-se que o composto **108** foi o único composto que inibiu o crescimento de *Bacillus subtilis* em mais de 80 %, enquanto que o antibiótico cloranfenicol apresentou um valor de MIC de 12,5 μM .

No estudo da actividade antifúngica verificou-se que o composto **111** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um valor de MIC de 200 μM e o composto **109** com o substituinte 3-hidroxifenilo, na concentração de 400 μM , apenas induziu uma inibição de aproximadamente 60 % no crescimento de *Saccharomyces cerevisiae*. Em *Candida albicans*, o composto **111** apresentou um valor de MIC de 300 μM , sendo mais elevado do que os MICs dos antifúngicos de referência.

A ciclização também parece ter aumentado a actividade antimicrobiana neste tipo de compostos. A maior actividade antifúngica do composto **111** parece ter uma relação com o seu menor valor de potencial de oxidação e maior actividade anti-radicalar relativamente aos outros compostos.

Na concentração de 400 μM , o composto **108** é tóxico porque diminuiu a viabilidade celular dos fibroblastos para aproximadamente 65 %. Por outro lado, o composto **111** na concentração de 300 μM não foi tóxico para os fibroblastos.

Tabela 2.83. Valores de MIC para as 8-aryl-6-cianopurinas **107-111** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
107	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200	-
108	2-OH	> 400	400	> 400	> 400	65,5 \pm 3,4 (400 μM)
109	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
110	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
111	3,4-OH	> 400	> 400	200	300	98,2 \pm 0,6 (300 μM)
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole), Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

2.4. Compostos sintetizados a partir do malononitrilo

Nesta secção, são referidas as sínteses em que foi usado malononitrilo **12** como reagente de partida.

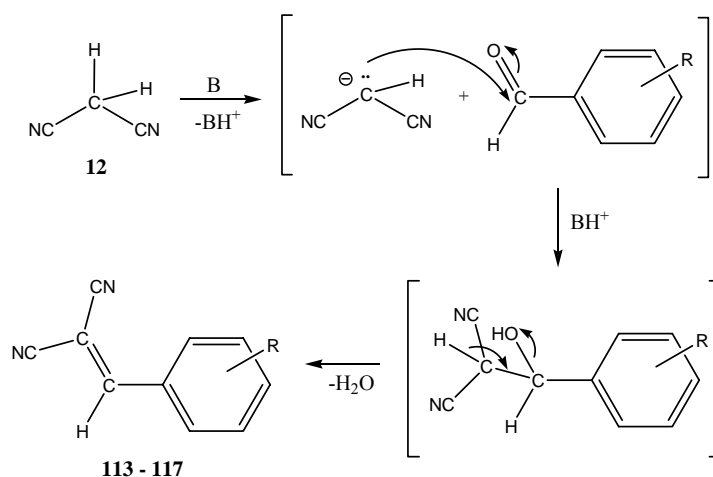
2.4.1. Síntese

Benzilidenomalononitrilos e derivados

A partir da reacção do malononitrilo **12** com benzaldeídos aromáticos, na presença ou ausência de catálise básica, obtiveram-se os benzilidenomalononitrilos **113-**

117. Os produtos foram isolados com rendimentos de 61-94 % após um período que variou entre 2-24 horas sob agitação magnética à temperatura ambiente. Estes compostos foram totalmente caracterizados e os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN são apresentados na secção 2.4.2 [76].

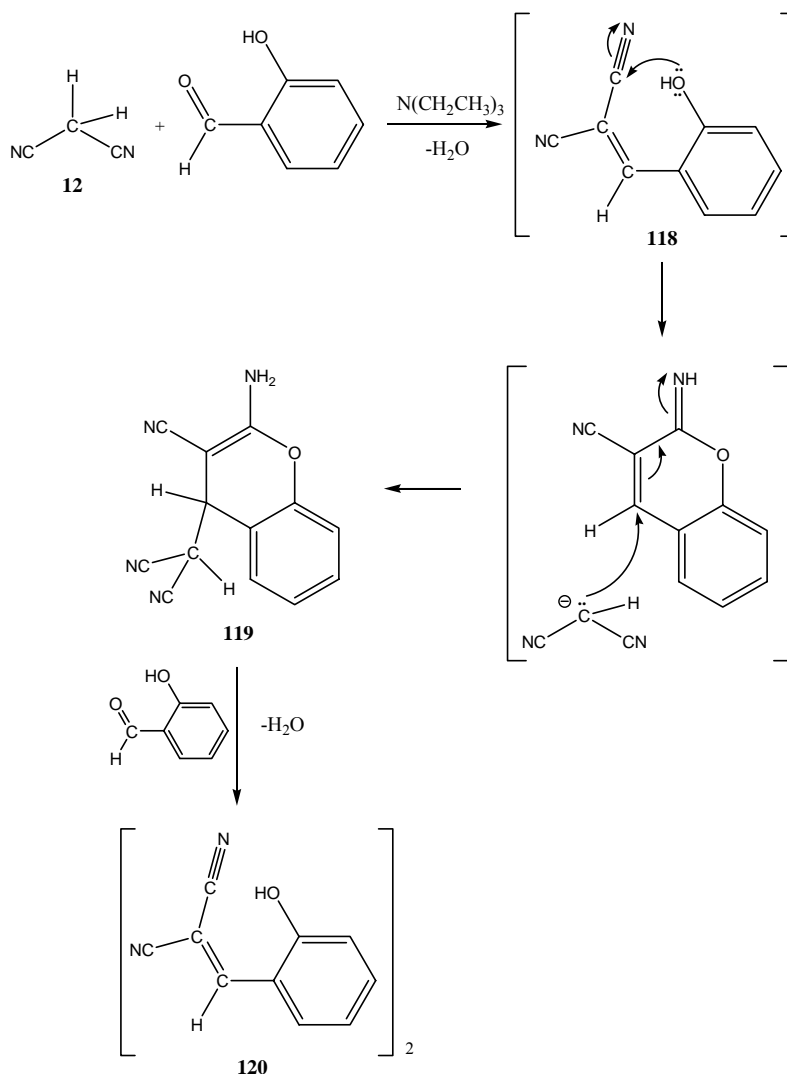
Esta reacção deve ocorrer por ataque nucleofílico do anião do malononitrilo **12** ao carbono carbonílico do aldeído aromático, com libertação de uma molécula de água, como esquematizado abaixo, conforme se representa no esquema:



Na reacção do malononitrilo **12** com 2-hidroxibenzaldeído na presença ou ausência de catálise básica, não foi possível isolar o 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo **118**. Quando a reacção foi efectuada na ausência de trietilamina e usando diclorometano como solvente, isolou-se o 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119** (90 %) ao fim de 4 h e 30 min sob agitação magnética à temperatura ambiente. Este composto foi completamente caracterizado e os dados espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN estão representados na secção 2.4.2 [96]. Na presença de uma quantidade catalítica de trietilamina e usando metanol como solvente, isolou-se um composto amarelo **120** ao fim de 15 min sob agitação magnética à temperatura ambiente. Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN do composto **120** (Sec. 2.4.2) são consistentes com uma estrutura que combina duas unidades de 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo. Ainda não foi possível apresentar uma proposta para a estrutura química deste composto embora se saiba que resulta da reacção de duas moléculas de 2-hidroxibenzaldeído com duas moléculas de malononitrilo, com eliminação de duas moléculas de água. O composto **119** é intermediário desta reacção, confirmando-se que origina o sólido amarelo desconhecido **120** quando é combinado com um equivalente de 2-

hidroxibenzaldeído em metanol, na presença de trietilamina. No espectro de IV, observam-se dois sinais correspondentes aos grupos ciano, estando um deles conjugado a um grupo dador de electrões. Nos espectros de ^1H e ^{13}C RMN observa-se um próton com deslocamento químico a campo baixo que está ligado a um carbono com hibridização sp^2 e outro próton desviado para campo mais alto que está ligado a um carbono com hibridização sp^3 . Foi possível identificar várias correlacões nos espectros de RMN bidimensional (HMBC e HMQC) mas que não permitiram propôr uma estrutura plausível para este produto.

O mecanismo proposto para esta reacção está esquematizado a seguir, embora se desconheça completamente o último passo.



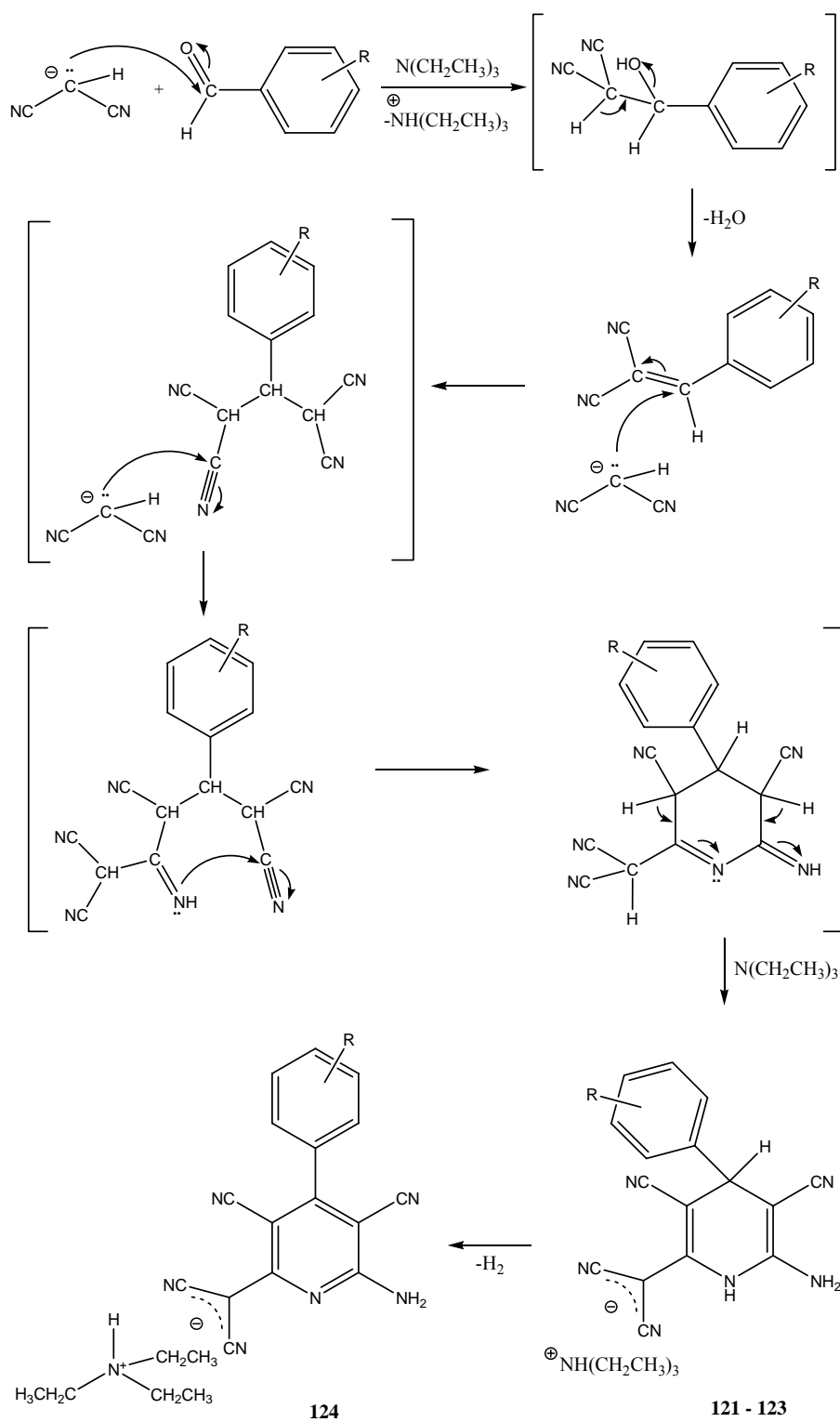
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

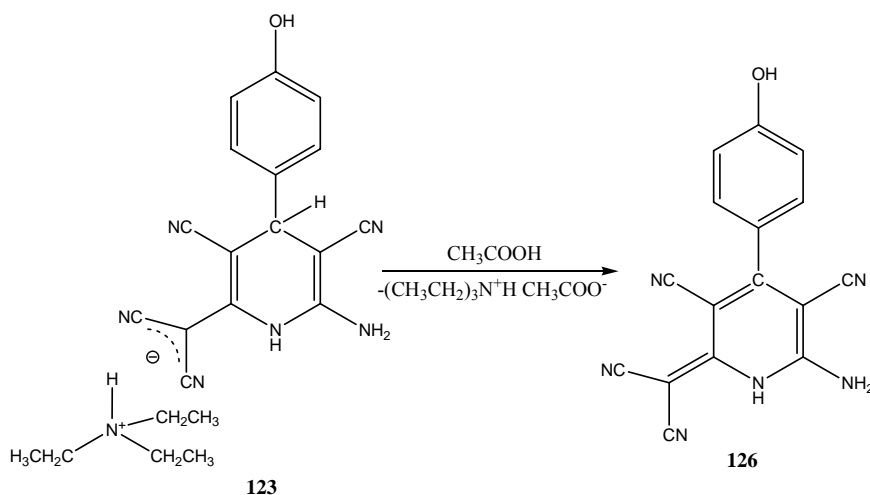
Por reacção dos aldeídos aromáticos com três equivalentes de malononitrilo **12** na presença de trietilamina sob refluxo em diclorometano durante aproximadamente 1 hora, obtiveram-se as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123** na forma de sal de trietilamónio com rendimentos de 32-50 %. Não foi possível obter as 1,4-dihidropiridinas a partir do 4-metoxibenzaldeído, 3,4-dihidroxibenzaldeído e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído. Na reacção com o primeiro aldeído aromático só foi possível isolar o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124**. Nas reacções com os outros dois aldeídos aromáticos ocorreu degradação do meio reaccional.

O esquema mecanístico seguinte mostra que a reacção deve ocorrer por ataque nucleofílico de 2 moléculas de anião malononitrilo ao carbono carbonílico do aldeído aromático e seguido de um novo ataque nucleofílico de uma terceira molécula de anião malonitrilo a um grupo ciano presente no intermediário. Segue-se uma ciclização intramolecular que origina as 1,4-dihidropiridinas isoladas na forma de sal de trietilamónio **121-123**.

Uma tentativa de neutralizar as 1,4-dihidropiridinas **122** e **123** por adição de ácido acético levou à formação das piridinas correspondentes ou a produtos de degradação. Assim, só foi possível obter a 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilenopiridina **125** e a 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126**. Foram anteriormente sintetizados compostos análogos por substituição do átomo de halogéneo nas 2-amino-6-halo-3,5-dicianopiridinas pelo grupo dicianometilo [97].

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das 1,4-dihidropiridinas **121-123** na forma de sal de trietilamónio e piridinas **124-126** são apresentados na secção 2.4.2.



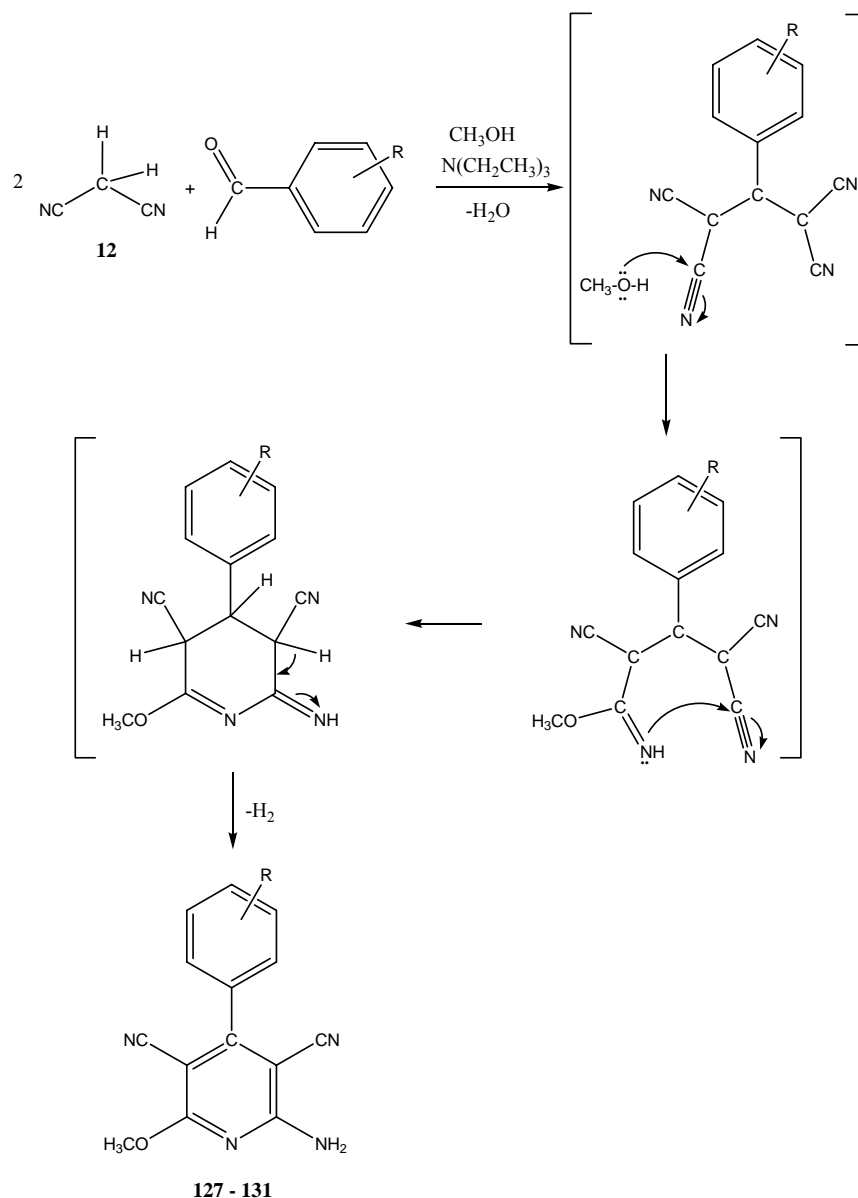


2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

A reacção de aldeídos aromáticos com dois equivalentes de malononitrilo **12** e na presença de trietilamina, sob refluxo em metanol durante um período que variava entre 1 h 30 min a 6 h 30 min, levou à formação das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131** com os rendimentos de 17-30 %. Não foi possível obter a piridina a partir do 3,4,5-trihidroxibenzaldeído porque ocorreu degradação do meio reaccional.

Os dados analíticos e espectroscópicos de IV, ^1H e ^{13}C RMN das piridinas **127-131** são apresentados na secção 2.4.2.

Foi reportada na literatura a síntese de compostos análogos por reacção de aldeídos não-fenólicos com malononitrilo [77, 78, 79]. O mecanismo proposto envolve ataque nucleofílico de 2 moléculas do anião de malononitrilo **12** ao carbono carbonílico do aldeído aromático. Em seguida, uma molécula de álcool ataca o carbono de um grupo ciano presente no intermediário, gerando um grupo imidato que participa na ciclização intramolecular com formação da piridina.

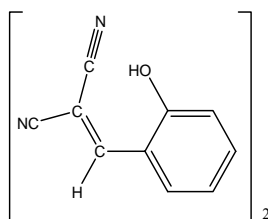


2.4.2. Caracterização analítica e espectroscópica

2.4.2.1. Dados físicos e analíticos

Benzilidenomalononitrilos e derivados

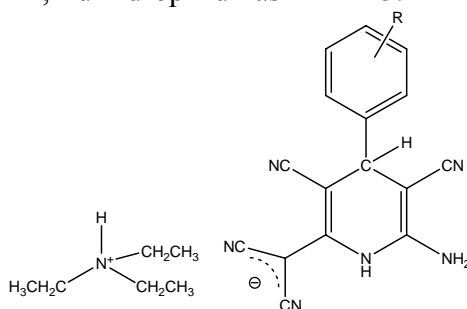
A estrutura do composto sintetizado **120** foi atribuída com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H ^{13}C RMN e análise elementar. Os dados analíticos apoiavam a fórmula empírica do composto, embora estivesse parcialmente hidratado. Os dados físicos e analíticos apresentam-se na tabela 2.83.

Tabela 2.84. Dados físicos e analíticos para o dímero do 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo **120**.


Comp	R	Rend. (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
120	2-OH	87	165-166	C ₂₀ H ₁₂ N ₄ O ₂ .0,1H ₂ O	69,9 (69,9)	3,9 (3,6)	16,2 (16,3)

Sal de trietilamônio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

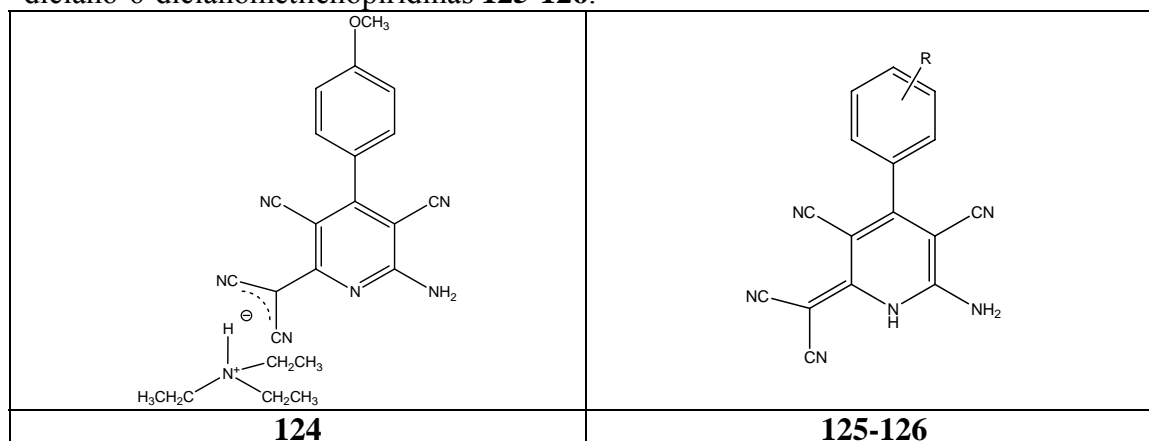
As estruturas das 1,4-dihidropiridinas **121-123**, isoladas na forma de sal de trietilamônio, foram atribuídas com base nas espectroscopias de IV, ¹H, ¹³C RMN e análise elementar (Tab. 2.84). Os dados obtidos na análise elementar permitiram concluir que todos os compostos se apresentavam parcialmente hidratados.

Tabela 2.85. Dados físicos e analíticos para o sal de trietilamônio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123**.


Comp	R	Rend. (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/calculados (%)		
					C	H	N
121	2-OH	50	130-133	C ₂₂ H ₂₅ N ₇ O.0,6H ₂ O	63,5 (63,8)	6,2 (6,4)	23,8 (23,7)
122	3-OH	32	192-195	C ₂₂ H ₂₅ N ₇ O.0,1H ₂ O	65,2 (65,2)	6,4 (6,3)	24,0 (24,2)
123	4-OH	48	187-189	C ₂₂ H ₂₃ N ₇ O.0,3H ₂ O	64,9 (64,9)	5,8 (5,9)	24,3 (24,1)

As estruturas das piridinas **124** na forma de sal de trietilamónio, **125** e **126** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H e ^{13}C RMN e análise elementar (Tab. 2.85). Os dados analíticos apoiavam as fórmulas empíricas dos compostos na forma parcialmente hidratada.

Tabela 2.86. Dados físicos e analíticos para o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** e para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometilpiridinas **125-126**.

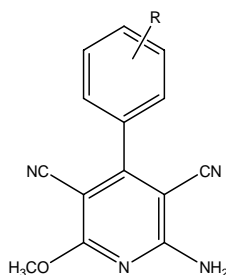


Comp	R	Rend. (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)		
					C	H	N
124	4- OCH ₃	26	193-196	C ₂₃ H ₂₅ N ₇ O	66,2 (66,5)	5,9 (6,1)	23,6 (23,6)
125	4- OCH ₃	81	287-290	C ₁₇ H ₁₀ N ₆ O.0,6H ₂ O	62,8 (62,8)	3,6 (3,5)	25,8 (25,9)
126	4-OH	86	> 300 ^a	C ₁₆ H ₈ N ₆ O.0,8H ₂ O	61,2 (61,2)	3,1 (3,1)	26,7 (26,8)

^a Decomposição.

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

As estruturas das metoxipiridinas sintetizadas **127-131** foram atribuídas com base na análise dos seus espectros de IV, ^1H e ^{13}C RMN, massa e análise elementar. Os dados obtidos na análise elementar dos compostos **127** e **128** estavam de acordo com a estrutura proposta. Não foi possível obter análises elementares correctas para os compostos **129-131**, tendo sido obtidos os espectros de massa pela técnica de FAB e as suas fórmulas empíricas confirmadas através de espectrometria de massa de alta resolução (HRMS).

Tabela 2.87. Dados físicos e analíticos para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131**.

Comp	R	Rend. (%)	p.f. (°C)	Fórmula Molecular	Valores obtidos/ calculados (%)			m/z^a (M+1) ⁺ (M)
					C	H	N	
127	4-OCH ₃	26	278-281	C ₁₅ H ₁₂ N ₄ O ₂ . 0,2H ₂ O	63,7 (63,5)	4,6 (4,4)	19,4 (19,8)	-
128	2-OH	17	221-223	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₂	63,0 (63,0)	4,0 (3,8)	20,7 (21,0)	-
129	3-OH	24	265-268	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₂	267,0992 ^b (267,0837)			267 (266)
130	4-OH	30	280-283	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₂	267,0885 ^b (267,0837)			267 (266)
131	3,4-OH	21	292-295	C ₁₄ H ₁₀ N ₄ O ₃	283,0839 ^b (283,0786)			283 (282)

^a FAB. ^b HRMS.

2.4.2.2. Espectroscopia de infravermelho

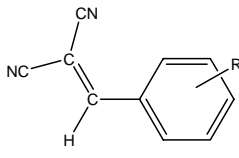
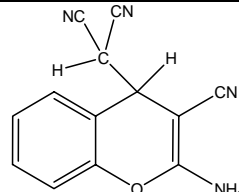
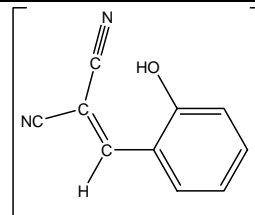
Benzilidenomalononitrilos e derivados

Nos espectros de IV dos benzilidenomalononitrilos **113-117**, a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação O-H surge na região entre 3459 e 3028 cm⁻¹, as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das duas ligações C≡N surgem a 2222-2242 cm⁻¹, a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C=C surge a 1617-1512 cm⁻¹ [76].

No espectro de IV do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119**, a banda correspondente à vibração de estiramento da ligação N-H surge na região entre 3457 e 3027 cm⁻¹, as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das três ligações C≡N surgem a 2195 e 2152 cm⁻¹, as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C=C surgem a 1642-1575 cm⁻¹ [96].

No espectro de IV do composto **120** observam-se bandas na região característica das vibrações de estiramento da ligação N-H e C_{sp2}-H, duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C≡N a 2225 e 2195 cm⁻¹ e bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações C=C de acordo com os dados da tabela.

Tabela 2.88. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm⁻¹) para os benzilidenomalononitrilos **113-117** e derivados **119-120**.

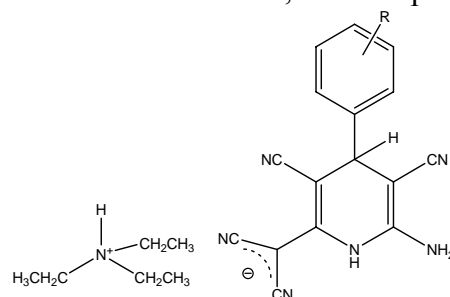
		
113-117	119	120

Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
113 [76]	4-OCH ₃	3029f	2222i(l)	1605i, 1571i, 1557i, 1513i	1447i, 1427m, 1328m, 1319i, 1278i, 1237m, 1183i, 1154m
119 [96]	2-OH	3457i, 3334i, 3233m, 3199m, 3027f	2195i, 2152f	1642i, 1615m, 1603i, 1575i	1488m, 1424i, 1324m, 1271i, 1223i, 1197m, 1170m, 1157m, 1108m
120	2-OH	3458i, 3337i, 3218m, 3048f	2225m, 2196i	1667i, 1646i, 1611i, 1600i, 1578i, 1566i	1491i, 1419i, 1334m, 1272i, 1222i, 1191i, 1154m, 1118m, 1108m
114 [76]	3-OH	3369i(l), 3032f	2242i, 2224m	1615m, 1585i, 1573i	1466i, 1344i, 1324i, 1290m, 1235i, 1181i, 1164m
115 [76]	4-OH	3454f, 3350m, 3030mf	2235m, 2226i	1611i, 1579i, 1565i, 1519i	1461i, 1446i, 1321m, 1299i, 1221m, 1174i, 1112f
116 [76]	3,4-OH	3459i, 3287i, 3028f	2237i, 2224i	1615m, 1597m, 1574i, 1529i,	1461i, 1408m, 1315i, 1272m, 1212i, 1180i, 1162m, 1121i
117 [76]	3,4,5-OH	3440i, 3336i, 3285i, 3027f	2236i, 2225i	1617m, 1606m, 1577i, 1530i	1459i, 1359m, 1317i, 1298i, 1249m, 1204i, 1165i

Sal de trietilamônio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

O espectro de infravermelho sugeria que as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123** se encontravam na forma de sal de trietilamônio devido ao conjunto de bandas largas entre 2730-2726 cm^{-1} (Tab. 2.88). Na região entre 3448-2726 cm^{-1} surgem as bandas atribuídas às vibrações de estiramento das ligações N-H, O-H e $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$. As vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ da molécula surgem no intervalo 2200-2134 cm^{-1} . As bandas devidas às vibrações de deformação angular da ligação N-H e às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ aparecem entre 1642-1523 cm^{-1} .

Tabela 2.89. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para o sal de trietilamônio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123**.

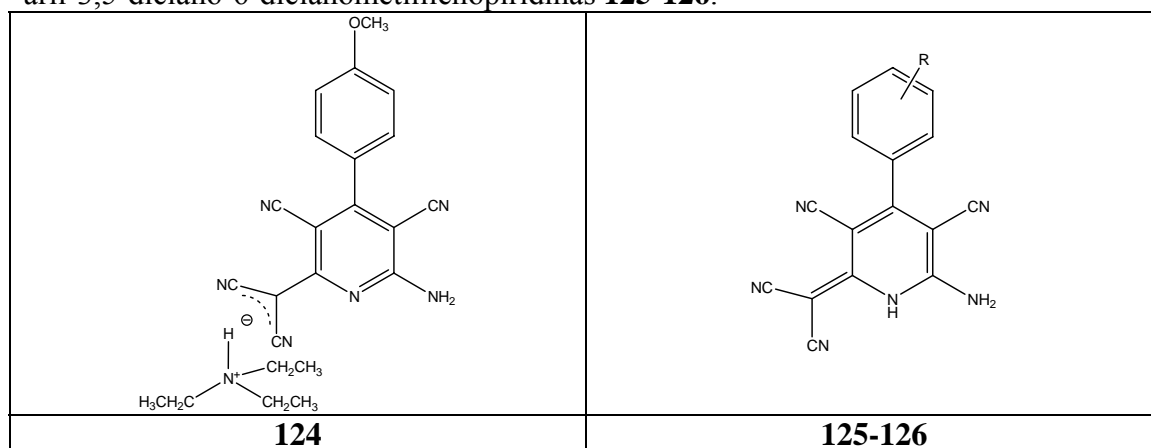


Comp	R	4000-2500	CN	1700-1500	1500-1100
121	2-OH	3436m, 3333i, 3179m, 2726m(l)	2195i, 2170i, 2141i	1642i, 1620i, 1599i, 1585i, 1552i	1487i, 1356i, 1293m, 1280i, 1237m, 1224i, 1174m, 1157i
122	3-OH	3442m, 3349i, 3214i(l), 2730m(l)	2197i, 2173i, 2134i	1638i, 1618i, 1590i, 1551i, 1523m	1492i, 1481i, 1361m, 1337i, 1276i, 1204i, 1177i, 1157i
123	4-OH	3448m, 3337i, 3218i(l), 2730m(l)	2200i, 2171i, 2144i	1641i, 1612i, 1594i, 1562m	1498i, 1413i, 1343i, 1324i, 1264i, 1212i, 1183i, 1170i

O espectro de IV da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126** apresenta as bandas correspondentes às vibrações de estiramento da ligação N-H, O-H e $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ na região entre 3363-3209 cm^{-1} (Tab. 2.89). A 2218 e 2190 cm^{-1} surgem duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$, a primeira das quais é muito intensa e larga. A região compreendida

entre $1644\text{-}1512\text{ cm}^{-1}$ é caracterizada por um conjunto de bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ e às vibrações de deformação angular da ligação N-H . O espectro deste composto é muito semelhante ao da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilenopiridina **125**, surgindo as duas bandas correspondentes às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}\equiv\text{N}$ a 2218 e 2191 cm^{-1} .

Tabela 2.90. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para o sal de trietilamônio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** e para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometilpiridinas **125-126**.



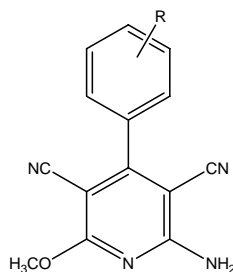
Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
124	4-OCH ₃	3431m, 3330m, 3221m, 3118m, 2735f(l)	2210m, 2187i, 2159i	1638i, 1606i, 1577m, 1550i, 1529m	1498i, 1428i, 1397m, 1296m, 1252i, 1235m, 1175m, 1156m, 1110f
125	4-OCH ₃	3364m, 3302m, 3210m, 3089f	2218i(l), 2191m	1644i, 1608m, 1577m, 1561i, 1515m	1419f, 1300m, 1294m, 1263m, 1184m, 1125f
126	4-OH	3363m, 3301i, 3209i, 3084f	2218i(l), 2190i	1644i, 1609i, 1559i, 1512i	1302i, 1292i, 1246i, 1224i, 1207i, 1179i, 1115m

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

Nos espectros de IV das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131** surgem bandas correspondentes às vibrações de estiramento da ligação N-H , O-H e $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ entre $3455\text{-}3226\text{ cm}^{-1}$. Na região entre $2234\text{-}2201\text{ cm}^{-1}$ surgem as bandas correspondentes às vibrações de estiramento das duas ligações $\text{C}\equiv\text{N}$. As vibrações de

estiramento das ligações C=C e C=N aparecem representadas por várias bandas entre 1654 e 1517 cm^{-1} .

Tabela 2.91. Dados espectroscópicos de IV (Nujol / cm^{-1}) para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131**.



Comp	R	4000-3000	CN	1700-1500	1500-1100
127	4-OCH ₃	3423m, 3330i, 3230m	2222i, 2210i	1637i, 1608m, 1587i, 1568i, 1547i, 1517i	1490m, 1421m, 1314f, 1301m, 1291m, 1258m, 1244m, 1201f, 1182m
128	2-OH	3441m, 3349i, 3240m	2210i, 2201m	1644i, 1609i, 1593i, 1556i	1490i, 1351m, 1305m, 1284m, 1229m, 1209m, 1135m, 1122m, 1101f
129	3-OH	3382m, 3326i, 3226i	2234i, 2217i	1654i, 1594i, 1576i, 1542i	1498i, 1332i, 1297m, 1281i, 1240f, 1228m, 1204m, 1143f, 1138m
130	4-OH	3455m, 3340i(l), 3232i	2231i, 2219i	1649i, 1615i, 1597m, 1575i, 1544i, 1521i	1496m, 1306m, 1288i, 1238i, 1212i, 1179m, 1145m, 1119f
131	3,4-OH	3515m, 3441m, 3355i(l), 3245i	2219i(l)	1648i, 1626m, 1574i, 1544i, 1521i	1499m, 1412m, 1335m, 1288i, 1274i, 1207m, 1147m, 1122m

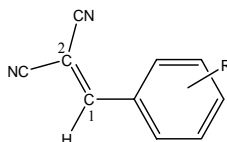
2.4.2.3. Espectroscopia de ¹H RMN

Benzilidenomalononitrilos e derivados

Nos espectros de ¹H RMN dos arilidenomalononitrilos **113-117**, o C₁-H surge como um singlete a δ 8,11-8,41 ppm, o O-H surge a δ 9,00-11,02 ppm, o OCH₃ aparece

a δ 3,87 ppm e os prótons aromáticos do fenol surgem no intervalo δ 6,91-7,95 ppm [76].

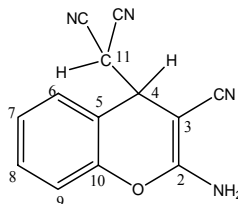
Tabela 2.92. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para os benzilidenomalononitrilos **113-117**.



Comp	R	C ₁ -H	Ar
113 [76]	4-OCH ₃	8,35 (s,1H)	7,95(d;9,0;2H); 7,15(d;9,0;2H); 3,87(s;3H; OCH ₃ ')
114 [76]	3-OH	8,41 (s,1H)	7,37(m;1H); 7,40(t;7,5;1H); 7,35(m;1H); 7,07(ddd;J ₁ 7,5;J ₂ 2,7;J ₃ 1,5;1H); 10,11(s;1H;OH')
115 [76]	4-OH	8,29 (s,1H)	7,88(d;8,7;2H); 6,96(d;8,7;2H); 11,02(s;3H; OH')
116 [76]	3,4-OH	8,17 (s,1H)	7,53(d;2,4;1H); 7,31(dd;J ₁ 8,4;J ₂ 2,4;1H); 6,91(d;8,4;1H); 9,0-11,0(sl;<2H;OH')
117 [76]	3,4,5-OH	8,11 (s,1H)	7,05(s;2H); 9,76(s;3H;OH')

No espectro de ^1H RMN do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119**, o C₄-H surge como um duplete a δ 4,58 ppm acoplado com C₁₁-H que também surge como um duplete a δ 5,06 ppm [96]. O NH₂ surge a δ 7,50 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 7,13-7,47 ppm.

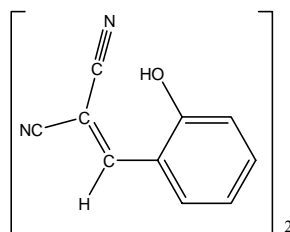
Tabela 2.93. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para o 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119**.



Comp	C ₄ -H	C ₆ -H	C ₇ -H	C ₈ -H	C ₉ -H	C ₁₁ -H	NH ₂
119 [96]	4,58 (d;3,9; 1H)	7,47 (dd;J ₁ 7,8; J ₂ 1,5;1H)	7,26 (dt;J ₁ 7,5; J ₂ 0,9; 1H)	7,42 (dt;J ₁ 7,5; J ₂ 1,8; 1H)	7,13 (dd;J ₁ 8,1; J ₂ 0,9;1H)	5,06 (d;3,9; 1H)	7,50 (s; 2H)

No espectro de ^1H RMN do composto **120** observam-se dois sinais a δ 5,85 e 8,37 ppm que integram para um próton cada um e não trocam com D_2O , um sinal a δ 7,14 ppm que integra para dois prótons e troca com D_2O e no intervalo δ 7,00-7,70 ppm aparecem os sinais correspondentes aos prótons aromáticos (Tab. 2.93).

Tabela 2.94. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) para o dímero do 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo **120**.

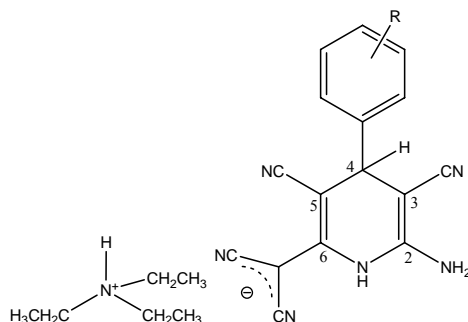


Comp	Deslocamentos químicos dos prótons
120	8,37(s;1H); 7,00-7,70 (m;8H); 7,14 (s; 2H); 5,85(s;1H)

Sal de trietilamônio de 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

Os espectros de ^1H RMN do sal de trietilamônio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123** apresentam um singlete a δ 3,81-4,38 ppm correspondente ao próton ligado a C_4 (Tab. 2.94). O grupo NH_2 ligado a C_2 surge como um singlete a δ 5,83-5,97 ppm e o próton $\text{N}_1\text{-H}$ aparece a δ 7,72-7,79 ppm e desaparecem ambos por adição de D_2O . O próton do grupo OH do fenol surge a δ 9,23-9,32 ppm e os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,50-7,06 ppm. No espectro, aparece também um singlete largo a δ 8,4-9,4 ppm correspondente ao $\text{N}^+\text{-H}$ e o tripleto a δ 1,15-1,16 ppm associado ao quarteto a δ 3,06-3,07 ppm confirma a presença do grupo etilo do sal de trietilamônio. Adicionalmente, a dihidropiridina **121** com o substituinte 2-hidroxifenilo tem o sinal de $\text{C}_4\text{-H}$ desviado para campo mais baixo devido provavelmente ao efeito anisotrópico do anel benzênico. Devido à presença de um substituinte volumoso na posição 2 do anel benzênico, este deve rodar de tal modo que o próton em C_4 pode ficar numa zona em que o campo induzido pelo sistema aromático irá reforçar o campo exterior e como tal, a sua ressonância passará a situar-se para valores de δ mais altos.

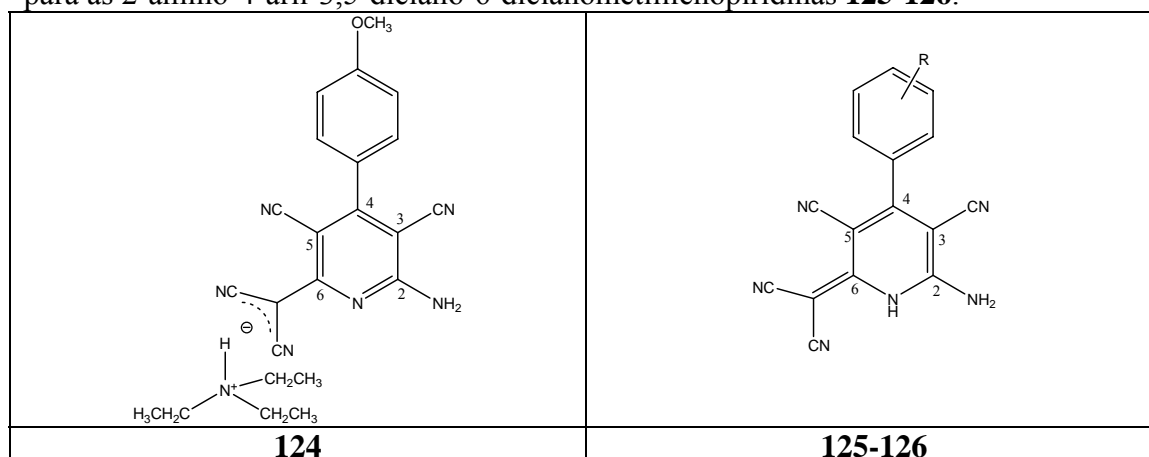
Tabela 2.95. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para o sal de trietilamônio de 2-amino-4-*aryl*-3,5-diciano-6-(dicianometil)-1,4-dihidropiridinas **121-123**.



Comp	R	C ₄ -H	NH	NH ₂	⁺ NH	Et	Ar
121	2-OH	4,38 (s;1H)	7,72 (s;1H)	5,83 (s;2H)	8,40-9,20 (sml;1H)	1,15 (t;J7,2;9H;CH ₃); 3,06 (q;J7,2;6H;CH ₂)	6,70-6,80 (m;2H;H' ₃₊₅); 6,90-7,00 (m;2H;H' ₄₊₆); 9,26 (s;1H;OH')
122	3-OH	3,81 (s;1H)	7,79 (s;1H)	5,97 (s;2H)	8,40-9,40 (sml;1H)	1,15 (t;J7,2;9H;CH ₃); 3,07 (q;J7,2;6H;CH ₂)	6,50-6,60 (m;3H;H' ₂₊₄₊₆); 7,06 (t;J8,1;1H;H' ₅); 9,32 (s;1H;OH')
123	4-OH	3,81 (s;1H)	7,74 (s;1H)	5,92 (s;2H)	8,6-9,2 (sml;1H)	1,16 (t;J7,2;9H;CH ₃); 3,07 (q;J7,2;6H;CH ₂)	6,89 (d;J8,4;2H;H' ₂₊₆); 6,67 (d;J8,4;2H;H' ₃₊₅); 9,23 (s;1H;OH')

O espectro de ^1H RMN da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126** apresenta um singlete muito largo a δ 6,60-8,40 ppm correspondente aos prótons N₁-H, NH₂ e OH integrando para 4 H, que desaparece por a adição de D₂O. Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,87-7,29 ppm. No espectro da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilenopiridina **125** surge o sinal correspondente ao próton N₁-H a δ 8,82, NH₂ a 6,82 ppm, os prótons do anelo surgem a δ 7,03-7,34 ppm e OCH₃ a 3,81 ppm.

Tabela 2.96. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para o sal de trietilamônio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** e para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometililenopiridinas **125-126**.

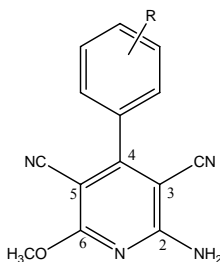


Comp	R	NH	NH ₂	⁺ NH	Et	Ar
124	4-OCH ₃	^a	6,82 (s;2H)	8,82 (sl;1H)	1,16 (t;J7,2;9H;CH ₃); 3,08 (q;J7,2;6H;CH ₂)	7,34(d;J8,4;2H;H' _o); 7,03(d;J8,4;2H;H' _m); 3,81(s;3H; OCH ₃ ')
125	4-OCH ₃	6,6-8,4 (sml;3H)	6,6-8,4 (sml;3H)	-	-	7,40(d;J8,7;2H;H' _o); 7,07(d;J8,7;2H;H' _m); 3,82(s;3H;OCH ₃ ')
126	4-OH	6,6-8,8 (sml;4H)	6,6-8,8 (sml;4H)	-	-	7,29(d;J6,9;2H;H' _o); 6,87(d;J6,9; 2H;H' _m); 6,6-8,8(sml;4H;OH')

^a Não é visível.

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

Nos espectros de ^1H RMN das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131** verifica-se que os prótons do OCH₃ ligado a C₆ surgem a δ 3,94-3,95 ppm. O grupo NH₂ ligado a C₂ surge como um singlete largo a δ 7,86-7,96 ppm e o OH do fenol aparece a δ 9,28-10,06 ppm, sinais que desaparecem por adição de água. Os prótons aromáticos surgem no intervalo δ 6,78-7,47 ppm. Na piridina **127**, o sinal correspondente ao grupo OCH₃ ligado ao anel aromático surge a 3,83 ppm.

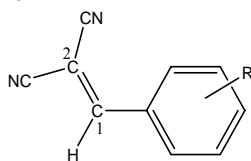
Tabela 2.97. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131**.

Comp	R	NH ₂	OCH ₃	Ar
127	4-OCH ₃	7,93(sl;2H)	3,95(s;3H)	7,47(dd;J ₁ 9,0;J ₂ 2,7;2H;H' ₂₊₆); 7,10(dd;J ₁ 9,0;J ₂ 2,7;2H;H' ₃₊₅); 3,83(sl;1H;OCH ₃ ')
128	2-OH	7,90(sl;2H)	3,95(s;3H)	6,98(d;J ₈ 1,1;1H;H' ₃); 7,30(dt;J ₁ 7,5;J ₂ 1,8;1H;H' ₄); 6,91(t;J ₇ 5,1;1H;H' ₅); 7,18(dd;J ₁ 7,5;J ₂ 1,8;1H;H' ₆); 10,06(s;1H;OH')
129	3-OH	7,96(sl;2H)	3,95(s;3H)	6,84(d;J ₂ 1,1;1H;H' ₂); 6,93(dd;J ₁ 8,0;J ₂ 2,4;1H;H' ₄); 7,33(t;J ₈ 0,1;1H;H' ₅); 6,87(d;J ₈ 0,1;1H;H' ₆); 9,86(s;1H;OH')
130	4-OH	7,90(sl;2H)	3,95(s;3H)	7,35(dd;J ₁ 6,6;J ₂ 2,1;2H;H' ₂₊₆); 6,90(dd;J ₁ 6,6;J ₂ 2,1;2H;H' ₃₊₅); 10,04(sl;1H;OH')
131	3,4-OH	7,86(sl;2H)	3,94(s;3H)	6,88(d;J ₂ 1,1;1H;H' ₂); 6,86(d;J ₈ 1,1;1H;H' ₅); 6,78(dd;J ₁ 8,1;J ₂ 2,1;1H;H' ₆); 9,28(sl;2H;OH')

2.4.2.4. Espectroscopia de ^{13}C RMN

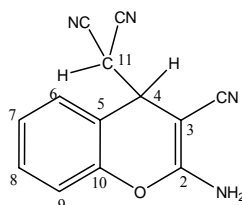
Benzilidenomalononitrilos e derivados

Nos espectros de ^{13}C RMN dos benzilidenomalononitrilos **113-117**, o C₁ surge a δ 160,40-161,63 ppm, o C₂ a δ 74,37-81,14 ppm, os dois grupos ciano correspondem a dois sinais no espectro a δ 113,21-115,44 ppm e os carbonos da unidade fenólica surgem no intervalo δ 110,94-164,34 ppm [76].

Tabela 2.98. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para os benzilidenomalononitrilos **113-117**.

Comp	R	C ₁	C ₂	CN	Ar
113 [76]	4-OCH ₃	160,40	76,80	114,79; 113,89	164,34; 133,36; 124,11(C' ₁); 115,17; 55,89(OCH ₃ ')
114 [76]	3-OH	161,63	81,14	114,32; 113,21	157,91; 132,42(C' ₁); 130,62; 122,07; 121,84; 116,12
115 [76]	4-OH	160,53	75,09	115,15; 114,23	163,97; 133,93; 122,81(C' ₁); 116,66
116 [76]	3,4-OH	160,63	74,41	115,33; 114,28	153,36; 146,03; 127,03; 123,24(C' ₁); 116,17; 116,02
117 [76]	3,4,5-OH	161,00	74,37	115,44; 114,32	146,17; 141,78; 122,02(C' ₁); 110,94

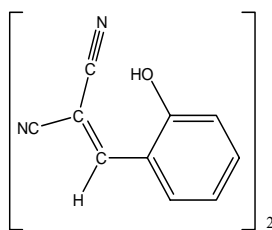
Os valores dos deslocamentos químicos obtidos no espectro de ^{13}C RMN do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119** estão apresentados na tabela 2.99 [96]. De notar que são visíveis os sinais correspondentes aos três grupos ciano, correspondendo o pico a δ 119,37 ppm ao grupo ligado a C₃.

Tabela 2.99. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para o 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119**.

Comp	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇
119 [96]	163,44	48,85	37,09	117,97	128,86	125,06
	C ₈	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	CN	
	130,17	116,38	149,47	32,41	119,37 no C ₃ ; 113,08; 112,93	

Na tentativa de interpretação do espectro de ^{13}C RMN do composto **120** (dímero do 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo), identificou-se um sinal a δ 48,47 ppm no espectro de HMQC correspondente a um carbono com hibridização sp^3 directamente ligado ao protão que surge a δ 5,85 ppm e outro sinal a δ 146,32 ppm correspondente a um carbono com hibridização sp^2 ligado directamente ao protão que surge a δ 8,37 ppm (Tab. 2.99). Não foi possível, com base nos dados dos espectros de correlação (HMBC e HMQC) propôr uma estrutura plausível para o produto e este assunto está ainda a ser investigado.

Tabela 2.100. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para o dímero do 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo **120**.



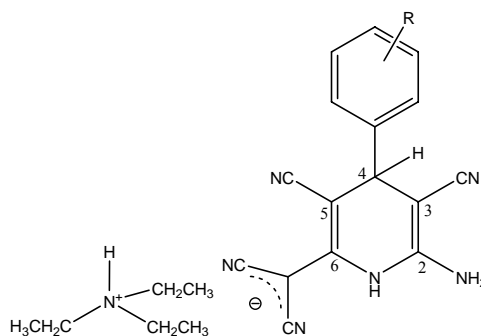
Comp	Deslocamentos químicos dos carbonos
120	161,83; 153,03; 148,83; 146,32; 146,00; 134,16; 129,47; 129,05; 128,99; 124,78; 124,28; 122,14; 120,38; 117,52; 116,05; 115,95; 114,99; 104,48; 54,86; 48,47

Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

Nos estudos de espectroscopia de ^{13}C RMN do sal de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123** utilizou-se a técnica de HMQC e HMBC (Tab. 2.100). O espectro de HMQC mostra o acoplamento a 1 ligação entre o $^1\text{H}-^{13}\text{C}_4$, entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica e ainda, entre o $^{13}\text{C}-^1\text{H}_2$ e entre o $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ do sal de trietilamónio. No espectro de HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o C_4-^1H e $^{13}\text{C}_2$, entre o C_4-^1H e $^{13}\text{C}_6$, entre o C_4-^1H e $\text{C}_3-^{13}\text{C}\equiv\text{N}$, entre o C_4-^1H e $\text{C}_5-^{13}\text{C}\equiv\text{N}$, entre o C_4-^1H e os carbonos na posição *orto* da unidade fenólica, entre os protões na posição *orto* da unidade fenólica e o $^{13}\text{C}_4$, entre $\text{C}_2-\text{N}-^1\text{H}_2$ e $^{13}\text{C}_3$, entre o $^1\text{H}-\text{N}_1$ e $^{13}\text{C}_3$, entre o $^1\text{H}-\text{N}_1$ e $^{13}\text{C}_5$, entre o $^1\text{H}-\text{N}_1$ e $^{13}\text{C}_7$ e ainda o acoplamento a duas ligações entre o C_4-^1H e $^{13}\text{C}_3$, entre o C_4-^1H e $^{13}\text{C}_5$, entre o C_4-^1H e o carbono na posição *ipso* da unidade fenólica, entre o $^1\text{H}-\text{N}_1$ e $^{13}\text{C}_6$.

Assim, atribuiu-se o desvio químico de C₂ a δ 150,61-151,15 ppm, C₃ a δ 55,84-56,31 ppm, C₄ a δ 33,97-41,93 ppm, C₅ a δ 66,62-67,30 ppm, C₆ a δ 146,30-147,02 ppm, C₇ a δ 28,47-28,88 ppm, C≡N a 121,30-122,04, os carbonos da unidade fenólica a δ 113,46-157,45 ppm e os carbonos do sal de trietilamónio a 45,76-45,78 ppm (CH₂) e a 8,66-8,70 ppm (CH₃). Verifica-se uma excelente concordância entre os valores dos desvios

Tabela 2.101. Dados espectroscópicos de ¹³C RMN (DMSO-d₆) para o sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123**.



Com	R	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	CN	Et	Ar
121	2-OH	151,15	56,00	33,97	66,77	147,02	28,47	122,04 (C _{3/5}); 121,78 (C _{3/5}); 121,30 (C ₇)	8,70 (CH ₃); 45,76 (CH ₂)	133,22(C' ₁); 153,88(C' ₂); 114,97(C' ₃); 127,01(C' ₄); 119,08(C' ₅); 128,42(C' ₆)
122	3-OH	150,80	55,84	41,93	66,62	146,64	28,88	121,38 (C _{3/5}); 121,75 (C _{3/5}); 121,81 (C ₇)	8,66 (CH ₃); 45,78 (CH ₂)	148,39(C' ₁); 113,46 [?] (C' ₂); 157,45(C' ₃); 113,55 [?] (C' ₄); 129,20(C' ₅); 117,37(C' ₆)
123	4-OH	150,61	56,31	41,17	67,30	146,30	28,69	121,94 (C _{3/5}); 121,45 (C _{3/5}); 121,89 (C ₇)	8,67 (CH ₃); 45,77 (CH ₂)	137,44(C' ₁); 127,68(C' _o); 115,04(C' _m); 156,04(C' ₄)

[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

químicos registados para os carbonos destes compostos, excepto para o carbono C₄ da dihidropiridina **121** que se desvia para campo mais alto. Podemos verificar que o valor de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estas dihidropiridinas está a campo mais baixo relativamente ao carbono equivalente nos benzilidenomalononitrilos **113-117** precursores, indicando que este átomo de carbono

nestas dihidropiridinas está ligado a uma estrutura com maior capacidade de doar electrões à unidade fenólica.

A interpretação do espectro de ^{13}C RMN da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilpiridina **126** foi feita com o auxílio das técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.101). No espectro de HMQC e HMBC observou-se o

Tabela 2.102. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** e para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometilpiridinas **125-126**.

<p>124</p>	<p>125-126</p>
-------------------	-----------------------

Comp	R	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	CN	Et	Ar
124	4-OCH ₃	158,87	80,37	159,40	85,17	162,86	43,23	117,16 116,81	8,67 (CH ₃) 45,78 (CH ₂)	127,79(C' ₁) 130,13(C' _o) 113,76(C' _m) 160,14(C' ₄) 55,23(OCH ₃)
125	4-OCH ₃	156,73	81,32	157,58	85,89	161,07	44,05	115,58 115,35	-	126,75(C' ₁) 130,18(C' _o) 113,98(C' _m) 160,76(C' ₄) 55,36(OCH ₃)
126	4-OH	156,50	81,27	157,08	85,83	161,54	43,99	115,26 115,49	-	124,93(C' ₁) 130,27(C' _o) 115,32(C' _m) 159,45(C' ₄)

acoplamento a uma e três ligações entre os protões e carbonos aromáticos pertencentes à unidade fenólica, respectivamente. Não foram observadas correlações entre os protões em N-H e NH₂ e os carbonos do anel de piridina. Deste modo, atribuiu-se o desvio químico de C₂ a δ 156,50 ppm, C₃ a δ 81,27 ppm, C₄ a δ 157,08 ppm, C₅ a δ 85,83 ppm, C₆ a δ 161,54 ppm, C₇ a δ 43,99 ppm, C \equiv N a δ 115,26 e 115,49 ppm e os carbonos do

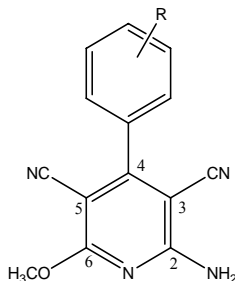
fenol a δ 115,32-159,45 ppm. Podemos verificar que o valor de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada à piridina **126** está a campo ligeiramente mais baixo relativamente ao carbono equivalente no 4'-hidroxibenzilidenomalononitrilo **115** e mais alto em relação ao carbono equivalente na 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **123**, reflectindo diferentes efeitos electrónicos destas estruturas sobre a unidade fenólica. Os deslocamentos químicos dos sinais observados nos espectros desta piridina são semelhantes aos da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilenopiridina **125**, surgindo o sinal correspondente ao OCH₃ a δ 55,23 ppm.

2-Amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

A interpretação dos espectros de ¹³C RMN das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131** foi feita com o auxílio das técnicas de HMQC e HMBC (Tab. 2.102). No espectro de HMQC observou-se o acoplamento a uma ligação entre o O-¹³C-¹H₃ ligado ao C₆ e entre os ¹H-¹³C aromáticos pertencentes à unidade fenólica. No espectro HMBC observou-se o acoplamento a três ligações entre o ¹H₃-C-O e ¹³C₆ e entre os hidrogénios na posição *orto* da unidade fenólica e ¹³C₄. Deste modo, atribuiu-se o desvio químico de C₂ a δ 160,99-161,31 ppm, C₃ a δ 83,13-84,52 ppm, C₄ a δ 159,26-160,82 ppm, C₅ a δ 82,97-84,49 ppm, C₆ a δ 165,56-165,93 ppm, OCH₃ a δ 54,66-54,73 ppm, C \equiv N a δ 115,06-115,84 ppm e os carbonos do arilo a δ 114,99-160,43 ppm. Na piridina **127**, o sinal correspondente ao OCH₃ do grupo arilo surge a 55,35 ppm. Continua a verificar-se uma excelente concordância dos valores dos desvios químicos registados para todos os carbonos destas piridinas. Podemos verificar que os valores de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligada a estas piridinas estão a campo mais alto relativamente ao carbono equivalente nos sais de trietilamónio das 2-amino-4-aril-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123**, indicando que este átomo de carbono nestas piridinas está ligado a uma estrutura com maior capacidade de retirar electrões. Adicionalmente, verifica-se que o valor de deslocamento químico do carbono na posição *ipso* da unidade fenólica ligado à 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina **130** está a campo muito semelhante relativamente ao carbono equivalente na 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126** respectiva, indicando que estas duas

estruturas de piridina exercem um efeito electrónico equivalente sobre a unidade fenólica.

Tabela 2.103. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN (DMSO- d_6) para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131**.



Comp	R	C ₂	C ₃ [?]	C ₄	C ₅ [?]	C ₆	OCH ₃	CN	Ar
127	4-OCH ₃	161,27	83,31	160,76	83,15	165,89	54,70	115,73 115,28	126,04(C' ₁); 130,15(C' ₂₊₆); 114,04(C' ₃₊₅); 160,43(C' ₄); 55,35(OCH ₃ ')
128	2-OH	160,99	84,52	159,26	84,49	165,56	54,67	115,46 115,06	121,41(C' ₁); 154,13(C' ₂); 116,07(C' ₃); 131,35(C' ₄); 119,02(C' ₅); 129,59(C' ₆)
129	3-OH	161,17	83,29	160,79	83,12	165,78	54,73	115,43	135,29(C' ₁); 114,99(C' ₂); 157,32(C' ₃); 117,15(C' ₄); 129,91(C' ₅); 118,82(C' ₆)
130	4-OH	161,30	83,16	160,75	83,00	165,93	54,67	115,84	124,37(C' ₁); 130,21(C' ₂₊₆); 115,35(C' ₃₊₅); 159,37(C' ₄)
131	3,4-OH	161,31	83,13	160,82	82,97	165,93	54,66	115,38	124,77(C' ₁); 115,58(C' ₂); 145,18(C' ₃); 147,56(C' ₄); 115,78(C' ₅); 120,11(C' ₆)

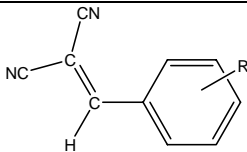
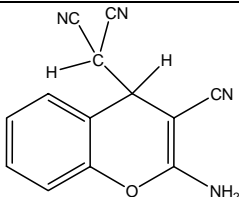
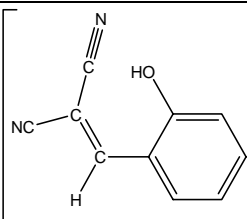
[?] A atribuição dos núcleos de carbono assinalados pode ser feita ao contrário.

2.4.3. Actividade antioxidante

Benzilidenomalononitrilos e derivados

Os compostos **113-115** com os substituintes 4-metoxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo no anel aromático e os compostos **119** e **120** derivados do 2-OH-benzilidenomalononitrilo têm potenciais de oxidação muito altos ou não apresentaram picos de oxidação significativos até 1100 mV, nos seus voltamogramas (Tab. 2.104).

Tabela 2.104. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para os benzilidenomalononitrilos **113-117** e derivados **119-120**.

		
113-117	119	120

Comp	R	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μ M)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
113	4-OCH ₃	-	-	-	-
119	2-OH	-	-	-	-
120	2-OH	-	-	> 400	-
114	3-OH	794	750	-	-
115	4-OH	804	730	-	-
116	3,4-OH	335	275	-	-
117	3,4,5-OH	212	158	2,2 ± 0,4	38,4 ± 2,8
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

Os compostos **116** e **117** com os substituintes 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo no anel aromático têm potenciais de oxidação muito mais baixos, tendo este último composto o potencial de pico mais baixo deste grupo com o valor de 212 mV, valor que é ligeiramente mais elevado do que o do trolox. Esta diferença nos potenciais de oxidação sugere que a unidade fenólica é a responsável pela facilidade

com que estes compostos se oxidam. O composto **117** apresentou um valor de IC_{50} de $2,2 \pm 0,4 \mu\text{M}$ no teste de descoloração do DPPH, sendo aproximadamente três vezes mais baixo do que para o trolox. Nas concentrações de IC_{50} respectivas, o composto **117** inibe a degradação da desoxirribose para um valor de $38,4 \pm 2,8 \%$ e tem uma capacidade protectora que é aproximadamente duas vezes superior à do trolox.

Para identificar o grupo que é oxidado no composto **117**, analisaram-se os voltamogramas do malononitrilo e do 3,4,5-trihidroxibenzaldeído. Verifica-se que o voltamograma do malononitrilo não apresenta nenhum pico de oxidação até 1100 mV e o 3,4,5-trihidroxibenzaldeído apresenta um potencial de pico igual a 196 mV, o que sugere que a oxidação do produto **117** é devido à sua unidade fenólica.

Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

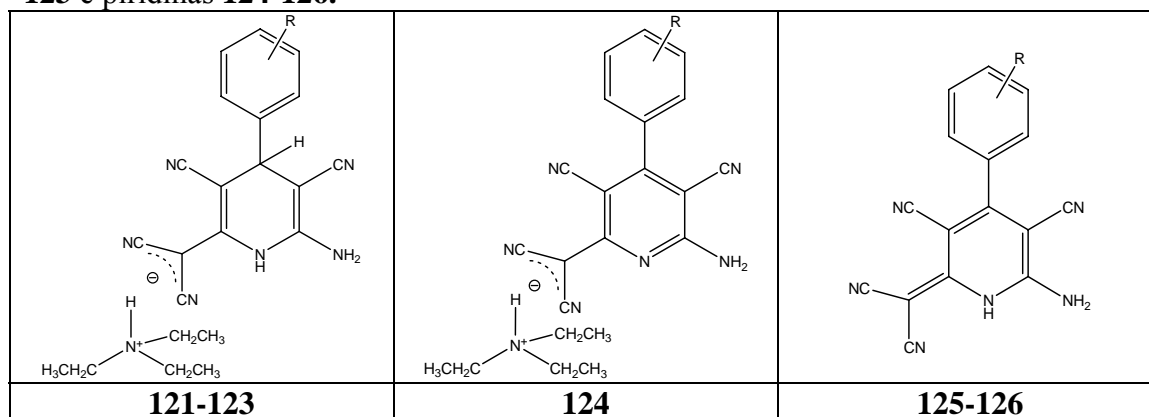
As dihidropiridinas **121-123** na forma de sal de trietilamónio com os substituintes 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo no anel aromático apresentaram potenciais de oxidação elevados, sendo o composto **121** o que apresentou o potencial mais baixo. O composto **123**, com o potencial de pico de 529 mV, apresenta um valor de IC_{50} para a descoloração do DPPH de $10,7 \pm 0,2 \mu\text{M}$, enquanto o composto **121**, com um potencial de pico de apenas 367 mV, apresenta um IC_{50} de $22,1 \pm 0,7 \mu\text{M}$. Nas concentrações dos valores de IC_{50} destes compostos, verificou-se que inibiram a degradação da desoxirribose para um valor inferior a 50 %, tendo um efeito protector aproximadamente duas vezes superior ao do trolox. Adicionalmente, verificou-se que os potenciais de pico dos compostos **121** e **123** são inferiores aos do 2-hidroxibenzaldeído (723 mV) e do 4-hidroxibenzaldeído (849 mV), respectivamente.

As piridinas **124** e **125** com o substituinte 4-metoxifenilo no anel aromático apresentaram potenciais de oxidação semelhantes, indicando que não existe uma diferença significativa na sua actividade, quer estes compostos se encontrem na forma de sal de trietilamónio ou na forma neutra.

A piridina **126** com o substituinte 4-hidroxifenilo no anel aromático apresentou um potencial de pico de 905 mV e um IC_{50} de apenas $26,5 \pm 2,8 \mu\text{M}$ no teste de descoloração do DPPH. Estes valores são mais elevados do que o da dihidropiridina **123**, sugerindo que há uma diminuição da capacidade anti-radicalar com a oxidação do

anel de dihidropiridina a piridina. Na concentração de IC_{50} , o composto **126** inibiu a degradação da desoxirribose para um valor de $44,2 \pm 4,8$ %.

Tabela 2.105. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante para o sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas **121-123** e piridinas **124-126**.



Comp	R	E_p (mV vs ECS)	$E_{p/2}$ (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μ M)	% degradação desoxirribose (IC_{50} DPPH)
121	2-OH	367	270	$22,1 \pm 0,7$	$39,6 \pm 3,1$
122	3-OH	911	853	-	-
123	4-OH	529	433	$10,7 \pm 0,2$	$38,4 \pm 2,7$
124	4-OCH ₃	835	-	-	-
125	4-OCH ₃	847	-	-	-
126	4-OH	905	789	$26,5 \pm 2,8$	$44,2 \pm 4,8$
Trolox		173	107	$9,0 \pm 0,2$	$76,6 \pm 2,6$

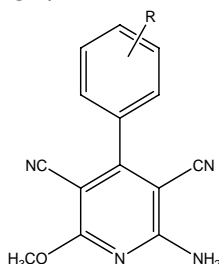
E_p (potencial de pico anódico); $E_{p/2}$ (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

Os compostos **127-131** com os substituintes 4-metoxifenilo, 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo no anel aromático apresentam potenciais de oxidação muito elevados, não se observando picos de oxidação em alguns deles até 1100 mV (Tab. 2.106). O composto **131** com o substituinte 3,4-di-hidroxifenilo apresentou um potencial de pico de 366 mV, sendo o valor mais baixo deste grupo e inferior ao do 3,4-dihidroxibenzaldeído (388 mV). No teste de descoloração do DPPH, obteve-se um IC_{50} de $5,1 \pm 1,7$ μ M para este composto, um valor inferior ao do trolox, embora o seu potencial de pico seja bastante mais elevado. Nas concentrações de IC_{50} , o composto

131 inibiu a degradação da desoxirribose para um valor inferior a 40 %, revelando uma capacidade protectora aproximadamente duas vezes superior à do trolox. Verificou-se também que o composto **130** com o substituinte 4-hidroxifenilo apresenta um potencial de pico de 775 mV e o IC₅₀ superior a 400 µM no teste de descoloração do DPPH, comprovando a sua fraca ou inexistente actividade anti-radicalar.

Tabela 2.106. Potencial de pico anódico e actividade antioxidante das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131**.



Comp	R	E _p (mV vs ECS)	E _{p/2} (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (µM)	% degradação desoxirribose (IC ₅₀ DPPH)
127	4-OCH ₃	-	-	-	-
128	2-OH	-	-	-	-
129	3-OH	-	-	-	-
130	4-OH	775	715	> 400	-
131	3,4-OH	366	265	5,1 ± 1,7	38,0 ± 1,8
Trolox		173	107	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

E_p (potencial de pico anódico); E_{p/2} (potencial a meia altura do pico); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC₅₀ (concentração inibitória a 50%).

2.4.4. Actividade antimicrobiana

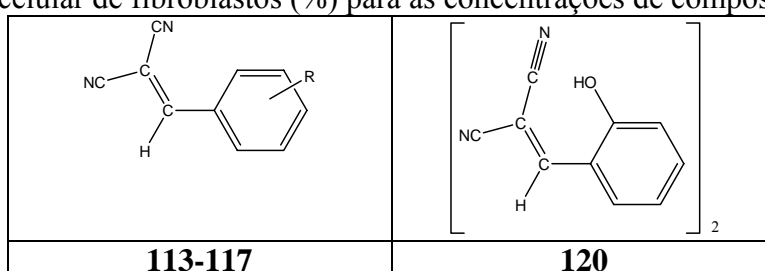
Benzilidenomalononitrilos e derivados

A actividade antimicrobiana dos compostos sintetizados **113-120** foi determinada pelo método de microdiluição em meio líquido e verificou-se que nenhum composto induziu uma inibição significativa no crescimento da bactéria *Escherichia coli* (Gram-) até uma concentração de 400 µM, excepto o composto **113** com o substituinte 4-metoxifenilo que devido à sua menor solubilidade em meio de cultura só foi testado até 200 µM (Tab. 2.107). Também se verificou que nenhum composto inibiu

mais de 80 % o crescimento de *Bacillus subtilis* (Gram+) mas o composto **120** teve uma inibição de aproximadamente 40 % na concentração de 400 μM .

Na avaliação da actividade antifúngica verificou-se que o composto **120** induziu uma inibição acentuada do crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* com um valor de MIC de 50 μM , na mesma ordem de grandeza dos valores de MIC encontrados para os antifúngicos fluconazole e miconazole. Em *Candida albicans*, o composto **120** revelou uma menor eficácia com um valor de MIC de 150 μM .

Tabela 2.107. Valores de concentração mínima inibitória (MIC) para os benzilidenomalononitrilos **113-117** e dímero do 2-hidroxi-benzilidenomalononitrilo **120** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%) Fibroblastos
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	
113	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200	-
120	2-OH	> 400	> 400	50	150	. 52,9 \pm 0,9 (150 μM) . 87,5 \pm 6,8 (50 μM)
114	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
115	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
116	3,4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
117	3,4,5-OH	> 400	> 400	> 400	> 400	-
Fluco		-	-	50	1,56	-
Mico		-	-	100	0,78	-
Clora		-	12,5	-	-	-

Fluco (Fluconazole); Mico (Miconazole) e Clora (Cloranfenicol).

No grupo de compostos em estudo, o composto **120** foi o único que revelou actividade antimicrobiana significativa mas não nos foi possível inferir qualquer relação actividade-estrutura dado que a sua estrutura química encontra-se ainda por elucidar.

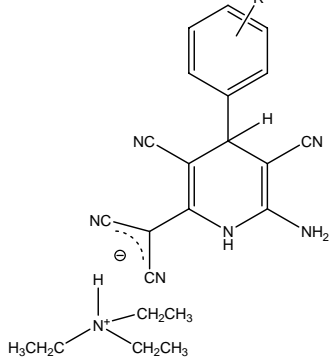
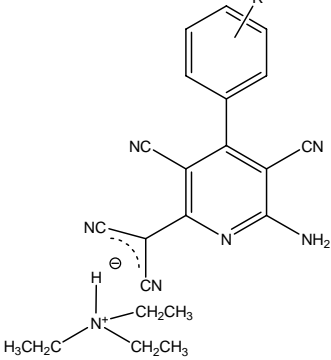
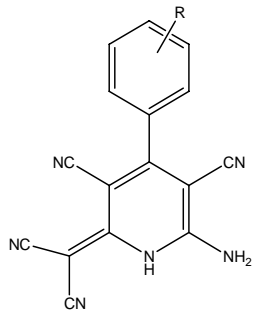
A toxicidade dos compostos foi avaliada com o teste da LDH de modo a determinar a perda de viabilidade celular dos fibroblastos. Deste modo, observou-se que o composto **120** na concentração de 150 μM diminuía a viabilidade celular para aproximadamente 50 %. Contudo, este composto na concentração de 50 μM não alterou significativamente a viabilidade dos fibroblastos.

Posteriormente, o composto **120** foi testado no Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho e verificou-se que tinha actividade antifúngica relativamente a algumas espécies de fungos *Aspergillus* e *Penicillium*, os quais podem provocar doenças na vinha e cereais [98, 99].

Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

Neste estudo verificou-se que nenhum composto inibiu significativamente o crescimento celular nas duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* e nas duas espécies de leveduras, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* até à concentração de 400 μM para todos os compostos, excepto os compostos **121** e **125** que só foram solúveis nos meios de cultura até 200 μM (Tab. 2.108).

Tabela 2.108. Valores de MIC para o sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-(dicianometil)-1,4-dihidropiridinas **121-123** e piridinas **124-126** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.

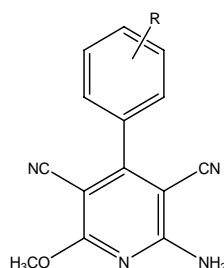
		
121-123	124	125-126

Com	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
121	2-OH	> 200	> 200	> 200	> 200
122	3-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
123	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400
124	4-OCH ₃	> 400	> 400	> 400	> 400
125	4-OCH ₃	> 200	> 200	> 200	> 200
126	4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

As piridinas **127-131** também não inibiram significativamente o crescimento das leveduras e das bactérias testadas, verificando-se que estas piridinas têm uma solubilidade menor em meio aquoso do que as piridinas da secção anterior (Tab. 2.109).

Tabela 2.109. Valores de MIC para as 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas **127-131** e viabilidade celular de fibroblastos (%) para as concentrações de composto indicadas.



Comp	R	Actividade antibacteriana MIC (μM)		Actividade antifúngica MIC (μM)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>
127	4-OCH ₃	> 150	> 150	> 150	> 150
128	2-OH	> 150	> 150	> 150	> 150
129	3-OH	> 300	> 300	> 300	> 300
130	4-OH	> 300	> 300	> 300	> 300
131	3,4-OH	> 400	> 400	> 400	> 400

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foram sintetizados 93 compostos orgânicos de azoto, lineares e cíclicos, substituídos com unidades fenólicas e com a unidade 4-metoxifenilo, dos quais 74 são novos e foram completamente caracterizados estruturalmente. Destes compostos, 21, 11 e 5 apresentaram respectivamente actividades antioxidante, antifúngica e antibacteriana.

A estratégia sintética adoptada possibilitou a obtenção de compostos com diferenças pontuais nas suas estruturas químicas, o que permitiu correlacionar a estrutura com a actividade. Deste modo, todos os compostos foram sintetizados a partir do diaminomaleonitrilo ou malononitrilo e os substituintes aromáticos foram introduzidos na forma de amins ou aldeídos aromáticos, como se pode observar nos esquemas das figuras 3.1 e 3.2.

Os rendimentos de síntese dos compostos foram de uma maneira geral razoáveis, embora as sínteses fossem dificultadas pelo facto das estruturas incorporarem grupos ácidos (fenóis) e básicos (aminas, amidinas, imidazoles), o que dificultou muito o isolamento. A introdução de dois ou três grupos hidroxilo na unidade fenólica, aumentava a probabilidade dos compostos sofrerem oxidação durante o processo de síntese e manuseamento, dificultando a tarefa de encontrar as condições experimentais apropriadas.

Na tabela 3.1 estão representados os compostos que apresentaram o valor mais baixo de potencial de oxidação dentro de cada série e os que apresentaram uma actividade antioxidante significativa. Verificou-se que os potenciais de oxidação são muito úteis para prever a actividade antioxidante de um composto mas nem sempre estão directamente relacionados com o valor de IC_{50} determinado pelo método de descoloração do DPPH.

Os compostos com actividade antiradicalar mais elevada são maioritariamente substituídos com o grupo 3,4-di-hidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo e são mais potentes do que o trolox, composto de referência utilizado. Verificou-se, que existem também compostos substituídos com grupos 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo e 4-hidroxifenilo que apresentam actividade anti-radicalar significativa, mas são em menor número.

Os compostos cíclicos apresentam um valor de potencial de oxidação mais elevado do que o dos seus precursores lineares, o que correspondeu a uma diminuição da actividade anti-radicalar ou mesmo à sua perda total.

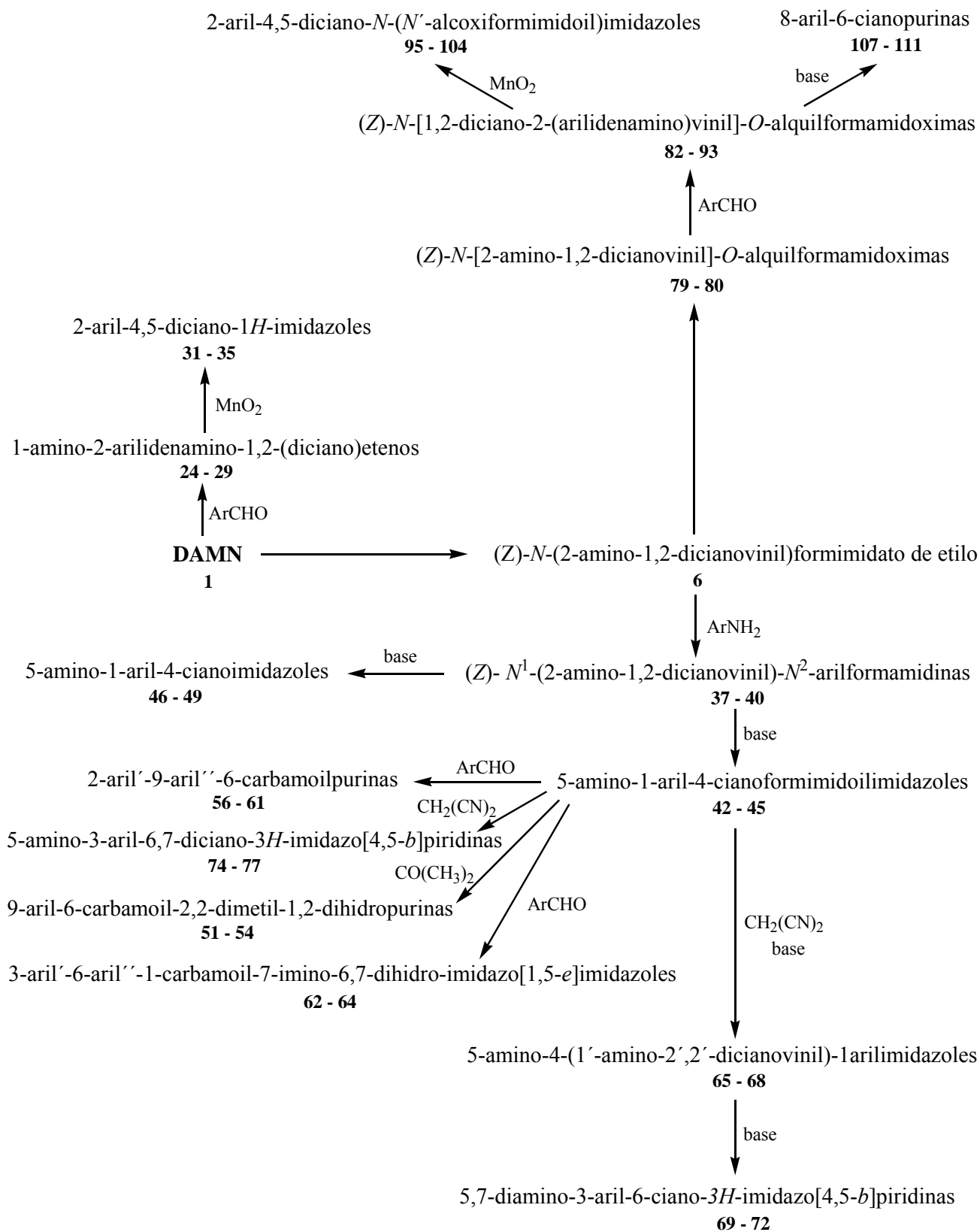
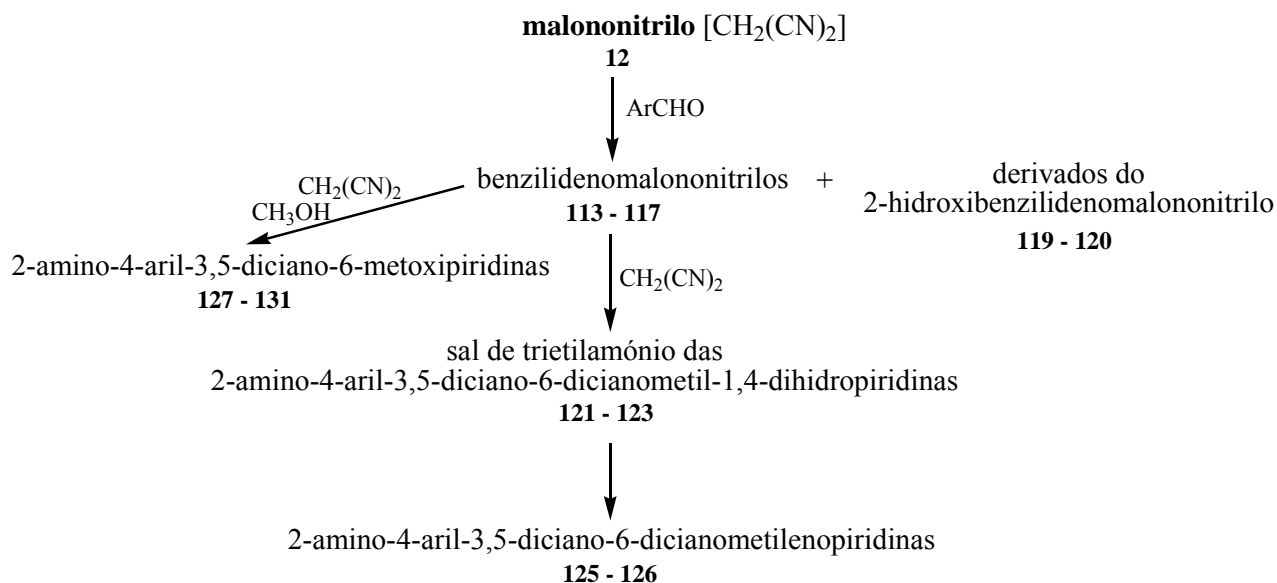


Figura 3.1. Vias sintéticas usando o diaminomaleonitrilo como reagente de partida.**Figura 3.2.** Via sintética usando o malononitrilo como reagente de partida.

Os compostos representados na tabela 3.1 apresentam uma protecção de aproximadamente 60 % na degradação da desoxirribose quando são testados nas suas concentrações de IC₅₀ determinados para a descoloração do radical DPPH enquanto o trolox só apresenta uma protecção de 23,4 ± 2,6 %, indicando que têm uma actividade antioxidante potente.

Na tabela 3.2 estão representados cinco compostos que não foram avaliados pelo método de descoloração do DPPH porque não apresentaram o valor de potencial de oxidação mais baixo dentro da série respectiva, mas cujos valores de potencial de oxidação, sugerem que tenham uma actividade anti-radicalar significativa.

As dihidropurinas **51**, **52** e **54** apresentam um potencial de oxidação comparável ao da dihidropurina **53** (Tab. 3.1 e 3.2), para a qual se registou um valor de potencial de 318 mV e um IC₅₀ na descoloração do radical DPPH de 12,4 ± 1,0 µM, indicando que a unidade fenólica não está envolvida na actividade anti-radicalar destes compostos mas sim o anel de dihidropurina. Deste modo, prevê-se que estas dihidropurinas tenham todas uma actividade anti-radicalar semelhante.

Na tabela 3.3 comparam-se os potenciais de oxidação de todos os compostos substituídos com o grupo 4-hidroxifenilo. Verifica-se que as estruturas lineares apresentam potenciais de oxidação mais baixos, o que está de acordo com os resultados

da tabela 3.1, onde se observa que os compostos com maior actividade anti-radicalar, são os que têm estrutura linear.

Tabela 3.1. Dados de potencial de oxidação e actividade antioxidante para os 21 compostos que apresentaram uma actividade antioxidante significativa.

Compostos	E_p (mV vs ECS)	DPPH IC ₅₀ (μM)	% degrad. desoxirrib. (IC ₅₀ DPPH)
1-amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'- trihidroxibenzilidenamino)eteno 29	113	3,7 ± 0,7	37,9 ± 2,3
4,5-diciano-2-(3',4'- dihidroxifenil)-1 <i>H</i> -imidazole 35	254	12,0 ± 1,0	41,0 ± 3,5
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(2- hidroxifenil)formamidina 38	352	9,2 ± 1,4	39,1 ± 3,5
(<i>Z</i>)- <i>N</i> ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)- <i>N</i> ² -(4- hidroxifenil)formamidina 40	265	4,6 ± 0,7	39,8 ± 3,2
6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(3'- hidroxifenil)-1,2-dihidropurina 53	318	12,4 ± 1,0	41,6 ± 2,9
2-(3',4'- dihidroxifenil)-9-(4''- hidroxifenil)-6-carbamoilpurina 61	256	7,8 ± 0,1	39,9 ± 1,3
1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'- dihidroxifenil)-6-(4''- hidroxifenil)-imidazo[1,5- <i>e</i>]imidazole 64	316	7,4 ± 0,3	42,3 ± 4,1
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'- hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima 85	381	19,8 ^a	-
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4'- dihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima 86	186	2,5 ^a	-
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4',5'- trihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -benzilformamidoxima 87	106	2,9 ± 0,3	42,2 ± 2,5
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(4'- hidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima 91	414	20,4 ^a	-
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4'- dihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima 92	212	3,9 ^a	-
(<i>Z</i>)- <i>N</i> -[1,2-diciano-2-(3',4',5'- trihidroxibenzilidenamino)vinil]- <i>O</i> -metilformamidoxima 93	132	3,4 ± 0,3	38,7 ± 2,1
4,5-diciano-2-(3',4'- dihidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -benziloxiformimidoil)imidazole 99	331	7,3 ± 0,6	40,5 ± 1,9
4,5-diciano-2-(3',4'- dihidroxifenil)- <i>N</i> -(<i>N'</i> -metoxiformimidoil)imidazole 104	349	6,6 ± 0,3	43,2 ± 2,7
6-ciano-8-(3',4'- dihidroxifenil)purina 111	256	6,3 ± 1,1	37,7 ± 1,5
(3,4,5- trihidroxibenzilideno)malononitrilo 117	212	2,2 ± 0,4	38,4 ± 2,8
sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(2'- hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina 121	367	22,1 ± 0,7	39,6 ± 3,1
sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'- hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina 123	529	10,7 ± 0,2	38,4 ± 2,7
2-amino-3,5-diciano-4-(4'- hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina 126	905	26,5 ± 2,8	44,2 ± 4,8
2-amino-3,5-diciano-4-(3',4'- dihidroxifenil)-6-metoxipiridina 131	366	5,1 ± 1,7	38,0 ± 1,8
trolox	173	9,0 ± 0,2	76,6 ± 2,6

^a Resultado obtido de [95].

Tabela 3.2. Dados de potencial de oxidação para os compostos **28**, **51**, **52**, **54** e **116**.

Compostos	E _p (mV vs ECS)
1-amino-1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxi benzilidenamino)eteno 28	248
6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina 51	332
6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(2'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina 52	322
6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina 54	334
3,4-dihidroxi benzilidenomalononitrilo 116	335

Os compostos cíclicos têm potenciais de oxidação mais elevados e apresentam o sinal do carbono *ipso* (C_{ipso}) do anel fenólico desviado para campo mais alto no espectro de ^{13}C RMN, em relação às estruturas lineares precursoras respectivas, indicando que o substituinte heterocíclico exerce sobre a unidade fenólica um efeito retirador de electrões. Estes resultados estão de acordo com a redução da actividade antioxidante com a ciclização intramolecular, observada na tabela 3.1 e mesmo com o trabalho de Silva *et al* [95] que observou que o 4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **98** e o 4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole **103** não apresentavam actividade anti-radicalar pelo método de descoloração do DPPH até 500 μM .

De um modo geral, os potenciais de oxidação destes compostos estão relacionados com o deslocamento químico do sinal do carbono *ipso* do anel fenólico no espectro de ^{13}C RMN, quando a unidade fenólica é a responsável pelo valor do potencial de oxidação e em última instância da actividade anti-radicalar. A análise de correlação entre estes dois valores mostra que existe uma tendência para a diminuição do potencial de pico anódico com o aumento do efeito dador de electrões do substituinte, considerando que este efeito se reflecte no deslocamento químico do carbono *ipso* em ^{13}C RMN. De facto, o 4-hidroxi-benzaldeído apresenta um potencial de pico anódico de 849 mV e o seu C_{ipso} tem o sinal a 128,00 ppm, enquanto que a 4-hidroxi-anilina apresenta um potencial de pico de 127 mV e o seu C_{ipso} tem o sinal a 140,40 ppm (Tab. 3.3).

O sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **123** apresenta um valor de deslocamento químico igual a 137,44 ppm para o C_{ipso} do grupo fenólico, estando de acordo com o valor IC_{50}

determinado pelo método de descoloração do DPPH ($10,7 \pm 0,2 \mu\text{M}$) mas apresenta um valor de potencial de oxidação bastante elevado (529 mV).

Tabela 3.3. Dados espectroscópicos de ^{13}C RMN, potencial de oxidação e actividade antioxidante para todos os compostos substituídos com o grupo 4-hidroxifenilo.

Compostos	C_{ipso} (ppm)	E_p (mV vs ECS)	DPPH IC_{50} (μM)	% Deg. desox. (IC_{50} DPPH)
1-amino-1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)eteno 27	126,93	476	-	-
4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-1H-imidazole 34	118,57	620	-	-
(Z)- N^1 -(2-amino-1,2-dicianovinil)- N^2 -(4-hidroxifenil)formamidina 40	131,22	265	$4,6 \pm 0,7$	$39,8 \pm 3,2$
5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-hidroxifenil)imidazole 45	124,79	750	-	-
5-amino-4-ciano-1-(4'-hidroxifenil)imidazole 49	124,96	894	-	-
6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina 54	127,42	334	-	-
2-(4'-hidroxifenil)-9-(4'-hidroxifenil)-6-(carbamoil)purina 60	128,06(C_2); 125,71(N_9)	653	-	-
1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(4'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-e]imidazole 63	119,50(C_3); 131,24(N_6)	700	-	-
5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-hidroxifenil)imidazole 68	124,83	690	> 400	-
5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-hidroxifenil)-3H-imidazo[4,5-b]piridina 72	126,79	630	> 400	-
5-amino-6,7-diciano-3-(4'-hidroxifenil)-3H-imidazo[4,5-b]piridina 77	125,26	675	> 400	-
(Z)- N -[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- O -benzilformamidoxima 85	125,72	381	$19,8^a$	-
(Z)- N -[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]- O -metilformamidoxima 91	125,76	414	$20,4^a$	-
4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)- N -(N' -benziloxiformimidoil)imidazole 98	116,70	732	> 500 ^a	-
4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)- N -(N' -metoxiformimidoil)imidazole 103	116,69	779	> 500 ^a	-
6-ciano-8-(4'-hidroxifenil)purina 110	118,52	698	-	-
4-metoxibenzilidenomalononitrilo 115	122,81	804	-	-
sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina 123	137,44	529	$10,7 \pm 0,2$	$38,4 \pm 2,7$
2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina 126	124,93	905	$26,5 \pm 2,8$	$44,2 \pm 4,8$
2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-	124,37	775	> 400	-

6-metoxipiridina 130				
4-Hidroxibenzaldeído	128,00	849	-	-
4-Hidroxianilina	140,40	127	-	-

^a Resultado retirado de [95].

E_p (potencial de pico anódico); C_{ipso} (carbono *ipso* do grupo arilo); ECS (eléctrodo de calomelanos saturado); DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo); IC_{50} (concentração inibitória a 50%).

A 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126** apresenta um valor de deslocamento químico igual a 124,93 ppm para o C_{ipso} do grupo fenólico, estando de acordo com o valor de potencial de oxidação bastante elevado (905 mV) mas apresenta um valor IC_{50} baixo determinado pelo método de descoloração do DPPH ($26,5 \pm 2,8 \mu\text{M}$).

Apesar de se verificarem algumas excepções, é possível constatar que, na generalidade, os potenciais de oxidação determinados pela técnica de voltametria cíclica são bons indicadores da actividade anti-radicalar.

A contribuição da unidade azotada e fenólica para a actividade antioxidante pode ser avaliada por comparação dos valores de potenciais de oxidação dos compostos substituídos com a unidade fenólica ou com a unidade 4-metoxifenilo. Deste modo, podemos inferir se está presente um efeito sinérgico entre a unidade azotada e a fenólica para cada série de compostos.

A comparação do potencial de oxidação de um composto com os dos seus precursores pode-nos também indicar qual é a unidade que oxida mais facilmente e por conseguinte, qual é a responsável pela actividade anti-radicalar.

Dos resultados obtidos podemos concluir que os compostos constituídos com as unidades azotadas cíclicas acopladas a unidades fenólicas apresentam valores de potencial de pico anódico mais elevados e actividades anti-radicalares mais baixas do que os seus precursores lineares. Contudo, as unidades azotadas cíclicas são importantes para a actividade antioxidante destes compostos, uma vez que são estruturas electronicamente conjugadas com a unidade fenólica e podem contribuir para a estabilização por ressonância do radical formado depois de doar o átomo de hidrogénio [19, 100].

A análise da tabela 3.4 indica que os compostos constituídos pelas unidades de imidazole, purina ou seus precursores lineares acoplados com as unidades 3,4-dihidroxifenilo ou 3,4,5-tri-hidroxifenilo apresentam maior actividade antifúngica em *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans*, e possuem paralelamente valores de

potencial de oxidação baixos e actividades antioxidantes elevadas (Tab. 3.1). Adicionalmente, verifica-se que a ciclização potencia a actividade antifúngica dos compostos já que as estruturas cíclicas substituídas com a unidade 3,4-di-hidroxifenilo apresentam actividade antifúngica enquanto que as estruturas precursoras lineares só são activas se estiverem substituídas com a unidade 3,4,5-tri-hidroxifenilo. Foi ainda observado neste trabalho um efeito sinérgico entre a unidade fenólica e a azotada. Estes resultados estão de acordo com o que foi previsto inicialmente dado que existem antifúngicos naturais que apresentam na sua estrutura as unidades de 3,4-dihidroxifenilo e 3,4,5-tri-hidroxifenilo e a maioria dos antifúngicos sintéticos integram heterociclos de azoto [41, 49, 50, 54]. De facto, o 4,5-diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **99** é o composto que apresentou o valor de MIC mais baixo e integra duas unidades isostericamente semelhantes ao ácido protocatéuico e ao miconazole na sua estrutura (Fig. 3.3).

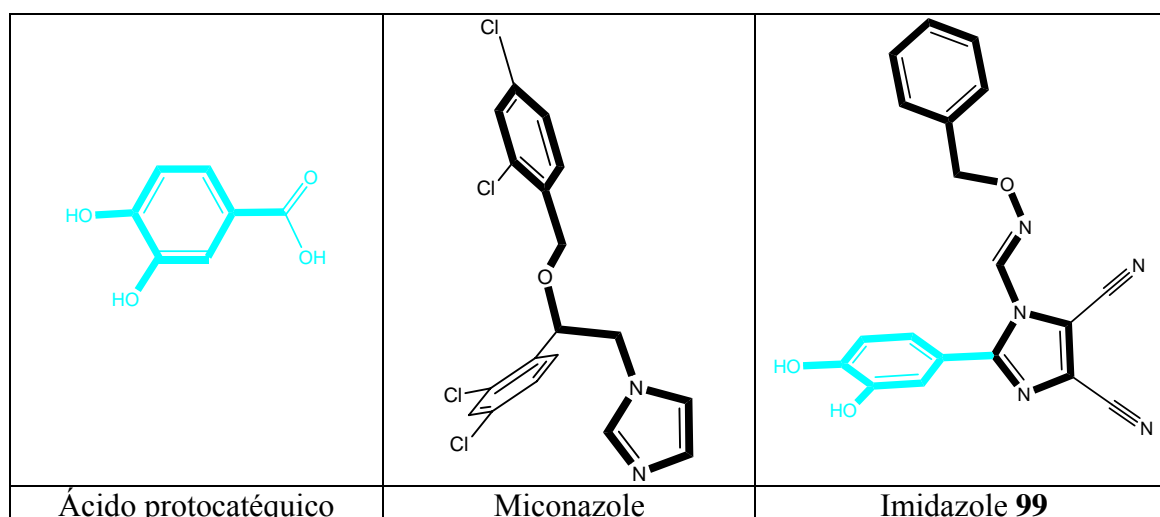


Figura 3.3. Estrutura química do ácido protocatéuico, miconazole e 4,5-diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **99**.

Verificou-se ainda que a (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2-hidroxifenil)formamidina **38** só tem actividade antifúngica em *Saccharomyces cerevisiae* e esta actividade é maior do que a do seu derivado cíclico 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **43**. Neste caso, verifica-se que a ciclização reduz a actividade antifúngica, o que pode estar associado ao facto da formamidina **38** ter um valor de potencial de oxidação baixo e uma actividade anti-radicalar elevada, enquanto o imidazole **43** tem um valor de potencial de oxidação alto e não possui actividade anti-radicalar até aos 400 μ M (Tab. 3.1).

Em contrapartida, o derivado dimérico do 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo **120**, cuja estrutura química ainda não foi determinada e continua em estudo, apresenta actividade antifúngica em *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* mas não apresenta nenhum pico de oxidação até aos 1100 mV no voltamograma e não possui actividade anti-radicalar até aos 400 μM (Tabs. 2.103 e 3.4).

Tabela 3.4. Dados de concentração mínima inibitória (MIC) do crescimento em *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* e viabilidade celular de fibroblastos para os compostos sintetizados que apresentaram actividade antifúngica.

Composto	Actividade antifúngica MIC (μM)		Viabilidade celular (%)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida albicans</i>	Fibroblastos
1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno 29	50	100	91,1 \pm 3,3 (400 μM)
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-1H-imidazole 35	400	600	88,5 \pm 7,7 (600 μM)
(Z)-N ¹ -(2-amino-1,2-dicianovinil)-N ² -(2-hidroxifenil)formamidina 38	300	> 400	86,0 \pm 3,6 (300 μM)
5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(2'-hidroxifenil)imidazole 43	500	> 400	94,3 \pm 4,1 (500 μM)
2-(3',4'-Dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina 61	100	100	99,1 \pm 1,5 (100 μM)
1-Carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-e]imidazole 64	100	50	103,2 \pm 2,1 (100 μM)
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima 93	50	100	104,9 \pm 2,4 (100 μM)
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole 99	25	25	101,5 \pm 4,6 (25 μM)
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-N-(N'-metoxiformimidoil)imidazole 104	100	100	103,8 \pm 1,0 (100 μM)
6-Ciano-8-(3',4'-dihidroxifenil)purina 111	200	300	98,2 \pm 0,6 (300 μM)
Derivado dimérico do 2-hidroxibenzilideno_malononitrilo 120	50	150	. 52,9 \pm 0,9 (150 μM) . 87,5 \pm 6,8 (50 μM)
Fluconazole	50	1,56	-
Miconazole	100	0,78	-

Os compostos que evidenciaram actividade antifúngica não apresentaram toxicidade relevante em fibroblastos, nas concentrações de MIC em que actuam em *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* (Tab. 3.4). Uma excepção foi observada

para o composto **120**, o qual apresentou toxicidade na concentração de MIC em que actua em *Candida albicans*. Adicionalmente, estes compostos são solúveis em meio aquoso nestas concentrações, possibilitando o seu uso como antifúngicos sistémicos.

As tabelas 3.1 e 3.4 mostram que os compostos que apresentaram actividade antioxidante e antifúngica actuam numa concentração inferior como antioxidantes e que estes compostos não foram tóxicos em fibroblastos para concentrações bastantes mais elevadas do que as concentrações de IC₅₀ determinadas pelo método de descoloração do DPPH.

Dos 11 compostos que apresentaram actividade antifúngica, só três apresentaram actividade antibacterina em *Bacillus subtilis* mas todos actuaram numa concentração mais elevada, excepto o imidazole **35** (Tab. 3.5). Estes compostos correspondem àqueles que apresentaram também maior toxicidade em fibroblastos. Deste modo, a maioria dos compostos sintetizados que apresentaram actividade antifúngica, são antifúngicos específicos de *Saccharomyces cerevisiae* e/ou *Candida albicans* e não apresentam toxicidade em células animais, nem actividade antibacteriana significativa. Estes resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que está descrito que antifúngicos azoles são também activos contra algumas bactérias Gram positivas mas actuam numa concentração mais elevada [39, 101].

Tabela 3.5. Dados de concentração mínima inibitória do crescimento (MIC) em *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* e viabilidade celular de fibroblastos para os compostos sintetizados que apresentaram actividade antibacteriana.

Compostos	Actividade antibacteriana MIC (µM)		Viabilidade celular (%)
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	Fibroblastos
1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno 29	> 600	400	91,1 ± 3,3 (400 µM)
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-1H-imidazole 35	> 400	500	88,5 ± 7,7 (600 µM)
4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole 96	> 300	300	55,1 ± 7,6 (300 µM)
4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole 99	> 300	200	50,5 ± 3,3 (200 µM) 101,5 ± 4,6 (25 µM)
6-Ciano-8-(2'-hidroxifenil)purina 108	> 400	400	65,5 ± 3,4 (400 µM)
Cloranfenicol	-	12,5	-

Embora sejam necessários estudos mais aprofundados, os resultados fazem prever que estes compostos poderão ser usados como antifúngicos sem alterar a flora bacteriana natural do meio. Adicionalmente, os compostos têm ainda a vantagem de serem solúveis em meio aquoso possibilitando a sua rápida remoção do solo pelas águas das chuvas. De facto, a decomposição dos compostos no ambiente é um dos principais aspectos considerados quando se decide ou não pela aprovação de um novo antifúngico.

Alguns dos compostos sintetizados têm grandes potencialidades para serem usados como antioxidantes e/ou antifúngicos na indústria agro-alimentar e/ou em terapia clínica o que requer a prossecussão dos estudos químicos, bioquímicos, toxicológicos e farmacológicos. Adicionalmente, os resultados obtidos neste trabalho podem contribuir para a síntese de novos compostos com actividade antioxidante e antifúngica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Técnicas Gerais

4.1.1. Instrumentação

Os espectros de infravermelhos foram registados num espectrofotómetro Bomem MB 104 e a preparação das amostras sólidas foi feita com Nujol em placas de NaCl.

Os espectros de ^1H e ^{13}C de ressonância magnética nuclear foram registados num espectrofotómetro Varian Unity Plus de 300 MHz à temperatura ambiente. Como solventes usaram-se o sulfóxido de dimetilo deuterado. O tetrametilsilano foi usado como referência interna nos espectros de ^1H RMN e os deslocamentos químicos foram registados em unidades p.p.m. a partir deste sinal. Nos espectros de ^{13}C RMN, o pico do DMSO- d_6 foi usado como referência e foi ajustado a δ 39,5 ppm. Foi utilizada água deuterada para promover o desaparecimento dos picos referentes a protões ligados a átomos de azoto e oxigénio. A técnica de DEPT 45° foi utilizada para distinguir os átomos de carbono ligados a átomos de hidrogénio. Foram ainda usadas as técnicas de HMQC e HMBC para identificar átomos de carbono directamente ligados a átomos de hidrogénio ou a três ligações destes, respectivamente.

A análise elementar foi obtida num aparelho Leco CHNS-932.

Os espectros de massa foram registados num aparelho Kratos Concept, usando a técnica FAB com matriz de álcool 3-nitrobenzílico.

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho digital GALLEMKAMP e não foram corrigidos.

As leituras das densidades ópticas foram realizadas num espectrofotómetro SPECTRONIC 20 Bausch & Lamp e num leitor de microplacas Spectra Max 340PC.

As incubações das leveduras e bactérias foram realizadas em incubadoras GALLEMKAMP.

4.1.2. Cromatografia

A evolução das reacções foi seguida por cromatografia em camada fina (TLC) e a mistura de solventes usada como eluente foi (A) diclorometano/etanol (9/1) e/ou (B) clorofórmio/acetato de etilo/ácido acético (16/8/1). Os testes foram feitos em placas comercializadas Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ (Art. 5719), sendo a revelação feita por luz ultravioleta ou iodo.

O tratamento de soluções contaminadas com materiais negros de decomposição foi feita por cromatografia em flash seca [102], usando gel de sílica 60 Merck, tamanho de partícula < 0.063 mm (< 230 mesh), para cromatografia em coluna (Art. 7729). Foram usadas colunas com placa porosa e a altura da camada de sílica usada foi variável.

Para as evaporações foi utilizado um evaporador rotativo Buchi Rotavapor R-114, sob pressão reduzida.

4.2. Procedimentos experimentais para a síntese dos compostos

Os reagentes de partida para a síntese dos compostos foram adquiridos das firmas Sigma-Aldrich e Merck. Os solventes usados em todas as reacções tinham a designação de puros (PA).

Os compostos e meios de cultura usados nos ensaios biológicos foram obtidos das firmas Sigma, Difco e Labesfal.

O (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo foi preparado segundo o método descrito por D. W. Woodward [72]. Dissolveu-se o diaminomaleonitrilo (15,00 g; 138,75 mmol) em dioxano (236 ml) e adicionou-se trietilortoformiato (23,03 ml; 138,75 mmol). A mistura, contida num balão equipado com uma barra magnética e um sistema de destilação com coluna de fraccionamento, foi aquecida numa manta eléctrica. Assim que a temperatura permaneceu constante (~ 99 °C), recolheu-se o destilado (127,50 ml). Por adição de n-hexano (120 ml) à mistura reaccional arrefecida, obteve-se um sólido cristalino. O sólido foi filtrado, lavado com éter etílico frio e identificado como (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (16,53 g;

100,70 mmol; 73 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra autêntica.

As (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-alquilformamidoximas utilizadas foram sintetizadas pelo método descrito na literatura [74]. A uma solução do sal de cloreto da amina (16,2 mmol) e DBU (16,2 mmol) em etanol, foi adicionado (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (16,2 mmol). A mistura foi colocada sob agitação magnética à temperatura ambiente até o TLC mostrar que todo o formimidato de partida tinha sido consumido. Em seguida fez-se uma cromatografia em flash seca, usando como eluente o éter etílico. Os sólidos assim obtidos foram identificados como sendo (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-benzilformamidoxima **79** (2,74 g; 11,33 mmol; 70 %) e (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-metilformamidoxima **80** (1,79 g; 10,93 mmol; 68 %), por comparação do seus espectros de IV com os de amostras autênticas.

4.2.1. Síntese dos 1-amino-2-arilidenamino-1,2-(diciano)etenos

1-Amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno

A uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,32 g; 3,0 mmol) em 11 ml de etanol, adicionou-se *p*-anisaldeído (0,37 ml; 3,04 mmol). Em seguida, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml) e a reacção foi imediata, estando completa ao fim de 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico. O produto obtido foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24** (0,64 g; 2,83 mmol; 94 %), por comparação do espectro de IV com o de uma amostra autêntica.

1-Amino-1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)eteno

A uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,65 g; 6,0 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,65 ml; 6,08 mmol) em 10 ml de etanol, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml). A reacção foi imediata e terminou ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi

filtrada e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)eteno **25** (1,24 g; 5,84 mmol; 97 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

1-Amino-1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)eteno

A uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,65 g; 6,0 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,73 g; 6,0 mmol) em 8 ml de etanol, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml). A reacção foi imediata e terminou ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)eteno **26** (1,04 g; 4,91 mmol; 82 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

1-Amino-1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)eteno

A uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,65 g; 6,0 mmol) e 4-hidroxibenzaldeído (0,73 g; 6,0 mmol) em 10 ml de etanol, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml). A reacção foi imediata e terminou ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)eteno **27** (1,11 g; 5,23 mmol; 87 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)eteno

Adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml) a uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,32 g; 3,0 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído

(0,41 g; 3,0 mmol) em 1,5 ml de etanol. A reacção foi imediata e terminou ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)eteno **28** (0,55 g; 2,42 mmol; 81 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

1-Amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno

A uma suspensão de diaminomaleonitrilo **1** (0,22 g; 2,0 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,34 g; 2,0 mmol) em 1 ml de etanol, adicionou-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado (0,01 ml). A reacção foi imediata e terminou ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo torrado foi lavado com diclorometano e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 1-amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno **29** (0,45 g; 1,85 mmol; 92 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

4.2.2. Síntese dos 2-aril-4,5-diciano-1H-imidazoles

4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)-1H-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)eteno **24** (0,10 g; 0,44 mmol) em 20 ml de acetato de etilo e 10 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (1,92 g; 22,10 mmol) e uma quantidade catalítica de ácido tosilico (0,01 g) à temperatura ambiente. Ao fim de 4 dias, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. A mistura foi filtrada por papel de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica e a solução amarela resultante foi a concentrar no evaporador rotativo, obtendo-se um sólido bege que foi filtrado e lavado com éter etílico frio. O produto obtido foi identificado como 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-1H-imidazole **31** (0,06 g; 0,28 mmol; 62 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão.

4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)eteno **25** (0,30 g; 1,42 mmol) em 50 ml de acetato de etilo e 5 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (6,16 g; 70,80 mmol). Ao fim de 14 horas, sob refluxo, a reação tinha terminado por evidência do TLC. A mistura foi filtrada por papel de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica e a solução amarela resultante foi a concentrar no evaporador rotativo, obtendo-se um sólido beije que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frio (0,11 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e, por adição de diclorometano precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frios (0,04 g). O TLC mostrou que as duas frações recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(2'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole **32** (0,15 g; 0,72 mmol; 50 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)eteno **26** (0,30 g; 1,42 mmol) em 50 ml de acetato de etilo e 5 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (6,16 g; 70,80 mmol). Ao fim de 5 dias, sob refluxo, a reação tinha terminado por evidência do TLC. A mistura foi filtrada por papel de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica e a solução amarela resultante foi a concentrar no evaporador rotativo, obtendo-se um sólido creme que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frio (0,03 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e isolou-se uma segunda fração de sólido creme claro (0,18 g). O TLC mostrou que as duas frações recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(3'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole **33** (0,21 g; 0,98 mmol; 70 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

4,5-Diciano-2-(4'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)eteno **27** (0,30 g; 1,42 mmol) em 30 ml de acetato de etilo e 5 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (6,16 g; 70,80 mmol). Ao fim de 8 horas, sob refluxo, a reação tinha terminado por evidência do TLC. A mistura foi filtrada por papel de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica e a solução amarela resultante foi a concentrar no evaporador rotativo, obtendo-se um sólido beije que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frio (0,04 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e, por adição de éter etílico precipitou um sólido branco sujo que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frios (0,11 g). O líquido-mãe foi de novo concentrado e diluído com diclorometano, deixando-se sob evaporação lenta à temperatura ambiente. Ao fim de 6 dias foi filtrado um sólido bege (0,04 g). O TLC mostrou que as três frações recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-1*H*-imidazole **34** (0,19 g; 0,90 mmol; 63 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-1*H*-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)eteno **28** (0,25 g; 1,10 mmol) em 50 ml de acetato de etilo e 10 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (2,38 g; 27,39 mmol). Ao fim de 23 h 30 min, sob refluxo, a reação tinha terminado por evidência do TLC. A mistura foi filtrada por papel de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica e a solução laranja resultante foi a concentrar no evaporador rotativo, obtendo-se um sólido beije que foi filtrado e lavado com clorofórmio e éter etílico frio (0,10 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e, por adição de clorofórmio e éter etílico precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com clorofórmio e éter etílico frios (0,04 g). O TLC mostrou que as duas frações recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-1*H*-imidazole **35** (0,14 g; 0,61 mmol; 55 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.1.2).

Tentativa de síntese do 4,5-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxifenil)-1*H*-imidazole

A uma solução de 1-amino-1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)eteno **29** (0,10 g; 0,41 mmol) em 27 ml de acetato de etilo e 3 ml de acetonitrilo, foi adicionado dióxido de manganês (1,78 g; 20,48 mmol). Ao fim de 5 horas, sob refluxo, o TLC mostrava que havia só uma mancha castanha escura no ponto de aplicação além de uma mancha muito fraca correspondente ao reagente de partida e a mistura reaccional foi abandonada.

4.2.3. Síntese das (Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-arilformamidinas

(Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-metoxifenil)formamidina

A uma solução de *p*-anisidina (1,50 g; 12,2 mmol) em 20 ml de etanol, foi adicionado (Z)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (2 g; 12,0 mmol), juntamente com uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo (0,01 g) em banho de gelo. A suspensão foi agitada à temperatura de 0-4 °C até o TLC mostrar que todo o formimidato tinha desaparecido (\approx 24 horas). Filtrou-se a suspensão sob vácuo e o sólido verde claro foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo (Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-metoxifenil)formamidina **37** (2,61 g; 10,81 mmol; 90 %), por comparação do espectro de IV com o espectro de IV duma amostra padrão já identificada.

(Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2-hidroxifenil)formamidina

A 2-hidroxi-anilina (0,65 g; 6,0 mmol) foi adicionada a uma suspensão de (Z)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (1,0 g; 6,0 mmol) em 5 ml de etanol juntamente com quantidade catalítica de cloreto de anilíneo (0,02 g). As adições foram feitas em banho de gelo com agitação magnética constante. Após aproximadamente 33 horas em agitação à temperatura de 0-4°C, a suspensão tornou-se verde clara e, por TLC, verificou-se que já não existia reagente de partida. Filtrou-se a suspensão sob vácuo e o sólido amarelo esverdeado claro foi lavado com etanol e éter etílico gelados.

O composto foi identificado como sendo (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2-hidroxifenil)formamidina **38** (1,30 g; 5,72 mmol; 95 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

(*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(3-hidroxifenil)formamidina

A uma suspensão de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (2,0 g; 12,0 mmol) em 3 ml de etanol e 4 ml de diclorometano, adicionou-se a 3-hidroxi-anilina (1,35 g; 12,37 mmol) juntamente com uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo (0,02 g) sob agitação magnética e em banho de gelo. Após aproximadamente 43 horas em agitação à temperatura de 0-4°C, a suspensão tornou-se rosa arroxeada e, por TLC, verificou-se que já não existia reagente de partida. Filtrou-se a suspensão sob vácuo e o sólido verde claro foi lavado com etanol e éter etílico gelados. O composto foi identificado como sendo (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(3-hidroxifenil)formamidina **39** (2,32 g; 10,23 mmol; 85 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

(*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-hidroxifenil) formamidina

Preparou-se uma mistura de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo **6** (2,0 g; 12,0 mmol) e 4-hidroxi-anilina (1,38 g; 12,7 mmol) em 5 ml de etanol à qual se adicionou uma quantidade catalítica de cloreto de anilíneo (0,02 g) em banho de gelo. Após aproximadamente 24 h em agitação à temperatura de 0-4°C, a suspensão tornou-se verde clara e, por TLC, verificou-se que já não existia reagente de partida. Filtrou-se a suspensão sob vácuo e o sólido amarelo esverdeado foi lavado com etanol e éter etílico gelado (2,0 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo quase à secura e depois adicionou-se diclorometano, precipitando mais sólido que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico (0,35 g). As duas fracções mostraram-se idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-hidroxifenil)formamidina **40** (2,35 g; 10,36 mmol; 86 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

4.2.4. Síntese dos 5-amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles

5-Amino-4-cianoformimidazol-1-(4'-metoxifenil)imidazole

A uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-metoxifenil)formamidina **37** (0,50 g; 2,07 mmol) em 8 ml de uma mistura de acetato de etilo/etanol (15/1), foi adicionado uma gota de DBU (0,01 ml) sob agitação magnética em banho de gelo. A suspensão foi agitada à temperatura de 0-4 °C até o TLC mostrar ausência de reagente de partida (28 horas). De seguida filtrou-se a suspensão e o sólido bege foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-cianoformimidazol-1-(4'-metoxifenil)imidazole **42** (0,49 g; 2,04 mmol; 98 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra autêntica.

5-Amino-4-cianoformimidazol-1-(2'-hidroxifenil)imidazole

Foi adicionada uma gota de DBU (0,01 ml) a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2-hidroxifenil)formamidina **38** (0,25 g; 1,10 mmol) em 3 ml de acetonitrilo sob agitação magnética em banho de gelo. Ao fim de aproximadamente 27 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. Filtrou-se a suspensão verde clara e o sólido amarelo esverdeado claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O composto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-cianoformimidazol-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **43** (0,23 g; 1,03 mmol; 94 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-4-cianoformimidazol-1-(3'-hidroxifenil)imidazole

A uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(3-hidroxifenil)formamidina **39** (0,40 g; 1,76 mmol) em 11 ml de acetato de etilo e 2,5 ml de etanol, adicionou-se uma gota de DBU (0,01 ml) sob agitação magnética em banho de gelo. Ao fim de 5 dias, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. Filtrou-se a suspensão roxa alaranjada e o sólido roxo

muito claro foi lavado com éter etílico frio (0,15 g). O líquido-mãe foi concentrado e depois adicionou-se *n*-hexano, precipitando mais sólido que foi filtrado e lavado com acetato de etilo e éter etílico frios (0,18 g). As duas fracções mostraram-se idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(3'-hidroxifenil)imidazole **44** (0,33 g; 1,45 mmol; 83 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-hidroxifenil)imidazole

Adicionou-se uma gota de DBU (0,01 ml) a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-hidroxifenil)formamidina **40** (0,50 g; 2,07 mmol) em 3 ml de etanol e 0,5 ml de acetato de etilo sob agitação magnética em banho de gelo. Ao fim de aproximadamente 44 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. Filtrou-se a suspensão verde amarelada e o sólido amarelo pálido foi lavado com éter etílico frio. O composto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-hidroxifenil)imidazole **45** (0,26 g; 1,13 mmol; 85 %) por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

4.2.5. Síntese dos 5-amino-1-aril-4-cianoimidazoles

5-Amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole

Foi adicionado 1 ml de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2 M a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-metoxifenil)formamidina **37** (0,20 g; 0,83 mmol) em 4 ml de etanol e a mistura foi agitada à temperatura de 0-4 °C até o TLC mostrar que todo o reagente tinha sido consumido (1 h 30 min). Em seguida, filtrou-se a suspensão sob vácuo e o sólido branco sujo foi lavado com água e éter etílico. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-ciano-1-(4'-metoxifenil)imidazole **46** (0,16 g; 0,74 mmol; 89 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão.

5-Amino-4-ciano-1-(2'-hidroxifenil)imidazole

Dissolveu-se a (Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2-hidroxifenil)formamidina **38** (0,15 g; 0,66 mmol) em 1 ml de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2 M sob agitação magnética em banho de gelo. Após aproximadamente 3 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Em seguida, procedeu-se à neutralização da solução de NaOH, adicionando 1 equivalente de HCl 37 % (0,17 ml; 2,05 mmol) à solução rosa arroxeada e precipitou um sólido roxo claro. Por adição de 2-3 ml de água destilada precipitou mais sólido que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-ciano-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **47** (0,09 g; 0,47 mmol; 71 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-4-ciano-1-(3'-hidroxifenil)imidazole

A (Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(3-hidroxifenil)formamidina **39** (0,20 g; 0,88 mmol) foi dissolvida em 1 ml de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2 M sob agitação magnética em banho de gelo. Ao fim de aproximadamente 3 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, verificou-se que a reacção tinha terminado por evidência do TLC. De seguida, procedeu-se à neutralização da solução de NaOH, adicionando 1 equivalente de HCl 37 % (0,17 ml; 2,05 mmol) à solução rosa arroxeada e formou-se uma suspensão. Por adição de 2-3 ml de água destilada precipitou mais sólido roxo claro que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-ciano-1-(3'-hidroxifenil)imidazole **48** (0,14 g; 0,68 mmol; 77 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-4-ciano-1-(4'-hidroxifenil)imidazole

A (Z)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4-hidroxifenil)formamidina **40** (0,20 g; 0,88 mmol) foi dissolvida em 1 ml de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 2 M

sob agitação magnética em banho de gelo. Após 1h 30 min, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Em seguida, procedeu-se à neutralização da solução de NaOH, adicionando 1 equivalente de HCl 37 % (0,17 ml; 2,05 mmol) à solução laranja escura e precipitou um sólido creme. Por adição de 3 ml de água destilada precipitou mais sólido que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-ciano-1-(4'-hidroxifenil)imidazole **49** (0,15 g; 0,73 mmol; 83 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

4.2.6. Síntese das 9-aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas

6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina

A uma solução de (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-(4'-metoxifenil)formamidina **37** (0,20 g; 0,83 mmol) em 2,5 ml acetona foi adicionada trietilamina (1,2 ml; 10,43 mmol) sob agitação magnética e à temperatura ambiente. Ao fim de 6 dias, verificou-se por TLC que a reacção tinha terminado. A suspensão foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com acetona e éter etílico frios. O produto amarelo foi identificado como sendo 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-metoxifenil)-1,2-dihidropurina **51** (0,19 g; 0,63 mmol; 75 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão.

6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(2'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina

A trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) foi adicionada a uma solução de (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-(2'-hidroxifenil)formamidina **38** (0,10 g; 0,44 mmol) em 0,5 ml de acetona. Após aproximadamente 23 horas, sob agitação magnética e à temperatura ambiente, o TLC evidenciou que reacção estava completa. Por adição de éter etílico à solução reaccional, precipitou um sólido laranja que foi filtrado e lavado com acetona e éter etílico frios (0,06 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo quase até à secura e ao óleo resultante foi adicionado acetona e éter etílico frios. Precipitou uma segunda fracção de sólido laranja (0,02 g). As duas fracções mostraram

ser idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(2'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina **52** (0,08 g; 0,29 mmol; 65 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(3'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina

Adicionou-se trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(3'-hidroxifenil)formamidina **39** (0,10 g; 0,44 mmol) em 0,5 ml de acetona, obtendo-se uma solução rosa arroxeada. Ao fim de aproximadamente 23 horas, sob agitação magnética e à temperatura ambiente, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido laranja foi lavado com acetona e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(3'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina **53** (0,11 g; 0,37 mmol; 85 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

6-Carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina

A uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,20 g; 0,88 mmol) em 1 ml de acetona, adicionou-se trietilamina (1,22 ml; 8,80 mmol) sob agitação magnética e à temperatura ambiente. Ao fim de 3 dias, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido laranja foi lavado com acetona e éter etílico frios. O composto foi identificado como sendo 6-carbamoil-2,2-dimetil-9-(4'-hidroxifenil)-1,2-dihidropurina **54** (0,20 g; 0,69 mmol; 78 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

4.2.7. Síntese das 2-aril'-9-aril''-6-carbamoilpurinas

2-(4'-Metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,58 ml; 4,18 mmol) foi adicionada a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-metoxifenil)formamidina **37** (0,10 g; 0,42 mmol) com *p*-anisaldeído (60 µl; 0,49 mmol) em 3 ml de acetato de etilo e 0,5 ml de etanol em banho de gelo, formando-se uma solução amarela clara. Ao fim de 18 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. De seguida filtrou-se a suspensão laranja e o sólido bege foi lavado com acetato de etilo e éter etílico frios (0,05 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e por adição de diclorometano e *n*-hexano precipitou um sólido bege que se filtrou e lavou com éter etílico frio (0,02 g). As duas fracções mostraram ser idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo 2-(4'-metoxifenil)-9-(4''-metoxifenil)-6-carbamoilpurina **56** (0,07 g; 0,18 mmol; 43 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão completamente caracterizada.

2-(4'-Metoxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

Adicionou-se trietilamina (0,31 ml; 2,24 mmol) a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,05 g; 0,22 mmol) com *p*-anisaldeído (30 µl; 0,26 mmol) em 1 ml de acetonitrilo em banho de gelo, formando-se uma solução amarela esverdeada clara. Ao fim de aproximadamente 3 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. De seguida filtrou-se a suspensão laranja e o sólido bege foi lavado com éter etílico frio. O produto foi identificado como sendo 2-(4'-metoxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **57** (0,04 g; 0,11 mmol; 50 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

2-(2'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 2-hidroxibenzaldeído (0,05 ml; 0,47 mmol) em 1 ml de DMSO. Ao fim de 7 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido mas havia uma mistura de purina e dihidropurina. Colocou-se a solução laranja em aquecimento à temperatura de aproximadamente 80 °C durante 20 min para converter toda a dihidropurina na purina correspondente. Por adição de água destilada precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico frios (0,15 g). O ¹H RMN permitiu verificar posteriormente que este sólido era constituído por 83 % de 2-(2'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **58** e 17 % de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(2'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **62** por comparação do espectro obtido com os dados espectroscópicos de amostras puras. Uma fracção deste sólido foi recristalizado na mistura de solventes metanol/acetona (1/1) e obteve-se uma amostra analiticamente pura da 2-(2'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **58** (0,12 g; 0,35 mmol; Rend_{total} 79 %) que foi identificada por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

2-(3'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 3-hidroxibenzaldeído (0,05 mg; 0,44 mmol) em 0,5 ml de DMSO. Ao fim de 7 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido mas havia uma mistura de purina e dihidropurina. Colocou-se a solução laranja avermelhada em aquecimento à temperatura de aproximadamente 80 °C durante 2 h 30 min para converter toda a dihidropurina em purina. Por adição de água destilada precipitou um sólido bege que foi lavado com água destilada e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 2-(3'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **59** (0,10 g; 0,29 mmol; 66 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

2-(4'-Hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 4-hidroxibenzaldeído (0,05 g; 0,44 mmol) em 1 ml de DMSO. Ao fim de 7 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido mas havia uma mistura de purina e dihidropurina. Colocou-se a solução laranja em aquecimento à temperatura de aproximadamente 80 °C durante 30 min para converter toda a dihidropurina na purina correspondente. Por adição de água destilada precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico frios (0,11 g). O ¹H RMN permitiu verificar posteriormente que este sólido era constituído por 77 % de 2-(4'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **60** e 23 % de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(4'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **63** por comparação do espectro obtido com os dados espectroscópicos de amostras puras. Uma fracção deste sólido foi recristalizada em acetonitrilo e obteve-se uma amostra analiticamente pura da 2-(4'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **60** (0,08 g; 0,24 mmol; Rend_{total} 55 %) que foi identificada por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e massa de alta resolução (Sec. 2.2.2).

2-(3',4'-Dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,61 ml; 4,40 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,06 g; 0,44 mmol) em 1 ml de DMSO. Ao fim de 8 dias, sob agitação à temperatura ambiente, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido mas havia uma mistura de purina e dihidropurina. Colocou-se a solução laranja em aquecimento à temperatura de aproximadamente 80 °C durante 1h 30 min para converter toda a dihidropurina na purina correspondente. Por adição de água destilada precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico frios (0,14 g). O ¹H RMN permitiu verificar posteriormente que este sólido era constituído por 74 % de 2-(3',4'-dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **61** e 26 % de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-

hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **64** por comparação do espectro obtido com os dados espectroscópicos de amostras puras. Uma fracção deste sólido foi recristalizada na mistura de clorofórmio/metanol (10/1) e obteve-se uma amostra analiticamente pura da 2-(3',4'-dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **61** (0,11 g; 0,29 mmol; Rend_{total} 65 %) que foi identificada por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e massa de alta resolução (Sec. 2.2.2).

Tentativa de síntese da 2-(3',4',5'-trihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina

A trietilamina (0,38 ml; 2,74 mmol) foi adicionada a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-metoxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,08; 0,49 mmol) em 1 ml de acetonitrilo em banho de gelo, dando origem a uma solução amarela torrada. Após aproximadamente 20 horas, sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C, tinha-se formado uma solução laranja avermelhada com muito óleo escuro nas paredes do balão. Por adição de 1-2 ml de diclorometano e poucas gotas de etanol, precipitou uma quantidade grande de sólido claro do líquido sobrenadante laranja muito escuro. A suspensão foi filtrada e o sólido transformou-se em óleo escuro no filtro, o que levou a que a mistura reaccional fosse abandonada.

4.2.8. Síntese dos 3-aryl-6-aryl''-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-*e*]imidazoles

1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(2'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole

A trietilamina (0,37 ml; 2,67 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 2-hidroxibenzaldeído (0,05 ml; 0,47 mmol) em 3 ml de acetato de etilo e 0,3 ml de etanol em banho de gelo. Ao fim de 17 dias, sob agitação em atmosfera de azoto à temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido

consumido. A suspensão foi filtrada e o sólido creme foi lavado com acetato de etilo e éter etílico (0,10 g). O ^1H RMN permitiu verificar posteriormente que este sólido era constituído por 56 % de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(2'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **62** e 44 % de 2-(3'-hidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **58** por comparação do espectro obtido com os dados espectroscópicos de amostras puras. Uma fracção deste sólido foi recristalizada em acetona e obteve-se uma amostra analiticamente pura de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(2'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **62** (0,05 g; 0,15 mmol; Rend_{total} 34 %) que foi identificada por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN, espectrometria de massa e massa de alta resolução (Sec. 2.2.2).

1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(4'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole

A trietilamina (0,37 ml; 2,67 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 4-hidroxibenzaldeído (0,05 g; 0,47 mmol) em 3 ml de acetato de etilo e 0,3 ml de etanol em banho de gelo. Ao fim de 17 dias, sob agitação em atmosfera de azoto à temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido. A suspensão foi filtrada e o sólido roxo claro foi lavado com acetato de etilo e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(4'-hidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **63** (0,12 g; 0,34 mmol; 76 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole

A trietilamina (0,38 ml; 2,74 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,10 g; 0,44 mmol) com 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,06 g; 0,44 mmol) em 2 ml de acetato de etilo e 0,5 ml de etanol em banho de gelo. Ao fim de 9 dias, sob agitação em atmosfera de azoto à

temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrava que toda o imidazole intermediário tinha sido consumido. A suspensão foi filtrada e o sólido creme arroxeadado foi lavado com acetato de etilo e éter etílico (0,15 g). O ¹H RMN permitiu verificar posteriormente que este sólido era constituído por 74 % de 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **64** e 26 % de 2-(3',4'-dihidroxifenil)-9-(4''-hidroxifenil)-6-carbamoilpurina **61** por comparação do espectro obtido com os dados espectroscópicos de amostras puras. Uma fracção deste sólido foi recristalizada em metanol e obteve-se uma amostra analiticamente pura da 1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-3-(3',4'-dihidroxifenil)-6-(4''-hidroxifenil)-imidazo[1,5-*e*]imidazole **64** (0,11 g; 0,30 mmol; Rend_{total} 67 %) que foi identificada por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e massa de alta resolução (Sec. 2.2.2).

4.2.9. Síntese dos 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole

A uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(4'-metoxifenil)formamidina **37** (0,20 g; 0,83 mmol) com malononitrilo (0,06 g; 0,94 mmol) em 12 ml de acetonitrilo, adicionou-se trietilamina (1,40 ml; 10,10 mmol) em banho de gelo. Ao fim de 24 horas, sob agitação magnética a 0-4 °C, a reacção estava terminada por evidência do TLC. De seguida filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole **65** (0,16 g; 0,58 mmol; 69 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra autêntica.

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(2'-hidroxifenil)imidazole

Depois de se ter adicionado trietilamina (1,10 ml; 7,92 mmol) a uma suspensão de (*Z*)-*N*¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*N*²-(2'-hidroxifenil)formamidina **38** (0,30 g; 1,32 mmol) e malononitrilo (0,09g; 1,44 mmol) em 6 ml de acetonitrilo em banho de gelo,

obteve-se uma solução amarela esverdeada. Após 23 horas, sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C, a reação estava terminada por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **66** (0,28 g; 1,04 mmol; 79 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2). A amostra analítica foi obtida por recristalização do produto na mistura acetonitrilo/etanol (1/1).

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(3'-hidroxifenil)imidazole

A uma suspensão de (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-(3'-hidroxifenil)formamidina **722** (0,30 g; 1,32 mmol) com malononitrilo (0,11 g; 1,6 mmol) em 7 ml de acetonitrilo, adicionou-se trietilamina (1,10 ml; 7,92 mmol) em banho de gelo. Após 23 horas, sob agitação magnética à temperatura de 0-4 °C, a reação estava terminada por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(3'-hidroxifenil)imidazole **67** (0,28 g; 1,07 mmol; 81 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2). A amostra analítica foi obtida por recristalização do produto na mistura acetona/acetonitrilo/metanol (1/1/1).

5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-hidroxifenil)imidazole

Depois de se ter adicionado trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol) a uma suspensão de (Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-(4'-hidroxifenil)formamidina **40** (0,20 g; 0,88 mmol) e malononitrilo (0,09g; 1,32 mmol) em 10 ml de acetonitrilo em banho de gelo, obteve-se uma solução amarela esverdeada. Após 23 h 30 min, sob agitação magnética a 0-4 °C, a reação estava terminada por evidência do TLC. A suspensão verde amarelada foi filtrada e o sólido amarelo claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-hidroxifenil)imidazole **68** (0,17 g; 0,64 mmol; 73 %), por análise dos espectros de

IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2). A amostra analítica foi obtida por recristalização do produto na mistura acetonitrilo/metanol (1/1).

4.2.10. Síntese das 5,7-diamino-3-aryl-6-ciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas

5,7-Diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A trietilamina (1,40 ml; 10,10 mmol) foi adicionada a uma suspensão de 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-metoxifenil)imidazole **65** (0,20 g; 0,71 mmol) numa mistura de 20 ml de etanol e 7 ml de diclorometano. Após 27 horas, sob refluxo, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. De seguida filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **69** (0,13 g; 0,46 mmol; 65 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão.

5,7-Diamino-6-ciano-3-(2'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A uma suspensão de 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **66** (0,16 g; 0,60 mmol) em 25 ml de etanol e 1 ml de DMF adicionou-se trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol). Ao fim de 3 dias, sob refluxo, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo claro foi lavado com éter etílico frio (0,07 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo até a um volume pequeno e à solução laranja resultante foi adicionado água destilada fria. Precipitou uma segunda fracção de sólido amarelo (0,06 g). As duas fracções mostraram ser idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo 5,7-diamino-6-ciano-3-(2'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **70** (0,13 g; 0,50 mmol; 84 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5,7-Diamino-6-ciano-3-(3'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol) foi adicionada a uma suspensão de 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(3'-hidroxifenil)imidazole **67** (0,20 g; 0,75 mmol) em 25 ml de etanol e 5 ml de acetonitrilo. Após 23 horas sob refluxo, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo claro foi lavado com éter etílico frio (0,05 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo, formando-se um sólido amarelo esverdeado. Após adição de etanol filtrou-se um sólido amarelo e lavou-se com etanol e éter etílico frios (0,07 g). As duas fracções mostraram ser idênticas por TLC e o composto foi identificado como sendo 5,7-diamino-6-ciano-3-(3'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **71** (0,12 g; 0,50 mmol; 60 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5,7-Diamino-6-ciano-3-(4'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol) foi adicionada a uma suspensão de 5-amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-(4'-hidroxifenil)imidazole **68** (0,20 g; 0,75 mmol) em 25 ml de etanol. Ao fim de aproximadamente 27 horas sob refluxo, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. A suspensão foi filtrada e o sólido bege foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo 5,7-diamino-6-ciano-3-(4'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **72** (0,12 g; 0,46 mmol; 62 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e massa de alta resolução (Sec. 2.2.2). A amostra analítica foi obtida por recristalização do produto na mistura etanol/acetonitrilo (2/1).

4.2.11. Síntese das 5-amino-3-aryl-6,7-diciano-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridinas

5-Amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A uma solução de malononitrilo (0,07 g; 1,12 mmol) em 4 ml de acetonitrilo, adicionou-se 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-metoxifenil)imidazole **42** (0,20 g; 0,83

mmol) em banho de gelo. Ao fim de 3 dias, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, verificou-se por TLC a ausência de reagente de partida. A suspensão foi filtrada e o sólido foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O sólido amarelo foi identificado como sendo 5-amino-6,7-diciano-3-(4'-metoxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **74** (0,22 g; 0,75 mmol; 90 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra autêntica.

5-Amino-6,7-diciano-3-(2'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

O malononitrilo (0,07 g; 1,00 mmol) foi adicionado a uma suspensão de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(2'-hidroxifenil)imidazole **43** (0,18 g; 0,78 mmol) em 15 ml de acetonitrilo em banho de gelo. Ao fim de 44 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrou ausência de reagente de partida. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo esverdeado claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 5-amino-6,7-diciano-3-(2'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **75** (0,18 g; 0,67 mmol; 86 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-6,7-diciano-3-(3'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A uma solução de malononitrilo (0,03 g; 0,49 mmol) em 3 ml de acetonitrilo, adicionou-se 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(3'-hidroxifenil)imidazole **44** (0,100 g; 0,44 mmol) em banho de gelo. Ao fim de 23 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrou ausência de reagente de partida. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo esverdeado claro foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 5-amino-6,7-diciano-3-(3'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **76** (0,11 g; 0,41 mmol; 92 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

5-Amino-6,7-diciano-3-(4'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina

A uma solução de malononitrilo (0,07 g; 1,12 mmol) em 9 ml de acetonitrilo, adicionou-se 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4'-hidroxifenil)imidazole **45** (0,20 g; 0,88 mmol) em banho de gelo. Ao fim de 28 horas, sob agitação à temperatura de 0-4 °C, o TLC mostrou ausência de reagente de partida. A suspensão foi filtrada e o sólido bege foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 5-amino-6,7-diciano-3-(4'-hidroxifenil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridina **77** (0,21 g; 0,77 mmol; 87 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.2.2).

4.2.12. Síntese das (Z)-*N*-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-*O*-alquilformamidoximas**(Z)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima**

Adicionou-se *p*-anisaldeído (0,41 ml; 3,37 mmol) a uma suspensão de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-benzilformamidoxima **79** (0,80 g; 3,31 mmol) em 7 ml de etanol, juntamente com uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,03 g). A reacção começou imediatamente sob agitação à temperatura ambiente, estando completa ao fim de aproximadamente 10 minutos. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **82** (1,07 g; 2,99 mmol; 90 %), por comparação do espectro de IV com o de uma amostra padrão.

(Z)-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima

A uma suspensão de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-benzilformamidoxima **79** (0,80 g; 3,31 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,35 ml; 3,31 mmol) em 2,5 ml de metanol, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). Ao fim de

aproximadamente 15 min, sob agitação magnética em banho de gelo, o TLC mostrou que a reacção tinha acabado. De seguida filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com metanol e éter etílico frios. O sólido assim obtido foi identificado como sendo *(Z)*-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **83** (1,11 g; 3,20 mmol; 97 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

***(Z)*-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima**

A uma suspensão de *(Z)*-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-benzilformamidoxima **79** (0,80 g; 3,31 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,40 g; 3,31 mmol) em 2 ml de etanol, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). A reacção começou imediatamente sob agitação em banho de gelo, estando completa ao fim de aproximadamente 20 minutos. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo *(Z)*-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **84** (0,74 g; 2,14 mmol; 65 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

***(Z)*-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima**

Adicionou-se 4-hidroxibenzaldeído (0,40 g; 3,31 mmol) a uma suspensão de *(Z)*-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-benzilformamidoxima **79** (0,80 g; 3,31 mmol) em 7 ml de etanol, juntamente com uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). A reacção começou imediatamente sob agitação em banho de gelo, estando completa ao fim de aproximadamente 15 minutos. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo *(Z)*-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **85** (1,06 g; 3,07 mmol; 93 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima

A uma suspensão de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-benzilformamidoxima **79** (0,60 g; 2,48 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,34 g; 2,48 mmol) em 5,5 ml de etanol, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). A reação começou imediatamente sob agitação em banho de gelo, estando completa ao fim de aproximadamente 15 minutos. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo (Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima **86** (0,74 g; 2,05 mmol; 83 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima

A uma suspensão de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-benzilformamidoxima **79** (0,24 g; 1,0 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,17 g; 1,0 mmol) em 3 ml de etanol, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). A reação começou imediatamente sob agitação em banho de gelo, estando completa ao fim de aproximadamente 20 minutos. Filtrou-se a suspensão e o sólido laranja foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo (Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima **87** (0,33 g; 0,87 mmol; 87 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima

A uma solução de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-metilformamidoxima **80** (0,54 g; 3,31 mmol) em 10 ml de etanol, foi adicionado *p*-anisaldeído (0,41 ml; 3,37 mmol). A seguir, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g) e a

reacção começou imediatamente, estando completa ao fim de aproximadamente 10 minutos sob agitação à temperatura ambiente. A suspensão foi filtrada e sólido amarelo foi lavado com etanol e éter frios. O produto obtido foi identificado como sendo o (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **88** (0,68 g; 2,39 mmol; 72 %), por comparação do espectro de IV com o de uma amostra padrão.

(*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima

A uma solução de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-metilformamidoxima **80** (0,20 g; 1,23 mmol) em 1,5 ml de etanol, foi adicionado 2-hidroxibenzaldeído (0,14 ml; 1,31 mmol). A seguir, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,01 g) e a reacção começou imediatamente, estando completa ao fim de aproximadamente 15 minutos sob agitação em banho de gelo. A suspensão foi filtrada e sólido laranja foi lavado com etanol e éter frio. O produto obtido foi identificado como sendo a (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **89** (0,28 g; 1,02 mmol; 84 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima

A uma suspensão de (*Z*)-*N*-(2-amino-1,2-dicianovinil)-*O*-metilformamidoxima **80** (0,30 g; 1,84 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,22 g; 1,84 mmol) em 4 ml de diclorometano e 0,1 ml de etanol, foi adicionada uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). Ao fim de aproximadamente 30 min, sob agitação em banho de gelo, a reacção estava completa por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e sólido amarelo foi lavado com diclorometano e éter etílico frio (0,39 g). O líquido-mãe foi concentrado no evaporador rotativo e precipitou um sólido amarelo que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frios (0,05 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas e o composto foi identificado como sendo (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **90** (0,44 g;

1,62 mmol; 88 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima

A uma solução de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-metilformamidoxima **80** (0,40 g; 2,45 mmol) em 4 ml de etanol, foi adicionado 4-hidroxibenzaldeído (0,30 g; 2,45 mmol). A seguir, adicionou-se uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g) e a reacção começou imediatamente, estando completa ao fim de aproximadamente 15 minutos sob agitação à temperatura de 0-4 °C. A suspensão foi filtrada e o sólido amarelo foi lavado com etanol e éter frio. O produto obtido foi identificado como sendo a (Z)-N-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima **91** (0,63 g; 2,32 mmol; 95 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima

A uma solução de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-metilformamidoxima **80** (0,30 g; 1,84 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,25 g; 1,84 mmol) em 4 ml de etanol, foi adicionada uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). Ao fim de 25 min, sob agitação em banho de gelo, a reacção estava completa por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido laranja foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo a (Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima **92** (0,47 g; 1,66 mmol; 90 %), por análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

(Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima

A uma solução de (Z)-N-(2-amino-1,2-dicianovinil)-O-metilformamidoxima **80** (0,16 g; 1,0 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,17 g; 1,0 mmol) em 6 ml de etanol, foi adicionada uma quantidade catalítica de ácido tosílico (0,02 g). Ao fim de 20 min, sob agitação em banho de gelo, a reacção estava completa por evidência do TLC. A suspensão foi filtrada e o sólido laranja foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto obtido foi identificado como sendo a (Z)-N-[1,2-diciano-2-(3',4',5'-trihidroxibenzilidenamino)vinil]-O-metilformamidoxima **93** (0,24 g; 0,78 mmol; 78 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4.2.13. Síntese dos 2-aryl-4,5-diciano-N-(N'-alcoxiformimidoil)imidazoles

4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole

O dióxido de manganês (3,03 g; 34,80 mmol) foi adicionado a uma solução de (Z)-N-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima **82** (0,25 g; 0,70 mmol) em 30 ml de tetrahydrofurano. Ao fim de 30 horas, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. A solução amarela foi a concentrar no evaporador rotativo, precipitando um sólido branco que foi filtrado. O produto obtido foi identificado como sendo o 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole **95** (0,21 g; 0,57 mmol; 83 %), por comparação do espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)-N-(N'-benziloxiformimidoil)imidazole

O dióxido de manganês (1,57 g; 18,10 mmol) foi adicionado a uma solução de (Z)-N-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-O-benzilformamidoxima **83** (0,25 g; 0,72 mmol) em 60 ml de tetrahydrofurano. Ao fim de 7 dias, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de

fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de clorofórmio e *n*-hexano, precipitou um sólido bege que foi filtrado e lavado com *n*-hexano (0,10 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de *n*-hexano, uma segunda fracção dum sólido amarelo pálido (0,06 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(2'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **96** (0,16 g; 0,46 mmol; 64 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole

O dióxido de manganês (1,26 g; 14,48 mmol) foi adicionado a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **84** (0,10 g; 0,29 mmol) em 25 ml de tetrahidrofurano. Ao fim de 2 dias, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de clorofórmio, precipitou um sólido amarelo pálido que foi filtrado e lavado com *n*-hexano frio (0,05 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após adição de *n*-hexano e concentração do solvente sob evaporação lenta à temperatura ambiente, uma segunda fracção dum sólido amarelo pálido (0,01 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas e o composto foi identificado como 4,5-diciano-2-(3'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **97** (0,06 g; 0,17 mmol; 59 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole

O dióxido de manganês (3,15 g; 36,20 mmol) foi adicionado a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **85** (0,25 g; 0,72 mmol) em 30 ml de tetrahidrofurano. Após 29 horas, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de

fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de clorofórmio e *n*-hexano, precipitou um sólido branco sujo que foi filtrado e lavado com *n*-hexano (0,16 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de *n*-hexano, uma segunda fracção dum sólido bege (0,03 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **98** (0,19 g; 0,56 mmol; 77 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole

O dióxido de manganês (3,01 g; 34,60 mmol) foi adicionado a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **86** (0,25 g; 0,69 mmol) em 60 ml de tetrahydrofurano. Após 3 dias, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de clorofórmio e éter etílico, precipitou um sólido creme claro que foi filtrado e lavado com *n*-hexano (0,13 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de éter, uma segunda fracção dum sólido creme claro (0,03 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-benziloxiformimidoil)imidazole **99** (0,16 g; 0,44 mmol; 64 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(4'-metoxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole

A uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **88** (0,20 g; 0,71 mmol) em 30 ml de tetrahydrofurano, adicionou-se dióxido de manganês (3,07 g; 35,30 mmol). Após 30 horas, sob refluxo, o TLC mostrava que a reacção tinha terminado. A mistura foi filtrada por uma folha de fibra de

vidro com uma camada muito fina de sílica. A solução amarela foi a concentrar no evaporador rotativo e precipitou um sólido amarelo pálido que foi filtrado e lavado com *n*-hexano frio. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o produto foi identificado como sendo o 4,5-diciano-2-(4'-metoxifenil)-*N*-(*N*'-metoxiformimidoil)imidazole **100** (0,15 g; 0,53 mmol; 75 %) (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(2'-hidroxifenil)-*N*-(*N*'-metoxiformimidoil)imidazole

Adicionou-se dióxido de manganês (2,01 g; 23,15 mmol) a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **89** (0,25 g; 0,93 mmol) em 60 ml de tetrahidrofurano. Após 7 dias, sob refluxo, a reacção estava concluída por evidência de TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de metanol e *n*-hexano, isolou-se por filtração um sólido que após ser lavado com clorofórmio e *n*-hexano se verificou ser de cor beije. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o produto foi identificado como sendo o 4,5-diciano-2-(2'-hidroxifenil)-*N*-(*N*'-metoxiformimidoil)imidazole **101** (0,10 g; 0,38 mmol; 40 %) (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(3'-hidroxifenil)-*N*-(*N*'-metoxiformimidoil)imidazole

Adicionou-se dióxido de manganês (1,62 g; 18,60 mmol) a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **90** (0,11 g; 0,39 mmol) em 25 ml de tetrahidrofurano. Ao fim de 2 dias, sob refluxo, a reacção estava concluída por evidência de TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, isolando-se por filtração um sólido que após ser lavado com *n*-hexano se verificou ser de cor amarela pálida. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o produto foi identificado como sendo o 4,5-diciano-2-(3'-hidroxifenil)-*N*-(*N*'-metoxiformimidoil)imidazole **102** (0,09 g; 0,32 mmol; 81 %) (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole

Adicionou-se dióxido de manganês (3,23 g; 37,15 mmol) a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **91** (0,20 g; 0,74 mmol) em 25 ml de tetrahydrofurano. Após 25 horas, sob refluxo, a reação estava concluída por evidência de TLC. A mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Concentrou-se o solvente no evaporador rotativo, e por adição de clorofórmio e *n*-hexano isolou-se, por filtração, um sólido que após ser lavado com *n*-hexano se verificou ser de cor bege. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o produto foi identificado como sendo o 4,5-diciano-2-(4'-hidroxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole **103** (0,13 g; 0,49 mmol; 66 %) (Sec. 2.3.2).

4,5-Diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole

Adicionou-se dióxido de manganês (1,52 g; 17,53 mmol) a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **92** (0,10 g; 0,35 mmol) em 30 ml de tetrahydrofurano. Após 2 dias, sob refluxo, a reação estava concluída por evidência de TLC e a mistura foi filtrada por uma folha de fibra de vidro com uma camada muito fina de sílica. Por remoção parcial do solvente no evaporador rotativo, e adição de clorofórmio, precipitou um sólido bege que foi filtrado e lavado com clorofórmio e éter etílico frios (0,04 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de *n*-hexano, uma segunda fração dum sólido creme (0,02 g). O TLC mostrou que as duas frações recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 4,5-diciano-2-(3',4'-dihidroxifenil)-*N*-(*N'*-metoxiformimidoil)imidazole **104** (0,06 g; 0,23 mmol; 65 %), por análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

4.2.14. Síntese das 8-aril-6-cianopurinas

6-Ciano-8-(4'-metoxifenil)purina

A trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-metoxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **82** (0,25 g; 0,70 mmol) numa mistura de 25 ml de diclorometano e 5 ml de acetonitrilo. A reacção foi seguida por TLC, estando concluída após 22 horas de refluxo. O solvente foi concentrado e por adição de acetato de etilo e éter etílico formou-se uma suspensão de sólido amarelo esverdeado, que foi filtrado e lavado com diclorometano e éter etílico frios. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o sólido isolado foi identificado como sendo 6-ciano-8-(4'-metoxifenil)purina **107** (0,15 g; 0,60 mmol; 86 %) (Sec. 2.3.2).

6-Ciano-8-(2'-hidroxifenil)purina

A trietilamina (1,0 ml; 7,21 mmol) foi adicionada a uma suspensão de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(2'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **83** (0,10 g; 0,29 mmol) em 25 ml de acetonitrilo, formando-se uma solução vermelha. A reacção foi seguida por TLC, estando concluída ao fim de aproximadamente 3 horas de refluxo. O solvente foi concentrado e por adição de diclorometano e *n*-hexano, formou-se uma suspensão amarela que foi filtrada e o sólido bege foi lavado com *n*-hexano frio. Após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar o sólido isolado foi identificado como sendo 6-ciano-8-(2'-hidroxifenil)purina **108** (0,04 g; 0,17 mmol; 58 %) (Sec. 2.3.2).

6-Ciano-8-(3'-hidroxifenil)purina

A trietilamina (0,52 ml; 3,75 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **90** (0,10 g; 0,37 mmol) em 0,5 ml de DMSO. Após 4 dias em agitação magnética à temperatura

ambiente verificou-se por TLC que a reacção tinha terminado. Por adição de clorofórmio e *n*-hexano, precipitou um sólido creme claro que foi filtrado e lavado com *n*-hexano frio. O composto foi identificado como sendo 6-ciano-8-(3'-hidroxifenil)purina **109** (0,06 g; 0,27 mmol; 72 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.3.2).

6-Ciano-8-(4'-hidroxifenil)purina

A trietilamina (1,50 ml; 10,82 mmol) foi adicionada a uma suspensão de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(4'-hidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-metilformamidoxima **91** (0,10 g; 0,37 mmol) em 9 ml de acetonitrilo, formando-se uma solução laranja. A reacção foi seguida por TLC, estando concluída após 3 horas de refluxo. O solvente foi concentrado, formando-se uma suspensão laranja que foi filtrada e o sólido creme foi lavado com éter etílico frio (0,01 g). A solução de filtração foi concentrada no evaporador rotativo e por adição de diclorometano precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com éter etílico frio (0,03 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de diclorometano, uma terceira fracção dum sólido creme (0,02 g). O TLC mostrou que as três fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 6-ciano-8-(4'-hidroxifenil)purina **110** (0,06 g; 0,25 mmol; 67 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e alta resolução (Sec. 2.3.2).

6-Ciano-8-(3',4'-dihidroxifenil)purina

A trietilamina (2,0 ml; 14,42 mmol) foi adicionada a uma solução de (*Z*)-*N*-[1,2-diciano-2-(3',4'-dihidroxibenzilidenamino)vinil]-*O*-benzilformamidoxima **86** (0,20 g; 0,55 mmol) em 60 ml de acetonitrilo. A reacção foi seguida por TLC, estando concluída após 5 horas de refluxo. O solvente foi concentrado, formando-se uma suspensão laranja que foi filtrada e o sólido creme claro foi lavado com éter etílico frio (0,08 g). A solução de filtração foi concentrada no evaporador rotativo e por adição de diclorometano e éter etílico precipitou um sólido creme que foi filtrado e lavado com éter etílico frio (0,03 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas

sendo o composto identificado como 6-ciano-8-(3',4'-dihidroxifenil)purina **111** (0,11 g; 0,43 mmol; 79 %), após a análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN, espectrometria de massa e alta resolução (Sec. 2.3.2).

4.2.15. Síntese dos benzilidenomalononitrilos e derivados

4-Metoxibenzilidenomalononitrilo

A uma solução de malononitrilo (0,26 g; 4,0 mmol) em 2 ml de metanol, adicionou-se *p*-anisaldeído (0,49 ml; 4,03 mmol). Após 24 horas, sob agitação à temperatura ambiente, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 4-metoxibenzilidenomalononitrilo **113** (0,69 g; 3,76 mmol; 94 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

3-Hidroxibenzilidenomalononitrilo

A uma suspensão de malononitrilo (0,11 g; 1,71 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,20 g; 1,64 mmol) em 3 ml de diclorometano, adicionou-se 1 gota de trietilamina (0,01 ml). Após 2 horas, sob agitação à temperatura ambiente, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo pálido foi lavado com diclorometano e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 3-metoxibenzilidenomalononitrilo **114** (0,21 g; 1,22 mmol; 74 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

4-Hidroxibenzilidenomalononitrilo

Dissolveu-se malononitrilo (0,55 g; 8,36 mmol) e 4-hidroxibenzaldeído (1,0 g; 8,19 mmol) em 5 ml de metanol. Após 24 horas, sob agitação à temperatura ambiente,

verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com metanol e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 4-metoxibenzilidenomalononitrilo **115** (1,03 g; 6,07 mmol; 74 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

3,4-Dihidroxibenzilidenomalononitrilo

A uma solução de malononitrilo (0,14 g; 2,07 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,28 g; 2,0 mmol) em 1 ml de metanol, adicionou-se 1 gota de trietilamina (0,01 ml). Após 5 horas, sob agitação à temperatura ambiente, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com éter etílico frio (0,17 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo, uma segunda fracção dum sólido amarelo (0,06 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como sendo 3,4-dihidroxibenzilidenomalononitrilo **116** (0,23 g; 1,22 mmol; 61 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

3,4,5-Trihidroxibenzilidenomalononitrilo

A uma solução de malononitrilo (0,14 g; 2,14 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,34 g; 2,0 mmol) em 1 ml de etanol, adicionou-se 1 gota de trietilamina (0,01 ml). Após 3 horas, sob agitação à temperatura ambiente, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo pálido foi lavado com etanol e éter etílico frio (0,21 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo, uma segunda fracção dum sólido amarelo alaranjado (0,10 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 3,4,5-trihidroxibenzilidenomalononitrilo **117** (0,31 g; 1,55 mmol; 78 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

4.2.15.1. Reacção de 2-hidroxibenzaldeído com malononitrilo

Síntese do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno

Dissolveu-se malononitrilo (0,36 g; 5,43 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,54 ml; 5,06 mmol) em 3 ml de diclorometano. Da solução amarela começou a precipitar um sólido branco e a reacção estava terminada ao fim de 4 h e 30 min sob agitação magnética à temperatura ambiente. Filtrou-se a suspensão e o sólido branco foi lavado com diclorometano e éter etílico. O produto foi identificado como sendo 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119** (0,58 g; 2,45 mmol; 90 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra padrão completamente caracterizada.

Síntese do dímero de 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo

A uma solução de malononitrilo (0,34 g; 5,15 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,54 ml; 5,06 mmol) em 3 ml de metanol, adicionou-se 1 gota de trietilamina (0,01 ml) sob agitação magnética à temperatura ambiente. Da solução amarela começou a precipitar um sólido amarelo e a reacção estava terminada ao fim de 15 min. O sólido amarelo pálido foi filtrado e lavado com metanol e éter etílico frios (0,34 g). Da solução de filtração ainda foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo, uma segunda fracção dum sólido amarelo (0,41 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas e a análise elementar mostrou que o composto **120** (0,75 g; 2,20 mmol; 87 %) é um dímero de 2-hidroxibenzilidenomalononitrilo. Este dado foi confirmado por análise dos espectros de IV, ¹H RMN e ¹³C RMN (Sec. 2.4.2). Posteriormente, verificou-se no nosso laboratório que este composto resulta também da reacção do 2-amino-3-ciano-4-dicianometil-4*H*-cromeno **119** com uma quantidade equimolar de malononitrilo, em metanol.

4.2.16. Síntese do sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas

Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina

A trietilamina (1,0 ml; 7,21 mmol) foi adicionada a uma solução de malononitrilo (0,40 g; 6,02 mmol) e *p*-anisaldeído (0,25 ml; 2,01 mmol) em 10 ml de metanol. Após 1 hora, sob refluxo, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. A solução laranja foi concentrada e por adição de clorofórmio e éter etílico, formou-se uma suspensão que foi filtrada e o sólido amarelo foi lavado com éter etílico frio. O produto foi identificado como sendo o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** (0,22 g; 0,53 mmol; 26 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Neutralização do sal:

A neutralização do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilpiridina **124** (0,11 g; 0,26 mmol) foi efectuada na mistura com 6 ml de etanol, 1 ml de diclorometano, 8 ml de água e 1 ml de ácido acético glacial 98 % sob agitação à temperatura de 0-4°C. Ao fim de 1 h 15 min, a solução amarela foi concentrada e formou-se uma suspensão com precipitado creme, que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico frios. O sólido obtido foi identificado como sendo 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-dicianometilenopiridina **125** (0,07 g; 0,21 mmol; 81 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina

A trietilamina (1,0 ml; 7,21 mmol) foi adicionada a uma solução de malononitrilo (0,36 g; 5,41 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,18 ml; 1,64 mmol) em 10 ml de diclorometano. Ao fim de 1 hora, sob refluxo, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo foi lavado com éter etílico frio. O produto foi identificado como sendo o sal de trietilamónio da 2-

amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **121** (0,33 g; 0,83 mmol; 50 %), após a análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina

A trietilamina (1,0 ml; 7,21 mmol) foi adicionada a uma suspensão de malononitrilo (0,33 g; 5,03 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,20 g; 1,64 mmol) em 10 ml de diclorometano, obtendo-se uma solução laranja. Ao fim de 1 hora, sob refluxo, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Por adição de éter etílico e arrefecimento da solução laranja, formou-se uma suspensão que foi filtrada e o sólido amarelo foi lavado com éter etílico frio. O produto foi identificado como sendo o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **122** (0,21 g; 0,53 mmol; 32 %), após a análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Tentativa de neutralização do sal:

Na tentativa de neutralização do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **122** (0,15 g; 0,49 mmol) com a mistura de 8 ml de etanol, 5 ml de água destilada e 1 ml de ácido acético glacial 98 % sob agitação à temperatura de 0-4°C durante 2 horas foi obtido uma mistura do sal de trietilamónio da dihidropiridina e piridina (1/1). Quando o procedimento experimental foi repetido, substituindo o ácido acético glacial 98 % por ácido trifluoracético (200 µl), ocorreu degradação do reagente e o procedimento foi abandonado.

Sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina

A trietilamina (1,0 ml; 7,21 mmol) foi adicionada a uma suspensão de malononitrilo (0,34 g; 5,17 mmol) e 4-hidroxibenzaldeído (0,20 g; 1,64 mmol) em 10 ml de diclorometano, obtendo-se uma solução amarela. Ao fim de 1 hora, sob refluxo, verificou-se por intermédio do TLC que a reacção tinha terminado. Por arrefecimento

da solução laranja, formou-se uma suspensão que foi filtrada e o sólido amarelo foi lavado com diclorometano e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo o sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **123** (0,31 g; 0,78 mmol; 48 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Neutralização do sal:

A neutralização do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina **123** (0,20 g; 0,49 mmol) foi efectuada com mistura de 8 ml de etanol, 2 ml de diclorometano, 15 ml de água destilada e 2 ml de ácido acético glacial 98 %, sob agitação à temperatura de 0-4°C. Após 2 horas, a solução laranja foi concentrada e formou-se uma suspensão com muito precipitado creme, que foi filtrado e lavado com água destilada e éter etílico frios. O sólido obtido foi identificado como sendo 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-dicianometilenopiridina **126** (0,13 g; 0,43 mmol; 86 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

Tentativa de síntese do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4'-dihidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina

Adicionou-se trietilamina (1,5 ml; 10,82 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,21 g; 3,19 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,14 g; 1,0 mmol) em 11 ml de metanol. Ao fim de 5 horas, sob refluxo, verificou-se por TLC que a solução reaccional tinha sofrido uma grande degradação e a mistura complexa de produtos foi abandonada.

Tentativa de síntese do sal de trietilamónio da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4',5'-trihidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina

Adicionou-se trietilamina (1,5 ml; 10,82 mmol) a uma suspensão de malononitrilo (0,20 g; 3,1 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,17 g; 1,0 mmol) em 8 ml de diclorometano e 0,5 ml de acetonitrilo, obtendo-se uma solução laranja. Ao fim de 2h 20 min, sob refluxo, a solução reaccional já estava muito degradada e foi abandonada.

4.2.17. Síntese das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas

2-Amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (2,0 ml; 14,42 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,15 g; 2,21 mmol) e *p*-anisaldeído (0,13 ml; 1,07 mmol) em 25 ml de metanol à temperatura ambiente. Ao fim de 1h 30 min, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. A solução creme alaranjada foi concentrada até formar uma suspensão que foi filtrada e o sólido branco obtido foi lavado com metanol e éter etílico frios. O produto foi identificado como sendo 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-metoxifenil)-6-metoxipiridina **127** (0,08 g; 0,27 mmol; 26 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

2-Amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (9,0 ml; 64,89 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,33 g; 4,94 mmol) e 2-hidroxibenzaldeído (0,27 ml; 2,52 mmol) em 60 ml de metanol. Ao fim de 1 h 30 min, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. Filtrou-se a suspensão e o sólido amarelo pálido foi lavado com metanol frio e identificado como 2-amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-dicianometil-1,4-dihidropiridina na forma de sal de trietilamónio **121** (0,11 g; 0,28 mmol; 11 %), por comparação do seu espectro de IV com o de uma amostra completamente caracterizada.

A solução de filtração foi concentrada no evaporador rotativo e precipitou um sólido amarelo pálido que foi filtrado e lavado com metanol frio (0,11 g). O composto foi identificado como 2-amino-3,5-diciano-4-(2'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina **128** (0,11 g; 0,43 mmol; 17 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN e análise elementar (Sec. 2.4.2).

2-Amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (9,0 ml; 64,89 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,33 g; 4,94 mmol) e 3-hidroxibenzaldeído (0,30 g; 2,46 mmol) em 60 ml de metanol.

Ao fim de 1 h 30 min, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. O solvente foi concentrado no evaporador rotativo, e por adição de acetato de etilo e etanol, precipitou um sólido creme claro que foi filtrado e lavado com etanol e acetato de etilo (0,11 g). Da solução de filtração foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de clorofórmio e acetato de etilo, um sólido amarelo pálido (0,05 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como sendo 2-amino-3,5-diciano-4-(3'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina **129** (0,16 g; 0,59 mmol; 24 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e alta resolução (Sec. 2.4.2).

2-Amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (4,0 ml; 28,84 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,32 g; 4,90 mmol) e 4-hidroxibenzaldeído (0,30 g; 2,46 mmol) em 60 ml de metanol. Ao fim de 6h 30 min, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. O solvente foi concentrado no evaporador rotativo, e por adição de acetato de etilo e éter etílico, precipitou um sólido creme claro que foi filtrado e lavado com clorofórmio e éter etílico frios (0,16 g). Da solução de filtração foi possível isolar, após concentração do solvente no evaporador rotativo e adição de clorofórmio e etanol, uma segunda fracção dum sólido creme (0,04 g). O TLC mostrou que as duas fracções recolhidas eram idênticas sendo o composto identificado como 2-amino-3,5-diciano-4-(4'-hidroxifenil)-6-metoxipiridina **130** (0,20 g; 0,73 mmol; 30 %), após a análise dos espectros de IV, ¹H RMN, ¹³C RMN, espectrometria de massa e alta resolução (Sec. 2.4.2).

2-Amino-3,5-diciano-4-(3',4'-dihidroxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (3,0 ml; 21,63 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,15 g; 2,24 mmol) e 3,4-dihidroxibenzaldeído (0,14 g; 1,0 mmol) em 30 ml de metanol. Ao fim de 2 horas, sob refluxo, a reacção tinha terminado por evidência do TLC. O solvente foi concentrado no evaporador rotativo, e por adição de diclorometano e acetato de etilo, precipitou um sólido verde claro que foi filtrado e lavado com éter

etílico frio. O composto foi identificado como sendo 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4'-dihidroxifenil)-6-metoxipiridina **131** (0,06 g; 0,22 mmol; 21 %), após a análise dos espectros de IV, ^1H RMN, ^{13}C RMN, espectrometria de massa e alta resolução (Sec. 2.4.2).

Tentativa de síntese da 2-amino-3,5-diciano-4-(3',4',5'-trihidroxifenil)-6-metoxipiridina

Adicionou-se trietilamina (3,0 ml; 21,63 mmol) a uma solução de malononitrilo (0,14 g; 2,10 mmol) e 3,4,5-trihidroxibenzaldeído.1H₂O (0,17 g; 1,0 mmol) em 30 ml de metanol. Ao fim de 2 horas, sob refluxo, a solução reaccional tinha sofrido muita degradação por evidência do TLC e foi abandonada.

4.3. Avaliação da actividade antioxidante

4.3.1. Técnica de voltametria cíclica

A voltametria cíclica foi utilizada para a determinação dos potenciais de pico anódico (E_p) dos compostos sintetizados, uma vez que o potencial de oxidação de um composto pode ser utilizado como parâmetro de descrição da actividade antioxidante [24, 84]. Nesta técnica voltamétrica aplica-se, ao eléctrodo de trabalho, um perfil de potencial como o indicado na figura 4.1. A intensidade de corrente gerada ao longo do tempo é registada, obtendo-se o voltamograma cíclico.

O termo “cíclica” deve-se ao facto do potencial do eléctrodo de trabalho variar linearmente, a velocidade constante, desde um valor inicial, E_1 , até um potencial E_2 , valor em que o sentido da variação de potencial é invertido, normalmente à mesma velocidade, até retornar ao potencial inicial, E_1 . Na figura 4.1 é possível observar na alínea a) o perfil de potencial aplicado ao eléctrodo de trabalho em função do tempo, em voltametria cíclica e na alínea b) um voltamograma cíclico de um dos compostos fenólicos estudados. A voltametria cíclica afigura-se como um método expedito e fiável

para a determinação dos potenciais de oxidação como descrito na literatura [24, 84]. Os resultados obtidos foram comparados com os dados recolhidos para o trolox.

As experiências de voltametria cíclica foram realizadas utilizando um potenciostato Autolab PGSTAT 30. Foi utilizada uma célula voltamétrica de vidro de três eléctrodos, incluindo um eléctrodo de trabalho (disco de carbono vítreo com a área de $0,049 \text{ cm}^2$), um eléctrodo de referência (eléctrodo de calomelanos saturado, ECS) e um eléctrodo secundário (fio de platina). O eléctrodo de trabalho foi polido com alumina $1,0 \mu\text{m}$ e enxaguado com água ultra-pura entre cada ensaio. As soluções etanol/água ultra pura (1/1) em tampão fosfato $0,14 \text{ M}$ (pH 7,4) que continham os compostos sintetizados na concentração de 1 mM foram desoxigenadas com árgon durante 5 minutos, a fim de remover o oxigénio dissolvido na solução. Os voltamogramas foram traçados de -500 a $+1100 \text{ mV}$ *versus* ECS, a uma velocidade de varrimento de 50 mV/s . Para cada composto foram realizados 3 ensaios independentes.

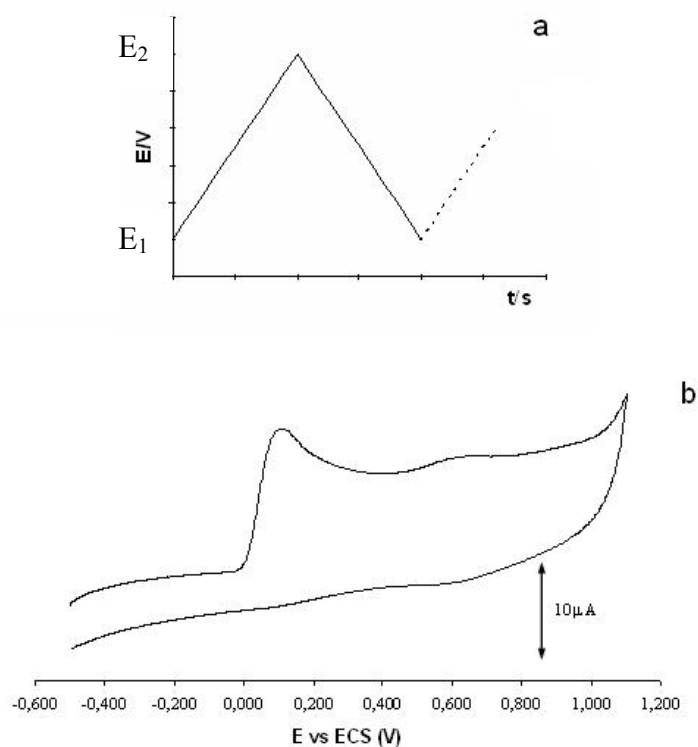


Figura 4.1. a) Perfil de potencial utilizado numa voltametria cíclica. b) Voltamograma cíclico obtido para a oxidação de uma solução do composto **87** ($1,0 \text{ mM}$) em tampão fosfato (pH 7,4) num eléctrodo de carbono vítreo, à velocidade de varrimento de 50 mVs^{-1} .

4.3.2. Método de descoloração do radical DPPH

De entre os diversos métodos descritos que permitem determinar o “scavenging” de radicais livres foi utilizado no presente trabalho o método de descoloração do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) [100, 103].

O DPPH é um radical livre estável que contém um electrão desemparelhado na sua estrutura [104] e pode ser reduzido com relativa facilidade, perdendo a sua absorvância característica (Fig. 4.2) [105]. Deste modo, qualquer molécula com capacidade para reduzir o DPPH a difenilpicrilhidrazina (DPPH-H), provoca alterações na absorvância da solução de DPPH a comprimento de onda igual a 517 nm que podem ser seguidas e avaliadas espectrofotometricamente [106].

Uma vez que a descoloração resultante possui uma relação estequiométrica com o número de electrões captados, o decréscimo na absorvância que resulta desta reacção é assim representativo da capacidade de um determinado composto remover radicais livres independentemente de qualquer actividade enzimática [105]. Com esta abordagem pretendeu-se determinar a concentração inibitória a 50% (IC₅₀) para os compostos com os potenciais de oxidação mais baixos de cada série ou para os compostos que apresentaram actividade antimicrobiana e foram testados até a uma concentração de 400 µM.

Este teste foi executado de acordo com o procedimento descrito por J. Silva *et al* [95], tendo sido utilizado uma solução etanólica de DPPH 0,002% e o trolox como antioxidante de referência.

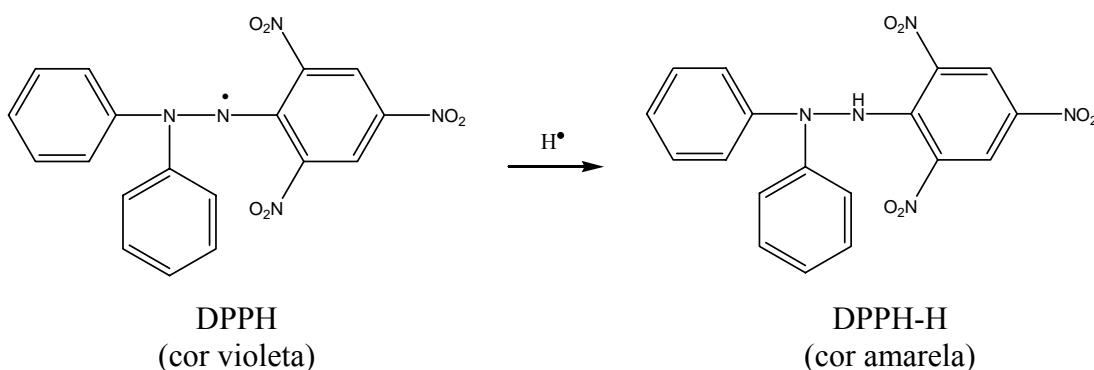


Figura 4.2. Redução do radical DPPH monitorizada a 517 nm.

4.3.3. Método da degradação da desoxirribose

Neste trabalho, a avaliação da actividade antioxidante dos compostos para o radical hidroxilo (HO^\bullet) foi efectuada pelo método da desoxirribose descrito por Halliwell [107].

Nos sistemas biológicos, o par ascorbato-ferro é frequentemente utilizado na indução da oxidação em que o ascorbato actua como agente redutor do ião férrico [108]. Deste modo, o HO^\bullet é gerado no método da desoxirribose através de uma mistura de ácido ascórbico, H_2O_2 e EDTA-Fe^{3+} (reacção de Haber-Weiss) [109].

O radical hidroxilo formado degrada a desoxirribose, levando à formação do malonildialdeído (MDA) o qual reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) dando origem a um cromogénio cor-de-rosa que pode ser monitorizado espectrofotometricamente a 535 nm (Fig. 4.3).

Se à mistura de reacção for adicionado um composto com capacidade de captar radicais hidroxilo, passam a existir no meio reaccional dois compostos a competirem pelo HO^\bullet . Se o composto em estudo for um “scavenger” mais eficaz de radicais HO^\bullet que a desoxirribose então, a degradação desta ocorrerá em menor extensão bem como a formação de cromogénio [107].

A mistura de incubação, num volume final de 1 ml, foi preparada pela adição dos seguintes reagentes e com a seguinte ordem: 780 μl de $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$ (10 mM, pH 7,4), 10 μl de ácido ascórbico (50 μM), 50 μl de FeCl_3 anidro (20 μM), 50 μl de H_2O_2 (1,42 mM), 10 μl do composto em estudo (concentração de IC_{50} obtida no método de DPPH) e 100 μl de desoxirribose (2,8 mM). O FeCl_3 foi dissolvido em $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2 mM), o ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico em água destilada, e os restantes em tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$ (10 mM, pH 7,4). Após agitação, a mistura de reacção foi incubada a 37 °C durante 60 minutos no fim dos quais foi adicionado 1 ml de ácido tricloroacético (2,8 %) e 1 ml de ácido tiobarbitúrico (1 %). Seguidamente, a mistura de reacção foi aquecida à temperatura de 100 °C durante 15 minutos. Após o arrefecimento determinou-se a absorvância das soluções a 532 nm num espectrofotómetro UV-visível (Spectra Max 340PC).

Foram feitos ensaios controlo, substituindo o composto em estudo por solução tampão fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$) e o branco contendo apenas o composto em estudo e a solução tampão fosfato.

Para cada um dos compostos em estudo foram efectuados 3 ensaios independentes e as percentagens de degradação foram calculadas em relação ao controlo positivo.

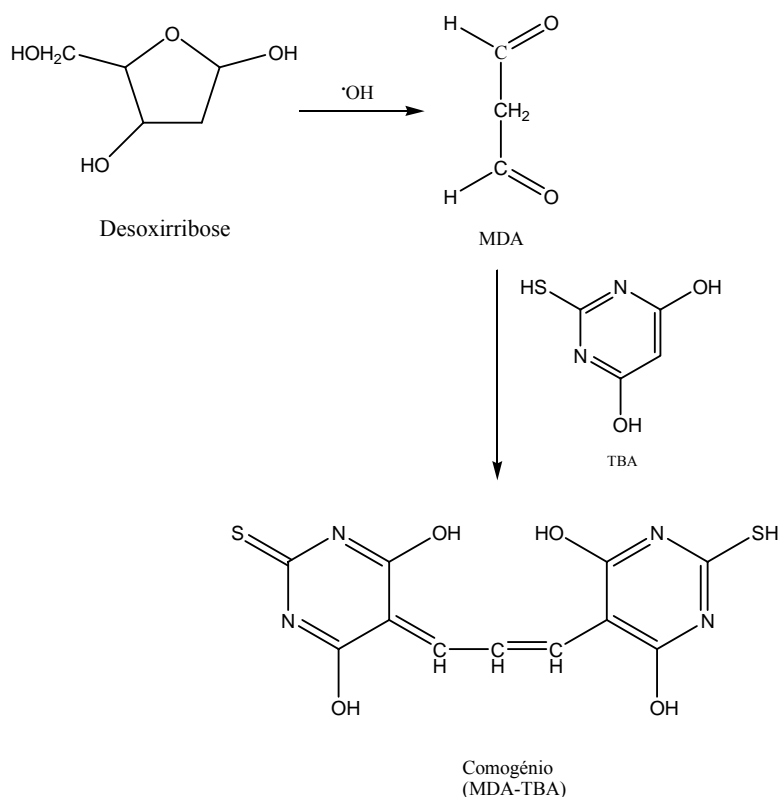


Figura 4.3. A oxidação da desoxirribose pelo radical hidroxilo origina o malonidialdeído que reagindo com o ácido tiobarbitúrico forma um cromogénio cor-de-rosa monitorizado a 535 nm. Adaptado de [110].

4.4. Avaliação da actividade antimicrobiana

As actividades antifúngica e antibacteriana dos compostos foram determinadas para as leveduras *Saccharomyces cerevisia* PYCC 4072 e *Candida albicans* PYCC 3436^T e para as bactérias *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli* HB101.

Como metodologia para a determinação dos valores das concentrações inibitórias mínimas de crescimento (MIC) recorreu-se à turbidimetria. Trata-se de um método simples e rápido que permite medir o aumento da biomassa em função da luz absorvida/dispersa por uma suspensão celular homogénea. Os valores de MIC foram definidos como a concentração mais baixa do composto que origina uma ligeira turbidez, ou seja, há uma inibição maior ou igual a 80 % do crescimento celular quando comparado com o controlo de crescimento na ausência do composto.

As soluções stock dos compostos sintetizados (20 a 60 mM) foram preparadas em DMSO em concentrações pelo menos 100 vezes superiores à concentração mais elevada a ser testada. As soluções stock foram diluídas em meio de cultura a concentrações duas vezes superiores às concentrações finais de composto a ser testadas. Foram colocadas alíquotas de 0,1 ml destas soluções em cada um dos poços de caixas de microplacas de 96 poços. A concentração final do DMSO foi sempre de 1% (v/v).

Controlos de crescimento com solvente e de esterilidade foram incluídos em cada série de ensaios e verificou-se que o meio de cultura com 1 % de DMSO não tem efeito no crescimento dos microrganismos. Foram feitos pelo menos 3 ensaios independentes em triplicado.

4.4.1. Actividade antifúngica

Para as leveduras, os valores de MIC foram determinados pela técnica de microdiluição líquida de acordo com o documento de referência NCCLS M27-A editado pelo “National Committee for Clinical Laboratory Standards” [111]. Para todos os ensaios foi preparada uma cultura das leveduras em tubos de agar inclinado com meio YEPD [constituído por glucose (2 %, p/v), peptona (1 %, p/v), extracto de levedura (0,5 %, p/v) e agar (2 %, p/v)]. Estas culturas foram incubadas 48 horas à temperatura de 30 e 37 °C para *Saccharomyces cerevisia* e *Candida albicans*, respectivamente, de modo a obter uma cultura jovem. Foi transferido o inóculo proveniente da cultura em agar inclinado para um tubo com 5 ml de solução salina 0,85 % estéril de modo a obter-se uma densidade celular de $4,5 \times 10^6$ células/ml. O inóculo padrão foi diluído 1:50 e seguidamente 1:20 com o meio RPMI-1640 (Sigma R-6504) para se obter uma suspensão celular com uma densidade duas vezes superior à do inóculo a ser testado. O meio de cultura RPMI-1640 com 0,165 M de tampão ácido morfolino-4-propanosulfónico (MOPS) foi ajustado a pH 7,0 com NaOH. Uma alíquota de 0,1 ml desta suspensão celular foi adicionada a 0,1 ml da solução com o composto no poço, sendo a densidade final do inóculo de $2,25 \times 10^3$ células/ml. As placas inóculadas foram incubadas sem agitação durante 48 horas à temperatura de 30 e 37 °C para *Saccharomyces cerevisia* e *Candida albicans*, respectivamente. Antes da leitura, as microplacas foram agitadas e os valores de MIC foram determinados por intermédio da

leitura da turbidez de cada poço pelo método visual (recomendado pelo NCCLS) e espectrofotométrico a 640 nm com um leitor de microplacas automático (Spectra Max 340PC). O miconazole e fluconazole foram usados como controlos padrão.

4.4.2. Actividade antibacteriana

A determinação da actividade antibacteriana dos compostos sintetizados foi baseada nas normas da “National Committee for Clinical Laboratory Standards” [111, 112], usando a técnica de microdiluição líquida. O inóculo inicial das bactérias foi preparado de culturas com 48 horas, que cresceram em tubos de agar inclinado com meio LB [constituído por triptona (1 %, p/v), extracto de levedura (0,5 %, p/v), NaCl (1 %, p/v), agar (2 %, p/v) e o pH ajustado a 7,4] a 37 °C e a densidade celular foi ajustada espectrofotometricamente a uma absorvância de 0,10 numa solução salina 0,85 % estéril, medida a um comprimento de onda de 640 nm. Esta suspensão celular foi diluída 1:50 e depois 1:20 com o meio de cultura Mueller Hinton líquido [constituído por extracto de carne (3 %, p/v), hidrolizado de caseína (1,75 %, p/v), amido solúvel (0,15 %, p/v) e o pH ajustado a 7,4] para originar uma suspensão com densidade duas vezes superior à do inóculo final. Uma alíquota de 0,1 ml desta suspensão celular foi adicionada a 0,1 ml da solução com o composto em cada poço. Os valores de MIC foram determinados pelo método visual e espectrofotométrico a 640 nm, depois de uma incubação de 18 horas à temperatura de 37 °C. O cloranfenicol foi usado como agente antibacteriano de referência (Fig. 4.4). O cloranfenicol inibe a síntese proteica nas bactérias e, em menor extensão, nas células eucariótas [39].

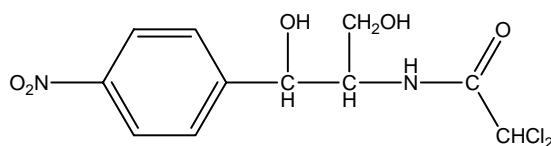


Figura 4.4. Estrutura do cloranfenicol.

4.5. Avaliação da citotoxicidade em células animais

No presente trabalho foi utilizada uma linha celular de fibroblastos denominada L929 e foi obtida a partir da “European Collection of Animal Cell Cultures” (ECACC).

4.5.1. Método da libertação da LDH

O método da libertação da enzima LDH é muito utilizado na avaliação da citotoxicidade de compostos [113]. Esta enzima é responsável pela redução de piruvato a lactato, na presença de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) (Fig. 4.5) [114]. O interesse da análise da actividade da enzima LDH reside no facto de ser uma enzima citoplasmática e ser libertada para o meio extracelular apenas quando as células sofrem lesão ao nível da membrana plasmática. Deste modo, a sua determinação constitui uma boa avaliação da viabilidade celular, fornecendo indicações sobre a integridade membranar.

Este teste foi executado de acordo com o procedimento descrito por Silva [95].

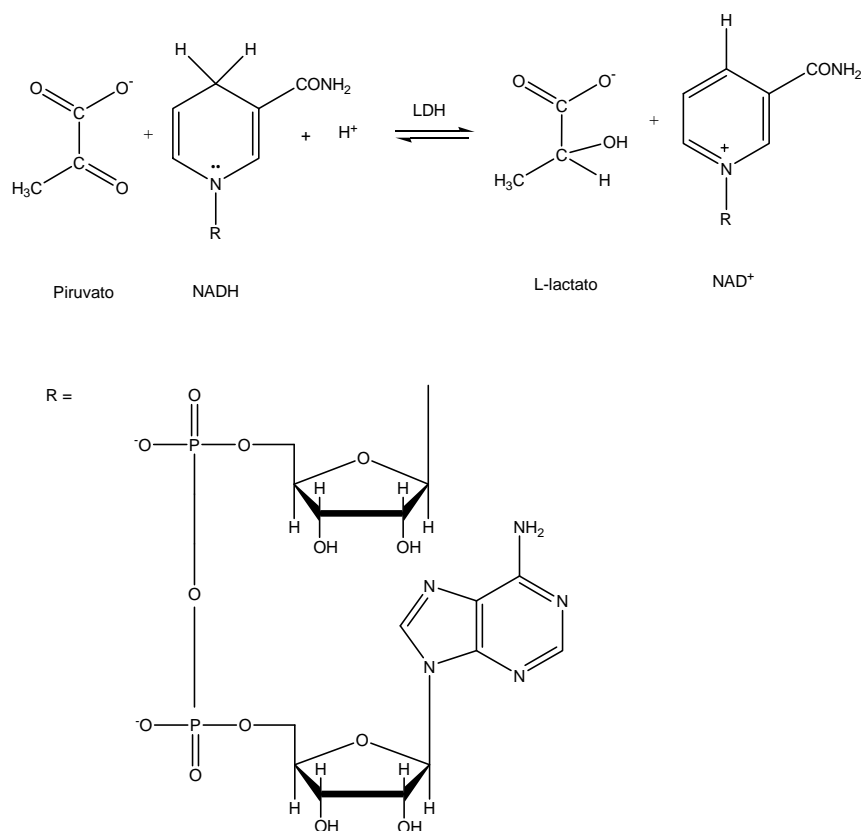


Figura 4.5. Redução do piruvato a lactato, catalisada pela LDH, utilizando NADH. Adaptado de [114].

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] Madhavi D., Deshpande S. e D. Salunkhe; In: “*Food Antioxidants. Technological, Toxicological and Health Perspectives*”; mdi. USA, 1997.
- [2] B. Halliwell e J. Gutteridge; *Arch. Biochem. Biophys.* 246, 1986, 501.
- [3] B. Halliwell e J. Gutteridge; *Methods Enzymol.* 186, 1990, 1.
- [4] B. Halliwell; *J. Neurochem.* 59, 1992, 1609.
- [5] S. Mandel e M. Youdim; *Free Rad. Biol. Med.* 37, 2004, 304.
- [6] B. Halliwell e J. Gutteridge; In: “*Free radical in Biology and Medicine. Lipid peroxidation: a radical chain reaction*”; Claredon Press, Oxford, 1989.
- [7] M. Gerlach, D. Shachar, P. Riederer e M. Youdim; *J. Neurochemistry* 63, 1994, 793.
- [8] J. Braugher, L. Duncan e R. Chase; *J. Biol. Chem.*, 261, 1986, 10282.
- [9] B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Löliger e O. Aruoma. *Fd. Chem. Toxic.* 33, 1995, 601.
- [10] H. Gardner; *Free Rad. Biol. Med.* 7, 1989, 65.
- [11] K. Wallace; In: “*Free Radical Toxicology*”; Taylor & Francis, 1997.
- [12] M. Oubidar, M. Boquillon, C. Marie, L. Schreiber e J. Bralet; *Free Rad. Biol. Med.* 16, 1994, 861.
- [13] D. Janero; *Free Rad. Biol. Med.* 9, 1990, 515.
- [14] B. Halliwell; *Mutat. Res.* 443, 1999, 37.
- [15] M. Levine, R. Daruwala, J. Park, S. Rumsey e Y. Wang; *Nature* 395, 1998, 231.
- [16] E. Stadtman e R. Levine; *Ann. N. Y. Acad. of Sci.* 899, 2000, 191.
- [17] A. Sevanian e P. Hochstein; *Ann. Rev. Nutr.* 5, 1985, 365.
- [18] S. Magder; *Critical Care* 10, 2006, 208.
- [19] C. Rice-Evans, N. Miller e G. Paganga; *Free Rad. Biol. Med.* 20, 1996, 933.
- [20] W. Bors, W. Heller, C. Michel e M. Saran; *Meth. Enzymol.* 86, 1990, 343.
- [21] S. Husain, J. Cillard e P. Cillard; *Phytochemistry* 26, 1987, 2489.
- [22] L. Jorgensen e L. Skibsted; *Free Rad. Res.* 28, 1998, 335.
- [23] S. Acker, D. Berg, M. Tromp, D. Griffioen, W. Bennekom, W. Vijgh e A. Bast; *Free Rad. Biol. Med.* 20, 1996, 331.
- [24] I. Vedernikova, J. Tollenaere e A. Haemers; *J. Phys. Org. Chem.* 12, 1999, 144.
- [25] G. Brigati, M. Lucarini, V. Mugnaini e G. Pedulli; *J. Org. Chem.* 67, 2002, 4828.
- [26] D. Pratt, G. DiLabio, G. Brigati, G. Pedulli e L. Valgimigli; *J. Am. Chem. Soc* 123, 2001, 4625.

- [27] B. Becker; *Free Rad. Biol. Med.* 14, 1993, 615.
- [28] A. Kammeyer, T. Eggelte, J. Bos e M. Teunissen; *Biochim. Biophys. Acta* 1428, 1999, 117.
- [29] J. Peterson e J. Dwyer; *Nutrition Research* 18, 1998, 1995.
- [30] E. Middleton e C. Kandaswami; In: “*The flavonoids. Advances in research since 1986*”; J. Harborne (Ed.); Chapman & Hall, London; 1994.
- [31] C. Yuting, Z. Rongliang, J. Zhongjian e J. Yong; *Free Rad. Biol. Med.* 9, 1990, 19.
- [32] E. Lien, S. Ren, H. Bui e R. Wang; *Free Rad. Biol. Med.* 26, 1999, 285.
- [33] L. Korkina e I. Afanas`ev; In: “*Antioxidants in disease. Mechanisms and therapy. Advances in Pharmacology*”; H. Sies (Ed.), Academic Press, Inc. San Diego, 1997.
- [34] F. Areias, Rego A., C. Oliveira e R. Seabra; *Biochem Pharmacol.* 62, 2001, 111.
- [35] K. Kanazawa e H. Sakakibara; *J. Agric. Food Chem.* 48, 2000, 844.
- [36] M. Karbownik, A. Lewinski e R. Reiter; *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2001, 735.
- [37] S. Daniel, J. Limson e A. Dairam; *J. Inorg. Biochem.* 98, 2004, 266.
- [38] E. Shaker, M. Ghazy e T. Shibamoto; *J. Agric. Food Chem.* 43, 1995, 1017.
- [39] J. Hardman, A. Gilman e L. Limbird; In: “*The pharmacological basis of therapeutics*”; Goodman & Gilman’s, McGraw-Hill, 1996.
- [40] R. Cremlyn; In: “*Agrochemicals. Preparation and mode of action*”; John Wiley & Sons, New York, 1991.
- [41] C. Tomlin; In: “*The pesticide manual*”; The Royal Society Chemistry, Crop Protection Publications, 1998.
- [42] M. Pfaller, S. Messer, L. Boyken, R. Hollis, C. Rice, S. Tendolkar e D. Diekema; *Diagn. Microb. Infect. Disea.* 48, 2004, 201.
- [43] R. Silvestri, M. Artico, G. Regina, A. Pasquali, G. Martino, F. D’Auria, L. Nencioni e A. Palamara; *J. Med. Chem.* 47, 2004, 3924.
- [44] S. Emami, M. Falahati, A. Banifatemi e A. Shafiee; *Bioorg. Med. Chem.* 12, 2004, 5881.
- [45] F. Schiaffella, A. Macchiarulo, L. Milanese, A. Vecchiarelli, G. Costantino, D. Pietrella e R. Fringuelli; *J. Med. Chem.* 48, 2005, 7658.
- [46] K. Cooper; In: “*Handbook of pesticide toxicology*”; W. Hayes e E. Laws (Eds.). Academic Press, San Diego, CA, 1991.
- [47] C. Mayfield; In: “*Handbook of ecotoxicology*”; Calow P. (Ed.), Publications University Press, Cambridge, 1993.

- [48] K. Talaro e A. Talaro; In: “*Foundations in Microbiology*”; Wm. C. Brown Publishers, 1993.
- [49] B. Wispelwey e H. Neu; In: “*Human Pharmacology. Molecular to clinical*”; T. Brody, J. Larner e K. Minneman (Eds.); Mosby, 1998.
- [50] In: “*Phytochemical Dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants*”. J. Harborne, H. Baxter e G. Moss (Eds.); Taylor & Francis, 1999.
- [51] L. Svetaz, A. Tapia, S. López, R. Furlán, E. Petenatti, R. Pioli, G. Hirschmann e S. Zacchino; *J. Agric. Food Chem.* 52, 2004, 3297.
- [52] W. Wong e A. McLean; *Toxicology* 139, 1999, 243.
- [53] T. Kato; In: “*Chemistry of Plant Protection*”; G. Houg, Springer Verlag, Berlim, 1986.
- [54] R. Hay; In: “*Recent Advances in the Chemistry of anti-infective agents*”. R. Ponsford (Ed.); Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1993.
- [55] W. Koller; In: “*Target sites of fungicide action*”; Press Boca Raton, New York, 1992.
- [56] R. Santo, A. Tafi, R. Costi, M. Botta, M. Artico, F. Corelli, M. Forte, F. Caporuscio, L. Angiolella e A. Palamara; *J. Med. Chem.* 48, 2005, 5140.
- [57] M. Ghannoum e L. Rice; *Clinical Microbiology Reviews* 12, 1999, 501.
- [58] H. Ji, W. Zhang, Y. Zhou, M. Zhang, Y. Song, J. Lu e J. Zhu; *J. Med. Chem.* 43, 2000, 2493.
- [59] D. Hollomon e K. Chamberlain; *Pest. Biochem. Physiol.* 16, 1981, 158.
- [60] G. Simonetti, N. Simonetti e A. Villa; *Internat. J. Antimic. Ag.* 22, 2003, 439.
- [61] I. Edwards, D. Ferry, W. Temple; In: “*Handbook of pesticide toxicology. Classes of pesticides*”. W. Hayes, Laws E. (Eds.), Academic Press Inc., NY, 1991.
- [62] V. Strippoli, F. D’Auria, M. Tecca, A. Callari e G. Simonetti; *Internat. J. Antimic. Ag.*, 2000, 73.
- [63] S. Sun, H. Lou, Y. Gao, P. Fan, B. Ma, W. Ge e X. Wang; *J. Pharm. Biom. Analys.* 34, 2004, 1117.
- [64] S. Sun, Y. Gao, X. Ling e H. Lou; *Analyt. Biochem.* 336, 2005, 39.
- [65] R. Begland, D. Hartter, F. Jones, D. Sam, W. Sheppard, O. Webster e F. Weigert; *J. Org. Chem.* 39, 1974, 2341.
- [66] F. Costa, *Tese de Doutorado*. Universidade do Minho. 2000.
- [67] Moriya O., Minamide H. e Urata Y.; *Synthesis*, 1984, 1058.

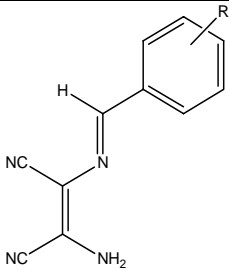
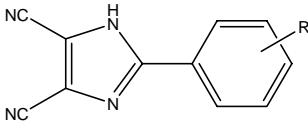
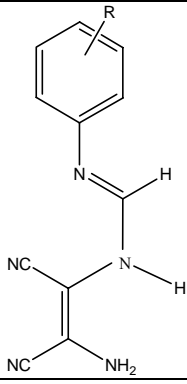
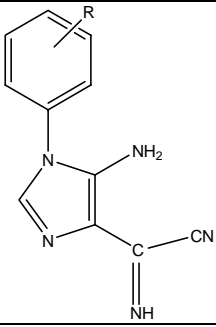
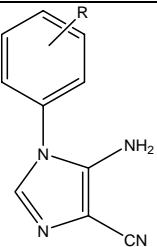
- [68] M. Alves, B. Booth, O. Al-Duaij, P. Eastwood, L. Nezhat, M. Proença e A. Ramos; *J. Chem. Res. (S)*, 1993, 402; *J. Chem. Res. (M)*, 1993, 2701.
- [69] M. Alves, B. Booth, A. Carvalho, P. Eastwood, L. Nezhat, R. Pritchard e M. Proença; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1994, 1949.
- [70] M. Zaki, M. Proença e B. Booth, *J. Org. Chem.* 68, 2003, 276.
- [71] A. Carvalho; *Resultados não publicados*.
- [72] D. W. Woodward; *U. S. Pat.*, 2 534 331, 1950.
- [73] B. Booth, R. Coster e M. Proença; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1987, 1521.
- [74] B. Booth, F. Costa, Z. Mahmood, R. Pritchard e M. Proença; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1999, 1853.
- [75] B. Booth, F. Costa, R. Pritchard e M. Proença; *Synthesis*, 2000, 1269.
- [76] A. Gazit, P. Yaish, C. Gilon e A. Levitzki; *J. Med. Chem.* 32, 1989, 2344.
- [77] F. Freeman; *Chemical Reviews* 69, 1969, 591.
- [78] A. Alvarez-Insua, M. Lora-Tamayo e J. Soto; *J. Heterocycl. Chem.* 7, 1970, 1305.
- [79] J. Quintela, C. Peinador, L. Botana, M. Estévez e R. Riguera; *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 5, 1997, 1543.
- [80] R. Roguet e H. Schaefer; In: “*Overview of In vitro cell culture technologies and pharmaco-toxicological applications, toxicology in vitro*”, 1997.
- [81] M. Doyle, L. Pickering, N. O’Brien, K. Hoots e J. Benson; *Pediatr. Infect. Dis. J.* 9, 1990, 850.
- [82] P. Konecny, F. Drummond, K. Tish e J. Tapsall; *Int. J. STD AIDS*. 10, 1999, 821.
- [83] Y. Hamada, M. Shibata, T. Sugiura, S. Kato e T. Shioiri; *J. Org. Chem.* 52, 1987, 1252.
- [84] S. Chevion, M. Roberts e M. Chevion; *Free Rad. Biol. Med.* 28, 2000, 860.
- [85] M. Esteves, N. Narendar, M. Marcelo-Curto e B. Gigante; *J. Nat. Prod.* 64, 2001, 761.
- [86] B. Halliwell e M. Gutteridge; *Biochem. J.* 219, 1984, 1.
- [87] E. Craig e D. Steven; In: “*CRC handbook of free radicals and antioxidants in biomembrane*”, CRC Press, Florida, 1996.
- [88] G. Lopes, H. Schulman e M. Hermes-Lima; *Biochim. Biophys. Acta* 1472, 142, 1999.
- [89] M. Hermes-Lima, P. Ponka e H. Schulman; *Biochim. Biophys. Acta* 1523, 154, 2000.
- [90] M. Hallman, R. Tchao e J. Tarloff; *Toxicology* 156, 2000, 37.

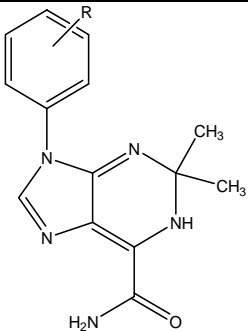
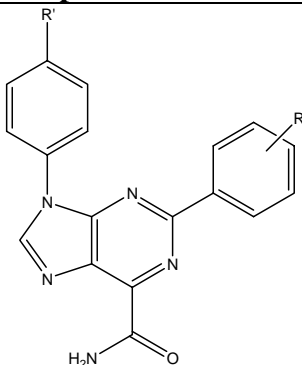
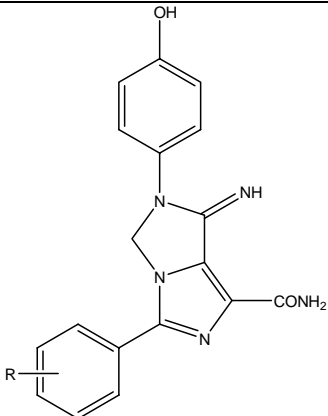
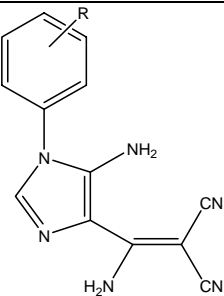
- [91] R. Harmon, M. Terneus, K. Kiningham e M. Valentovic; *Toxic. App. Pharmac.* 209, 2005, 86.
- [92] Y. Li, C. Bentzley e J. Tarloff; *Toxicology* 209, 2005, 69.
- [93] N. Takahashi, K. Tamagawa, Y. Kubo, T. Fukui, H. Wakabayashi e T. Honda; *Bioorg Med. Chem.* 11, 2003, 3255.
- [94] M. Karplus; *J. Am. Chem. Soc.* 85, 1963, 2870.
- [95] J. Silva, F. Areias, F. Proença e O. Coutinho; *Life sci.* 78, 2006, 1256.
- [96] J. Roudier e A. Foucaud; *Synthesis*, 1984, 159.
- [97] E. Little, W. Middleton, D. Coffman, V. Engelhardt e G. Sausen; *ibid.* 80, 1958, 2832.
- [98] L. Abrunhosa, M. Zaki, F. Areias, F. Proença e A. Venâncio; International Workshop: “*Ochratoxin A in grapes and wine: prevention and control*”, Marsala, Sicília, Itália, 20 a 21 de Outubro, 2005, 73.
- [99] Luís Abrunhosa, Filipe Areias, Fernanda Proença and Armando Venâncio. *Em preparação*.
- [100] L. Mathiesen, K. Malterud e R. Sund; *Free Radic. Biol. Med.* 22, 1997, 307.
- [101] J. Garret, W. Ossald e S. Guimarães; In: “*Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*”; Porto Editora, 1999.
- [102] M. Casey, J. Leonard, B. Lygo e G. Procter; In: “*Advanced Practical Organic Chemistry*”, Blackie and Son Ltd., London, 1990.
- [103] I. Parejo, C. Codina, C. Petrakis e P. Kefalas; *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 44, 2000, 507.
- [104] Z. Jin e X. Chen; *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 39, 1998, 63.
- [105] J. Lehuédé, B. Fauconneau, L. Barrier, M. Ourakow, A. Piriou e J. Vierfond; *Eur. J. Med. Chem.* 34, 1999, 991.
- [106] J. Lebeau, C. Furman, J. Bernier, P. Duriez, E. Teissier e N. Cotelle; *Free Radic. Biol. Med.* 29, 2000, 900.
- [107] B. Halliwell, J. Gutteridge e O. Aruoma; *Anal. Biochem.* 165, 1987, 215.
- [108] D. Miller e S. Aust; *Arch. Biochem. Biophys.* 271, 1989, 113.
- [109] B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Löliger e O. Aruoma; *Fd. Chem. Toxic.*, 33, 1995, 601.
- [110] J. Gutteridge; *Anal. Proc.* 27, 1990, 219.

- [111] J. Galgiani, M. Bartlett e T. Walsh; In: “*National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standard*”. NCCLS document M27-A. Wayne, PA: NCCLS, 1997.
- [112] J. Galgiani, M. Bartlett e T. Walsh; In: “*National Committee for Clinical Laboratory Standards. Ninth Information Supplement*”. NCCLS document M100-S9. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
- [113] A. Rego, E. Duarte e C. Oliveira. *Free Rad. Biol. Med.* 20, 1996, 175.
- [114] L. Stryer; In:”*Biochemistry*”; W. H. Freeman and Company, New York, 1998.

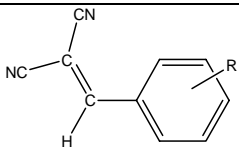
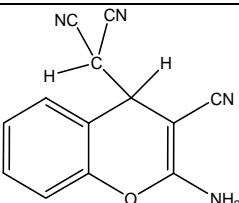
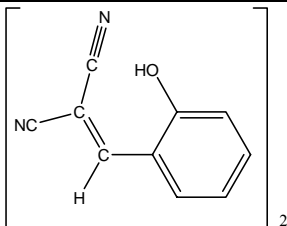
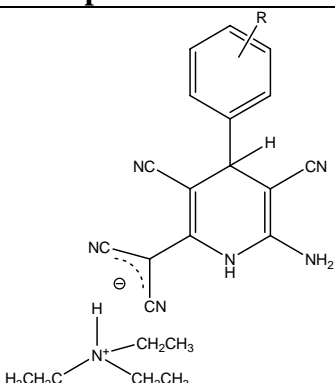
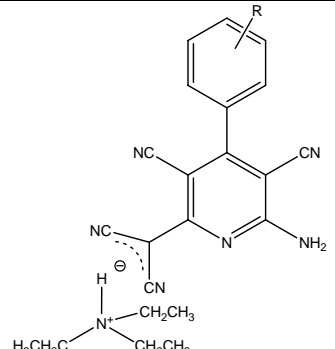
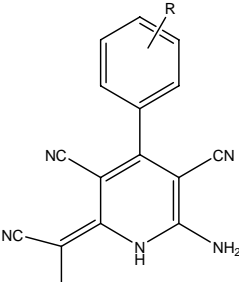
ANEXO

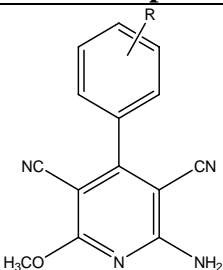
Tabela. Estruturas químicas de todos os compostos sintetizados.

1-Amino-2-arylidenamino-1,2-(diciano)etenos		
Comp	R	
24	4-OCH ₃	
25	2-OH	
26	3-OH	
27	4-OH	
28	3,4-OH	
29	3,4,5-OH	
4,5-Diciano-2-aryl-1H-imidazoles		
31	4-OCH ₃	
32	2-OH	
33	3-OH	
34	4-OH	
35	3,4-OH	
(Z)-N¹-(2-amino-1,2-dicianovinil)-N²-arylformamidinas		
37	4-OCH ₃	
38	2-OH	
39	3-OH	
40	4-OH	
5-Amino-1-aryl-4-cianoformimidazolimidazoles		
42	4-OCH ₃	
43	2-OH	
44	3-OH	
45	4-OH	
5-Amino-1-aryl-4-cianoimidazoles		
46	4-OCH ₃	
47	2-OH	
48	3-OH	
49	4-OH	

9-Aril-6-carbamoil-2,2-dimetil-1,2-dihidropurinas			
51	4-OCH ₃		
52	2-OH		
53	3-OH		
54	4-OH		
2-Aril-9-aril-6-carbamoilpurinas			
Comp	R	R'	
56	4-OCH ₃	4-OCH ₃	
57	4-OCH ₃	4-OH	
58	2-OH	4-OH	
59	3-OH	4-OH	
60	4-OH	4-OH	
61	3,4-OH	4-OH	
3-Aril-6-aril-1-carbamoil-7-imino-6,7-dihidro-imidazo[1,5-e]imidazoles			
62	2-OH		
63	4-OH		
64	3,4-OH		
5-Amino-4-(1'-amino-2',2'-dicianovinil)-1-arilimidazoles			
65	4-OCH ₃		
66	2-OH		
67	3-OH		
68	4-OH		

5,7-Diamino-3-aril-6-ciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas				
69	4-OCH ₃			
70	2-OH			
71	3-OH			
72	4-OH			
5-Amino-3-aril-6,7-diciano-3H-imidazo[4,5-b]piridinas				
74	4-OCH ₃			
75	2-OH			
76	3-OH			
77	4-OH			
(Z)-N-[1,2-diciano-2-(arilidenamino)vinil]-O-alquilformamidoximas				
R = CH₂Ph		R = CH₃		
Comp	R'	Comp	R'	
82	4-OCH ₃	88	4-OCH ₃	
83	2-OH	89	2-OH	
84	3-OH	90	3-OH	
85	4-OH	91	4-OH	
86	3,4-OH	92	3,4-OH	
87	3,4,5-OH	93	3,4,5-OH	
2-Aril-4,5-diciano-N-(N'-alcoformimidol)imidazoles				
R = CH₂Ph		R = CH₃		
Comp	R'	Comp	R'	
95	4-OCH ₃	100	4-OCH ₃	
96	2-OH	101	2-OH	
97	3-OH	102	3-OH	
98	4-OH	103	4-OH	
99	3,4-OH	104	3,4-OH	
8-Aril-6-cianopurinas				
107	4-OCH ₃			
108	2-OH			
109	3-OH			
110	4-OH			
111	3,4-OH			

Benzilidenomalononitrilos e derivados		
113	4-OCH ₃	
114	3-OH	
115	4-OH	
116	3,4-OH	
117	3,4,5-OH	
119	2-OH	
120	2-OH	
Sal de trietilamónio das 2-amino-4-aryl-3,5-diciano-6-dicianometil-1,4-dihidropiridinas e piridinas		
121	2-OH	
122	3-OH	
123	4-OH	
124	4-OCH ₃	
125	4-OCH ₃	
126	4-OH	

2-Amino-4-aryl-3,5-diciano-6-metoxipiridinas		
127	4-OCH ₃	
128	2-OH	
129	3-OH	
130	4-OH	
131	3,4-OH	