



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

## **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE NOVAS SELENO-DIIDROPIRIMIDINONAS**

**MARCOS ROBERTO SCHEIDE NETO**

**Florianópolis  
Novembro/2016**

**Marcos Roberto Scheide Neto**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE  
NOVAS SELENO-DIIDROPIRIMIDINONAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao  
Departamento de Química da Universidade Federal de Santa  
Catarina, como requisito parcial da disciplina de Estágio  
Supervisionado II (QMC 5512)

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga**  
**Coorientador: MSc. Flavio Augusto Rocha Barbosa**

**Florianópolis**  
**Novembro/2016**

**Marcos Roberto Scheide Neto**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE  
NOVAS SELENO-DIIDROPIRIMIDINONAS**

Prof. Dr. Luciano Vitali  
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antonio Luiz Braga  
Orientador

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Dr. Dagoberto de Oliveira

Florianópolis  
Novembro/2016

**"OS QUÍMICOS SÃO UMA ESTRANHA CLASSE DE MORTAIS, IMPELIDOS POR IMPULSO QUASE INSANO A PROCURAR PRAZERES EM MEIO A FUMAÇA E VAPOR, FULIGEM E CHAMAS, VENENOS E POBREZA, E NO ENTANTO, ENTRE TODOS ESSES MALES, TENHO A IMPRESSÃO DE VIVER TÃO AGRADAVELMENTE QUE PREFERIRIA MORRER A TROCAR DE LUGAR COM O REI DA PÉRSIA." JOHANN JOACHIM BECHER, PHYSICA SUBTERRÂNEA (1667)**

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Compostos organosselênio e sua atividade antioxidante.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Diidropirimidinonas.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Atividade biológica das diidropirimidinonas.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4 Planejamento da molécula alvo via hibridação molecular.....</b>	<b>14</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1 Procedimentos experimentais.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.1 Procedimentos geral para a síntese do disseleneto alvo A via rota</b>	
<b>1.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.1.1 Procedimento experimental para a síntese do 4-</b>	
<b>aminobenzaldeído.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.1.2 Procedimento experimental para a síntese do 4-</b>	
<b>selenocianatobenzaldeído.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.1.3 Procedimento experimental para a síntese do disseleneto A.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1.2 Procedimento geral para a síntese do disseleneto alvo A via rota</b>	
<b>2.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.2.1 Procedimento experimental para a síntese da diidropirimidinona</b>	
<b>E.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.2.2 Procedimento experimental para a síntese da diidropirimidinona</b>	
<b>D.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.2.3 Procedimento experimental para a síntese da diidropirimidinona</b>	
<b>B.....</b>	<b>19</b>

4.1.2.4 Procedimento experimental para a síntese do disseleneto A.....	20
4.2 Solventes e reagentes.....	21
4.3 Equipamentos.....	21
4.4 Purificação e caracterização dos compostos.....	22
4.5 Teste de atividades antioxidantes dos composto sintetizado.....	22
4.5.1 Avaliação da atividade GPX- <i>like</i> .....	22
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>24</b>
5.1 Análise retrossintética do composto alvo A.....	24
5.2 Síntese do disseleneto alvo A via rota 1.....	26
5.3 Síntese do disseleneto alvo via rota 2.....	31
5.4 Avaliação da atividade GPx- <i>like</i> .....	36
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>39</b>
<b>7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>
<b>8.APÊNDICE.....</b>	<b>42</b>

## RESUMO

Realizou-se a síntese da seleno-diidropirimidinona (DHPM-Se)<sub>2</sub> **A** através de dois caminhos sintéticos diferentes. Pela rota 2, a (DHPM-Se)<sub>2</sub> foi preparada pela redução do selenocianato correspondente, DHPM-SeCN **B**, utilizando-se NaBH<sub>4</sub>. Este, por sua vez, foi preparado por uma sequência de reações, iniciando por uma reação de Biginelli, envolvendo uréia, acetoacetado de etila e *p*-nitrobenzaldeído **G**, com rendimento de 95%. O produto de Biginelli, DHPM-NO<sub>2</sub> **E**, foi reduzido ao DHPM-NH<sub>2</sub> **D** por reação com sulfato ferroso com tratamento com NH<sub>4</sub>OH, levando a um rendimento de 82%. O tratamento dessa amina aromática **D** com reagentes de diazotação, seguido de reação de substituição com KSeCN, levou ao DHPM-SeCN **B** desejado em 20% de rendimento. Por esse caminho, a molécula alvo (DHPM-Se)<sub>2</sub> foi obtida em um rendimento de 61% e rendimento global de 9%. No entanto, por essa mesma rota, a partir da reação de diazotação, realizando-se essa sequência reacional por um processo *one pot*, obteve-se 15 % de rendimento global. Pela rota 1, partiu-se do *p*-nitrobenzaldeído **G**. A redução deste aldeído com sulfato ferroso levou à amina correspondente **F** com rendimento de 84%. Esta, por sua vez, foi tratada com reagentes de diazotação, seguido por KSeCN, para levar ao *p*-selenocianatobenzaldeído **C** em 31% de rendimento. Por último, por um processo sequencial *one pot*, realizou-se a preparação da molécula alvo (DHPM-Se)<sub>2</sub> através da reação de Biginelli em condições ácidas e sem solvente, em 40% de rendimento. Por essa rota o rendimento global foi de 10%. Foi realizado, ainda, um estudo da capacidade antioxidante GPx-*like* da seleno-diidropirimidinona (DHPM-Se)<sub>2</sub> **A**. Esse composto mostrou ser um importante mimético da selenoenzima GPx, promovendo a oxidação do tiofenol (PhSH) para o dissulfeto correspondente em apenas 77 minutos, mostrando ser 2,02 vezes mais eficiente do que o padrão ebselen.

Palavras-chave: *disseleneto, selênio, diidropirimidinona (DHPM), antioxidante, GPx-like.*

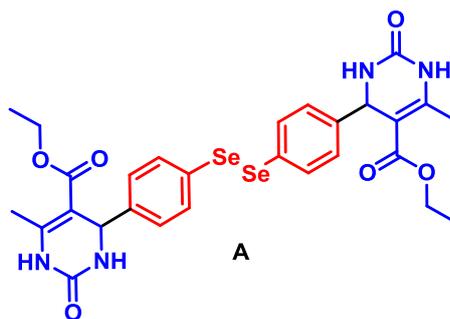
## 1. INTRODUÇÃO

O interesse em compostos orgânicos contendo selênio tem crescido significativamente nos últimos anos, grande parte devido às propriedades antioxidante e antitumoral que lhes são atribuídas. A enzima Glutathione Peroxidase (GPx) é uma selenoenzima que tem papel antioxidante no organismo, sendo responsável pela neutralização de espécies reativas de oxigênio. O selênio está presente em sua estrutura na forma de um aminoácido, a selenocisteína. Sendo assim, vários compostos organosselênio, como o disseleneto de difenila, apresentam atividade mimética da enzima GPx, também conhecida como atividade *GPx-like*.

Desta forma estes compostos atuam na neutralização de espécies reativas de oxigênio desempenhando assim um papel antioxidante em sistemas biológicos, mimetizando a da enzima GPx. Dentre os compostos organosselênio sintetizados, o disseleneto de difenila apresenta uma atividade *GPx-like* devido ao fato do mesmo conseguir mimetizar a enzima.

Diidropirimidinonas (DHPM) são compostos heterocíclicos polifuncionalizados que apresentam diversas atividades biológicas. Estes compostos vem sendo explorados na química medicinal, pois, seu papel em sistemas biológicos vão desde atividade antioxidante inibindo espécies reativas de oxigênio (EROs), como também antitumoral, anticolinesterásica entre outros.

Visto que disselenetos de diarila e também as diidropirimidinonas apresentam atividade antioxidante, o disseleneto **A** foi planejado utilizando a estratégia de hibridação molecular. Este composto **A** é um híbrido entre o disseleneto de difenila e o núcleo diidropirimidínico, sendo assim, espera-se obter novas moléculas com alto potencial antioxidante, que possam apresentar atividade mimética da Glutathione Peroxidase, e que também apresentem a capacidade antioxidante derivada do núcleo pirimidínico podendo, assim, serem consideradas potenciais antioxidantes multi-alvo.

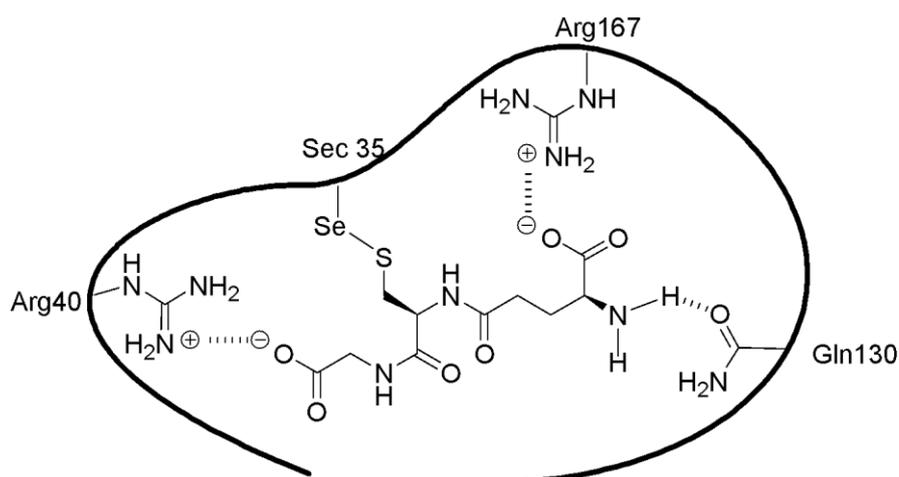


**Figura 1:** Híbrido molecular planejado contendo o núcleo diidropirimidínico (azul) e o disseleneto de difenila (vermelho).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Compostos organosselênio e sua atividade antioxidante

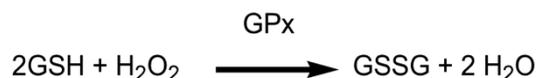
Os compostos organosselênio vêm se destacando no meio científico pois, a partir da década de 50, o selênio foi descoberto como um micronutriente essencial na dieta animal, tornando-se alvo de estudos e pesquisas.<sup>1</sup> Na década de 70, foi encontrado em organismos vivos o selênio na sua forma de selenocisteína (Sec35), um aminoácido que se encontra no sítio ativo dessa enzima, junto ao triptofano e a glutamina, formando, assim, a tríade catalítica das enzimas da família das GPx (Figura 2).<sup>2, 3</sup>



**Figura 2:** Representação do sítio ativo da GPx.

Adaptado de *Quim. Nova* v. 31, p. S1-S4, 2008.

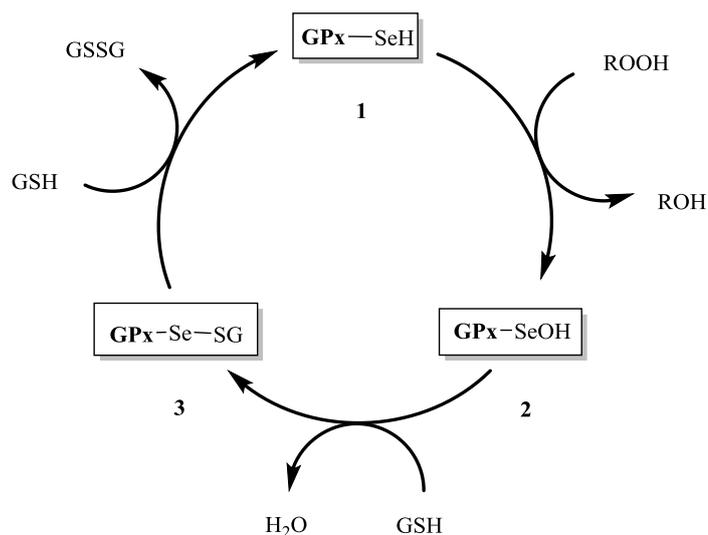
A GPx, entre outras enzimas, acaba por atuar na defesa das células através de seu papel antioxidante. As enzimas da família GPx transformam espécies reativas de oxigênio, muito prejudiciais às células do organismo, em espécies neutras,<sup>2</sup> pois possuem a capacidade de reduzir EROs às custas da oxidação de glutathiona (GSH), como pode ser mostrado no Esquema 1.<sup>4</sup>



**Esquema 1:** Glutathiona como substrato da GPx na redução de EROs.

A enzima GPx desempenha um papel crucial, por apresentar atividade antioxidante protegendo o organismo do estresse oxidativo, catalisando reações de redução tanto de peróxidos de hidrogênio como de peróxidos orgânicos (ROOH). Este processo, em organismos vivos, é de suma importância, visto que o estresse oxidativo pode levar ao envelhecimento precoce e até doenças de caráter neurodegenerativas.<sup>2,5</sup>

O mecanismo de ação da GPx foi proposto com a enzima na sua forma ativa de selenol (GPx-SeH, **1**), o qual reage com um equivalente de peróxido e o reduz a água ou álcool, com a formação do ácido selenênico (GPx-SeOH, **2**) que, por sua vez, reage com um equivalente de glutathiona, gerando a espécie sulfeto de selenila (GPx-SeSG, **3**) que, na etapa final, reage com mais um equivalente de glutathiona, que retorna a enzima em sua forma ativa e libera a glutathiona oxidada (GSSG), conforme Esquema 2.<sup>6</sup>

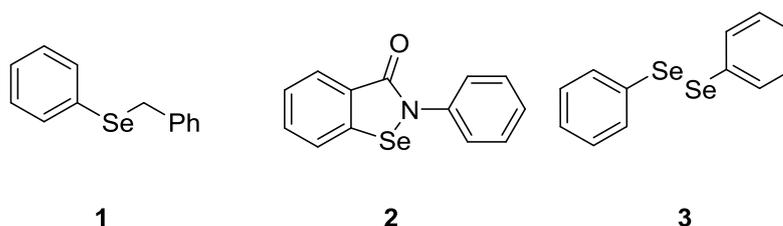


**Esquema 2:** Ciclo catalítico da enzima Glutationa Peroxidase.

Adaptado de *Biochem.Pharmacol.* 36, 3095, 1987.

Desta forma, o planejamento e síntese de moléculas contendo selênio e que possuam uma atividade mimética GPx-like, tornaram-se um alvo para estudos e pesquisa.<sup>7, 8, 9</sup>

Há três principais classes de compostos que desempenham atividade GPx-like, temos os disselenetos de organoila, selenilamidas cíclicas e os selenetos. Dentre os selenetos temos o composto **1**, selenilamidas cíclicas o Ebselen **2** o primeiro composto a apresentar atividade mimética, porém o disseleneto de difenila **3** apresenta o dobro da atividade do ebselen.<sup>4, 10</sup>



**Figura 3:** Compostos miméticos da GPx.

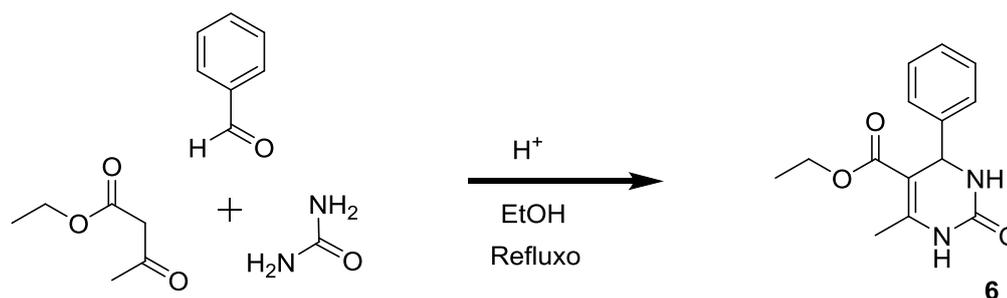
Além das classes supracitadas, outros compostos vem se destacando, como é o caso dos selenocianatos (**4**, Figura 4) e selenoésteres (**5**, Figura 4). Tais compostos apresentaram atividade GPx-like e atividade antioxidante que são atribuídas por mimetizar a GPx ou por outro mecanismo de ação, como a inibição da peroxidação lipídica, a qual é verificada pelo ensaio das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).<sup>11, 12</sup>



**Figura 4:** Compostos organoselênio com atividade antioxidante.

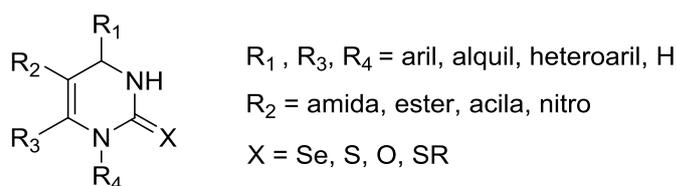
## 2.2. Diidropirimidinonas

Em 1893, o químico italiano Pietro Biginelli foi o primeiro a sintetizar as 3,4-diidropirimidin-2(1H)-onas (DHPMs) através de uma condensação multicomponente envolvendo um aldeído aromático, uréia e acetoacetato de etila.<sup>13</sup> Nesta ocasião, foi utilizado HCl como catalisador, sob refluxo em etanol, levando a formação de heterociclos polifuncionalizados do tipo **6**, conforme mostra o Esquema 3.



**Esquema 3:** Reação de Biginelli.

A relevância das DHPM na química vai além de seu destaque na química sintética, uma vez que receberam notoriedade na química medicinal por sua síntese levar a moléculas complexas com grande variação estrutural, devido à possibilidade de cada bloco de construção ser variado (Figura 5).<sup>14</sup>



**Figura 5:** Possíveis variações sintéticas em reações de Biginelli.

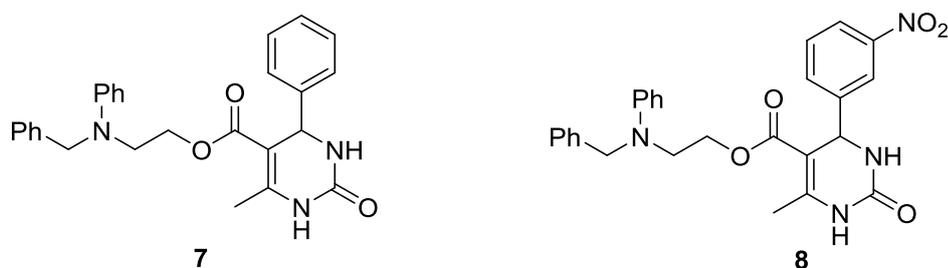
Adaptado de *Eur. J. Med. Chem.* **35**, 1043-1052, 2000

A partir da década de 1990 intensificaram-se os estudos devido a uma maior demanda por compostos com atividades biológicas, tornando os compostos oriundos da síntese de Biginelli mais atrativos, pois são de fácil obtenção, apresentam ótimos rendimentos e podem ser catalisados por ácidos de Brønsted<sup>15</sup> e Lewis.<sup>16,17</sup>

### 2.3. Atividade biológica das diidropirimidinonas

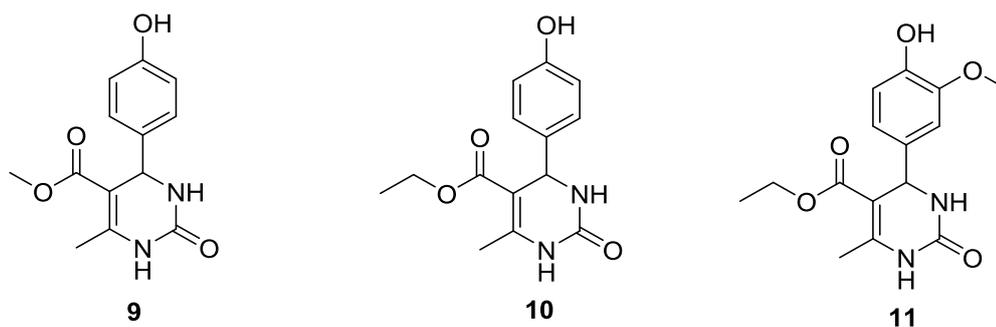
Tal como os compostos organosselênio, as DHPMs mostraram-se eficientes em diversos ensaios biológicos, dentre os quais podem-se citar sua atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica e também apresentam um efeito modulador dos canais de cálcio.<sup>18</sup>

Stefani *et al.*<sup>19</sup> sintetizaram uma série de compostos, testaram sua capacidade antioxidante e relataram que os compostos **7** e **8** (Figura 6) demonstraram eficiente atividade inibindo a peroxidação lipídica, a qual foi verificada através do ensaio TBARS. Os autores relataram, também, que o grupo amino na cadeia lateral do éster tem papel crucial na reatividade destes compostos. A inserção do grupo nitro no composto **7** não demonstrou melhora na capacidade antioxidante, ou seja, a inserção deste substituinte no anel aromático não é responsável pelo efeito antioxidante.



**Figura 6:** DHPMs que apresentam atividade antioxidante.

Gangwar e Kasana<sup>20</sup> reportaram a síntese e avaliação antioxidante de algumas DHPM. Os compostos tiveram sua capacidade quelante de ferro avaliada e também foi realizado o ensaio antioxidante DPPH. Os autores evidenciaram que os compostos **9**, **10** e **11** (Figura 7) apresentaram boas atividades devido ao grupo hidroxila livre que atua como sequestrador de radicais livres, resultando em baixos valores de DPPH e boa atividade quelante de ferro.



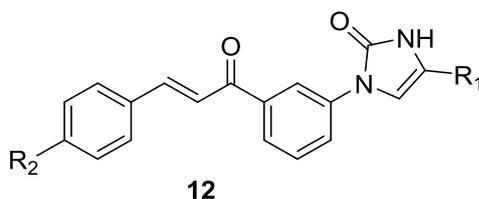
**Figura 7:** Série de DHPM com atividades antioxidante e quelante de ferro.

#### 2.4. Planejamento de moléculas via hibridação molecular

A hibridação molecular é uma estratégia de extrema relevância para o planejamento de fármacos. Esta estratégia consiste em agregar dois ou mais grupos farmacofóricos de moléculas distintas em apenas uma molécula.<sup>21</sup>

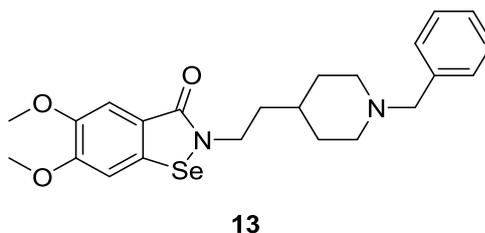
Utilizando esta estratégia, espera-se que o híbrido molecular formado apresente as atividades biológicas das moléculas originais, o que torna possível o planejamento racional e síntese de moléculas que, potencialmente, possam apresentar atividades biológicas pronunciadas e de maneira multi-alvo.<sup>22</sup>

A hibridação molecular é amplamente utilizada como ferramenta no desenvolvimento de híbridos, como a molécula **12** (Figura 8), que demonstrou ser uma molécula promissora no combate ao câncer. Trata-se de uma combinação entre uma chalcona com um núcleo pirazolil.<sup>23</sup>



**Figura 8:** Híbrido molecular chalcona-pirazolil com atividade anticâncer.

Recentemente, Luo *et. al.*<sup>24</sup> utilizaram da mesma estratégia sintética da hibridação molecular para o desenvolvimento de um novo híbrido molecular entre o Ebselen e o Donepezil, resultando na estrutura **12** (Figura 9), visando o tratamento da doença de Alzheimer utilizando a estratégia da inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade antioxidante da porção do ebselen.



**Figura 9:** Híbrido molecular que apresenta atividade anti-Alzheimer.

Sendo assim, a molécula **A** foi planejada visando que as propriedades antioxidantes dos compostos organosselênio e das diidropirimidinonas estivessem presentes em uma única molécula, podendo, então, atuar como antioxidantes multi-alvo em sistemas biológicos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Sintetizar e avaliar o potencial antioxidante de disselenetos derivados de diidropirimidinonas. Estas moléculas são inéditas sem relatos prévios na literatura científica.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Otimizar a síntese e escolher uma melhor rota sintética para a síntese da molécula-alvo.
- Investigar seu potencial como mimético da enzima GPx.
- Identificar os compostos sintetizados por RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , Infravermelho e espectrometria de Massas, ponto de fusão, sempre que necessário.

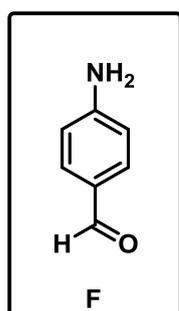
### 4. METODOLOGIA

#### 4.1. Procedimentos experimentais

##### 4.1.1 Procedimento geral para a síntese do disseleneto alvo A via rota 1

##### 4.1.1.1 Procedimento experimental para a síntese do 4-aminobenzaldeído

A metodologia adaptada de Jacobs e Heidelberger<sup>25</sup> foi utilizada. Em um balão de 500 mL de duas bocas foram adicionados 1,512 g do composto 4-nitrobenzaldeído (10 mmol) juntamente com 100 mL de metanol sob agitação e em banho de óleo na temperatura de 110 °C em sistema de refluxo. Após a dissolução do composto **F**, separadamente em um béquer foram adicionados 27,8 g de sulfato ferroso hepta-hidratado (100 mmol) com 70 mL de água destilada para a solubilização do sal. Esta solução de sulfato ferroso foi adicionada ao meio reacional e deixou-se reagir por 6 horas com constante monitoramento via cromatografia em camada delgada (CCD). Após evidenciar o desaparecimento do material de partida foram adicionados 30 mL de hidróxido de amônio e a coloração passou de amarelada para preta e deixou-se por mais 20 minutos sob refluxo. Após 20 minutos o conteúdo reacional foi levado à temperatura ambiente e foi lavado várias vezes com porções de acetato de etila e filtrado em papel filtro. Após esta etapa foi realizada uma extração deste filtrado com água e a fase orgânica seca com sulfato de magnésio anidro e em seguida o solvente foi removido com vácuo no rotaevaporador.



**4-aminobenzaldeído (F)**

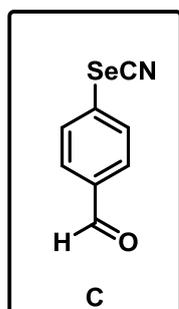
Rendimento: 84 %

Características físicas: sólido amarelo.

#### 4.1.1.2 Procedimento experimental para síntese do 4-selenocianatobenzaldeído

A metodologia adaptada de Yildirim *et. al.*<sup>26</sup> foi utilizada. Em um erlenmeyer de 100 mL foram adicionados uma barra magnética, 0,9661 g do 4-aminobenzaldeído (7,8 mmol) e 30 mL de uma solução 10% de ácido clorídrico para solubilizar amina correspondente, após a solubilização, o conteúdo reacional foi resfriado à 0°C sob agitação constante, em seguida foram adicionados 1,6 g de nitrito de sódio (23,4 mmol) e esperou-se 15 minutos. Após foi realizada adição de acetato de sódio até pH entre 5 e 6, ao atingir essa faixa de pH foi adicionado 1,333 g de selenocianato de potássio (11,7 mmol) solubilizado no mínimo de água

destilada possível e adicionado gota a gota no conteúdo reacional, após o término da adição deixou-se reagir por 15 horas. O produto reacional foi extraído com acetato de etila e água e a fase orgânica seca com sulfato de magnésio e purificado via cromatografia em coluna eluído com uma mistura adequada de n-hexano e acetato de etila.



#### 4-Selenocianatobenzaldeído (C)

Rendimento: 31%

Características físicas : sólido marrom avermelhado. **p. f. = 80°C**;

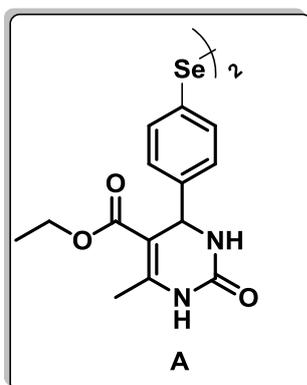
**RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ (ppm):** 7,76 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 7,90 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 10,03 (s,1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**

**$\delta$ (ppm):** 100,2; 130,2; 131,1; 131,5; 136,6; 190,8. **IV ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

3434,48; 2924,96; 2853,48; 2359,88; 2341,52; 2153,87; 1696,99; 1586,85.

#### 4.1.1.3 Procedimento experimental para síntese do disseleneto A

A metodologia de Canto *et al.*<sup>27</sup> foi utilizada. Em um balão de duas bocas de 50 mL foram adicionados 0,05 g 4-selenocianatobenzaldeído (0,257 mmol) juntamente com 33  $\mu\text{L}$  de acetoacetato de etila (0,257 mmol) e 0,039 g de uréia (0,514 mmol) e duas gotas de ácido clorídrico concentrado sem solvente sob forte agitação à 100 °C durante 90 min até o término dos materiais de partida monitorados via CCD. O conteúdo reacional foi vertido em banho de gelo picado e o precipitado filtrado sob vácuo e lavado com porções de água destilada e seco. A purificação foi realizada via cromatografia em coluna eluída com uma mistura adequada de hexano e acetato de etila.



#### Disseleneto derivado do etil 6-metil-2-oxo-4-fenil-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (A)

Rendimento 40%

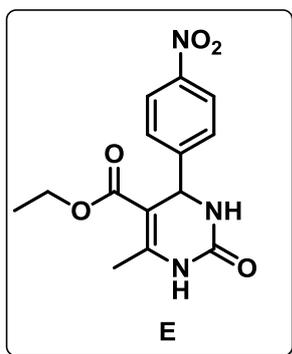
Características físicas: Sólido amarelo. **p. f. = 183°C**; **RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ (ppm):** 1,07 (t,  $J= 8$  Hz, 3H,); 2,24 (s,3H); 3,96 (q,  $J= 8$  Hz, 2H); 5,12 (s, 1H); 7,18 (d,  $J=8$

Hz, 2H); 7,57 (d,  $J=8$  Hz, 2H); 7,74 (s, 1H); 9,23 (s, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$ (ppm):** 14,09; 17,34; 53,68; 59,27; 98,87; 127,50; 128,84; 131,23; 144,82; 148,67; 151,97; 165,24. **HRMS (APPI)  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6\text{Se}_2$  [M+H]** 679,0594; encontrado 679,0569. **IV (v,  $\text{cm}^{-1}$ )** : 3236,93; 3110,47; 2924,86; 2539,88; 2341,52; 1703,11; 1643,96; 1456,31; 1225,83; 1091,21.

#### 4.1.2 Procedimento geral para síntese do disseleneto alvo A via rota 2

##### 4.1.2.1 Procedimento experimental para a síntese da diidropirimidinona E

O procedimento de Canto *et. al.*<sup>27</sup> foi seguido e em um balão de duas bocas de 100 mL munido de barra magnética foram adicionados 2,266 g do 4-nitrobenzaldeído (15 mmol) com 1,90 mL de acetoacetato de etila (15 mmol) e 1,8 g de uréia (30 mmol) em banho de óleo à 100 °C com duas gotas de ácido clorídrico concentrado sem solvente e sob forte agitação durante 45 min. O sólido formado foi precipitado em banho de gelo picado e filtrado sob vácuo e lavado com porções de água destilada e seco.



##### Etil-6-metil-4-(4-nitrofenil)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (E)

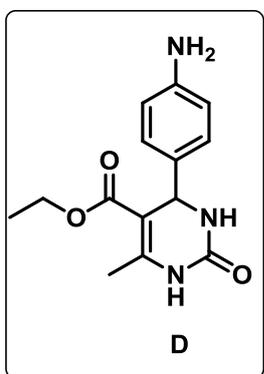
Rendimento: 95 %

Características físicas: Sólido branco. **RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$ (ppm):** 1,11 (t,  $J=6$  Hz, 3H); 2,30 (s, 3H); 4,01 (q,  $J=6$  Hz, 2H); 5,32(s, 1H); 7,54 (d,  $J=8$  Hz, 2H); 7,93 (s, 1H); 8,23 (d,  $J=6$  Hz, 2H); 9,39 (s, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DMSO- $d^6$ )  $\delta$ (ppm):** 14,07; 17,92; 53,76; 59,44; 98,25; 123,85; 127,81; 146,76; 149,43; 151,85; 152,04; 165,10.

##### 4.1.2.2 Procedimento experimental para síntese da diidropirimidinona D

O procedimento adaptado de Jacob e Heidelberg<sup>25</sup> foi utilizado. Em um balão de duas bocas de bocas de 250 mL foram adicionados 1,5262 g da diidropirimidinona E (5 mmol) munido de agitação magnética juntamente com 50 mL de metanol e colocado em banho de óleo a 100 °C em sistema de refluxo até

a completa dissolução do composto **E**. Em outro frasco foram adicionados 13,9 g de sulfato ferroso hepta hidratado (50 mmol) e solubilizado em 35 mL de água destilada e vertidos no frasco reacional o qual permaneceu sob refluxo durante 9 h acompanhado via CCD. Após esta etapa foram adicionados 20 mL de hidróxido de amônio e deixou-se reagir por mais 15 min. Após esta etapa o conteúdo reacional foi filtrado e lavado com várias porções de acetato de etila até a completa lavagem do papel filtro. Em seguida foi realizada uma extração com água e a fase orgânica seca em sulfato de magnésio seguido da retirada do solvente sob vácuo no rotaevaporador.



**Etil 4-(4-aminofenil)-6-metil-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (D)**

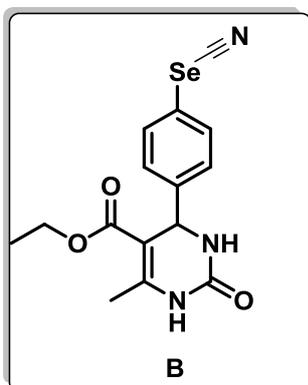
Rendimento: 82%

Características físicas: Sólido amarelo pálido. **RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-d}^6$ )  $\delta(\text{ppm})$ :** 1,10 (t,  $J= 6$  Hz, 3H); 2,24 (s, 3H); 3,97 (q,  $J= 8$  Hz, 2H); 4,99 (s, 3H); 6,49 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 6,90 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 7,56 (s, H); 9,07 (s, 1H). **RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{DMSO-d}^6$ )  $\delta(\text{ppm})$ :** 14,18; 17,79; 53,66; 59,15; 100,16; 113,67; 127,05; 132,40; 147,34; 147,87; 152,43; 165,60.

#### 4.1.2.3 Procedimento experimental para a síntese da diidropirimidinona **B**

A metodologia adaptada de Yildirim *et. al.*<sup>26</sup> foi empregada. Em um erlenmayer de 250 mL foram adicionados 0,275 g da diidropirimidinona **D** (1 mmol) com 20 mL de uma solução de ácido clorídrico 10% para a solubilização da amina. O frasco reacional foi munido de barra de agitação magnética e resfriado a temperatura de 0°C, ao atingir esta temperatura foram adicionados 0,207 g de nitrito de sódio (3 mmol) e deixou-se reagir por 15 minutos. Após este período foi adicionado acetato de sódio para elevar o pH entre os valores de 5 e 6 respectivamente, e após constatar esta elevação no pH foram adicionados 0,216 g de selenocianato de potássio (1,5 mmol) gota a gota solubilizado no mínimo de água destilada possível e deixou-se reagir por uma noite. Houve a precipitação de um sólido que foi filtrado e lavado com porções de água e seco. Purificado via

cromatografia em coluna eluído em uma mistura adequada de hexano e acetato de etila.



**Etil 6-metil-2-oxo-4-(4-selenocianatofenil)-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (B)**

Rendimento: 20 %

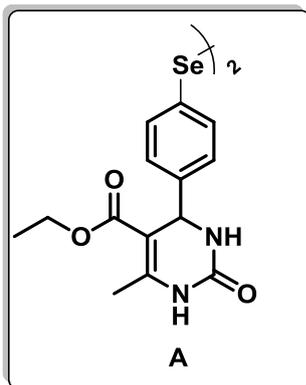
Características físicas: Sólido acinzentado. **p. f. = 197 °C**;

**RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ (ppm)** : 1,08 (t,  $J= 8$  Hz, 3H); 2,23 (s, 3H); 3,96 (q,  $J= 8$  Hz, 2H); 5,13 (s, 1H); 7,28 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 7,66 (d,  $J= 8$  Hz, 2H); 7,78 (s, 1H) 9,25 (s, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ (ppm)** : 14,13; 17,88; 53,70; 59,36; 98,73; 105,37; 122,53; 128,08; 133,87; 146,28; 148,90; 151,95; 165,23. **HRMS (APPI) m/z** calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3\text{Se}$  [M+H] 366.0352; encontrado 366.0356. **IV ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ )** : 3336,87; 3226,73; 3112,51; 2967,70; 2928,94; 2153,87; 1692,91; 1641,92; 1227,87; 793,425.

#### 4.1.2.4 Procedimento experimental para a síntese do disseleneto A

Procedimento de Krief *et. al.*<sup>28</sup> foi realizado. Em um balão de 50 mL foi adicionado 0,2534 g do composto **B** (0,695 mmol) e solubilizado em 7 mL de THF sob agitação magnética e foram adicionados ao frasco reacional 0,03947 g de borohidreto de sódio (1,04 mmol) e evidenciou-se uma liberação de gás e solução mudou para tons de marrom e deixou-se reagir por 45 minutos sempre monitorando o consumo do composto **B** via CCD. Após este período foi adicionado cloreto de amônio com mais uma liberação de gás e o conteúdo reacional foi extraído com acetato de etila a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e purificado via cromatografia em coluna eluindo-se com uma mistura adequada de hexano e acetato de etila.



### Disseleneto derivado do etil 6-metill-2-oxo-4-fenil-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato (A)

Rendimento: 61%

Características físicas: Sólido amarelado. **p. f. = 183 °C**; **RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>) δ(ppm):** 1,07 (t, *J*= 8 Hz, 3H,); 2,24 (s,3H); 3,96 (q, *J*= 8 Hz, 2H); 5,12 (s, 1H); 7,18 (d, *J*=8 Hz, 2H ); 7,57 (d, *J*=8 Hz,2H); 7,74 (s, 1H); 9,23 (s, 1H). **RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>) δ(pmm) :** 14,09; 17,34;53,68; 59,27; 98,87; 127,50; 128,84; 131,23; 144,82; 148,67; 151,97; 165,24. **HRMS (APPI) m/z** calculado para C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Se<sub>2</sub> [M+H] 679,0594; encontrado 679,0569. **IV (v, cm<sup>-1</sup>) :** 3236,93; 3110,47; 2924,86; 2539,88; 2341,52; 1703,11; 1643,96; 1456,31; 1225,83; 1091,21.

#### 4.2 Solventes e reagentes

Os reagentes foram provenientes de fontes comerciais. Sigma Aldrich e Acros sem tratamento prévio.

Os solventes orgânicos usados para reações, extrações e purificação dos produtos e foram de fontes comerciais Vetec e Synth sem tratamento prévio.

#### 4.3. Equipamentos

Os rotaevaporadores utilizados para a remoção dos solventes foram do tipo M Büchi HB -140 e IKA RV10.

A linha de vácuo que foi utilizada para a secagem final dos produtos, está equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuumbrand modelo RD 4, 4,3 m<sup>3</sup>/ h.

As análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e <sup>13</sup>C foram realizadas em um espectrômetro Varian AS-400, operando em 400 MHz, bem como espectrômetro Bruker operando em 200 MHz, com ambos equipamentos instalados na Central de Análise do Departamento de Química da UFSC.

As análises de espectroscopia de Infravermelho (IV) foram realizadas com o espectrofotômetro de Infravermelho da marca ABB, modelo FTLA 2000, localizado na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

As análises de ponto de fusão foram realizadas no equipamento MQAPF-301 da MicroQuímica sem calibração prévia.

Os dados da espectrometria UV-Vis foram realizados pelo equipamento Carymet 60 UV-Vis com sistema de detecção arranjo de diodos, com célula termostática no LabSelen–UFSC

#### **4.4. Purificação e caracterização dos compostos**

As purificações foram realizadas por cromatografia em coluna com fase estacionária de sílica gel 60 0,05-0,1 mm – 130-270 *mesh*. As frações purificadas foram identificadas por cromatografia em camada delgada (CCD) com fase estacionária de sílica gel da marca Whatman, com cerca de 0,25 mm de espessura.

Para auxiliar na identificação dos produtos através CCD, alguns métodos foram utilizados como revelação em câmara de luz na região do ultra violeta, câmara de iodo, vanilina ácida e permanganato de potássio com posterior aquecimento.

A caracterização dos composto sintetizados foram feitas com base em análises de espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , a serem realizadas na Central de Análises da Universidade Federal de Santa Catarina. Ainda, em casos pertinentes, ponto de fusão (p.f.), técnicas como infravermelho (IV) e espectrometria de massas foram utilizadas.

#### **4.5. Teste de atividades antioxidantes dos compostos sintetizados**

##### **4.5.1 Avaliação da atividade GPx-like**

A atividade catalítica como miméticos da enzima GPx dos compostos sintetizados foi executada de acordo com a metodologia de Tomoda *et. al.*<sup>29</sup> Em uma cubeta de quartzo, adicionou-se o catalisador de selênio (concentração final = 0,1 mmol/L), tiofenol (concentração final = 2,5 mmol/L) e MeOH (1 mL) a 25 ( $\pm$  3) °C. O espectrofotômetro é programado para promover a leitura da absorbância de luz UV no comprimento de onda de 305 nm a cada 10 segundos. Após 120 segundos do início do experimento adiciona-se na cubeta peróxido de hidrogênio

(concentração final = 5 mmol/L) e monitora-se a reação por mais 150 segundos aproximadamente. Cada análise foi realizada em triplicata.

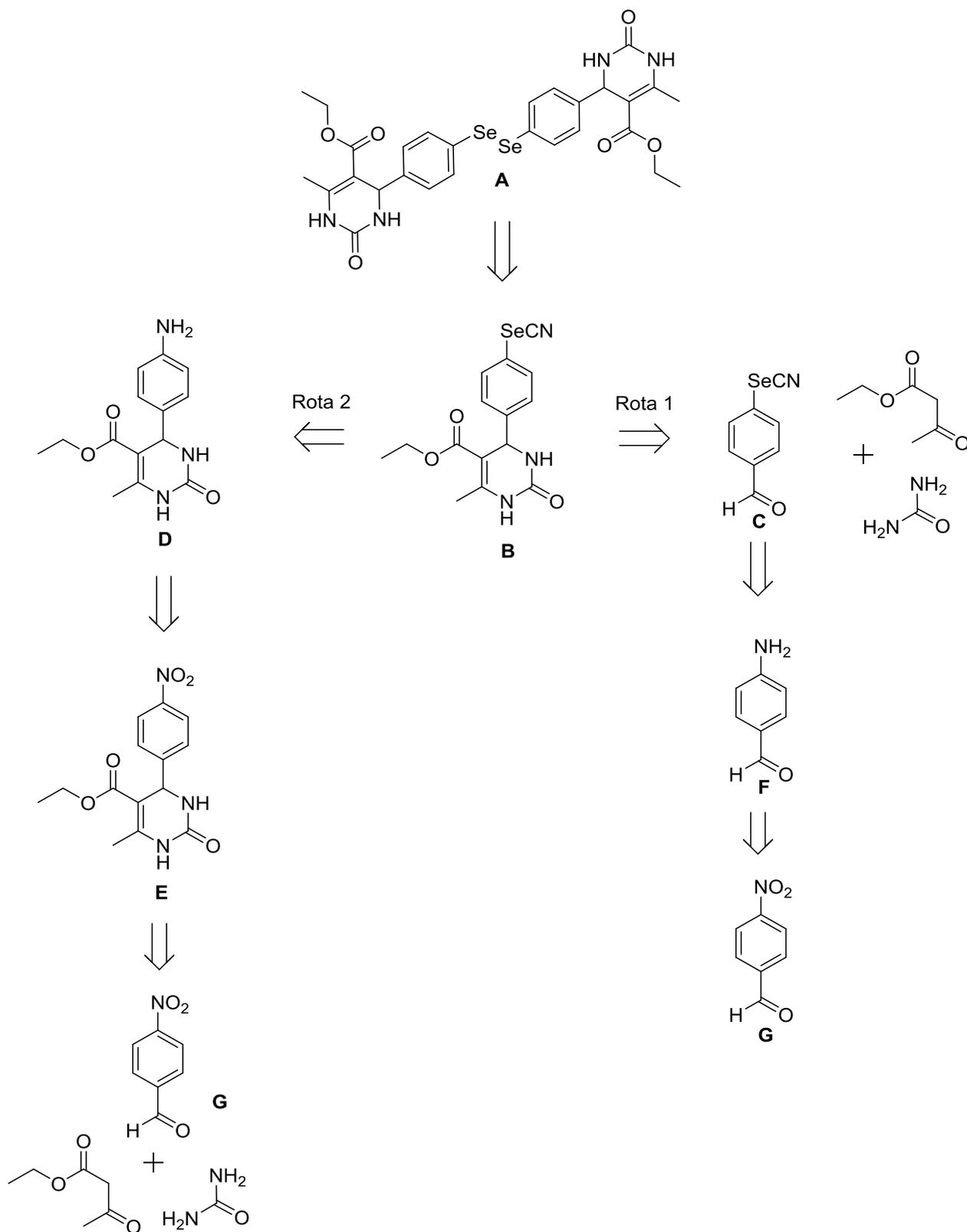
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise retróssintética do composto alvo **A**

Através de uma análise retróssintética, constatou-se que duas rotas sintéticas poderiam levar à molécula alvo **A**, as rotas 1 e 2 (Esquema 4). As duas rotas sintéticas convergem para o intermediário **B**, que é comum a ambas as rotas sintéticas.

Com isto em mente e analisando-se retróssinteticamente a rota 1, o selenocianato **B** poderia ser originado pela reação de Biginelli com a utilização do aldeído **C**, o qual poderia ser obtido pela reação de diazotação da amina **F**, a qual pode ser obtida pela redução do grupo nitro do composto **G**.

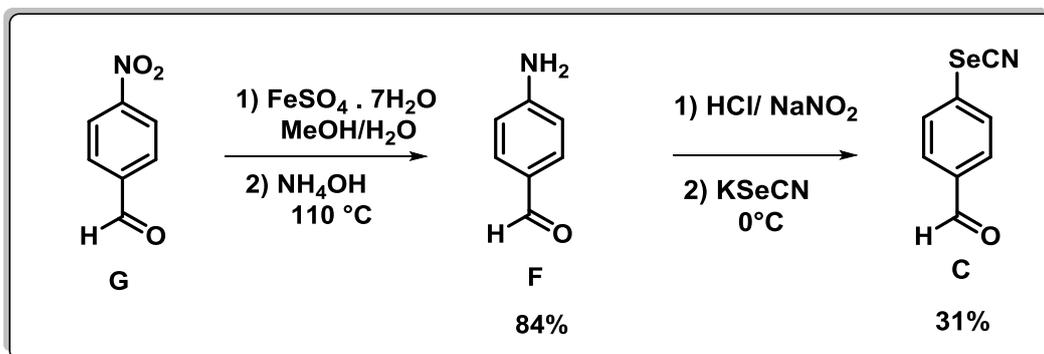
Por outro lado, a análise retróssintética da rota 2 mostra que o intermediário **B** provem da diazotação da amina **D** a qual é resultado da redução do grupo nitro do composto **E**, e este, por sua vez pode ser obtido a partir da reação de Biginelli utilizando-se aldeído **G**, uréia e acetoacetato de etila, conforme o esquema 4 abaixo.



**Esquema 4:** Análise retróssintética para obtenção do híbrido molecular **A**.

## 5.2. Síntese do disseleneto alvo A via rota 1

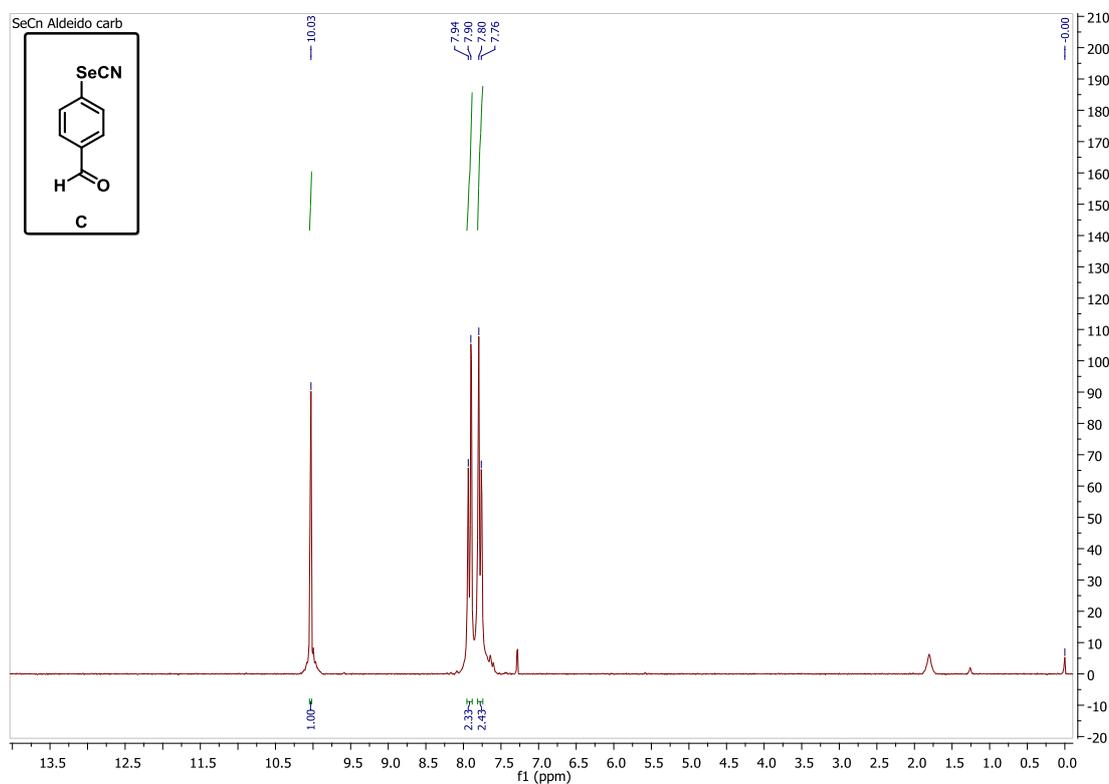
Na primeira parte do trabalho, realizou-se a síntese do 4-aminobenzaldeído **C** através de uma sequência de reações de redução e diazotação. A reação de redução foi realizada segundo metodologia adaptada de Jacobs e Heidelberger<sup>25</sup>, reagindo-se o composto 4-nitrobenzaldeído com sulfato ferroso na proporção de 1:10 equivalentes, respectivamente, por 6 horas em refluxo de uma mistura metanol/água e posterior tratamento com hidróxido de amônio. Foi possível obter a amina **F** em bons rendimentos, porém, sua caracterização não foi possível devido a sua insolubilidade em solventes orgânicos, fato que pode ser atribuído à polimerização da amina formando a imina correspondente. No próximo passo em meio ácido ocorre a desproteção retornando a amina correspondente para em seguida realização de uma reação de diazotação da amina **F** com nitrito de sódio e substituição com selenocianato de potássio nas proporções 1:3:1,5 respectivamente, adaptada da metodologia de Yildirim *et al.*<sup>26</sup> cabe ressaltar que antes da adição do selenocianato de potássio foi realizada uma neutralização do meio reacional aumentando seu pH a fim de evitar a liberação de ácido cianídrico e desta forma foi possível a obtenção do selenocianato **C** em rendimentos apropriados.



**Esquema 5:** Síntese de preparação dos aldeídos **F** e **C** partindo-se do aldeído **G**.

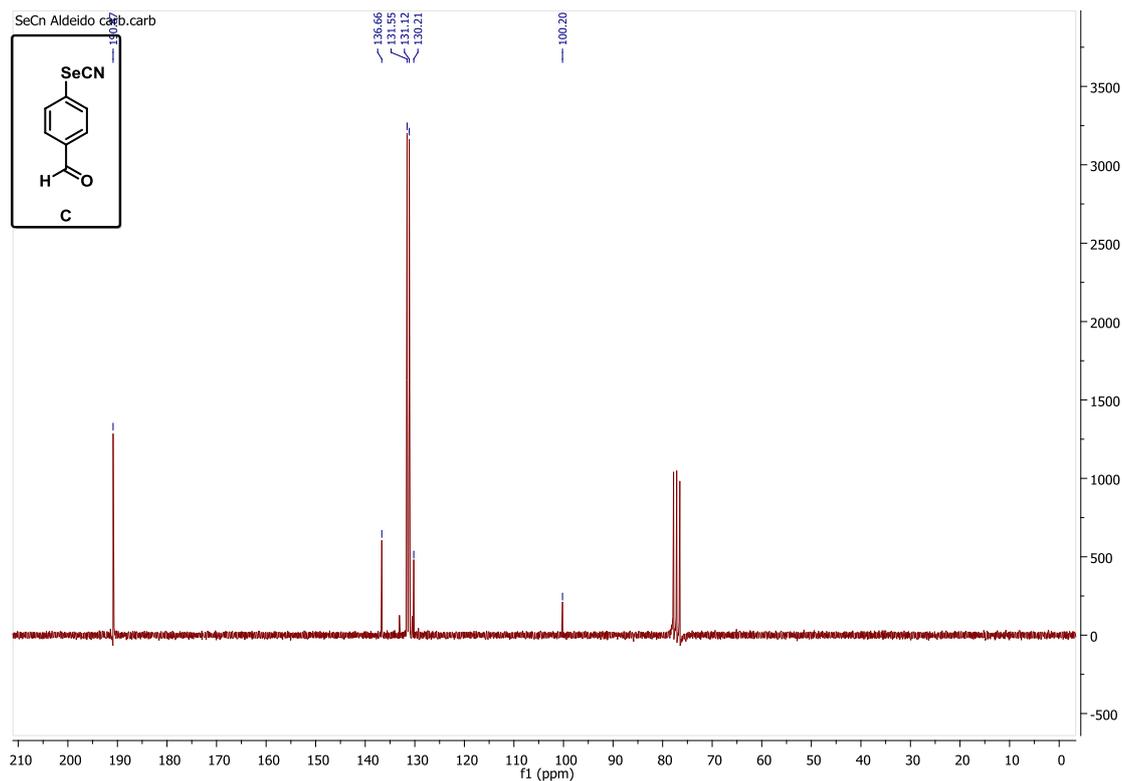
A título de exemplo, o composto **C** foi caracterizado por ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  (200 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50 MHz), e apresenta todos os sinais característicos esperados para o composto. Ao analisar o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **C** (Figura 10), observa-se, na região de 7,76-7,94 ppm, a presença de dois dupletos, ambos com integral igual à 2, representando, cada um, dois hidrogênios equivalentes do anel aromático. Na região menos protegida, em

10,03 ppm, é observada a presença de um singlete com integral igual a 1, referente ao hidrogênio do aldeído .



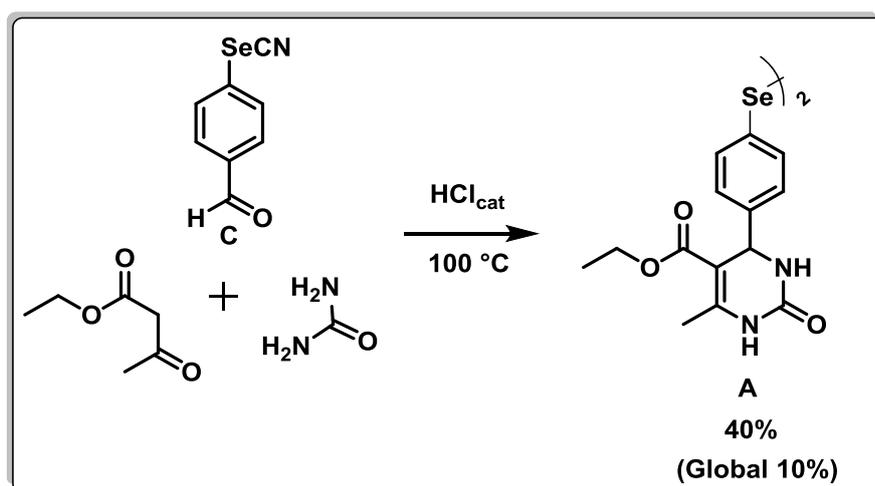
**Figura 10:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do aldeído **c** na frequência de 200 MHz em  $\text{CDCl}_3$ .

Ao se analisar o espectro de RMN de  $\text{C}^{13}$  (Figura 11), pode-se observar, em 100,20 ppm, um sinal referente ao carbono da nitrila, em 130,21 ppm o carbono ligado ao grupamento selenocianato. Em 131,12 e 131,55 ppm apresentam-se os sinais dos carbonos não substituídos do anel aromático e, em 136,66 ppm, o sinal referente ao grupamento formila e deslocado, em 190,07 ppm, o sinal referente ao carbono do aldeído.



**Figura 11:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o aldeído **C** na frequência de 50 MHz em  $\text{CDCl}_3$ .

Na próxima etapa reacional, foi realizada a reação de Biginelli<sup>27</sup> com 4-selenocianatobenzaldeído **C**, acetoacetato de etila e uréia nas proporções de 1:1:2, respectivamente, conforme o esquema 6 abaixo.

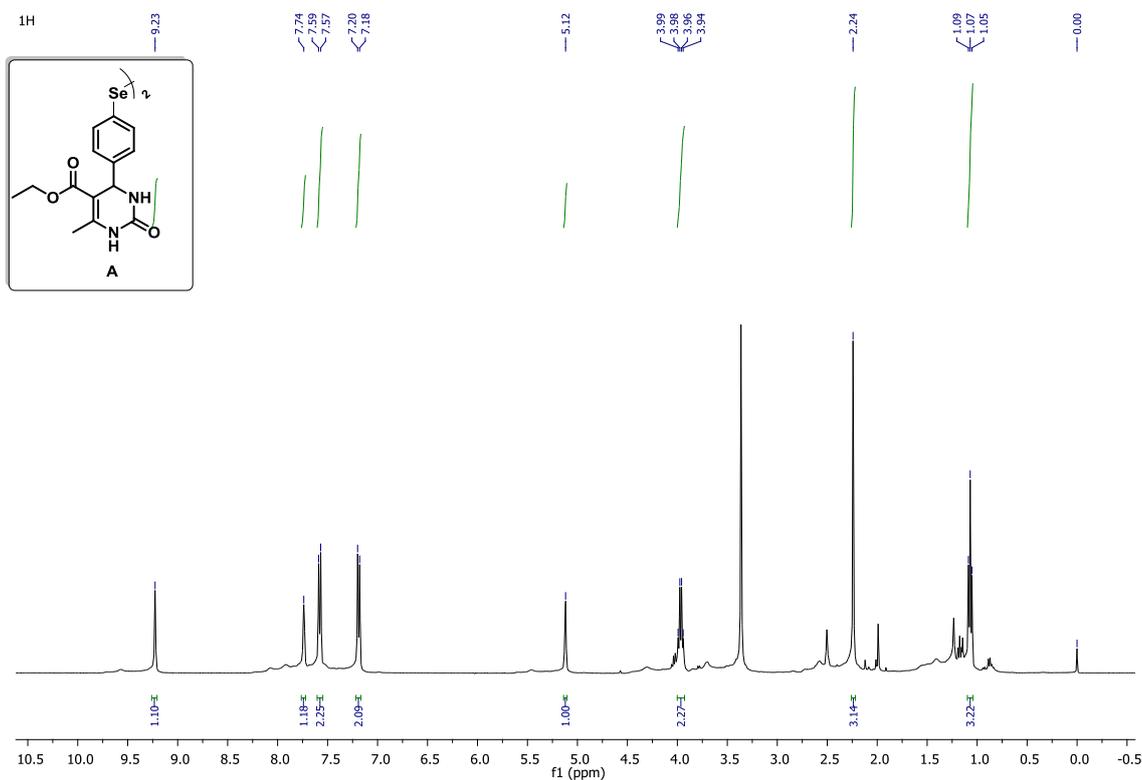


**Esquema 6:** Reação de Biginelli para a formação do disseleneto **A**.

A reação procedeu de forma adequada sem a presença de solvente, somente foram adicionadas poucas gotas de etanol quando a agitação magnética do sistema era inoperante e permaneceu reagindo durante 1,5 horas, até o

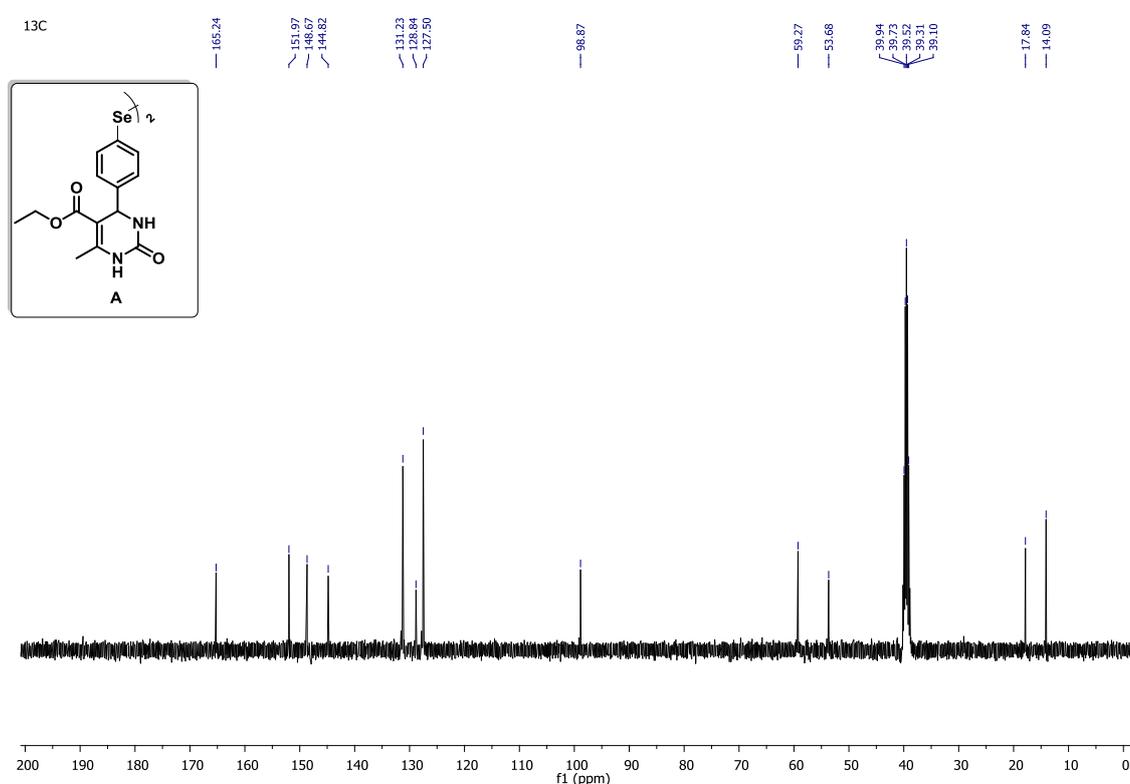
consumo do material de partida, monitorado via CCD. Nesta etapa, esperava-se a formação do intermediário **B**, o qual não foi observado nas condições utilizadas. Apenas o disseleneto correspondente **A** foi obtido.

O disseleneto **A** foi caracterizado por espectrometria de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , bem como espectrometria de massas e IV. Ao se analisar o espectro de  $^1\text{H}$  do composto alvo (Figura 12) observou-se, na região de campo mais alto, em cerca de 1 ppm, um triplo de integral 3, referente ao  $\text{CH}_3$  da porção éster. Em 2,24 ppm há a presença de um simpleto de integral 3, referente ao grupamento metila; em 3,9 ppm um quarteto de integral 2, referente ao  $\text{CH}_2$  do éster; em 5,12 ppm um singlete de integral 1 referente ao hidrogênio ligado ao carbono quiral. Já na região dos aromáticos há dois dubletos com integral igual a 2, referentes aos hidrogênios do anel aromático, na região entre 7,18-7,57 ppm. Em baixo campo, tem-se a presença de dois singletos referentes aos hidrogênios de ambos nitrogênios em 7,74 e 9,23 ppm.



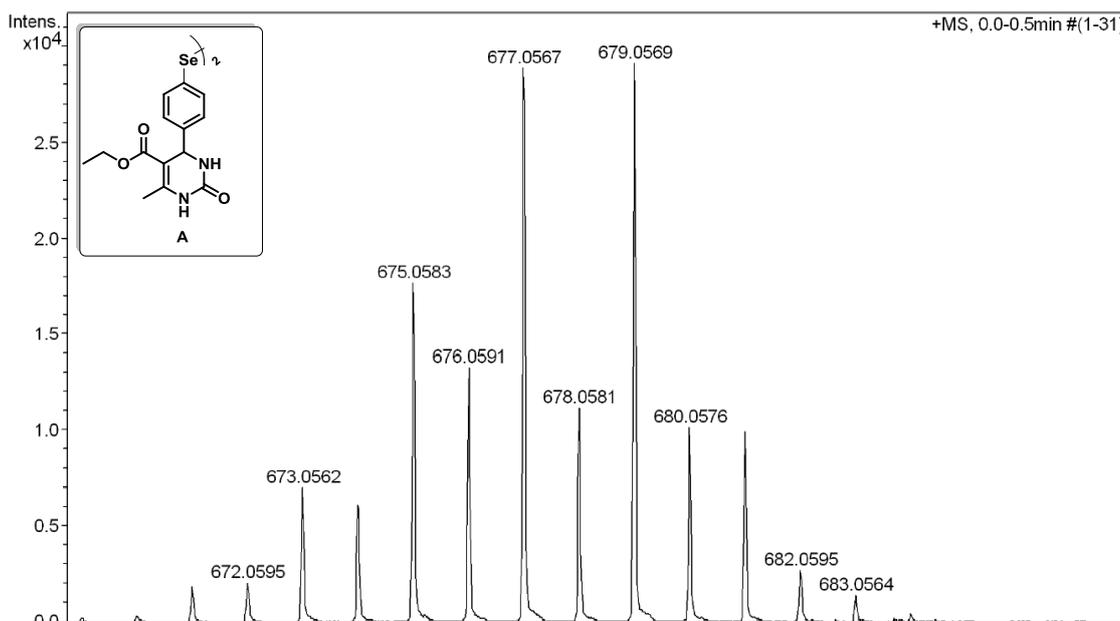
**Figura 12:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **A** em RMN de 400 MHz.

Já no espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 13), pôde-se identificar, na região de campo alto, sinais que são referentes aos carbonos alquílicos: em 14,09 ppm há um sinal referente a metila do estér e, em 17,34 ppm, um sinal referente a metila alílica. Em 53,68 ppm observou-se um sinal referente ao carbono quiral e, em 59,27 ppm, um sinal referente ao  $\text{CH}_2$  do éster. Em uma região de campo mais baixo, em 98,87 ppm, observou-se o sinal do carbono enamínico. Na região entre 127,50 à 148,67 ppm são observados os sinais dos carbonos aromáticos e o carbono quaternário restante. Em 151,97 e 165,24 ppm tem-se os sinais referentes ao carbono da carbonila da uréia e da carbonila do éster, respectivamente.



**Figura 13:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **A** em RMN de 400 MHz.

O disseleneto **A** também foi analisado por espectrometria de massas de alta resolução com fotoionização à pressão atmosférica, onde foi possível identificar o íon molecular e sua distribuição isotópica característica. Na Figura 14 é possível verificar o espectro de massas expandido para o disseleneto **A**, no qual é observado o pico referente à massa encontrada. A massa calculada para  $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_6\text{Se}_2$   $[\text{M}+\text{H}]$  679,0594; encontrado 679,0569.

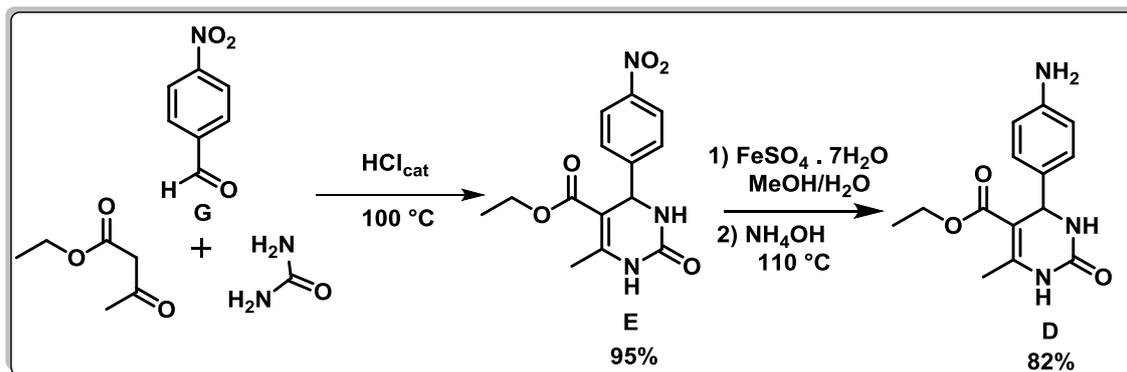


**Figura 14:** Espectro de massas de alta resolução em APPI do disseleneto **A**.

Ao analisar as três etapas sintéticas envolvidas para a síntese do disseleneto alvo **A** foi constatado um rendimento global de 10%.

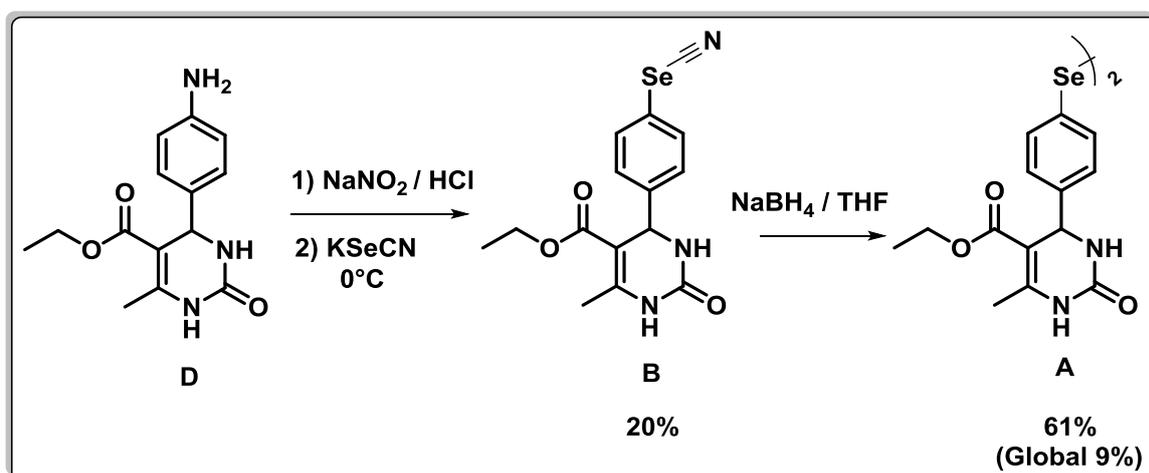
### 5.3. Síntese do disseleneto alvo via rota 2

Na segunda parte deste trabalho, foi realizada, primeiramente, a síntese da diidropirimidinona **E** utilizando-se 4-nitrobenzaldeído juntamente com acetoacetato de etila e uréia nas proporções 1:1:2, respectivamente, e ácido clorídrico concentrado como catalisador. A reação foi realizada na ausência de solvente, com gotas de etanol adicionadas para a solubilização do meio reacional a fim de continuar agitação magnética e, em 1,5 horas de reação, não se detectou mais material de partida. A reação foi precipitada em banho de gelo, lavada com porções de água destilada e seco. Com a diidropirimidinona **E** em mãos, foi realizada a redução do grupamento nitro para a amina correspondente, utilizando-se a mesma metodologia apresentada na rota 1. Foi possível obter a amina correspondente com um rendimento de 82% e através da espectrometria de RMN de <sup>1</sup>H, identificar um simpleto de integral de 3 em 4,99 ppm, o qual se encontra em deslocamento químico similar do hidrogênio do centro quiral da diidropirimidinona **E**, sendo um sinal apropriado para a identificação do composto **D**.



**Esquema 7** : Síntese da amina **D** via reação de Biginelli seguida de redução .

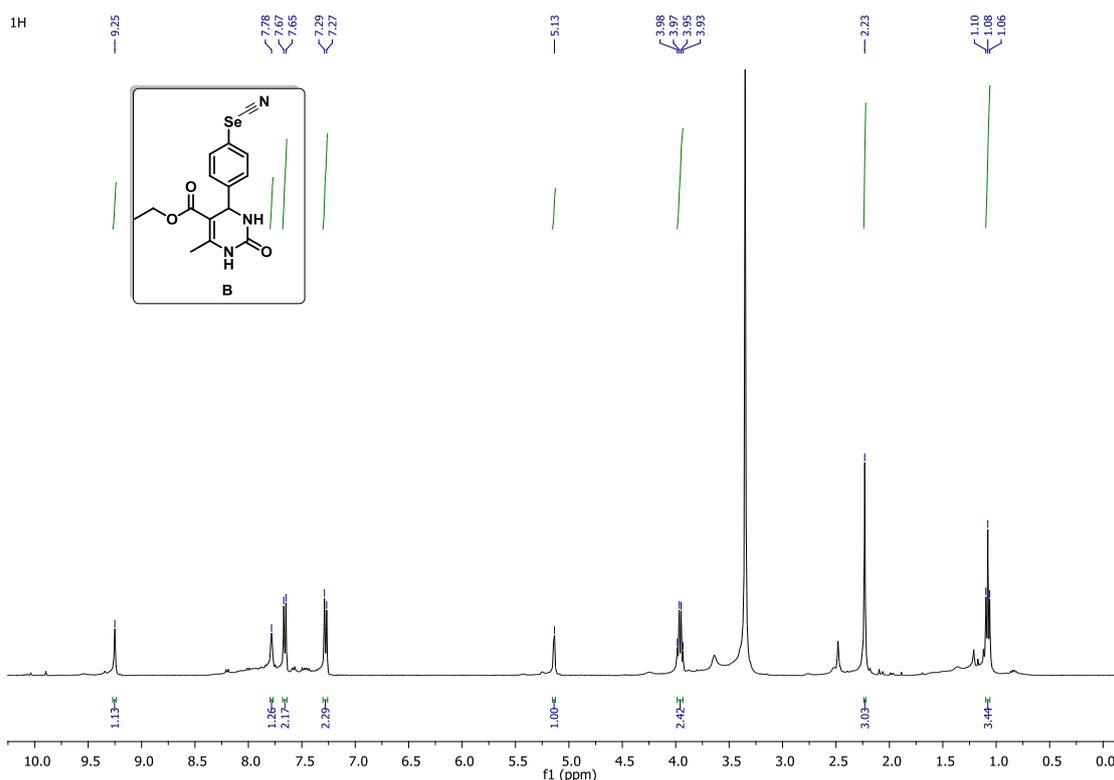
Na etapa seguinte, a amina **D** foi diazotada e substituída com selenocianato de potássio através da metodologia adaptada de Yildirim, utilizando-se o composto **D**, nitrito de sódio e selenocianato de potássio nas proporções de 1:3:1,5; respectivamente, mas tomando-se a precaução de aumentar o pH com acetato de sódio a fim de evitar a liberação de cianeto de hidrogênio. O sólido em suspensão resultado da reação de diazotação e substituição foi filtrado, lavado e seco. Nesta primeira tentativa, foi isolado o intermediário **B**, sendo possível sua identificação e caracterização pelos métodos necessários.



**Esquema 8** : Síntese do intermediário **B** e redução à disseleneto.

A título de exemplo, abaixo encontra-se o espectro de hidrogênio do composto **B** (Figura 15), em DMSO- $d_6$  e apresenta todos os sinais característicos do composto em questão.

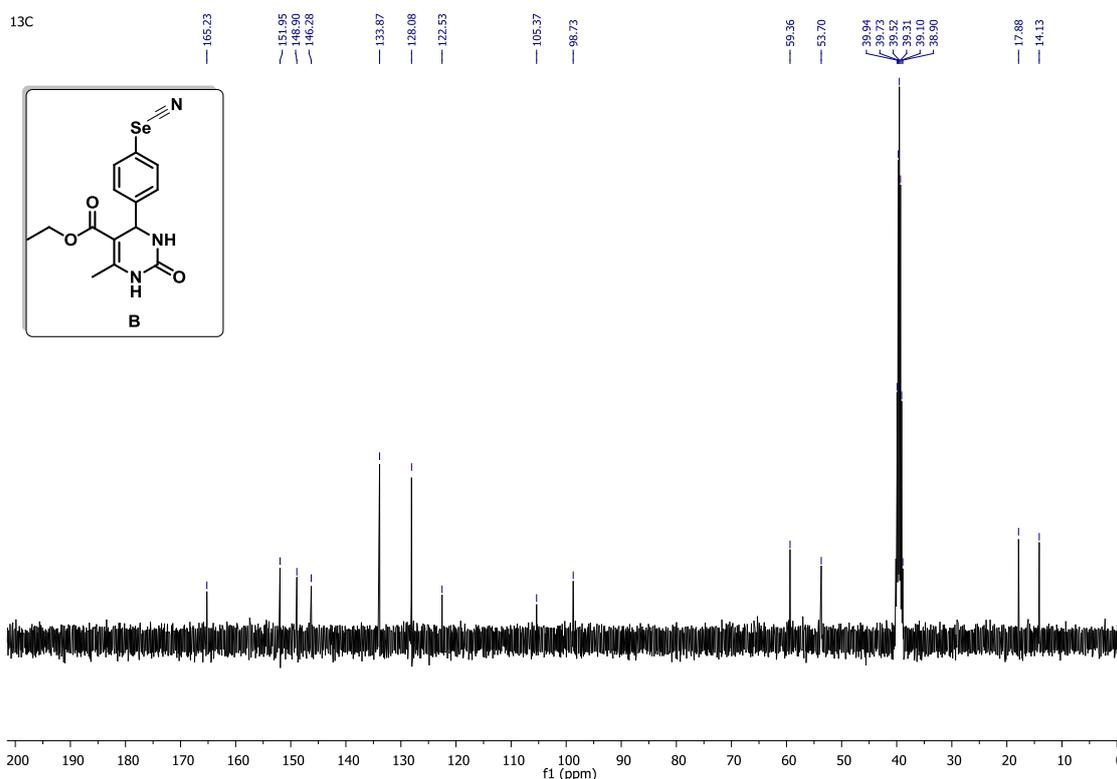
Na região de 1,08 ppm encontra-se um triploto referente à metila da porção éster com integral igual a 3 e, em 2,23 ppm, encontra-se um simpleto referente à metila ligada ao carbono enamínico. Em 3,96 ppm apresenta-se um quarteto remetente ao CH<sub>2</sub> do éster, com integral de 2 e, em 5,13 ppm, um simpleto referente ao hidrogênio do carbono terciário ligado a porção aromática do sistema, com integral de 1. Na região de 7,27-7,67 ppm observam-se dois dupletos referentes aos hidrogênios aromáticos com substituição em *para*, com integral de 4 hidrogênios. Em 7,78 e 9,25 ppm há presença de dois simpleto, cada um com integral igual a 1, referentes aos grupos N-H conforme a figura 15 abaixo.



**Figura 15:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **B** na frequência de 400 MHz.

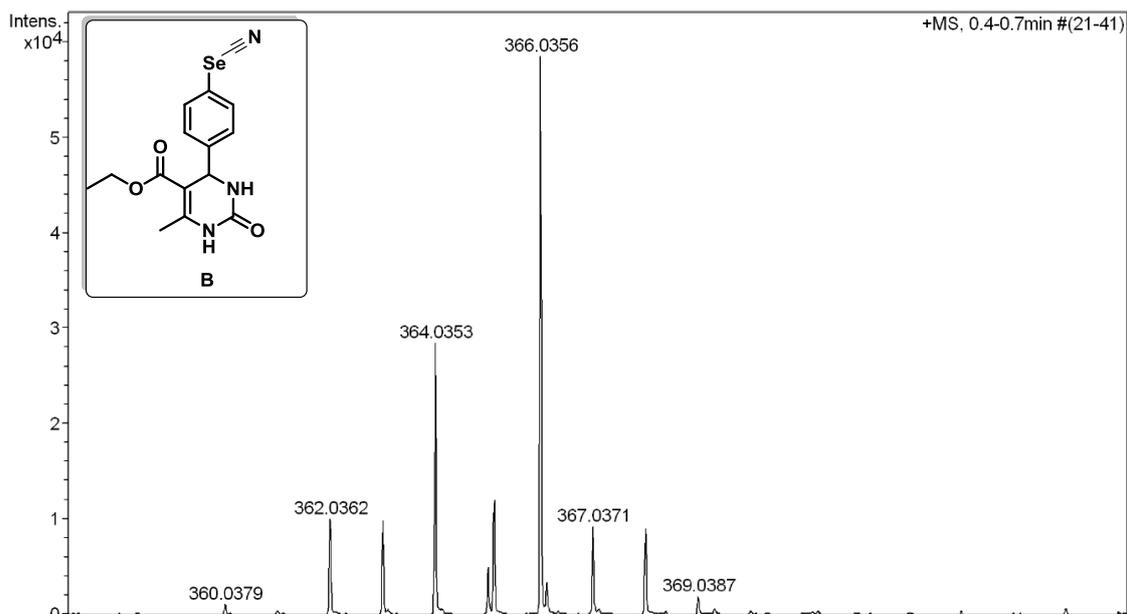
No espectro de RMN de <sup>13</sup>C, o sinal em 14,13 ppm pode ser atribuído à metila da porção éster e o sinal em 17,88 ppm pode ser atribuído à metila ligada ao carbono vinílico. Já o sinal presente em 53,70 ppm é referente ao carbono terciário ligado a porção aromática e o que aparece em 59,36 ppm é referente ao

CH<sub>2</sub> da porção éster. Em regiões de campo mais baixo temos, em 98,73 ppm, um sinal referente ao carbono enamínico e, em 105,37 ppm, o carbono da nitrila. Em 122,53 ppm encontra-se o carbono ligado ao grupamento selenocianato. Na região de 128,08-133,87 ppm estão compreendidos dois sinais referentes aos carbonos aromáticos. Em 146,28; 148,90 e 151,95 ppm temos os sinais referentes ao carbono quaternário do anel aromático, carbono enamínico e o carbono referente a carbonila da uréia, respectivamente, e, em 165,23 ppm, um sinal referente à carbonila do éster.



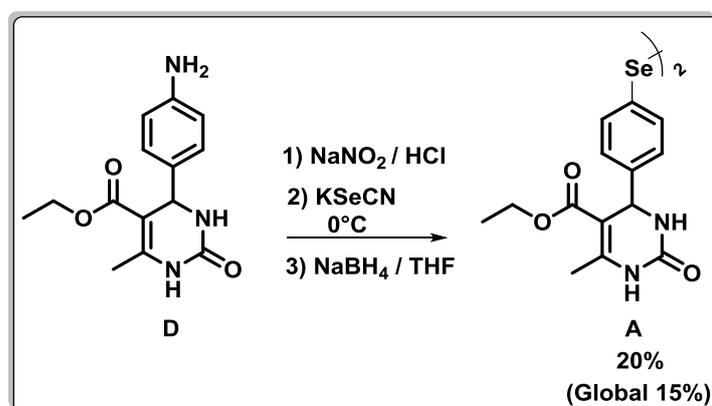
**Figura 16:** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto **B** na frequência de 400 MHz.

O composto também foi analisado por espectroscopia de massas de alta resolução com fonte de ionização APPI (fotoionização à pressão atmosférica), sendo possível identificar o íon molecular e a distribuição isotópica característica. Na figura 17 é possível verificar o espectro de massas expandido para o composto **B**, no qual é observado o pico referente a massa encontrada. A massa calculada para C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Se [M+H] 366,0352; encontrado foi 366,0356.



**Figura 17:** Espectrometria de massas de alta resolução do composto **B** em APPI.

Com o intermediário selenocianato-diidropirimidinona **B**, foi possível realizar a desproteção do cianeto para conversão ao disseleneto utilizando-se  $\text{NaBH}_4$  através da metodologia de Krief *et. al.*<sup>28</sup> nas proporções de 1:2 equivalentes, respectivamente, obtendo-se um rendimento global de 9%, conforme mostrado no esquema 8. Foi realizada uma segunda tentativa da reação, visando um aumento no rendimento, com a reação de desproteção sendo realizada logo em seguida da reação de diazotação, sem o isolamento do intermediário **B**. O rendimento obtido foi de 20%, caracterizando um rendimento global de 15% *versus* o rendimento global de 9% da tentativa anterior, com o composto **B** sendo isolado.



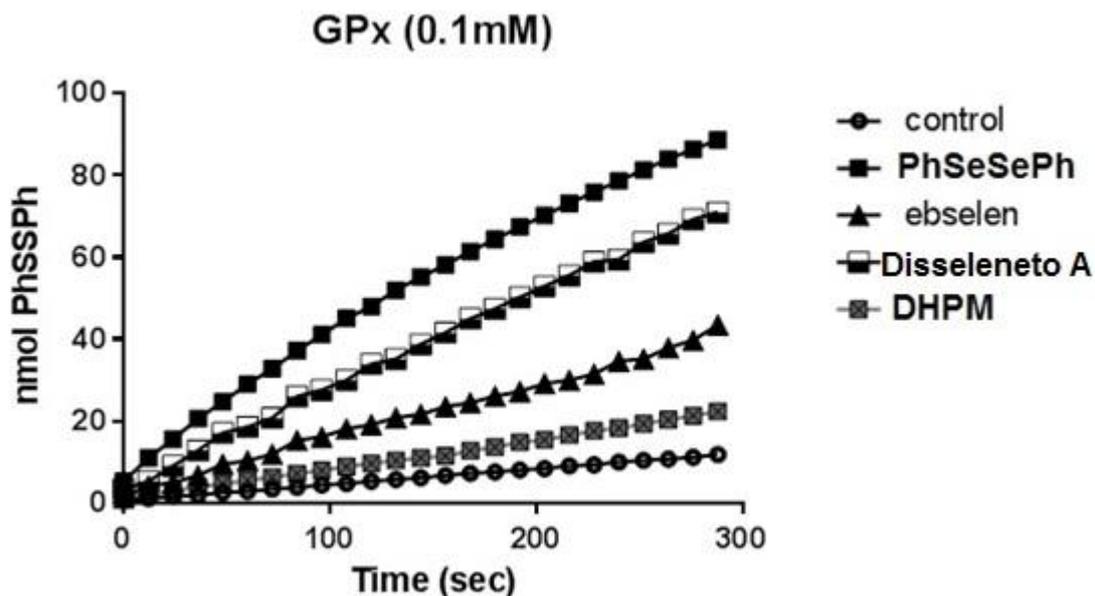
**Esquema 9 :** Formação do disseleneto **A** sem isolar o intermediário **B**.

As metodologias utilizadas, tanto para a rota sintética 1 bem como a rota 2, foram eficientes, caracterizando um rendimento global de 10 e 9%, respectivamente. Porém, ao reagir o produto da diazotação sem isolar o intermediário sintético **B**, foi possível obter um rendimento global de 15%, o que reduziu uma etapa sintética e de purificação, tornando-se uma rota sintética mais adequada e eficiente para a preparação de disselenetos derivados de diidropirimidinonas.

#### 5.4. Avaliação da atividade GPx-like

O disseleneto **A** teve sua atividade antioxidante como mimético da enzima Glutathione Peroxidase avaliada segundo o método de Tomoda,<sup>29</sup> no qual o tiofenol é utilizado para atuar como um substituto da glutathione. Este método consiste em monitorar a oxidação do tiofenol para seu respectivo dissulfeto na presença de um oxidante tal como o peróxido de hidrogênio. A presença do dissulfeto é verificada por espectrometria de UV-Vis, no comprimento de onda de 305 nm.

Este teste para avaliação da capacidade antioxidante foi realizado por outro membro de nosso grupo de pesquisa, a Dra Sumbal Saba. Os resultados obtidos são mostrados no gráfico abaixo, com os compostos ebselen e disseleneto de difenila utilizados como padrões positivos. Neste ensaio, a DHPM foi utilizada mesmo sem conter selênio em sua estrutura, a fim de se avaliar a capacidade antioxidante das porções que constituirão o híbrido molecular **A** e averiguar se a estratégia de hibridação molecular foi eficiente.

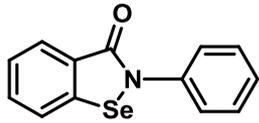
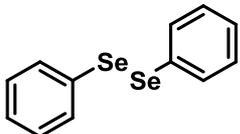
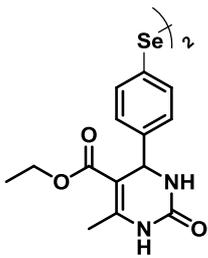
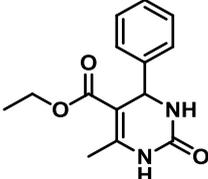


**Figura 18:** Formação do dissulfeto de difenila catalisada pelo composto **A** 0,1mmol/L.

Na Figura 18 é possível observar a formação de dissulfeto de difenila comparando com os catalisadores disseleneto de difenila (PhSeSePh) e o ebselen. Após a adição do peróxido de hidrogênio a solução reacional contendo 1 ml de metanol, 2,5 1mmol/L de tiofenol e 0,1mmol/L do catalisador nota-se que a concentração do PhSSPh aumenta com o tempo e que mostra um bom desempenho do disseleneto **A**.

Na Tabela 1 são relatados os valores de  $T_{50}$  para todos os compostos avaliados que indica o tempo necessário em minutos para diminuir na metade a concentração de tiofenol. Dentre estes compostos, o disseleneto **A** apresentou um valor de  $T_{50} = 77,43 \pm (2,52)$ , sendo 2,02 vezes mais ativo do que o padrão ebselen. Entretanto, observou-se que o disseleneto **A** apresenta uma atividade GPx-like inferior ao padrão disseleneto de difenila, o qual é um dos catalisadores mais eficientes.

Tabela 1: Atividade GPx-like dos catalisadores organosselênio.

Entrada <sup>a</sup>	Catalisador <sup>b</sup>	T <sub>50</sub> (min) <sup>c,d</sup>	Eficiência relativa ao ebselen	Eficiência relativa ao disseleneto de difenila
1.	Ebselen 	156,97±(3.50)	1	-
2.	Ph <sub>2</sub> Se <sub>2</sub> 	64,19±(0.04)	2,44	1
3.	Disseleneto A 	77,43±(2.52)	2,02	-
4.	DHPM 	251,55±(8.11)	-	-

<sup>a</sup>Sob esta condição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na ausência do composto organosselênio não produziu qualquer oxidação do PhSH. <sup>b</sup>MeOH (1 mL); catalisador (0.1 mmol/L); PhSH (2.5 mmol/L); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 mmol/L). <sup>c</sup>T<sub>50</sub> é o tempo requerido, em minutos para reduzir o tiol para metade de sua concentração após a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; <sup>d</sup>Dado em parênteses: erro experimental.

Como esperado, a DHPM que não possui o selênio em sua estrutura apresenta uma atividade inferior ao padrão ebselen, o que caracteriza que seu mecanismo de ação antioxidante difere da atividade GPx-like avaliada neste ensaio e, em termos gerais, a formação do híbrido molecular entre o disseleneto de difenila e a diidropirimidinona levou à formação de uma molécula que apresenta atividade antioxidante GPx-like devido à porção organosselênio.

## 6. CONCLUSÕES

Este trabalho teve como o objetivo sintetizar disseleneto **A** derivado de diidropirimidinonas através de duas rotas sintéticas e posterior teste de sua atividade antioxidante. Neste contexto, o trabalho foi realizado com sucesso, com o desenvolvimento de uma metodologia para a síntese desta classe de compostos com um rendimento global apropriado, de 15% em 5 etapas sintéticas.

Cabe ressaltar que estes compostos possuem extrema relevância biológica, principalmente porque atuaram como antioxidantes e como miméticos da GPx, sendo cerca de 2 vezes a mais ativos do que o padrão ebselen.

Como perspectivas, deseja-se sintetizar outras seleno-diidropirimidinonas a fim de se generalizar a metodologia, bem como de avaliar a capacidade antioxidante através do teste GPx-*like*. Pretende-se, também, realizar outros ensaios biológicos em parceria com outros grupos de pesquisa para averiguar o alcance de atividades biológicas, tais como antitumoral.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

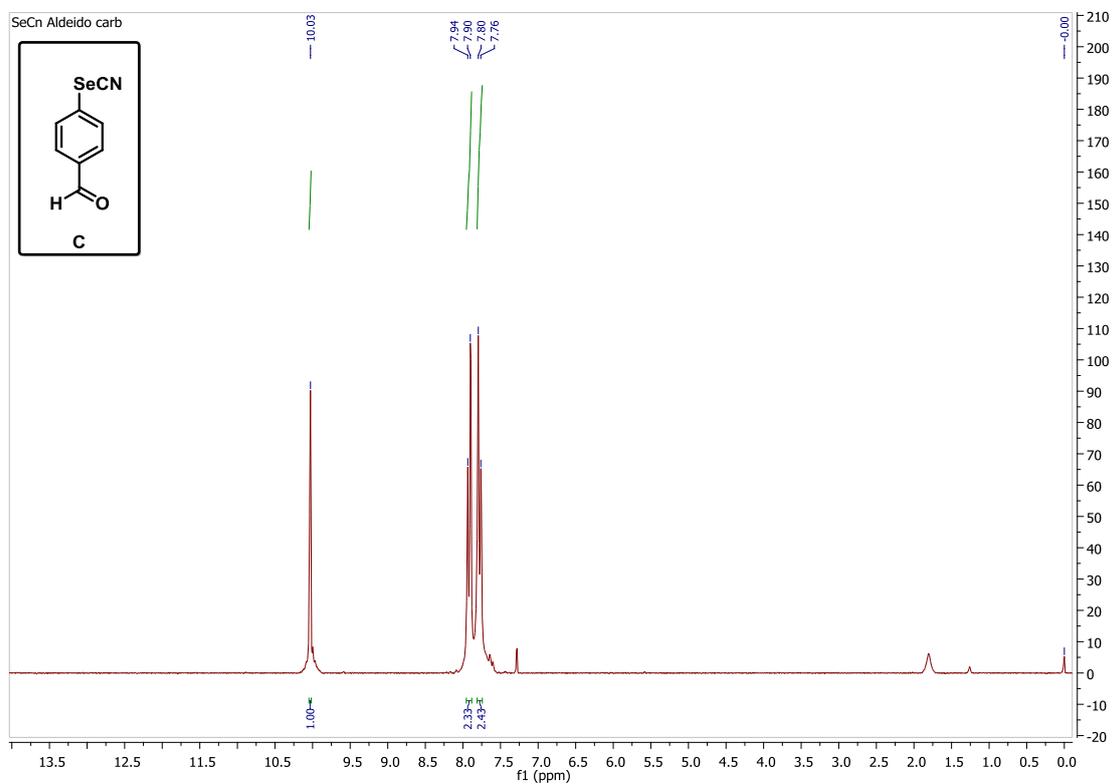
- (1) Schwarz, K.; Foltz, C. M.; Dietary, S. as an integral part of factor 3 against; necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, p. 3292–3293, 1957. **1951**, *852*, 2–3.
- (2) Takeji, T.; Urabe, Y.; Asahina, Y.; Hojo, H.; Nomura, T.; Dedachi, K.; Arai, K.; Iwaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118* (2), 492–500.
- (3) Turner, D. C.; Stadtman, T. C. *Arch. Biochem. Biophys.* **1973**, *154* (1), 366–381.
- (4) Orian, L.; Toppo, S. *Free Radic. Biol. Med.* **2014**, *66*, 65–74.
- (5) Knight, J. A. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **1998**, *28* (6), 331–346.
- (6) Parnham, M. J.; Graf, E. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36* (19), 3095–3102.
- (7) Bhabak, K. P.; Mugesh, G. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (11), 1408–1419.
- (8) Martins, I. L.; Charneira, C.; Gandin, V.; Ferreira Da Silva, J. L.; Justino, G. C.; Telo, J. P.; Vieira, A. J. S. C.; Marzano, C.; Antunes, A. M. M. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (10), 4250–4265.
- (9) Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (12), 6255–6285.
- (10) Nascimento, V.; Alberto, E. E.; Tondo, D. W.; Dambrowski, D.; Detty, M. R.; Nome, F.; Braga, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (1), 138–141.
- (11) Domínguez-Álvarez, E.; Plano, D.; Font, M.; Calvo, A.; Prior, C.; Jacob, C.; Palop, J. A.; Sanmartín, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *73*, 153–166.
- (12) Saad, S.; Arafat, M. A.; Hamama, W. S. ARKIVOC: Mansoura, Egypt 2014, pp 470–505.
- (13) Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* 1893, p 360.
- (14) Kappe, C. O. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 1043–1052.
- (15) Xin, J.; Chang, L.; Hou, Z.; Shang, D.; Liu, X.; Feng, X. *Chem. - A Eur. J.* **2008**, *14* (10), 3177–3181.
- (16) Ramos, L. M.; Ponce, A. Y.; Leon, D.; Santos, M. R.; Oliveira, H. C. B. De; Gomes, A. F.; Gozzo, F. C.; Oliveira, A. L. De; Neto, B. a D. **2012**.
- (17) Kürti, L.; Czakó, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis: background and detailed mechanisms*; 2005.
- (18) Suresh; Sandhu, J. S. *Arkivoc* **2012**, *2012* (1), 66–133.
- (19) Stefani, H. A.; Oliveira, C. B.; Almeida, R. B.; Pereira, C. M. P.; Braga, R. C.; Cella, R.; Borges, V. C.; Savegnago, L.; Nogueira, C. W. *Eur. J. Med. Chem.*

**2006**, 41 (4), 513–518.

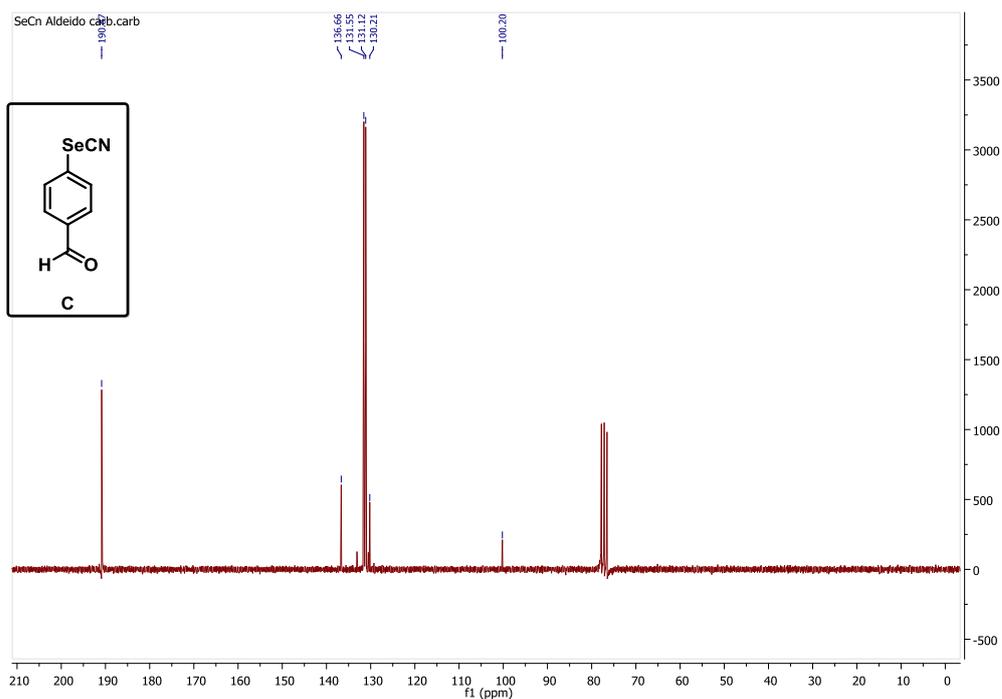
- (20) Gangwar, N.; Kasana, V. K. *Med. Chem. Res.* **2012**, 21 (12), 4506–4511.
- (21) *Eliezer J. Barreiro - Química Medicinal - As Bases Moleculares Da Ação Dos Fármacos, 2ª Edição (Artmed).pdf.*
- (22) Claudio Viegas-Junior, B. S. P.; Amanda Danuello, B. S. P.; Vanderlan da Silva Bolzani, B. S. P.; Eliezer J. Barreiro, B. S. P.; Carlos Alberto Manssour Fraga, B. S. P. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14 (17), 1829–1852.
- (23) Nepali, K.; Sharma, S.; Sharma, M.; Bedi, P. M. S.; Dhar, K. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 77, 422–487.
- (24) Luo, Z.; Liang, L.; Sheng, J.; Pang, Y.; Li, J.; Huang, L.; Li, X. *Bioorganic Med. Chem.* **2014**, 22 (4), 1355–1361.
- (25) Jacobs, W. A.; Heidelberger, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1917**, 39 (7), 1435–1439.
- (26) Yavuz, S.; Dişli, A.; Yildirim, Y.; Türker, L. *Molecules* **2005**, 10 (8), 1000–1004.
- (27) Canto, R. F. S.; Barbosa, F. a R.; Nascimento, V.; de Oliveira, A. S.; Brighente, I. M. C.; Braga, A. L. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12 (21), 3470–3477.
- (28) Krief, A.; Delmotte, C.; Dumont, W. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38 (17), 3079–3080.
- (29) Iwaoka, M.; Tomoda, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116 (6), 2557–2561.

## 8. APÊNDICES

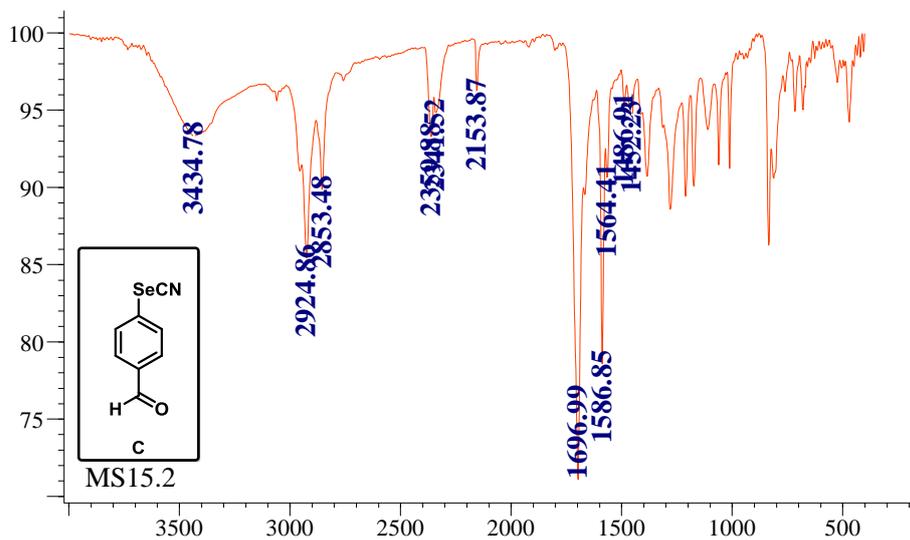
### APÊNDICE 1: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto **C** em $\text{CDCl}_3$ em 200 MHz.



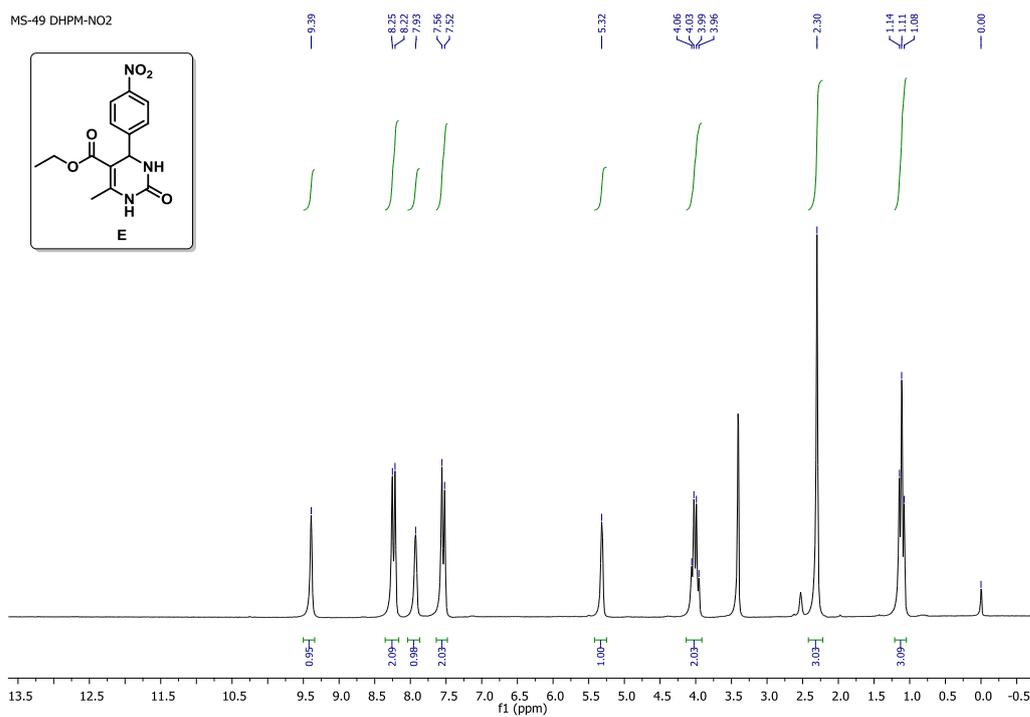
### APÊNDICE 2: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto **C** em $\text{CDCl}_3$ em 200 MHz.



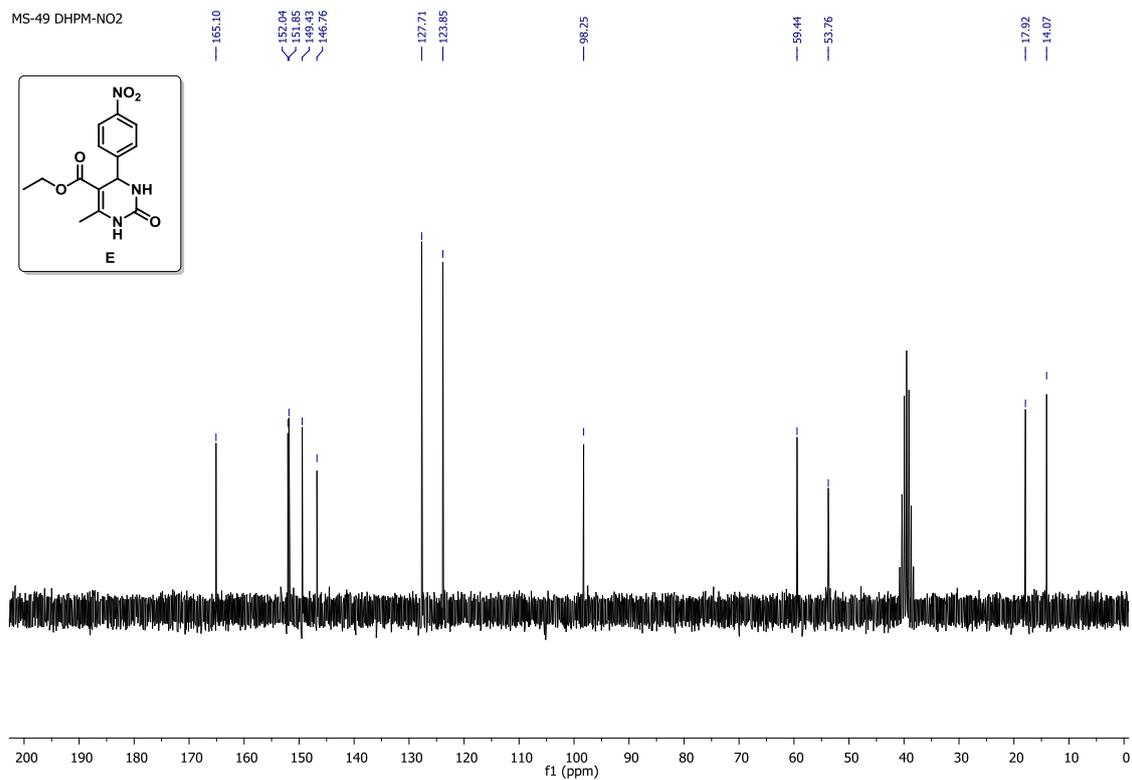
**APÊNDICE 3:** Espectro de IV em pastilha de KBr do composto **C**.



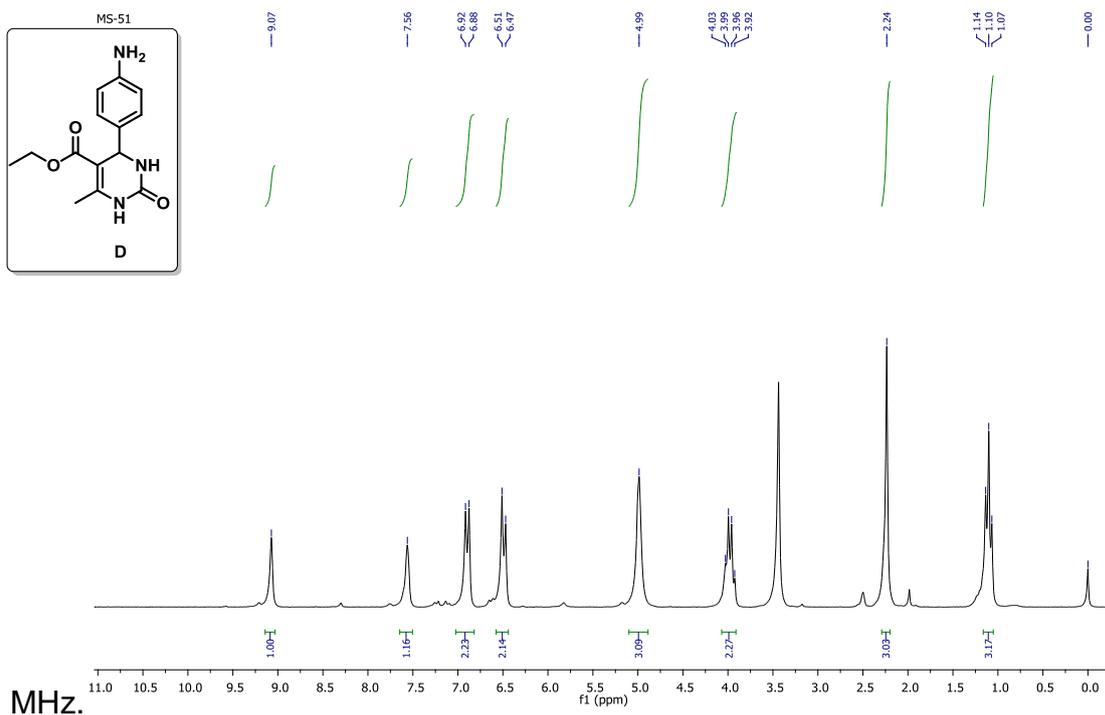
**APÊNDICE 4:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **E** em  $\text{DMSO-d}_6$  em 200 MHz.



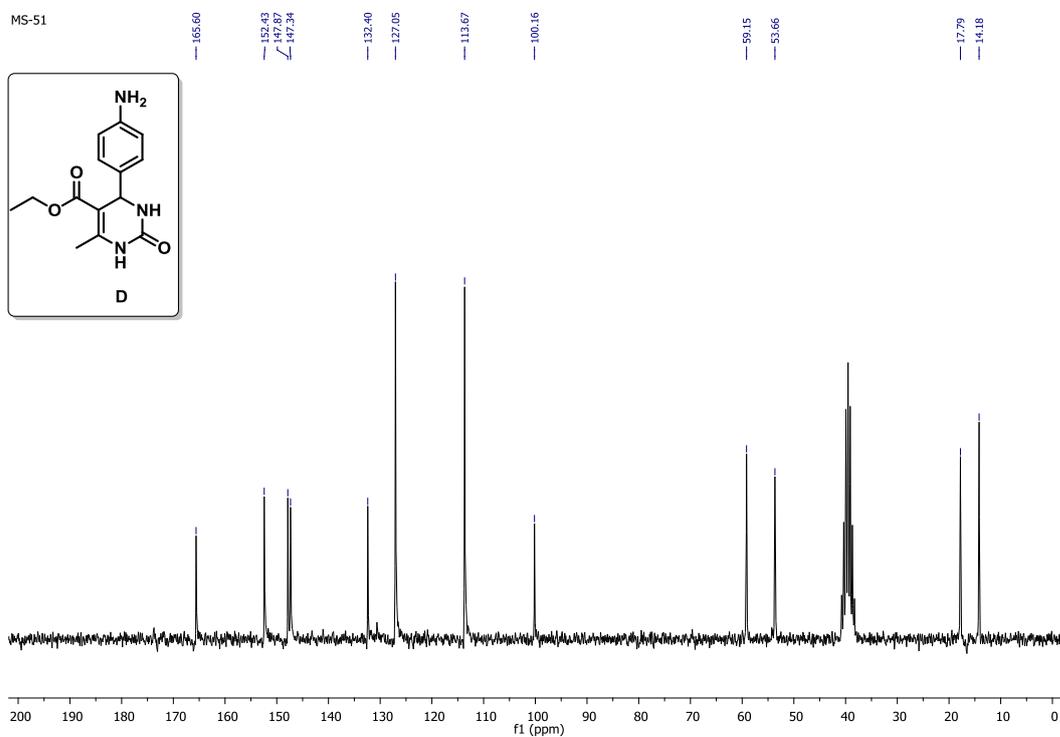
**APÊNDICE 5:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **E** em  $\text{DMSO-d}^6$  em 200 MHz.



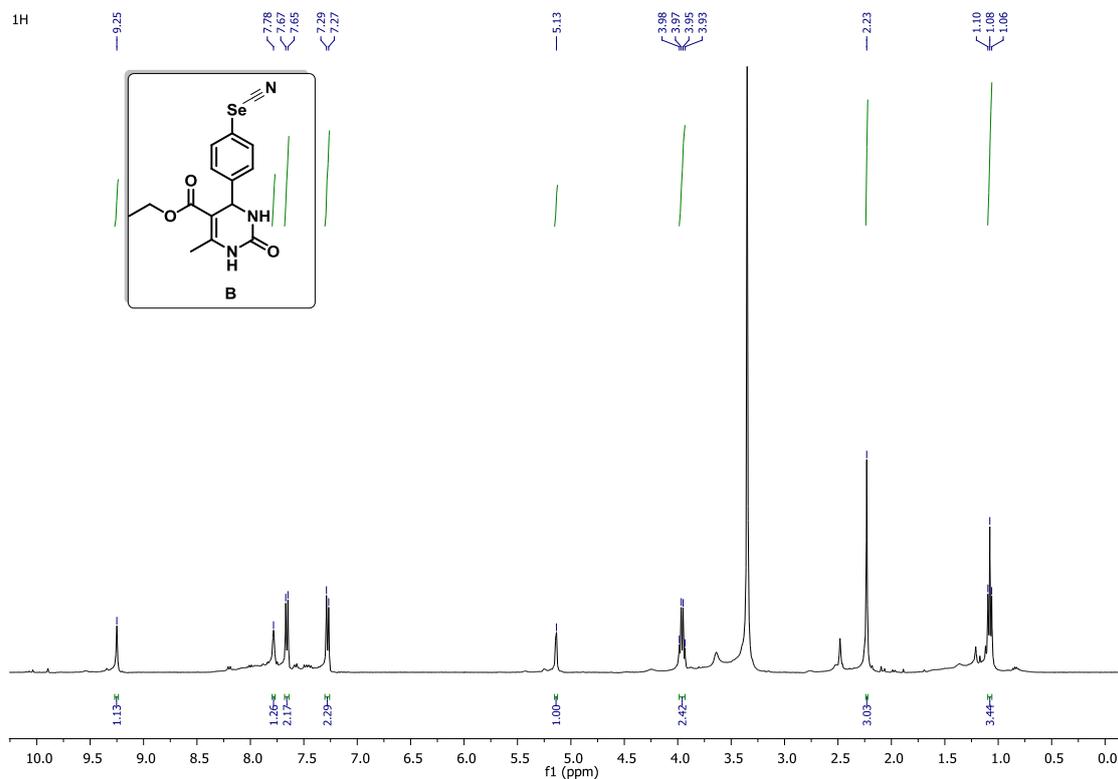
### APÊNDICE 6: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto **D** em $\text{DMSO-d}^6$ em 200



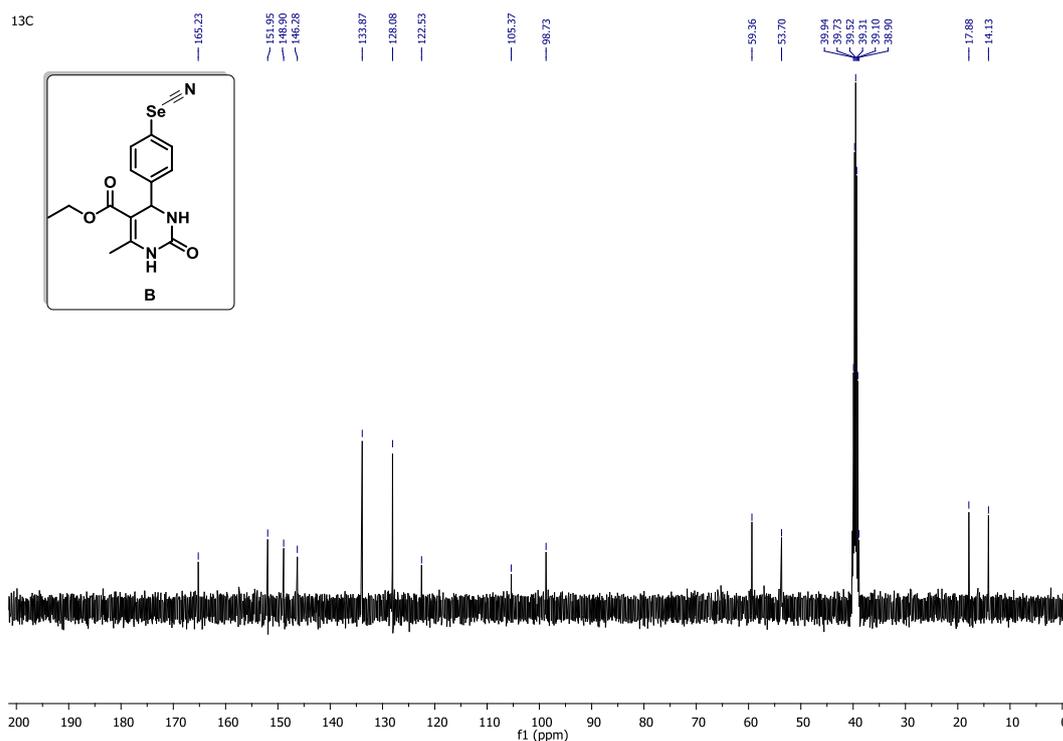
### APÊNDICE 7: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto **D** em $\text{DMSO-d}^6$ em 200 MHz.

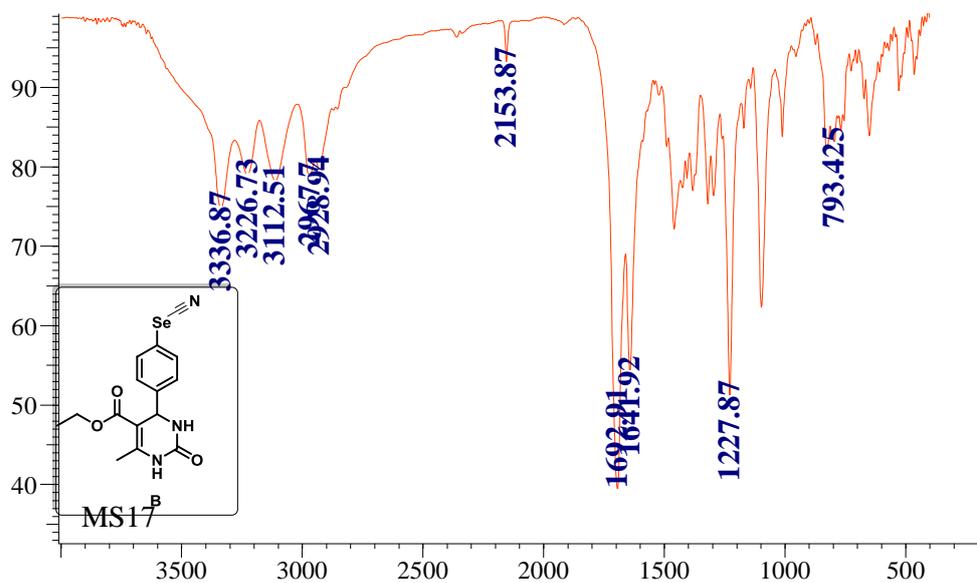
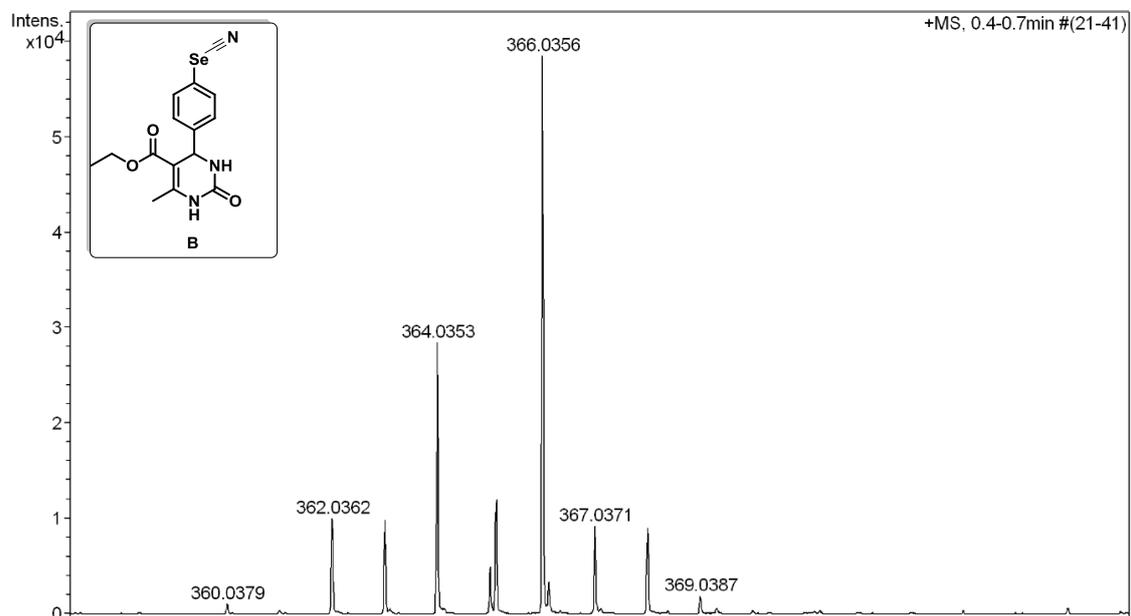


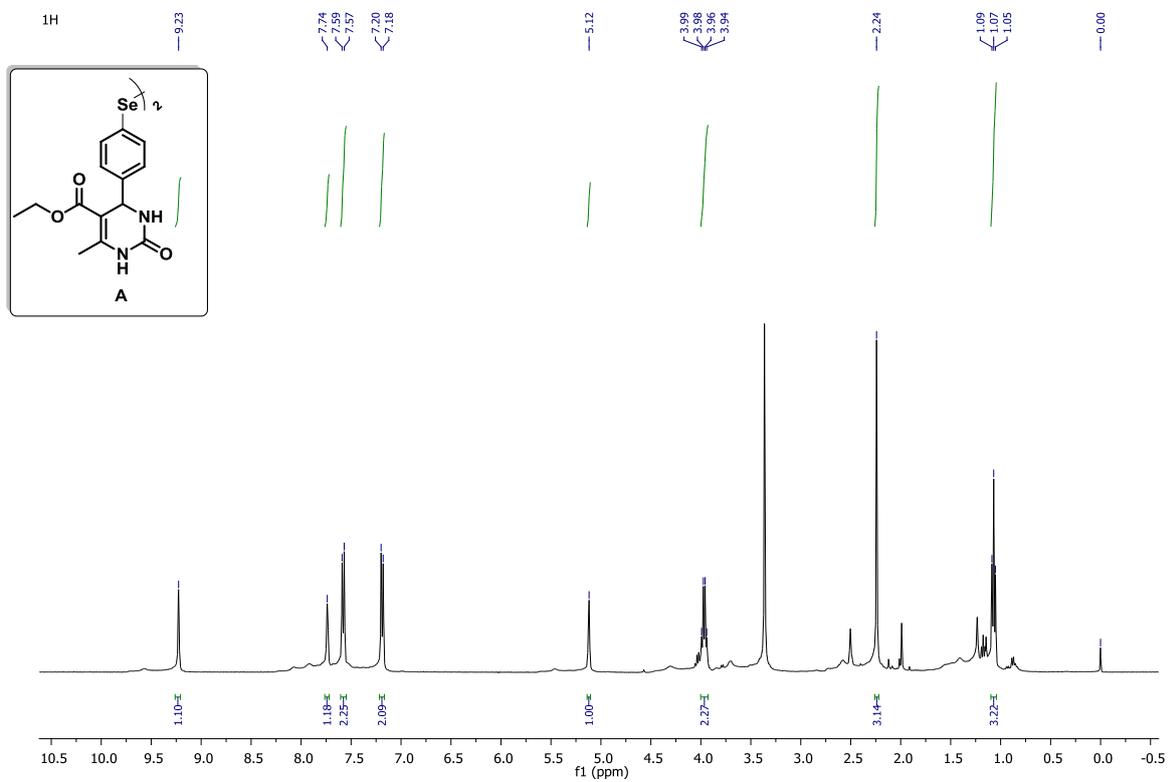
**APÊNDICE 8:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **B** em  $\text{DMSO-d}^6$  em 400 MHz.



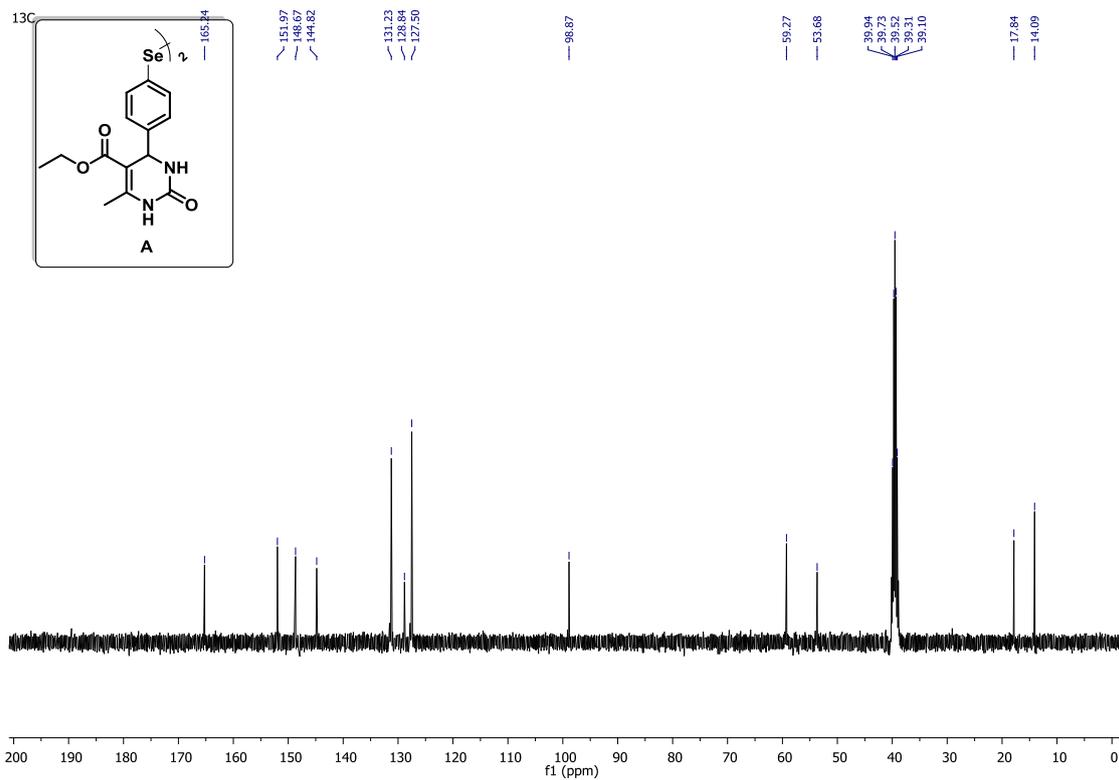
**APÊNDICE 9:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **B** em  $\text{DMSO-d}^6$  em 400 MHz.



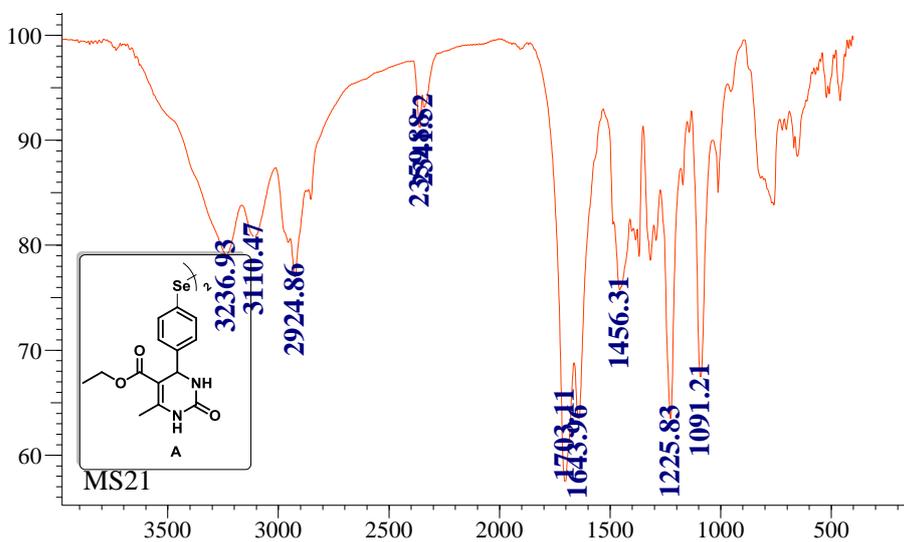
**APÊNDICE 10:** Espectro de IV em pastilha de KBr do composto **B**.**APÊNDICE 11:** Espectro de massa de alta resolução do composto **B** com fonte de ionização em APPI.

APÊNDICE 12: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **A** em  $\text{DMSO-d}^6$  em 400 MHz.

**APÊNDICE 13:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **A** em  $\text{DMSO-d}^6$  em 400 MHz.



**APÊNDICE 14:** Espectro de IV em pastilha de KBr do composto **A**.



**APÊNDICE 15:** Espectro de massa de alta resolução do composto **A** com fonte de ionização em APPI.

