

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA

TESE DE DOUTORADO

***ESTUDOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA MULTINUCLEAR E DE
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DE
QUINAZOLINAS POLISSUBSTITUÍDAS***

Silvana Aparecida Rocco

Aluna de Doutorado

Roberto Rittner

Orientador

Agosto de 2002

*

UNIDADE	80
Nº CHAMADA	
T/UNICAMP	
R581e	
V	EX
TOMBO BC/	53360
PROC.	124103
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	24/04/03
Nº CPD	

CM00181088-8

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

BIBID - 290750

R581e

Rocco, Silvana Aparecida

Estudos de ressonância magnética multinuclear e de propriedades físico-químicas e biológicas de quinazolinias polissubstituídas / Silvana Aparecida Rocco. -- Campinas, SP: [s.n], 2002.

Orientador: Roberto Rittner Neto.

Tese (doutorado) – Universidade
Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Quinazolinias. 2. Síntese de 6,7 dimetóxi-quinazolinias. 3. RMN de ^1H e ^{13}C . 4. Coeficientes de partição. I. Rittner Neto, Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

Oração ao Tempo (Caetano Veloso)

És um senhor tão bonito
Quanto a cara do meu filho
Tempo Tempo Tempo Tempo
Vou te fazer um pedido
Tempo Tempo Tempo Tempo

Compositor de destinos
Tambor de todos os ritmos
Tempo Tempo Tempo Tempo
Entro num acordo contigo
Tempo Tempo Tempo Tempo

Por seres tão inventivo
E pareceres contínuo
Tempo Tempo Tempo Tempo
És um dos deuses mais lindos
Tempo Tempo Tempo Tempo

Que sejas ainda mais vivo
No som do meu estribilho
Tempo Tempo Tempo Tempo
Ouve bem o que te digo
Tempo Tempo Tempo Tempo

Peço-te o prazer legítimo
E o movimento preciso
Tempo Tempo Tempo Tempo
Quando o tempo for propício
Tempo Tempo Tempo Tempo

De modo que o meu espírito
Ganhe um brilho definido
Tempo Tempo Tempo Tempo
E eu espalhe benefícios
Tempo Tempo Tempo Tempo

O que usaremos pra isso
Fica guardado em sigilo
Tempo Tempo Tempo Tempo
Apenas contigo e migo
Tempo Tempo Tempo Tempo

E quando eu tiver saído
Para fora do teu círculo
Tempo Tempo Tempo Tempo
Não serei nem terás sido
Tempo Tempo Tempo Tempo

Ainda assim acredito
Ser possível reunirmo-nos
Tempo Tempo Tempo Tempo
Num outro nível de vínculo
Tempo Tempo Tempo Tempo

*À minha família
Eu dedico esta Tese*

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a **Deus** por ter me dado saúde, força e alegria para enfrentar mais esta caminhada.

Aos meus lindos e amados PAI e MÃE.

Ao Professor Dr. Roberto Rittner pela orientação tanto no mestrado quanto no doutorado e por acreditar em minha capacidade científica.

Ao André, com amor e carinho.

Ao amigos Paiva e Ítalo pela amizade e, principalmente, por toda a ajuda na finalização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do laboratório I-200.

Ao Rinaldo, Denise e Beatriz por todo o carinho.

Às minhas tias Albertina, Eva e Fátima por todo o carinho e força.

A todos os amigos do Paraná que sempre torceram por mim.

Aos amigos, carinhosamente, Buba, Ivânia, Celina, Mateus Gulart, Matheus (Nenê), Camilo, Douglas, Sandrinha e Edgar, Paulinho e Solange, Chico, Natália, Rosana Giacomini, Ângelo e Andréa, Inês e Ronei, Airton (Skin) e Betina, Raquel, Rita Pompei, Melissa, Silvia, Valéria, Lucília, Marcelo Valle, Rosana Minussi, Ronaldo, Fernando, Náder, Simone Franco, Renato Sanches, Livia, Martha, Zuza, José Eduardo Barbarini, Plínio, Elias, Régine, Tânia, Ezequias, Silvana Fontolan, Rosângela, Prof. Dr. Nelson Duran e aos amigos do laboratório dele.

Aos queridos amigos Ivone, Renato, Kelly e Jéssica por todo o carinho dedicado a mim e à minha família.

Ao Dr. Michael H. Abraham pela oportunidade maravilhosa do estágio na Inglaterra e pela acolhida. Ao pessoal da GlaxoSmithKline pelos dados de Coeficientes de Partição, em especial à Dra. Klara Valkó, Dr. Chris Bevan, Dra. Pat McDonough e Dr. Alan Hill. Aos amigos que deixei lá, principalmente, ao Rui, Sonia, Daniel, Andreas, Kei, Yuan, Joele Golla, Joele Le, Tshiamo, Juliete e etc.

Ao Dr. Kléber Franchini e ao pessoal do laboratório pela realização dos experimentos de Atividade Biológica.

Aos colegas, funcionários do Instituto de Química e a todos aqueles que me acolheram com carinho e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

À Sônia Fanelli, Sônia, Prof. Dr. Fred Fujiwara, Profa. Dra. Anita Marsaioli e ao Prof. Dr. Ronaldo Pilli por toda ajuda nos experimentos de RMN e por tudo o que me ensinaram sobre RMN.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa e pelos recursos concedidos.

Resumo

Estudos de Ressonância Magnética Multinuclear e de Propriedades Físico-Químicas e Biológicas de Quinazolinias Polissubstituídas

Palavras-chave: quinazolinias, síntese, RMN de ^1H e ^{13}C , coeficientes de partição, função cardiovascular.

Este trabalho apresenta os resultados de síntese e dos estudos de RMN de ^1H e ^{13}C , de coeficientes de partição ($\log P$) e de atividade biológica de derivados de 6,7-dimetoxiquinazolinias. Os métodos gerais para a síntese de quinazolinias já se encontram descritos na literatura, mas foi necessário avaliar a melhor seqüência para a obtenção dos compostos propostos neste trabalho. A primeira etapa envolve a preparação de uma quinazolin-4-ona **2a** através da ciclização *in situ* do ácido 2-amino-4,5-dimetoxibenzóico. A reação de **2a** com SOCl_2/DMF forneceu o 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) e, finalmente, a reação do derivado 4-cloro (**3a**) com anilinas 3- e 4-substituídas ($\text{R} = \text{H}, \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}, \text{OCH}_3, \text{CH}_3, \text{C}(\text{O})\text{CH}_3, \text{N}(\text{CH}_3)_2$ e NO_2) forneceu as 6,7-dimetoxi-4-anilinoquinazolinias alvos. A caracterização dos compostos sintetizados foi feita através de seu ponto de fusão, IV, análise elementar, espectrometria de massas e de RMN. A atribuição correta dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C foi feita através do uso de técnicas em 2D como HSQC, gHMBC e gCOSY. Os valores de $\log P$ foram determinados através de dois métodos cromatográficos (Índice Cromatográfico de Hidrofobicidade e "Micro-Shake-Flask") e através de vários métodos de cálculo, como *clogP*. Os valores de $\log P$ medidos foram, em muitos casos, 2 unidades menores do que os estimados e sugerem alto caráter lipofílico para as quinazolinias estudadas. Embora, estes compostos representem uma importante classe de inibidores de tirosina quinases, envolvidas no desenvolvimento de muitas doenças proliferativas (por exemplo o câncer), os resultados preliminares dos ensaios biológicos sugerem uma significativa atividade sobre a função contrátil do coração.

Abstract**Multinuclear Magnetic Resonance Studies And Biological And Physico-Chemical Properties of Polysubstituted Quinazolines.**

Keywords: quinazolines, synthesis, ^1H and ^{13}C NMR, partition coefficients, cardiovascular function.

This work presents results dealing with the synthesis, the ^1H and ^{13}C NMR and partition coefficient (logP) studies as well as the evaluation of biological activity of some 6,7-dimethoxyquinazoline derivatives. Synthetic methods for quinazolines have already been described in the literature. However, an evaluation of the best experimental procedure was necessary during the course of this work. The first synthetic step deals with the preparation of quinazolin-4-one **2a** through *in situ* cyclization of 2-amino-4,5-dimethoxybenzoic acid. 6,7-dimethoxy-4-chloroquinazoline (**3a**) was obtained by reacting **2a** with SOCl_2/DMF . Finally, reaction of the chloro derivative **3a** with 3- and 4-substituted anilines (R= H, F, Cl, Br, I, OCH_3 , CH_3 , $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ e NO_2) furnished the desired 6,7-dimethoxy-4-anilinoquinazolines. The compounds were characterized by their melting point, elemental analysis, IR, mass and NMR spectra. The correct ^1H and ^{13}C NMR assignment were done through the use of some 2D techniques such as HSQC, gHMBC and gCOSY. The logP values were determined through two chromatographic methods [Chromatographic Hydrophobicity Index (CHI) and micro-shake-flask] and several calculation methods such as *clogP*. Measured logP values were 2 log units lower than the estimated ones and they suggest a high lipophilic character for the studied quinazolines. Although these compounds represent an important tyrosine-kinase inhibitor class involved in the development of some proliferative diseases such as cancer, the biological assay preliminary results indicate a significative activity on the heart contractile function.

CURRICULUM VITAE

Silvana Aparecida Rocco

Data de nascimento: 02 /12/1971, Apucarana - PR

Endereço: Rua Capitão José de Souza, 56, apto 12, Centro, Campinas, CEP- 13020-470, SP.

2- Formação

2.1- Bacharelado em Química

- Duração: de 1992 a 1995
- Universidade: Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná
- Iniciação científica: novembro de 1992 a dezembro de 1995
- Bolsa: Capes

2.2-Mestrado em Química Orgânica

- Duração: de 1996 a 1998
- Universidade: Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP
- Dissertação: Estudos de Ressonância Magnética Multinuclear de Quinazolin

4-Substituídas

- Orientador: Professor Dr. Roberto Rittner
- Bolsa: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo)

2.3- Doutorado em Química Orgânica

- A partir de 1998
- Universidade: Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas – SP
- Tese: Estudos de Ressonância Magnética Multinuclear e de Propriedades Físico-Químicas e Biológicas de Quinazolin Polissubstituídas
- Orientador: Professor Dr. Roberto Rittner
- Bolsa: FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo)

3- Idiomas: Inglês (fluente)

4- Sociedade científica

4.1- **AUREMN**: Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear

4.2- **ABQ**: Associação Brasileira de Química

5- Publicações

5.1- **Rocco, S. A**; Silva, J. S.; Campos, M. G.; Barbarini, J. E.; Rittner, R.; A ^1H and ^{13}C NMR Study of 2-methyl-4-N-phenylaminoquinazoline Precursors, *Anais do VI Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, **1997**, 221-226.

5.2- **Rocco, S. A**.; Barbarini, J. E.; Schuquel, I. T. A.; Rittner, R.; A ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR Study of some Quinazolines, *Anais do VII Encontro de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, **1999**, 67-70.

5.3- Garcia, J. C., Barbarini, J. E.; Rittner, R.; **Rocco, S. A**.; The Anomalous Substituent Effect of the Ethyl Group in the ^{13}C NMR and IR Data of Some Aliphatic Nitriles, *Anais do VII Encontro de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, **1999**, 103-106.

6- Participação em Congressos

6.1- **Rocco, S. A**; Silva, J. S.; Campos, M. G.; Barbarini, J. E.; Rittner, R.; A ^1H and ^{13}C NMR Study of 2-methyl-4-N-phenylaminoquinazoline Precursors, *VI Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, Angra dos Reis – RJ, **1997**, 44.

6.2- **Rocco, S. A**; Silva, J. S.; Campos, M. G.; Barbarini, J. E.; Rittner, R.; ^1H and ^{13}C NMR of 4-[3-bromophenyl)amino]-6,7-dimethoxy-2-methylquinazoline derivatives, *V Jornada Brasileira de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, Campinas - SP, **1998**, 23.

- 6.3- **Rocco, S. A.**; Barbarini, J. E.; Schuquel, I. T. A.; Rittner, R.; A ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR Study of some Quinazolines, *VII Encontro de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, Angra dos Reis – RJ, **1999**, 131.
- 6.4- Garcia, J. C., Barbarini, J. E.; Rittner, R.; **Rocco, S. A.**; The Anomalous Substituent Effect of the Ethyl Group in the ^{13}C NMR and IR Data of Some Aliphatic Nitriles, *Anais do VII Encontro de Ressonância Magnética Nuclear (AUREMN)*, **1999**, 187.
- 6.5- Rittner, R.; Barbarini, J. E.; Höehr, N. F.; **Rocco, S. A.**; Phenylaminoquinazolines: Synthesis, Physico-Chemical and Biological Properties; *2nd International Conference on Biological Challenges for Organic Chemistry*, University of St. Andrews – Escócia, **1999**, P.6
- 6.6- **Rocco, S. A.**; Barbarini, J. E.; Rittner, R.; Síntese de 6,7-dimetóxi-4-*N*-[3'-ou-4'-(R)]fenilaminoquianzolinás: Quimioterápicos potenciais; *XL Congresso Brasileiro de Química*, Recife – Pernambuco, **2000**, 155.
- 6.7- **Rocco, S. A.**; Barbarini, J. E.; Valkó, K.; Abraham, M. H.; Rittner, R.; ^1H and ^{13}C NMR Studies and Lipophilicity Determination of 4-(*N*-3-substituted-phenylamino)-6,7-dimethoxyquinazolines and their Intermediates; *VIII Encontro de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear e I Encontro Luso-Brasileiro de Ressonância Magnética Nuclear*, Mangaratiba – RJ, **2001**, 205.

7-Estágio no Exterior

Estágio realizado (período de 13/11/00 a 08/02/01) na "University College London" (Londres), no laboratório Físico-Química do Dr. Michael H Abraham e na "GlaxoSmithKline Medicines Research Centre" (Stevenage, Herts SG1 2NY, UK). Neste estágio, foi feito um treinamento para as determinações dos valores, experimentais e calculados, de coeficientes de partição (logP) de derivados de quinazolinas.

8-Formação Profissional

No período de 1999 a 2002, adquiriu experiência em operar os equipamentos de Ressonância Magnética Nuclear (Gemini-300 e INOVA-500 MHz) do instituto de

química da UNICAMP, aprimorando-se na utilização de métodos modernos de RMN, determinando os espectros dos compostos envolvidos na tese de doutoramento e os de vários alunos do grupo.

9-Cursos

9.1- One and Two Dimensional NMR Techniques and their Application – 19 a 21 de maio de 1997. Ministrado pelo Dr. Helmut Duddeck da Universidade de Hannover – Alemanha no NPPN/UFRJ – RJ.

9.2-RMN em 2D e 3D” – 11 e 12 de agosto de 1998. Ministrado pela Profa. Anita J. Marsaioli e pelo Prof. Fred Y. Fujiwara – IQ/UNICAMP – Campinas – SP.

9.3-Ressonância Magnética Nuclear (Módulos I, II e III) – 22 de fevereiro a 05 de março de 1999 - IME – Rio de Janeiro.

Professores ministrantes do curso: Peter Seidl (Módulo I), José Daniel Figueroa Villar (Módulo II) e Carlos Roberto Pacheco (Módulo III).

1.1-Introdução

O estudo de substâncias com potencial atividade biológica apresenta não só um grande interesse acadêmico, mas também social e econômico. Eventuais agentes terapêuticos podem ser identificados a partir de triagem de extratos de produtos naturais ou de materiais advindos de estratégias sintéticas. Uma vez identificado um composto líder, um detalhado estudo de relação estrutura-atividade deve ser realizado, visando a maximização da atividade e a minimização dos eventuais efeitos colaterais adversos.

O planejamento e o desenvolvimento de novos medicamentos depende de vários fatores, tais como a área de experiência dos pesquisadores (entre eles, químicos, médicos, farmacêuticos, biólogos, biofísicos, cristalógrafos, especialistas em RMN, etc.) [1], a metodologia sintética, as técnicas de ensaios utilizadas na avaliação biológica, o tipo de fármaco, o conhecimento das propriedades físico-químicas, que contribuem significativamente para um entendimento melhor do comportamento das substâncias em relação às suas propriedades biológicas, etc. Além disso, torna-se importante o planejamento de um processo que seja viável, ou seja, com custo baixo, de fácil manuseio, de maneira a ser reproduzido no laboratório com o maior rendimento possível, para posteriormente ser reproduzido em plantas piloto [2].

A classe das 4-anilinoquinazolininas representa um exemplo de compostos com atividades biológicas importantes. Diversos estudos têm demonstrado que estes compostos atuam como inibidores da atividade das tirosinas quinases do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) [3-7]. A atividade acentuada dessas enzimas tem sido correlacionada à proliferação celular desordenada com a formação de tumores malignos. Portanto, o conhecimento do processo de inibição da atividade dessas enzimas através do uso de compostos, que apresentem potência e especificidade, pode resultar na descoberta de novos quimioterápicos e na formulação de uma terapia eficiente para o tratamento do câncer [3-7]. Entretanto, os estudos com derivados de quinazolininas não têm se limitado apenas à investigação do câncer. Outros exemplos de quinazolininas biologicamente ativas têm sido apontados como potenciais fármacos para o tratamento de diabetes [8-10], doenças da pele [8] e cardiovasculares [11-13].

Estes dados apresentados pela literatura nos motivaram à elaboração de um plano de trabalho de caráter essencialmente acadêmico (não de competição com laboratórios multinacionais), que englobou os diversos aspectos envolvidos na pesquisa de novos fármacos, dentro dos limites das condições existentes na universidade e do tempo hábil de um projeto de doutorado. Assim, esse estudo visou fundamentalmente a formação de recursos humanos, no caso um doutor em química, nessa área importante do conhecimento.

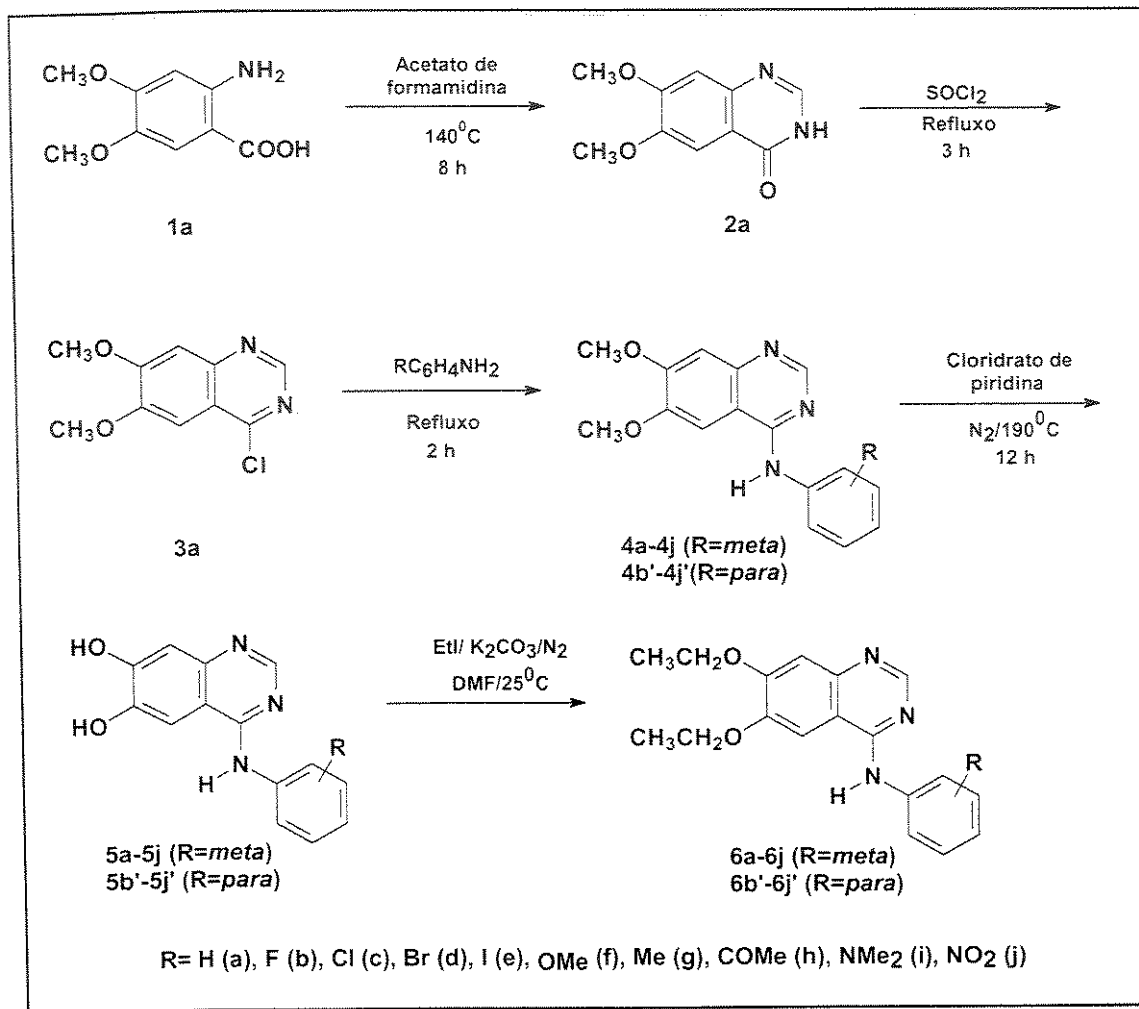
1.2- Objetivos

O presente trabalho tem por objetivos sintetizar algumas 6,7-dimetóxi-4-*N*-(fenil)aminoquinazolinas 3'- e 4'-substituídas e realizar estudos de ressonância magnética multinuclear, de coeficientes de partição e de atividade biológica.

Especificamente a proposta é:

- 1- Avaliar as etapas sintéticas para a obtenção dos intermediários e dos compostos alvo deste trabalho (Esquema 1);
- 2- Realizar uma completa caracterização das estruturas de todos os compostos sintetizados, através do uso de RMN de ^1H e de ^{13}C , infravermelho, análise elementar e espectrometria de massas;
- 3- Além disso, com a falta de estudos espectroscópicos sistemáticos sobre estas quinazolinas e seus intermediários, principalmente de RMN de ^{13}C , torna-se importante a realização de uma atribuição completa dos sinais. Para tanto, pretende-se utilizar técnicas em 2D como gCOSY, HSQC e gHMBC;
- 4- Após a obtenção, purificação e caracterização espectroscópica de todos os compostos, realizar ensaios biológicos para avaliar a função cardíaca. A partir destes, pretende-se verificar a correspondência entre as variações estruturais e as variações na atividade biológica;
- 5- Determinar experimentalmente, através do método tradicional ("shake-flask") e de métodos cromatográficos (HPLC), os coeficientes de partição no sistema *n*-

octanol/água e confrontar com os valores que serão obtidos através de cálculos empíricos.



Esquema 1- Síntese de derivados de 6,7-dietóxi-4-N-(fenil)aminoquinazolinas 3- e 4'-substituídas (**6a-6j** e **6b'-6j'**).

2- Revisão Bibliográfica

2.1- O Receptor EGF e as proteínas tirosinas quinases

O fator de crescimento epidérmico (EGF) é um polipeptídeo, constituído por 53 aminoácidos, que estimula o crescimento de células epidérmicas e de várias outras células [7,14,15]. O receptor do EGF é uma glicoproteína da membrana plasmática com 170 KDa, que possui uma região de ligação extracelular que fixa o EGF, uma região transmembrânica e uma intracelular, a qual exibe atividade de tirosina quinase [7,16,17]. A associação do EGF ao receptor resulta em uma ativação da tirosina quinase e conduz a autofosforilação de no mínimo cinco tirosinas localizadas na extremidade com COOH terminal [18,19]. Estes eventos iniciais são seguidos de fosforilação de várias proteínas, conduzindo à inúmeras atividades celulares [20-22].

As proteínas tirosinas quinases (PTKs) são um grupo de enzimas que catalisam a transferência do fosfato terminal (γ -fosfato) do ATP para o grupo OH fenólico de resíduos tirosina específicos [3,4,23]. Essas enzimas, particularmente aquelas associadas aos receptores transmembrânicos, apresentam um papel fundamental no controle do crescimento celular. Portanto, a expressão acentuada da atividade da tirosina quinase do receptor EGF, normal ou mutagênica, pode resultar em perda do controle do crescimento celular e, então, levar a uma proliferação irregular, associada à formação de tumores malignos [3,4,23]. Por outro lado, anticorpos monoclonais, que bloqueiam a função do receptor EGF, causam a regressão de tumores em camundongos portadores de carcinomas epidermóide humano A-431, colorretal SW948 e nasofaríngeo [24,25]. Diversos estudos demonstraram que existem correlações entre a atividade tirosina quinase do receptor EGF e câncer de mama, próstata, pulmão, pescoço, esôfago e etc [3-7].

2.1.1- Classes estruturais que atuam como inibidores da atividade de tirosinas quinases do receptor EGFR

Estudos têm demonstrado que a atividade acentuada das tirosinas quinases está correlacionada à doenças proliferativas. O conhecimento do processo de inibição da

atividade dessas enzimas da família do receptor EGF (EGFR) parece ser o caminho para a quimioterapia do câncer [5,6]. A partir dessa evidência, foi iniciada uma pesquisa intensa no campo da síntese de estruturas capazes de atuar com potência e especificidade sobre essas enzimas (“tyrphostins” – “tyrosine phosphorylation inhibitors”, um nome geral sugerido para os inibidores [6]). Entre essas classes estruturais investigadas se destacam as quinazolininas, piridopirimidinas e pirrolopirimidinas [5,6].

As 4-anilinoquinazolininas foram descobertas há 8 anos para o estudo do câncer e, desde então, foram estabelecidas novas fronteiras no que se refere ao campo dos inibidores de tirosina quinase do EGFR [3,26,27]. A 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-bromofenil)aminoquinazolina (**1**) foi o primeiro composto identificado como inibidor competitivo com o ATP em células A-431 (IC_{50} de 0,025 nM), com elevada potência e alta especificidade sobre a atividade dessas enzimas [3] (Figura 1). Em seguida, surgiram estudos mais detalhados sobre a função biológica de uma série de derivados dessa classe estrutural [28-31]. Em 1996, foi apresentada a 6,7-dietóxi-4-*N*-(3'-bromofenil)aminoquinazolina (**2**) com potência de 6 pM e com especificidade quase total contra a tirosina quinase *in vitro* (Figura 1) [29].

Por causa da solubilidade baixa em meio aquoso dos derivados de 4-anilinoquinazolininas, tais como **1** e **2**, concluiu-se que havia a necessidade de preparar análogos solúveis para realizar os testes biológicos *in vivo* [32]. Então, foi a partir desse estudo que foram sintetizadas as 4-anilinoquinazolininas **3** (ZD 1839 - Iressa) e **4** (CP 358774 – Pfizer) (Figura 1). Estes dois compostos são apresentados como inibidores reversíveis e competitivos com o sítio do ATP. Atualmente, estão sendo testados no tratamento de pacientes com câncer [32,33].

A 4-anilinoquinazolina **3** (ZD 1839 - Iressa) foi descoberta em 1996 e os testes mostraram potências na faixa de 23 nM em células isoladas e 80 nM *in vivo* [5,34]. É um inibidor oralmente ativo e com alta especificidade sobre as tirosinas quinases, sem afetar outras quinases [5,33]. Os experimentos, em ratos tratados por um período de 4 meses, mostraram que o composto possui biodisponibilidade oral excelente e baixa toxicidade [33,35]. Já a quinazolina **4** (CP 358774 – Pfizer) mostrou ser eficiente *in vitro* e *in vivo*, em células cancerosas de pescoço e cabeça (IC_{50} de 2 nM) [36].

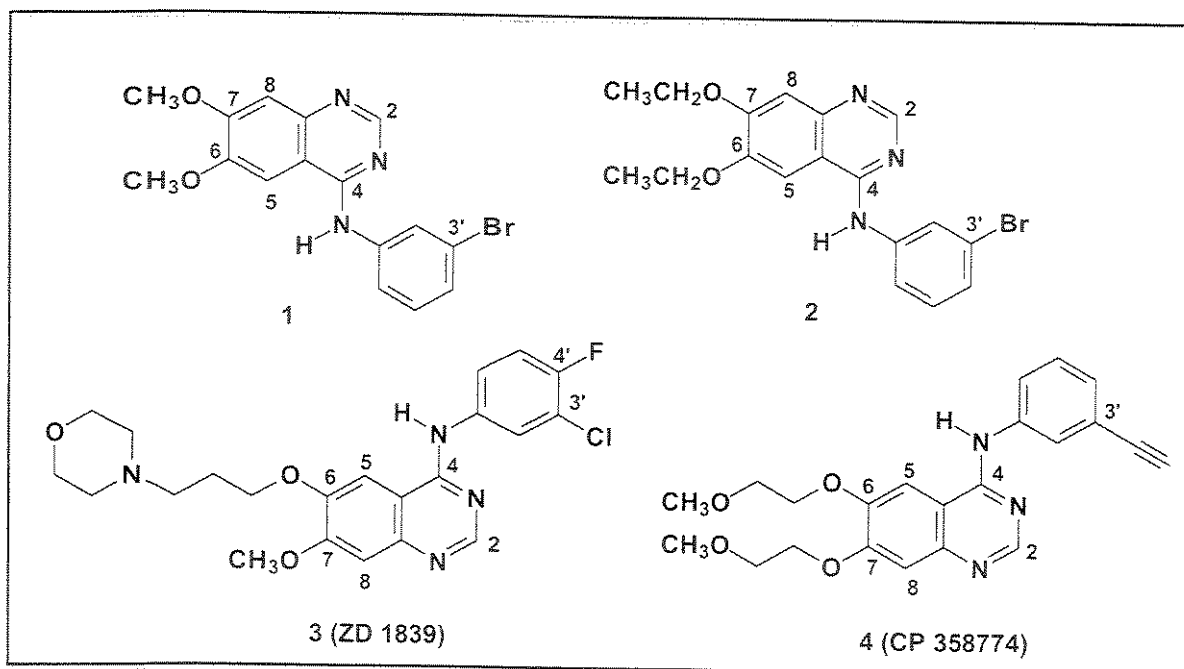


Figura 1- Inibidores reversíveis da família do receptor EGF [5,32].

Na pesquisa de compostos com atividade específica para as tirosinas quinases do EGFR, também são discutidos os inibidores irreversíveis [5]. Estes são provenientes de modificações estruturais dos derivados de quinazolinonas, nos quais aceptores de Michael foram colocados nas posições 6 ou 7 do anel quinazolinônico, como por exemplo nos compostos **5** (PD 168393) [37,38], **6** (CL-387785) [39,40] e **7** (CI1033) [41] (Figura 2). Estes ligam-se covalentemente ao sítio de ligação do ATP na quinase do EGFR. Dos compostos apresentados, destaca-se o **7** que possibilita a realização dos experimentos *in vivo*, devido à sua solubilidade em meio aquoso e, além disso, encontra-se em fase de triagem clínica [32,41].

Estes compostos, através do grupo funcional aceptor de Michael, fazem a reação de alquilação da enzima na porção sulfidrila da Cys-773 [32,39,40], conforme mecanismo apresentado no Esquema 2. Além disso, o modelo sugere que o grupo amino da Lys-704, localizada próxima ao grupo sulfidrila, atua como um catalisador básico para a reação de adição de Michael [39,40].

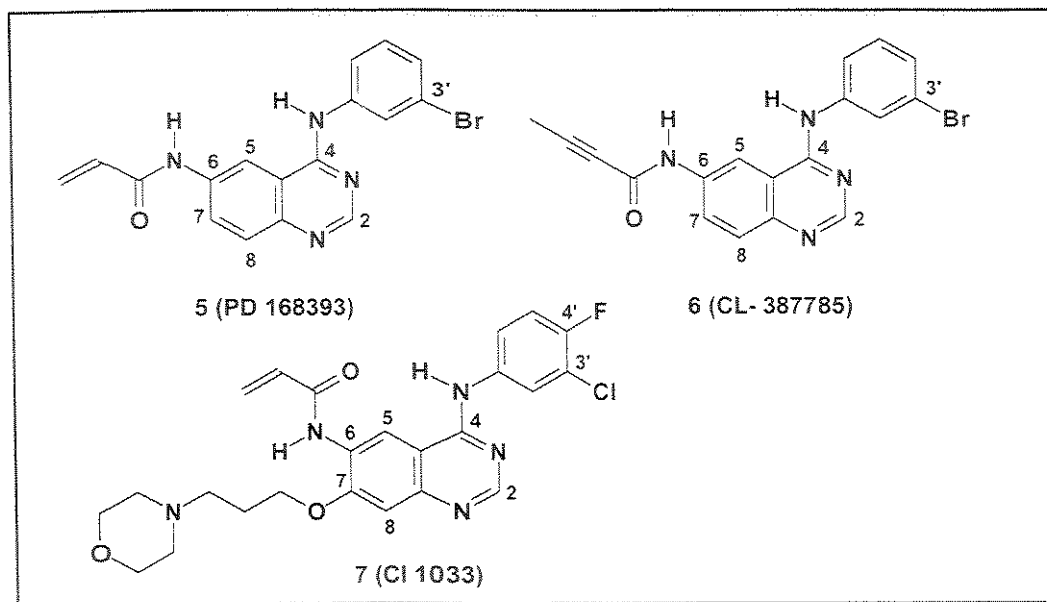
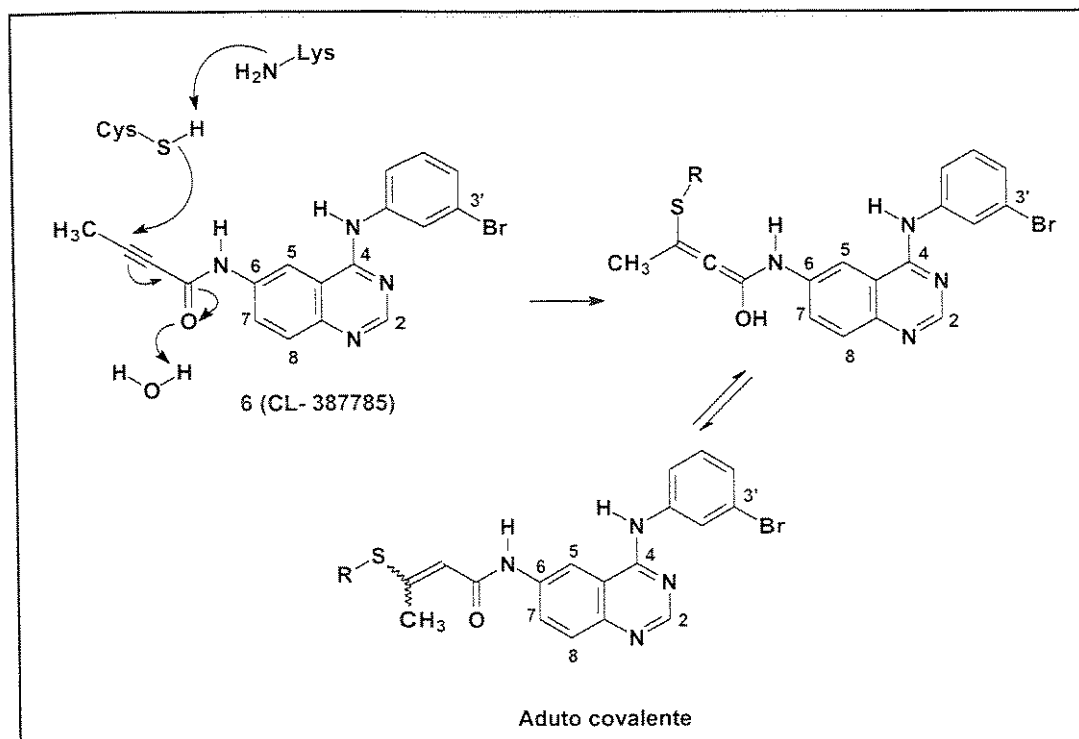


Figura 2- Alguns Inibidores irreversíveis da família do EGFR, derivados de quinazolinas, com aceptores de Michael na posição 6 [32,37-41].



Esquema 2- Mecanismo proposto para a alquilação do sítio ativo no EGFR [39,40].

Alguns derivados de piridopirimidinas e pirrolopirimidinas também foram investigados como inibidores da tirosina quinase do EGFR, entre eles se destacam o pirido[3,4-*d*]pirimidina (**8**) (IC_{50} de 8 pM) [42] e o pirrolo[2,3-*d*]pirimidina (**9**) (IC_{50} de 4 nM) [43] (Figura 3).

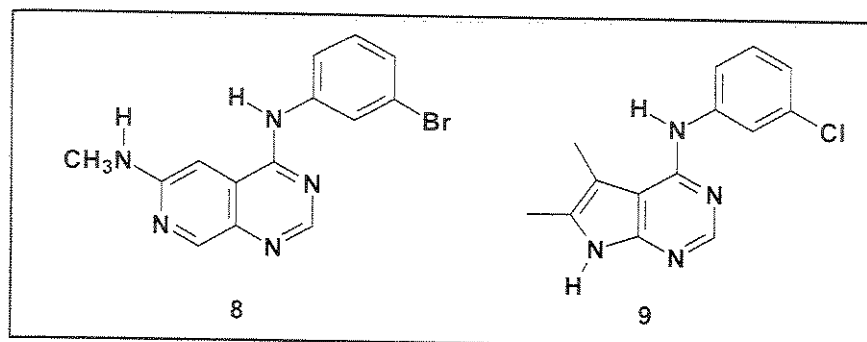


Figura 3- Exemplos de inibidores de outras classes estruturais [32].

É importante ressaltar que o desenvolvimento de derivados de quinazolinas não se limita apenas aos inibidores do EGFR [32]. Um bom exemplo, é o composto **1** (v. Figura 1, p. 8) que entrou em fase de triagem clínica pela Sugen (como SU 5271) para uso no tratamento de doenças da pele, tais como “psoríase” e câncer de pele [8].

2.2- Os Nucleotídeos cíclicos cAMP e cGMP e as fosfodiesterases

Os nucleotídeos cíclicos cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico) (**10**) e cGMP (guanosina 3',5'-monofosfato cíclico) (**11**) são conhecidos como os mensageiros secundários de receptores acoplados às proteínas quinases A (PKA- proteína quinase cAMP dependente) e G (PKG- proteína quinase cGMP dependente) e regulam muitas funções em vários tecidos, tais como as do músculo cardíaco (vasoconstrição e vasodilatação) [44, 45] (Figura 4). As concentrações de cAMP (**10**) e cGMP (**11**) no interior das células são controladas através da ativação das enzimas adenilato e guanilato ciclases em resposta às sinalizações extracelulares e inativados por hidrólise a 5'-AMP e 5'-GMP através da ação de uma família de enzimas conhecidas como fosfodiesterases (PDEs) [44-46].

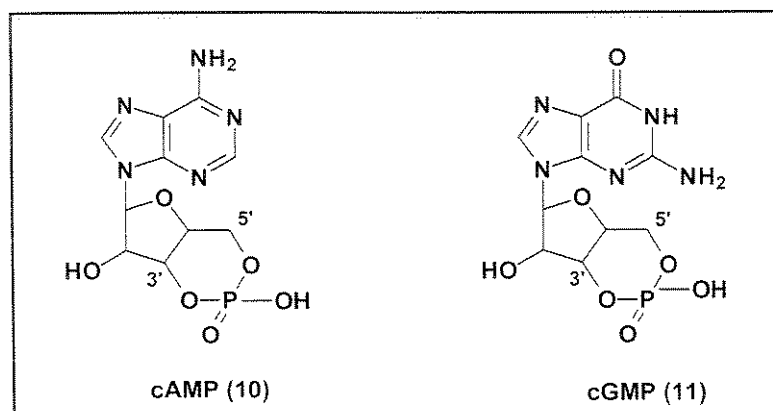


Figura 4- Estruturas dos nucleotídeos cíclicos cAMP (**10**) e cGMP (**11**) [44,46].

O AMP cíclico (**10**) é sintetizado a partir do ATP (adenosina trifosfato) sob a ação da enzima adenilato ciclase ($\text{ATP} \rightarrow \text{cAMP} + \text{PPi}$). Muitas drogas, hormônios e neurotransmissores diferentes produzem seus efeitos ao aumentar ou reduzir a atividade catalítica da adenilato ciclase, elevando ou diminuindo a concentração de cAMP (**10**) no interior da célula. Este nucleotídeo cíclico regula enzimas que participam no metabolismo energético, divisão e diferenciação celulares, transporte de íons, canais iônicos e proteínas contráteis no músculo liso [44,47].

O GMP cíclico (**11**) é sintetizado a partir do GTP (guanosina trifosfato) sob a ação da enzima guanilato ciclase ($\text{GTP} \rightarrow \text{cGMP} + \text{PPi}$). Esta enzima é ativada por

substâncias tais como o fator natriurético atrial (ANF) (receptores que ocorrem nas células do músculo liso dos vasos sanguíneos) e óxido nítrico (NO) (encontrado no músculo liso do coração e vasos sanguíneos) [44-48]. A função do cGMP (**11**) no músculo cardíaco é sinalizar o relaxamento através da PKG e da retirada de Ca^{2+} intracelular [47].

As fosfodiesterases (PDEs) são enzimas que catalisam a hidrólise de nucleotídeos cíclicos, cAMP (**10**) e cGMP (**11**) (Figura 4), para seus respectivos monofosfatos 5'-nucleosídeos (5'-AMP e 5'-GMP) através da clivagem da ligação fosfodiéster entre os átomos de fósforo e oxigênio da posição 3' dos nucleotídeos [44-47]. As PDEs são classificadas em várias famílias de isoenzimas, de acordo com a sequência de aminoácidos, propriedade bioquímica e sensibilidade a vários agentes farmacológicos [47].

Algumas PDEs são altamente específicas na hidrólise do cAMP (PDE4, PDE7 e PDE8), outras são específicas para o cGMP (PDE5, PDE6 e PDE9) e algumas apresentam especificidade para ambos cAMP e cGMP (PDE1, PDE2, PDE3 e PDE10) [47]. No entanto, entre as 10 famílias de PDEs, a fosfodiesterase do tipo 5 (PDE5), que é altamente específica para cGMP, tem sido objeto de muita atenção por parte dos pesquisadores [47,49]. Como o nucleotídeo cíclico cGMP controla funções vasculares, um inibidor de PDE5, que eleva o nível de cGMP no interior das células, é considerado um fármaco potencial para o tratamento de doenças cardiovasculares, como por exemplo, hipertensão, angina, insuficiência cardíaca e impotência [46-49].

Para este fim, várias classes estruturais têm sido investigadas quanto à potência e especificidade na inibição da PDE5 [46, 47]. Dentre estes inibidores, o Sildenafil (**12**, Viagra), que é utilizado no tratamento de impotência, é reconhecido como o mais potente inibidor de PDE5 ($\text{IC}_{50} \sim 4 \text{ nM}$) [47]. O zaprinast (**13**) é o inibidor clássico e apresenta uma moderada seletividade para esta enzima ($\text{IC}_{50} = 800 \text{ nM}$) [13, 47]. No entanto, inibidores potentes e seletivos tais como DMPPO (**14**) [13,47] e derivados de quinazolininas (**15-17**) [11-13,46] têm sido relatados como fármacos potenciais para o tratamento de doenças cardiovasculares (Figura 5).

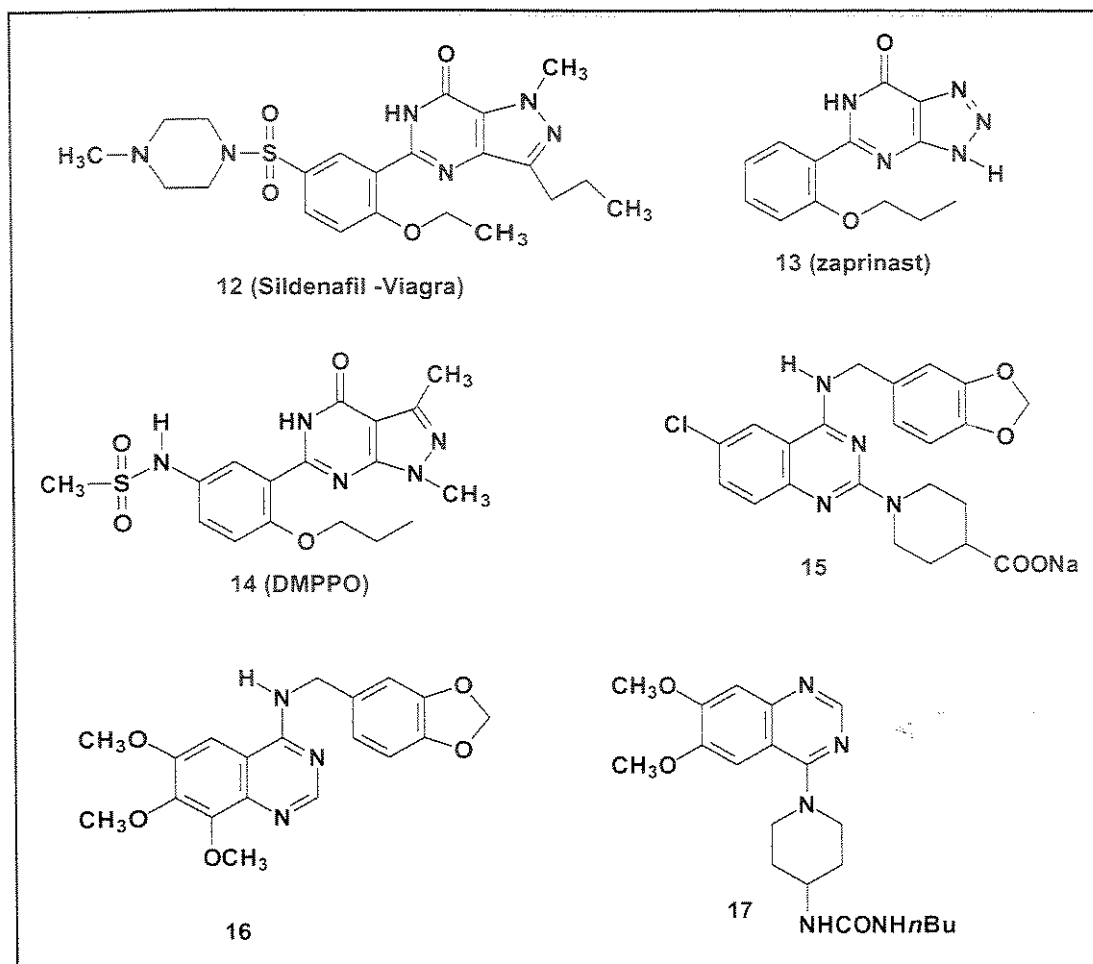
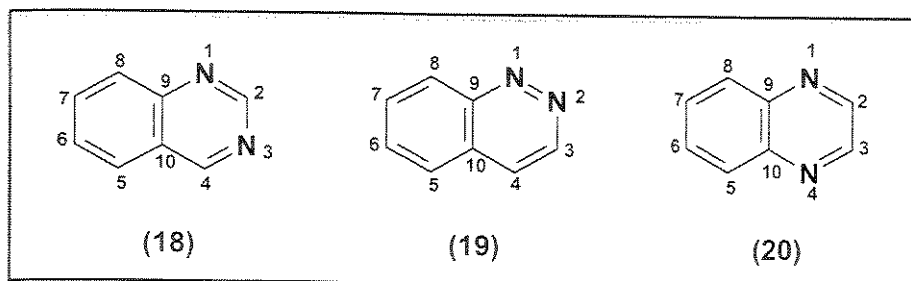


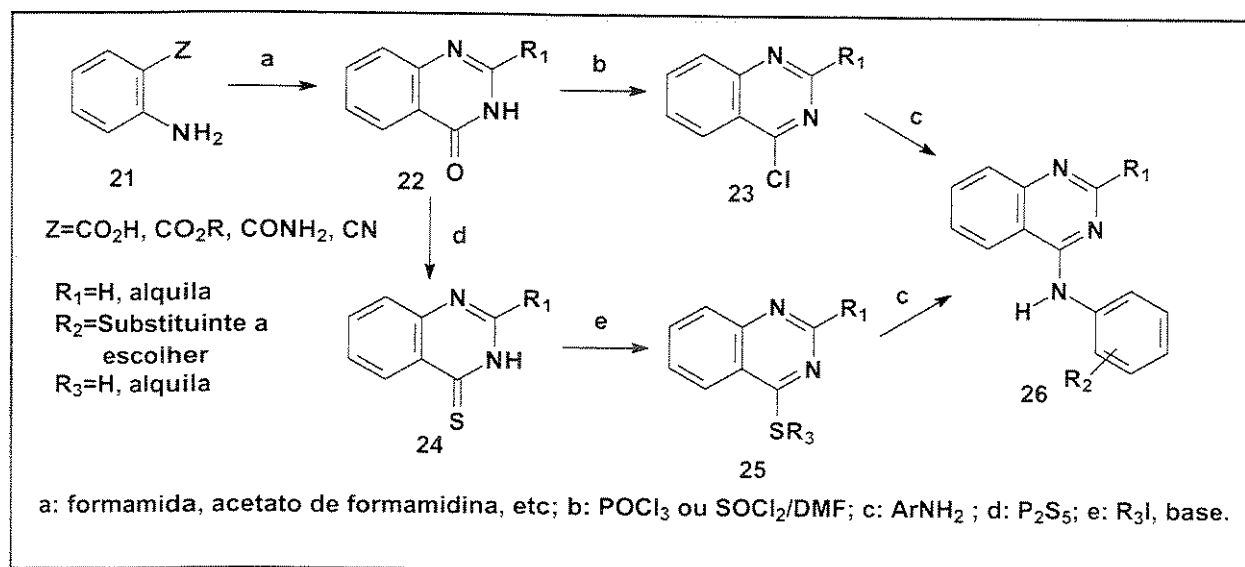
Figura 5- Inibidores de fosfodiesterase do tipo 5 (PDE5) [11-13,46,47].

2.3- Síntese de quinazolininas

A quinazolina (**18**) é uma 1,3-benzodiazina com a mesma estrutura que as bases pirimidínicas (uracila, timina e citosina) presentes nos ácidos nucleicos. O nome quinazolina (Alemão: Chinazoline) [50] foi proposto devido a estes compostos serem isômeros [51] com as cinolinas (**19**) e quinoxalinas (**20**).



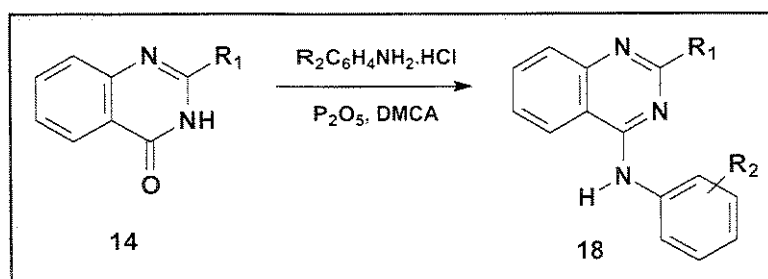
Uma revisão geral sobre os métodos de síntese de quinazolininas pode ser encontrada em livros textos [51] e numa recente dissertação [2]. Uma outra revisão [50] enfatiza que o material de partida mais empregado tem sido o ácido antranílico (**21**), conforme metodologia geral apresentada no Esquema 3.



Esquema 3- Etapas para a preparação de 4-anilinoquinazolininas (**26**) [32].

Nesse procedimento, o primeiro passo envolve a adição de uma unidade de carbono a um derivado do ácido antranílico (**21**), que conduz à ciclização *in situ* para a quinazolinona **22** (Esquema 3) [50]. Esta transformação pode ser realizada utilizando-se reagentes tais como ácido fórmico, formamida e amidinas [32]. A síntese deste precursor, foi descrita em 1895 por Niementowski [51], que reagiu o ácido antranílico com formamida. No entanto, resultados superiores são freqüentemente obtidos com reagentes tais como acetato de formamidina [29,32]. O segundo passo na derivatização, envolve a conversão do intermediário **22** para a 4-cloroquinazolina **23**, através da reação com cloreto de fosforila (POCl_3) ou com cloreto de tionila contendo uma quantidade catalítica de DMF [29,32]. Um procedimento alternativo, que é melhor para quinazolinonas pouco solúveis, envolve a conversão para o análogo tiona **24** seguida de alquilação no enxofre para fornecer um derivado alquiltio **25** [32]. Finalmente, a reação ou do derivado 4-cloro (**23**) ou do 4-alquiltio (**25**) com um derivado da anilina fornece o produto final (**26**) (Esquema 3).

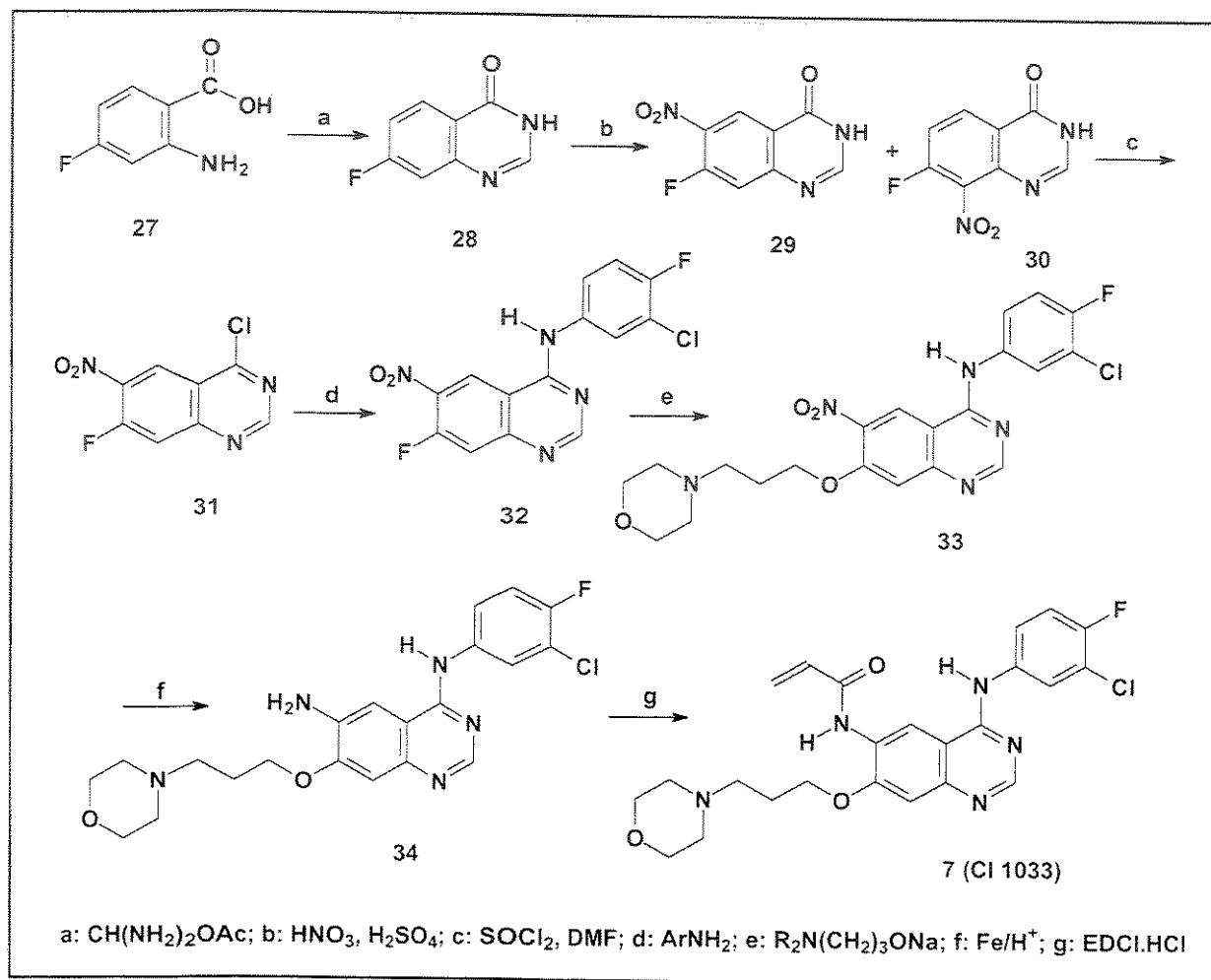
Em 1986, foi descrito um método eficiente de conversão direta da quinazolinona (**22**) para os derivados de 4-anilinoquinazolinonas (**26**), utilizando pentóxido de fósforo, *N,N*-dimetilcicloexilamina (DMCA) e uma amina ou o cloridrato da amina apropriada [52], conforme Esquema 4.



Esquema 4- Conversão direta de **22** para 4-anilinoquinazolinonas (**26**).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de inibidores da atividade de tirosinas quinases da família do EGFR tem recebido muita atenção, tanto que numerosos artigos [4-6,29,32,53] têm sido publicados. A síntese de drogas mais potentes tem sido estimulada desde que três derivados de quinazolinonas foram encaminhados para o processo de triagem clínica no tratamento de pacientes com câncer [32]. Os compostos

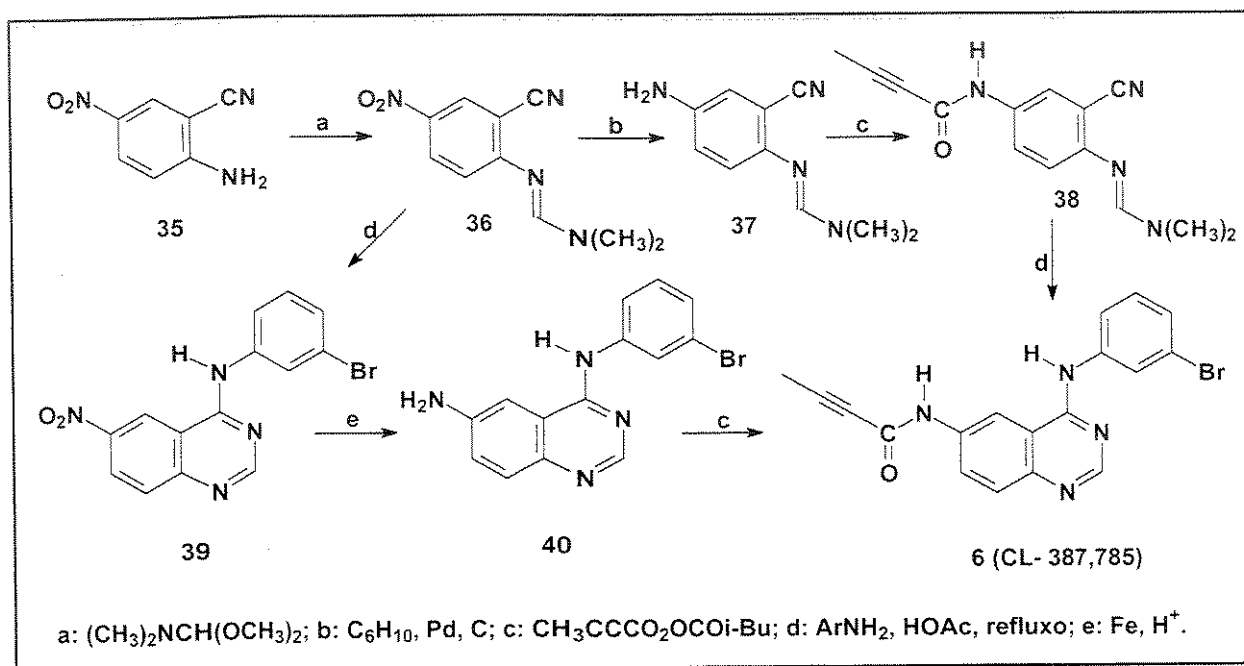
são: ZD 1839 (Iressa) (**3**) [33,35] (Astra-Zeneca), CP358774 (**4**) (Pfizer/OSI) [36] e CI1033 (**7**) (Parke-Davis) [41] (v. Figuras 1 e 2, pp. 8 e 9, respectivamente).



Esquema 5- Etapas utilizadas na obtenção da 4-anilinoquinazolinona **7** (CI 1033) [32].

Diversos caminhos sintéticos e procedimentos químicos utilizados na produção de vários agentes farmacêuticos novos estão compilados em uma recente revisão [32]. A síntese do agente clínico CI1033 (**7**) [38], como apresentada no Esquema 5, ilustra uma parte destes caminhos sintéticos diferentes. Este foi obtido através da manipulação dos substituintes dos anéis, seja nos intermediários quinazolinonas (**28** e **29**) ou nos derivados de 4-anilinoquinazolinonas (**32**, **33** e **34**). A nitração da quinazolinona **28** com $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ forneceu uma mistura de 6- e 8-nitroquinazolinona

(**29** e **30**), com predominância para o isômero 6-nitro. O intermediário **31** foi obtido com SOCl_2/DMF e a reação deste com 3-cloro-4-fluoroanilina forneceu o derivado **32**. Na síntese dos derivados mais substituídos foram utilizadas, com frequência, reações de substituição nucleofílica aromática, tal como na obtenção dos intermediários **32** e **33**. A substituição do átomo 7-fluoro de **32** pelo alcóxido de 3-morfolinopropanol forneceu o composto **33**. A redução do grupo nitro de **32** forneceu **34** e a acilação do derivado amina foi usada como a fonte de inibidor irreversível **7** (CI 1033) [41]. Normalmente, nessa transformação utiliza-se reagentes tais como cloreto de acríloila e uma base ou o ácido acrílico na presença de cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI.HCl) [41].



Esquema 6- Etapas utilizadas na obtenção da 4-anilinoquinazolina **6** (CL- 387785) [23, 39].

Um procedimento sintético totalmente diferente foi utilizado na obtenção do agente clínico CL- 387785 (**6**) [39,40], conforme Esquema 6. Neste, o material de partida foi um derivado da antranilonitrila (**35**), sendo que a adição da 3-bromoanilina a uma amidina terciária preparada (**36**), conduziu à ciclização *in situ* e subsequente

rearranjo de Dimroth para o produto **39**, o qual após redução do grupo nitro e acilação da amina formada, levou ao composto desejado **6** (CL-387785). O derivado **37** foi obtido através da redução do grupamento nitro do intermediário **36** [39] e a subsequente acilação da amina fornece **38** e a reação deste com a 3-bromoanilina, seguido de rearranjo de Dimroth também conduz ao composto **6** (CL-387785).

Estes dois caminhos sintéticos apresentados ilustram apenas uma pequena parte do universo da síntese dos inibidores de tirosinas quinases e, em particular, dos derivados de quinazolininas. São ainda abordadas na revisão de Rewcastle e col. [32] ou mais detalhadamente nos artigos originais [42,54], as etapas sintéticas para a obtenção de compostos como azaquinazolininas [54], onde observa-se a troca de um ou mais átomos de carbono por um de nitrogênio. Também são apresentadas as etapas para a formação de quinazolininas tricíclicas lineares [32,54] ou não-lineares [32,54] e assim sucessivamente. Sendo que todos estes compostos são importantes tanto pelos seus aspectos químico quanto biológico.

2.4- Coeficientes de partição

O caráter hidrofóbico ou lipofílico de um eventual fármaco é fundamental, pois determina as condições de sua administração e a facilidade com que ele vai atravessar a membrana celular [55-58].

O coeficiente de partição foi, primeiramente, definido em 1872 por Berthelot e Jungfleish [59]. Mas, a lipofilicidade ganhou uma grande importância com relação à atividade farmacológica a partir dos trabalhos de Meyer [60] e Overton [61] que descreveram uma relação entre solubilidade lipídica e o efeito narcótico de algumas drogas [62]. No entanto, foi somente a partir dos trabalhos de Hansch e col. [55,56] que a lipofilicidade/hidrofobicidade passou a ser reconhecida, por pesquisadores das mais diversas áreas, como um dos parâmetros mais importantes no estudo quantitativo das relações estrutura-atividade (QSAR) [62]. Normalmente, a lipofilicidade é caracterizada em termos dos valores de coeficiente de partição (P), um parâmetro molecular que descreve o equilíbrio de particionamento de uma molécula de soluto entre a água e um solvente orgânico imiscível, sendo o sistema n-octanol/água o preferido [62], pois representa um modelo bom para muitos processos biológicos [63]. Também encontra-se disponível uma ampla base de dados medidos [58] e vários métodos de cálculos [64,65] que fornecem uma valiosa ajuda quando se deseja estimar os valores de $\log P$.

O octanol não é um solvente de manuseio fácil, pois possui cheiro forte, é parcialmente solúvel em água e forma emulsão com a mesma. No entanto, ele possui o grupamento hidroxila que é capaz de formar ligação de hidrogênio, tornando-o especialmente bom para simular/modelar a distribuição da membrana biológica e assim estudar o comportamento das moléculas de droga no sistema biológico [62].

Os coeficientes de partição, na forma de $\log P$, podem ser determinados através do método "shake-flask" para o sistema octanol/água, bem como para outros sistemas de solvente/água [66]. Entretanto, as dificuldades encontradas no método "shake-flask" podem ser contornadas com a utilização de métodos cromatográficos (HPLC) [67-70].

2.4.1- Determinação dos valores de logP através do método “Shake Flask” tradicional [66]

Considere um frasco contendo uma solução do soluto B em água e um certo volume de um solvente orgânico. Este analito, depois de um tempo sob agitação, se distribuirá entre as fases aquosa e orgânica. Se o solvente escolhido é mais denso do que a água, a distribuição será como mostrada na Figura 6 [66].

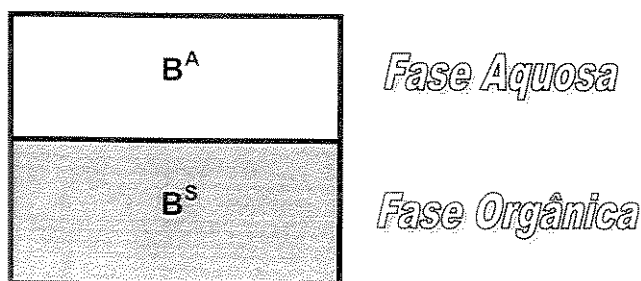


Figura 6- Equilíbrio entre uma fase aquosa (A) e uma fase orgânica (S) mais densa do que a água.

A determinação dos valores das concentrações de equilíbrio C^S e C^A de um determinado composto nas fases aquosa e orgânica nos fornece o coeficiente de partição P, que pode ser definido como:

$P = [\text{concentração molar da fase orgânica no equilíbrio}] / [\text{concentração molar da fase aquosa no equilíbrio}]$

$$P = C_e^S / C_e^A \quad (1)$$

Onde o subscrito **e** refere-se ao estado de equilíbrio.

O método “shake flask” foi planejado para determinar o coeficiente de partição de compostos ativos na região ultravioleta entre duas fases, aquosa e orgânica. Através das medidas de absorbância fornecidas pelo espectrômetro de UV, o pesquisador pode conferir o decréscimo da concentração do soluto de interesse na solução aquosa [66].

Então, de acordo com a teoria temos [66]:

No início do experimento, o número de moles do soluto B em água, n_0^A , é:

$$n_0^A = C_0^A \cdot V^A \quad (2)$$

onde C_0^A é a concentração inicial em água em mol.L^{-1} e V^A é o volume de água em L.

No equilíbrio, o número de moles do soluto B em água, n_e^A , torna-se:

$$n_e^A = C_e^A \cdot V^A \quad (3)$$

O número de moles de B na fase orgânica é:

$$n_e^S = C_e^S \cdot V^S \quad (4)$$

Logo,

$$n_e^S = n_0^A - n_e^A \quad (5)$$

De acordo com as Equações 2, 3 e 4, a Equação 5 pode ser reescrita como a seguir:

$$C_e^S \cdot V^S = C_0^A \cdot V^A - C_e^A \cdot V^A \quad (6)$$

Então,

$$C_e^S = (C_0^A \cdot V^A - C_e^A \cdot V^A) / V^S \quad (7)$$

Substituindo C_e^S na Equação 1, obtemos:

$$P = (C_0^A \cdot V^A - C_e^A \cdot V^A) / (C_e^A \cdot V^S) \quad (8)$$

Finalmente,

$$P = (V^A/V^S) \cdot [(C_0^A/C_e^A) - 1] \quad (9)$$

De acordo com a lei de Lambert-Beer, a concentração do soluto B em água, C_0^A , é proporcional a sua absorbância, A, como pode ser verificado na Equação 10:

$$A = \varepsilon \cdot C_0^A \cdot l \quad (10)$$

Onde ε , cujas unidades são $\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, é o coeficiente de absorptividade molar do soluto B. l é o caminho ótico da célula de UV.

Considerando-se um caminho ótico de 1 cm e substituindo C_0^A e C_e^A na Equação 9 por (A_0/ε) e (A_e/ε) respectivamente, pode-se obter:

$$P = (V^A/V^S) \cdot [(A_0/A_e) - 1] \quad (11)$$

Como se pode notar na Equação 11, o coeficiente de partição, P, é altamente dependente da razão dos volumes V^A/V^S . Este parâmetro desempenha um papel importante na determinação de P [66].

O método "Shake-flask" torna-se inviável para compostos com baixa solubilidade, baixa absorbância no UV e com valores extremos de coeficientes de partição, além desta técnica requerer quantidade na ordem de miligramas de droga pura. Então, para estes sistemas, métodos especiais foram desenvolvidos, tais como os experimentos utilizando HPLC [62].

2.4.2- Índice Cromatográfico de Hidrofobicidade (Chromatographic Hydrophobicity Index (CHI))

Valkó e col. [62,63,68-70] reportaram um método novo, o índice cromatográfico de hidrofobicidade (CHI), que serve como uma alternativa para as medidas de $\log P_{\text{oct}}$. O índice é derivado dos tempos de retenção (t_R) obtidos através de um HPLC de

gradiente rápido de fase reversa. De acordo com o artigo recente de Valkó [62], na cromatografia de fase reversa, a retenção é governada por forças hidrofóbicas e tem sido reconhecida como um método eficiente para a determinação da lipofilicidade.

O CHI é uma medida de hidrofobicidade/lipofilicidade, ou seja, mostra se o composto prefere um ambiente lipídico ou aquoso. Sua aplicação tem sido mostrada em correlação com a distribuição e partição do composto entre plasma e tecidos, sangue e cérebro, absorção intestinal, permeabilidade na pele, etc [62, 68-70].

Algumas das vantagens na utilização de métodos cromatográficos na determinação da lipofilicidade são [62]:

- não há necessidade de se determinar a concentração;
- pequenas impurezas são separadas do componente principal;
- requer quantidade pequena de substância; e por último,
- o método pode ser completamente automatizado.

Como medir os valores de CHI?

Inicialmente, o sistema de HPLC precisa ser calibrado [62,70]. Então, escolhe-se, previamente, uma mistura padrão (teofilina, feniltetrazol, benzimidazol, cochicina, fenilteofilina, acetofenona, indol, propiofenona, butirofenona e valerofenona) com valores de CHI conhecidos (Tabela 3, v. p. 50). Em seguida, mede-se os tempos de retenção (tR) para os 10 compostos em um sistema de fase reversa (Figura 7). Uma regressão linear (Figura 8) entre os tempos de retenção e os valores de CHI estabelecidos é feita para obter o coeficiente **A** e a constante **B** da Equação 12 [62,68-70].

$$\text{CHI} = A t_R + B \quad (12)$$

Mantendo as mesmas condições aplicadas à mistura padrão, as constantes **A** e **B** da linha reta podem ser usadas para converter os tempos de retenção do gradiente de compostos novos para valores de CHI ($\text{CHI}_x = A t_{R_x} + B$). Para a maioria dos compostos orgânicos, o CHI está entre 0 (hidrofilico) a 100 (lipofilico), mas obter

valores fora desta faixa é possível [71]. Esta faixa de valores se aproxima da porcentagem de volume de solvente orgânico necessário para promover uma distribuição uniforme entre as fases móvel e estacionária [68-71].

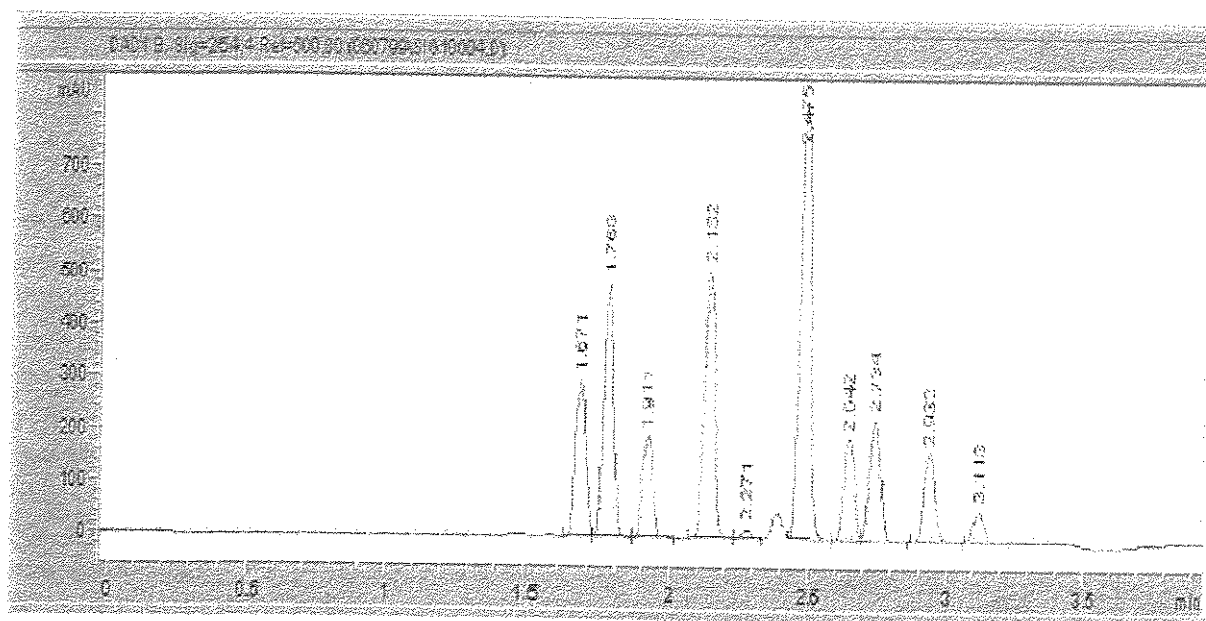


Figura 7- Cromatograma típico da mistura padrão, em pH 7.4, com gradiente de acetonitrila. (Coluna: Luna C-18 (2), 50 X 4.6 mm, 5 μ m, gradiente de acetonitrila com fluxo de 2.0 mL/min) [62].

Os valores de CHI obtidos para um composto dependerão do tipo de fase estacionária, tipo de fase orgânica (acetonitrila ou metanol), e para compostos ácidos ou básicos, do pH [62]. Os tempos de retenção de alguns dos componentes da mistura modelo variam com o pH e isto acontece porque alguns componentes possuem carga em pH alto ou baixo [70,71].

Para obter valores de CHI com gradiente de metanol, uma mistura de alquilarilcetonas é usada (octanofenona, heptanofenona, hexanofenona, valerofenona, butirofenona, propiofenona, acetofenona, acetanilida e paracetamol). Seus componentes e seus valores de $\text{CHI}_{(\text{MeOH})}$ estão listados na Tabela 4 (v. p. 52).

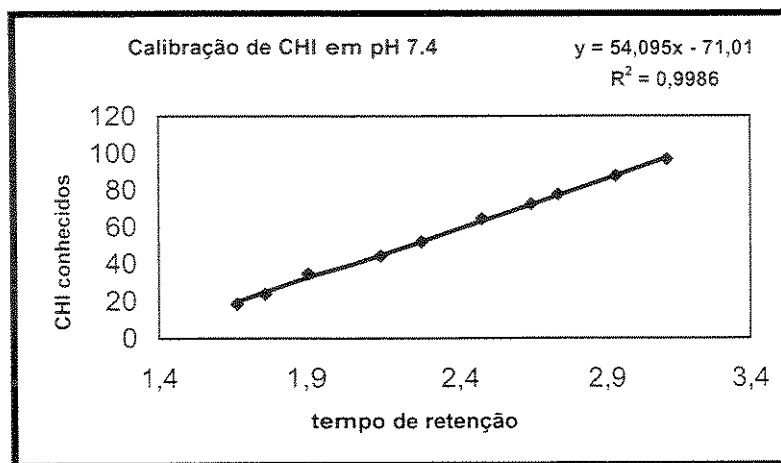


Figura 8- Tempos de retenção vs valores de CHI da mistura padrão, em pH 7,4 [62].

Os valores de CHI podem ser convertidos para a escala de logP e serem reportados como CHIlogP [62,71].

$$\text{CHIlogP}_{(\text{ACN})} = 0,0525 * \text{CHI}_{\text{ACN}} - 1,467 \quad (13)$$

e

$$\text{CHIlogP}_{(\text{MeOH})} = 0,0735 * \text{CHI}_{\text{MeOH}} - 3,7523 \quad (14)$$

As constantes das Equações 13 e 14 foram obtidas através de um gráfico de valores de CHI (em pH 7,4 e coluna Inertsil ODS2) *versus* logP (em pH 7,4 através do método “micro shake-flask”) medidos para uma mistura de compostos contendo moléculas neutras, carregadas positivamente e negativamente, utilizando acetonitrila e metanol como modificadores orgânicos, respectivamente [62].

O método CHI revela-se como uma alternativa para a determinação dos valores de coeficientes de partição, logP. Este método é recomendado, especialmente quando o logP é maior do que 3,5, ou seja, os compostos têm baixa solubilidade em água, bem como verificar a lipofilicidade dos compostos em valores de pH neutro, alto e baixo.

Estes valores podem ser usados para verificar ou corrigir os valores de coeficientes de partição calculados [62,63,68-71].

2.4.3- Método “Micro-Shake-Flask” (logP no sistema octanol-água) [62,67].

Este é um dos métodos especiais planejados para determinar os valores de coeficientes de partição no sistema octanol-água (logP) de compostos com baixa solubilidade, baixa absorbância no UV e com valores extremos de coeficientes de partição [62,67].

O método “micro-shake-flask” utiliza um HPLC de fase reversa para a determinação dos valores de lipofilicidade. As medidas da concentração do composto, em ambas as fases aquosa e octanol, são realizadas depois que as fases envolvidas na partição atingem o equilíbrio e estão completamente separadas [62,67].

Este experimento requer quantidades pequenas de amostra (~10 µg). O volume total de particionamento é de aproximadamente 1 mL e o da amostra dissolvida é de 200 µL. O sistema aceita soluções em dimetilsulfóxido (DMSO). No experimento, observa-se o decréscimo da área do pico da fase aquosa no cromatograma, devido à partição do composto para a fase do octanol [62].

A aplicação de métodos cromatográficos, principalmente o de gradiente rápido, proporciona maiores vantagens às medidas de lipofilicidade no sistema octanol-água em comparação com o método “shake-flask” tradicional. As medidas podem ser completamente automáticas, utilizam quantidades pequenas de amostra, sem a necessidade de alto grau de pureza e o tempo de análise pode ser reduzido de 5-7 minutos por amostra [62].

2.4.4- Equação de solvatação linear de Abraham

A hidrofobicidade ou lipofilicidade é uma propriedade complexa da molécula. Tem sido apresentado que vários fatores moleculares têm um papel importante no caráter lipofílico total dos compostos [69]. O modelo geral da equação de solvatação (Eq. 15) tem sido sugerido por Abraham [72-74] para descrever vários processos de

partição de moléculas, tais como aqueles envolvidos no transporte de solutos entre fases cromatográficas [62,68-70], partições solvente-solvente, distribuição da barreira sangue-cérebro e permeabilidade na pele [62]:

$$SP = c + rR_2 + s\pi_2^H + a\sum\alpha_2^H + b\sum\beta_2^H + vV_x \quad (15)$$

Onde **SP** é uma propriedade do soluto relacionada à energia linear livre (por exemplo, o logaritmo dos coeficientes de partição, solubilidade, parâmetros de retenção do RP-HPLC, tais como $\log k$, $\log k_w$, etc.) e as variáveis explicativas são descritoras do soluto [72-74], tais como: R_2 é um excesso de refração molar (descreve efeitos de dispersão), π_2^H é a polarizabilidade/dipolaridade do soluto, $\sum\alpha_2^H$ e $\sum\beta_2^H$ são a acidez ou basicidade total ou efetiva da ligação de hidrogênio do soluto e V_x é o volume característico de McGowan (em $\text{cm}^3/100 \text{ mol}$) que pode ser calculado para qualquer soluto através da estrutura molecular, usando uma tabela de constantes atômicas [75]. As constantes de regressão c , r , s , a , b e v (obtidas por análise de regressão linear múltipla) representam as características da combinação de sistemas de solventes particulares (por exemplo, solventes de particionamento e fase estacionária e móvel) [72,74,76]. Estas constantes refletem as diferenças entre os sistemas de duas fases. A equação de solvatação (15) proporciona uma excelente ferramenta para descrever as contribuições de seletividade polares ou apolares do sistema da fase móvel ou estacionária [76]. Os descritores moleculares para aproximadamente 4000 compostos estão compilados em uma base de dados [77]. Para aplicar a Equação 15, há necessidade de um conjunto de solutos com descritores conhecidos e suficientemente variados para descrever todas as interações na equação e de um número suficiente para estabelecer a validade estatística do modelo [69].

Há numerosos métodos disponíveis para estimar processos de transferências de uma fase para outra. No entanto, muito poucos métodos são baseados nos princípios da química padrão e que possam ser aplicados para todos os tipos de processos de transferência [78].

Alguns anos atrás, Kamlet e col. [79,80] estabeleceram relações lineares de energia livre entre propriedades e descritores do soluto baseados em medidas

solvatocrômicas. Os termos que corrigem a polarizabilidade, a acidez e basicidade da ligação de hidrogênio, a dipolaridade/polarizabilidade e o volume [72] foram usados como descritores do soluto. Abraham [77] modificou estes descritores e os derivou a partir das propriedades dos solutos como apresentado na Equação 15. O método de Abraham [72] está preocupado especificamente com propriedades relacionadas ao transporte do soluto, que são quantitativamente avaliadas através de $\log L$ ou $\log P$ e, que por sua vez, estão relacionadas à energia de Gibbs.

Os descritores do soluto, da Equação 15, podem ser calculados a partir da estrutura do composto, usando aproximações das contribuições dos fragmentos, tais como o tamanho, a dipolaridade/polarizabilidade e a capacidade da ligação de hidrogênio de cada molécula [72,81].

2.4.4.1- Desenvolvimento dos descritores da ligação de hidrogênio

Primeiramente, foram feitas as escalas da ligação de hidrogênio 1:1 [82-85] usando o sistema ácido-base (Equação 16), em tetraclorometano a 298 K.



Uma quantidade grande de constantes de equilíbrio de ácidos complexando com uma variedade de bases padrões estão disponíveis na literatura. Abraham e col. [82,83] colocaram todas estas constantes de equilíbrio em uma escala de acidez, indicadas como K_A^H . Assim, foi observado que a origem da escala foi de $-1,1$, com as constantes na forma de concentração molar. Este valor foi deslocado para zero e a escala foi expressa pela Equação 17,

$$\alpha_2^H = (\log K_A^H + 1,1) / 4.636 \quad (17)$$

De maneira similar, para bases complexando com um certo número de ácidos padrões, uma escala de basicidade geral (Equação 18) foi desenvolvida como $\log K_B^H$ [84,85].

$$\beta_2^H = (\log K_B^H + 1,1) / 4.636 \quad (18)$$

A análise da complexação 1:1, em tetracloreto de carbono, foi desenvolvida através da Equação geral (Eq. 19) que correlacionou 1312 valores de $\log K$ com um desvio padrão de apenas 0,093 [72]:

$$\log K \text{ (em CCl}_4\text{)} = 7,354 \alpha_2^H \beta_2^H - 1,094 \quad (19)$$

$$N = 1312, R = 0,991, dp = 0,093$$

Os valores de α_2^H e β_2^H foram as primeiras escalas gerais de acidez e basicidade da ligação de hidrogênio reportadas [81]. Todos os valores de α_2^H e β_2^H referem-se à complexação 1:1. No entanto, o objetivo foi obter descritores da ligação de hidrogênio total ou efetivo que referem-se à situação na qual o soluto esteja rodeado por moléculas de solvente. Então, todos aqueles grupos funcionais ácidos ou básicos do soluto estarão potencialmente envolvidos nas interações ácido-base ao mesmo tempo [72,74,81]. Neste caso, há duas razões do porque isto difere da ligação de hidrogênio 1:1. Primeiro, um grupo funcional básico, com vários pares de elétrons livres, pode interagir com mais do que uma molécula de solvente ácido, mas (por definição) estará envolvido somente com uma molécula do ácido na complexação 1:1. Segundo, se há dois grupos funcionais na mesma molécula, XRY, então ambos X e Y, interagirão simultaneamente com as moléculas do solvente, enquanto que na complexação 1:1 (novamente por definição) X pode interagir somente quando Y não interagir e *vice-versa* [74].

Os descritores da acidez e basicidade da ligação de hidrogênio são denotados como $\Sigma \alpha_2^H$ e $\Sigma \beta_2^H$ [72,74]. Como estes parâmetros relatam o soluto rodeado pelo solvente, eles têm que ser obtidos através de experimentos que refletem esta situação. Além disso, outras interações soluto-solvente precisam ser consideradas [81]. Vários processos têm sido usados nas determinações dos descritores da equação de solvatação (Eq. 15), entre eles incluem-se a cromatografia gás-líquido [86,87], partições água-solvente [88-90], HPLC [91] e a solubilidade [92].

2.4.4.2- Desenvolvimento dos descritores π_2^H , R_2 e V_x

O descritor dos efeitos de dipolo/dipolo e dipolo/dipolo induzido inclui a polarizabilidade e a dipolaridade (π_2^H). Seria útil se estes dois efeitos pudessem ser separados e, então, Abraham e col. [81] tentaram fazer isto através do uso da refração molar, MR . Este termo é, usualmente, definido como uma função do índice de refração η e do volume do líquido, V_{liq} (Equação 20).

$$MR = (\eta^2 - 1)V_{liq} / (\eta^2 + 2) \quad (20)$$

A fim de evitar um parâmetro experimental extra, foi decidido usar uma refração molar modificada, MR_x (note o fator 10 no numerador) (Equação 21),

$$MR_x = 10 (\eta^2 - 1)V_x / (\eta^2 + 2) \quad (21)$$

Em ambos os casos, há dificuldade em correlacionar MR ou MR_x com o volume. Para contornar isso, um excesso de refração molar (R_2) foi definido [93] como MR_x menos $(MR_x)_{\text{alcano}}$ (para um alcano de mesmo volume V_x que o do composto em questão) (Equação 22),

$$R_2 = MR_x - (MR_x)_{\text{alcano}} \quad (22)$$

$$(MR_x)_{\text{alcano}} = 2,83195 * V_{x \text{ alcano}} - 0,52553 \quad (23)$$

O descritor R_2 pode ser obtido através das Equações 21 e 22 a partir do índice de refração do líquido puro do composto a 293 K. Se isto não for possível, o índice de refração pode ser calculado ou o valor de R_2 pode ser estimado através da soma dos valores conhecidos dos fragmentos da molécula [81, 93].

Com relação ao descritor V_x , quanto maior o soluto, maior será a cavidade formada no solvente e, portanto, maiores serão as interações solvente-solvente desfeitas. O Volume V_x (em $\text{cm}^3/100 \text{ mol}$) pode ser facilmente calculado pelo método de

McGowan [75], no qual as constantes dos átomos são simplesmente somadas e o valor $6,56 \text{ cm}^3$ subtraído de cada ligação. O número de ligações precisa ser conhecido (todas as ligações, se simples, dupla ou tripla são contadas como uma) e este valor pode ser obtido para qualquer molécula usando o algoritmo de Abraham (Equação 24) [72,81],

$$B = N - 1 + R \quad (24)$$

onde B é o número de ligações da molécula, N é o número total de átomos e R é o número de anéis. Então, para o cicloexano e benzeno $R=1$; para a difenilamina ou naftaleno $R=2$.

2.4.4.3- Os coeficientes de regressão

Os descritores do soluto representam a influência do solvente nas várias interações das fases soluto-solvente. Portanto, os coeficientes de regressão **c**, **r**, **s**, **a**, **b** e **v** correspondem ao efeito de complementaridade das fases nestas interações. Os coeficientes podem, então, serem considerados como as constantes do sistema que caracterizam e contém a informação química sobre a fase em questão [69,81].

A constante **c** não é um coeficiente simples de interpretar porque sempre incorporará contribuições do estado padrão [81]. Já o coeficiente **r** mostra a tendência da fase para interagir com o soluto através dos pares de elétrons π e n [69,81]. Normalmente, o valor de **r** é positivo mas para fases que contém átomos de flúor ele pode ser negativo. A tendência de uma fase interagir com solutos dipolares/polarizáveis é mostrada pelo valor de **s** [69,81].

O coeficiente **a** mostra a basicidade da ligação de hidrogênio da fase (porque solutos ácidos interagirão com uma fase básica). Similarmente, o coeficiente **b** é uma medida da acidez da ligação de hidrogênio da fase (porque solutos básicos irão interagir com uma fase ácida). Por último, o coeficiente **v** (medida da lipofilicidade da fase) é uma resultante dos efeitos de cavidade e dispersão e é positivo exceto para solução de gases e vapores de água [69,81].

Os coeficientes da equação de solvatação (15) devem obedecer os princípios gerais da química [72]. Um bom exemplo para ilustrar a informação química contida nas constantes do sistema é a partição de solutos entre duas fases. Aqui, as constantes do sistema irão refletir as diferenças das propriedades das duas fases e, portanto, podem ter valores positivos ou negativos. O sistema água-octanol importante é caracterizado pela Equação 25 [62,72,81]:

$$\log P_{\text{oct}} = 0,088 + 0,562R_2 + 1,054\pi_2^H + 0,034\sum\alpha_2^H - 3,460\sum\beta_2^H + 3,814V_x \quad (25)$$

Desta forma, o octanol (na verdade o octanol “molhado”) revelou-se com maior capacidade para interagir com os pares de elétrons π e n do que a água (coeficiente r positivo), no entanto, é menos dipolar/polarizável do que a água (coeficiente s negativo). O octanol apresenta quase a mesma basicidade da ligação de hidrogênio da água (coeficiente a próximo de zero), mas possui acidez da ligação de hidrogênio mais fraca (coeficiente b negativo). O coeficiente v significa que o octanol é bem mais capaz de interagir com solutos através das forças de dispersão do que a água e/ou que a energia requerida para formar um tamanho de cavidade no octanol é menor do que na água [62,72,81].

3- Parte Experimental

3.1- Instrumentação geral, reagentes e solventes

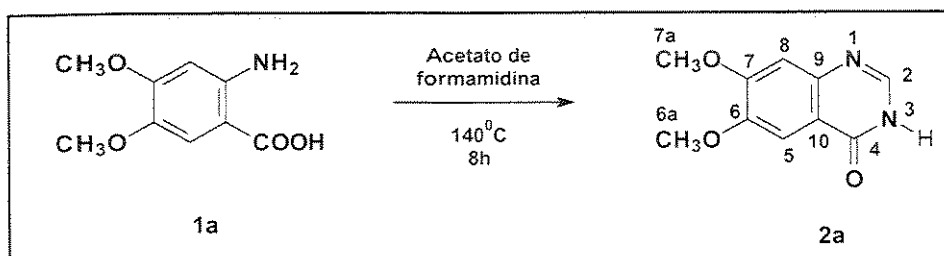
- Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em um espectrômetro VG auto-Spec (Varian) e as análises elementares (C, H, N) foram obtidas em um equipamento Perkin-Elmer (modelo 2400).
- Espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrômetro Perkin-Elmer (FTIR-1600, FTIR-1605).
- Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro de RMN de 500 MHz (INOVA-500 da Varian).
- Ponto de fusão – Microquímica, Modelo MQAPF-301.
- Evaporador rotativo – Asten (250 rpm) e Wheaton (200 rpm);

Os reagentes utilizados foram comerciais (Aldrich). Os solventes utilizados nas sínteses e extrações foram de qualidade técnica ou PA, purificados e tratados segundo procedimentos da literatura [94].

3.2- Síntese dos compostos

Todas as etapas utilizadas na síntese dos intermediários e dos compostos alvos estão apresentadas no Esquema 1 (v. objetivos, p. 5).

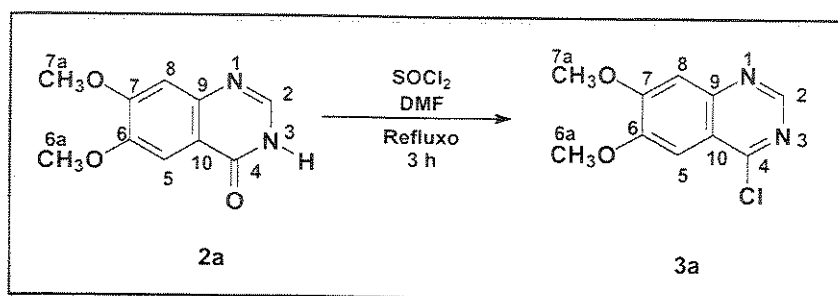
3.2.1) 6,7-Dimetóxi-4-quinazolinona (2a) [29]



Uma mistura de ácido 2-amino-4,5-dimetóxi-benzóico (1,0 g, 5,08 mmol) e acetato de formamidina (4,50 g, 43,3 mmol) foi colocada em balão de 50 mL. A mistura sólida

foi aquecida a 140⁰C em um banho de silicone por 8 h. Durante o aquecimento, houve a fusão dos sólidos e, em seguida, a ressolidificação do meio reacional. A mistura foi deixada esfriar e, então, adicionou-se solução de NaOH (0,33 mol.L⁻¹) até ajustar o pH para 8. O sólido rosa cinzento foi coletado através de filtração em funil de Büchner, lavado com água (3 x 10 mL) e seco sob vácuo para fornecer o composto desejado (0,79 g, 3,83 mmol, 76%), que foi usado sem purificação na próxima etapa: p.f. 296-298⁰C (Lit. [29], p.f. 295-298⁰C); RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 12,07 (1H, s, H-3), 8,00 (1H, s, H-2), 7,45 (1H, s, H-5), 7,14 (1H, s, H-8), 3,91 (3H, s, H-6a), 3,87 (3H, s, H-7a).

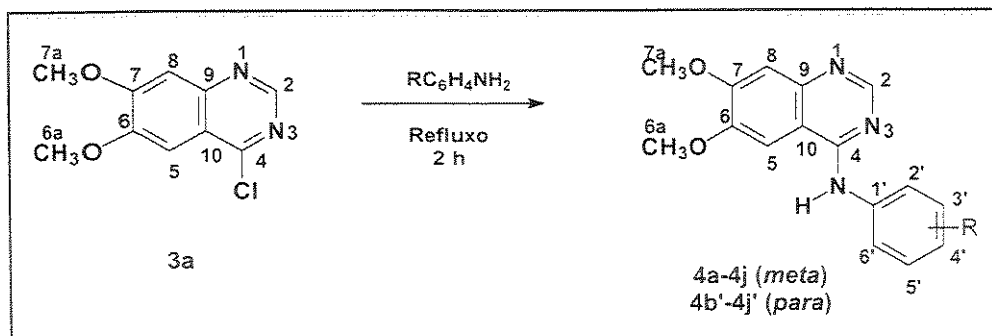
3.2.2) 6,7-Dimetóxi-4-cloro-quinazolina (3a) [29]



Uma suspensão de 6,7-dimetóxi-4-quinazolinona (**2a**) (0,79 g, 3,83 mmol) em cloreto de tionila (7,0 mL) contendo 10 gotas de *N,N*-dimethylformamida (DMF) foi agitada e aquecida sob refluxo por 3 h, até que uma solução fosse obtida. A mistura reacional foi deixada esfriar à temperatura ambiente. O meio reacional foi diluído em diclorometano e água (160 mL) e colocado em banho de gelo. Sob agitação, o material foi tratado com 30 mL de solução saturada de Na₂CO₃. Na₂CO₃ sólido foi, cuidadosamente, adicionado até que o pH fosse ajustado para a faixa 7-8. Em seguida, a fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ (2 x 30 mL) e o combinado de fase orgânica foi lavado com solução salina (2 x 10 mL), seco sobre sulfato de magnésio, filtrado e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório para fornecer a 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) como um sólido amarelo (0,68 g, 3,03 mmol, 79%), que foi usado sem purificação na próxima etapa: p.f. 185-187⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 8,90 (1H, s, H-2), 7,39 (1H, s, H-5), 7,34 (1H, s, H-8), 4,08 (6H, s, H-6a e H-7a).

IV (KBr/ cm^{-1}) ν : 2975 (C-H), 1619 (C-N de aromático), 1511 (C-C de aromático), 1233 (C-O-C), 789 (C-H), 872 (C-Cl).

3.2.3) 6,7-Dimetóxi-4-*N*-[3'- ou 4'-(*R*)-fenil]aminoquinazolina (4a-4j e 4b'-4j'). Com substituintes **R**= H (a), F (b), Cl (c), Br (d), I (e), OMe (f), Me (g), COMe (h), NMe₂ (i) e NO₂ (j) [29]



Procedimento geral de substituição do cloro: uma mistura de 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) (0,10 g, 0,445 mmol) e da anilina correspondente (5,50 mmol) em isopropanol (20 mL) foi agitada mecanicamente e aquecida à temperatura de refluxo por 2 horas. Foi observado que quando o aquecimento da mistura reacional atingiu a faixa de temperatura de 70-90°C, o sólido se dissolvia completamente e, em seguida, havia o início da precipitação do composto desejado, mostrando que a reação de substituição nucleofílica aromática estava acontecendo. Os sólidos amarelos foram filtrados, lavados com isopropanol (2 x 50 mL) e após secagem sob vácuo foram obtidos os compostos desejados. Os produtos foram isolados como cloridratos através de filtração direta da mistura reacional.

Os compostos sintetizados foram:

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(fenil)aminoquinazolina (4a): rendimento de 0,110 g (0,346 mmol, 77,0%): p.f. 268-270°C (Lit.[29] p.f. > 250 °C). RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,46 (1H, s, NH), 8,80 (1H, s, H-2), 8,35 (1H, s, H-5), 7,70 (2H, d, ³J_{H-H}= 8,0 Hz, H-2' e H-6'), 7,50 (2H, t, ³J_{H-H}= 8,0 Hz, H-3' e H-5'), 7,38 (1H, s, H-8), 7,32 (1H, t, ³J_{H-H}= 8,0 Hz, H-4'), 4,04 (3H, s, H-6a), 4,01 (3H, s, H-7a). IV (KBr/ cm^{-1}) ν : 3418

(N-H), 3062 (C-H de aromático), 1635-1459 (C-N de aromático), 1459 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 867-748 (C-H). MS(EI), m/z (%): 281,1 [M^+] (84,25), 280,1 [$M-H$]⁺ (100). Análise calculada para $C_{16}H_{15}N_3O_2.HCl$: C, 60,48; H, 5,07; N, 13,22. Determinada: C, 60,48; H, 4,92; N, 13,16.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b): rendimento de 0,100 g (0,298 mmol, 67%): p.f. 219-221^oC (Lit. [29] p.f. 253-254^oC). RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,51 (1H, s, NH), 8,86 (1H, s, H-2), 8,41 (1H, s, H-5), 7,74 (1H, dt, ³J_{H-F} = 11,0 Hz e ⁴J_{H-H} = 2,2 Hz, H-2'), 7,63 (1H, ddd, ³J = 8,3 Hz e ⁴J_{meta} = 2,2 Hz, ⁴J_{meta} ~ 1,0 Hz, H-6'), 7,52 (1H, dt, ³J_{H-H} = 8,3 Hz e ⁴J_{H-F} = 6,7 Hz, H-5'), 7,39 (1H, s, H-8), 7,15 (1H, tdd, ³J_{H-H} = ³J_{H-F} = 8,3 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,2 Hz e ⁴J_{H-H} ~ 1,0 Hz, H-4'), 4,04 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3412 (N-H), 3062 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1490 (C=C de aromático), 1279 (C-O-C), 985 (C-F), 872-774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 299,0 [M^+] (91,4), 298,0 [$M-H$]⁺ (100). Análise calculada para $C_{16}H_{14}N_3O_2F.HCl$: C, 57,24; H, 4,50; N, 12,51. Determinada: C, 57,14; H, 4,38; N, 12,34.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(4'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b'): rendimento de 0,098 g (0,292 mmol, 65%): p.f. 269-272^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,56 (1H, s, NH), 8,79 (1H, s, H-2), 8,40 (1H, s, H-5), 7,75 (2H, dd, ³J = 9,0 Hz e ⁴J_{H-F} = 5,0 Hz, H-2' e H-6'), 7,38 (1H, s, H-8), 7,32 (2H, t, ³J = 9,0 Hz, H-3' e H-5'), 4,02 (3H, s, H-6a), 3,98 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3418 (N-H), 3031 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1511 (C-N de aromático), 1284 (C-O-C), 826 (C-F), 774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 299,1 [M^+] (92), 298,1 [$M-H$]⁺ (100). Análise calculada para $C_{16}H_{14}N_3O_2F.HCl$: C, 57,24; H, 4,50; N, 12,51. Determinada: C, 57,22; H, 4,41; N, 12,38.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c): rendimento de 0,113 g (0,321 mmol, 72%): p.f. 226-228^oC (Lit. [29], p.f. 261-262^oC). RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,60 (1H, s, NH), 8,88 (1H, s, H-2), 8,45 (1H, s, H-5), 7,93 (1H, t, ³J = 2,0 Hz, H-2'), 7,77 (1H, ddd, ³J = 8,0 Hz, ⁴J = 2,0 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-4'), 7,51

(1H, t, $^3J = 8,0$ Hz, H-5'), 7,40 (1H, s, H-8), 7,37 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz e $^4J \sim 1,0$ Hz, H-6'), 4,04 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm $^{-1}$) ν : 3428 (N-H), 3041 (C-H de aromático), 1640 (C-N de aromático), 1521 (C-C de aromático), 1284 (C-O-C), 991 (C-Cl), 877-774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 315,0 [M^+] (71,3), 314,0 [$M-H$] $^+$ (100). Análise calculada para C $_{16}$ H $_{14}$ N $_3$ O $_2$ Cl.HCl: C, 54,56; H, 4,29; N, 11,93. Determinada: C, 54,43; H, 4,17; N, 11,27.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(4'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c') [10]: rendimento de 0,105 g (0,298 mmol, 67%): p.f. 282-284 $^{\circ}$ C. RMN de 1H [500 MHz, (CD $_3$) $_2$ SO, *ppm*] δ : 11,16 (1H, s, NH); 8,74 (1H, s, H-2); 8,28 (1H, s, H-5), 7,79 (2H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H-2' e H-6'), 7,50 (2H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H-3' e H-5'), 7,33 (1H, s, H-8), 4,00 (3H, s, H-6a); 3,97 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm $^{-1}$) ν : 3397 (N-H), 3041 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1243 (C-O-C), 985 (C-Cl), 857-774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 315,0 [M^+] (82,8), 314,0 [$M-H$] $^+$ (100). Análise calculada para C $_{16}$ H $_{14}$ N $_3$ O $_2$ Cl.HCl: C, 54,56; H, 4,29; N, 11,93. Determinada: C, 54,77; H, 4,49; N, 11,27.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(3'-bromo)fenilaminoquinazolina (4d): rendimento de 0,165 g (0,416 mmol, 93%): p.f. 263-265 $^{\circ}$ C (Lit. [29], p.f. 264-266 $^{\circ}$ C). RMN de 1H [500 MHz, (CD $_3$) $_2$ SO, *ppm*] δ : 11,70 (1H, s, NH), 8,88 (1H, s, H-2), 8,45 (1H, s, H-5), 8,04 (1H, t, $^4J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,80 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz e $^4J \sim 1,0$ Hz, H-4'), 7,49 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz e $^4J \sim 1,0$ Hz, H-6'), 7,43 (1H, t, $^3J = 8,0$ Hz, H-5'), 7,39 (1H, s, H-8), 4,03 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a); IV (KBr/cm $^{-1}$) ν : 3418 (N-H), 3031 (C-H de aromático), 1640 (C-N de aromático), 1521 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 872-779 (C-H), 600 (C-Br). MS(EI), m/z (%): 359,0 [M^+] (77,5), 360,0 [$M-H$] $^+$ (100). Análise calculada para C $_{16}$ H $_{14}$ N $_3$ O $_2$ Br.HCl: C, 48,45; H, 3,81; N, 10,59. Determinada: C, 48,85; H, 3,54; N, 10,64.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-*N*-(4'-bromo)fenilaminoquinazolina (4d'): rendimento de 0,126 g (0,318 mmol, 71%): p.f. 277-279 $^{\circ}$ C. RMN de 1H [500 MHz, (CD $_3$) $_2$ SO, *ppm*] δ : 11,19 (1H, s, NH), 8,88 (1H, s, H-2), 8,22 (1H, s, H-5), 7,70 (4H, singlete intenso, H-

2', H-3', H-5' e H-6'), 7,32 (1H, s, H-8), 4,04 (3H, s, H-6a), 4,02 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3449 (N-H), 3144 (C-H de aromático), 1629 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1284 (C-O-C), 867-774 (C-H), 501 (C-Br). MS(EI), m/z (%): 358,9 [M⁺] (81,1), 358,9 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₆H₁₄N₃O₂Br.HCl: C, 48,45; H, 3,81; N, 10,59. Determinada: C, 48,38; H, 3,61; N, 10,54.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-iodo)fenilaminoquinazolina (4e): rendimento de 0,119 g (0,268 mmol, 60%): p.f. 218-220^oC (Lit. [29], p.f. 273^oC). RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,50 (1H, s, NH), 8,85 (1H, s, H-2), 8,39 (1H, s H-5), 8,15 (1H, t, ⁴J= 1,5 Hz, H-2'), 7,81 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 1,5 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-4'), 7,70 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 1,5 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-6'), 7,39 (1H, s, H-8), 7,27 (1H, t, ³J= 8,0 Hz, H-5'), 4,03 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3418 (N-H), 3026 (C-H de aromático), 1629 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 877-779 (C-H), 600 (C-I). MS(EI), m/z (%): 406,9 [M⁺] (95), 405,9 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₆H₁₄N₃O₂I.HCl: C, 43,31; H, 3,41; N, 9,47. Determinada: C, 43,26; H, 3,35; N, 9,26.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-iodo)fenilaminoquinazolina (4e'): rendimento de 0,121 g (0,273 mmol, 61%): p.f. 266-269^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,50 (1H, s, NH), 8,83 (1H, s, H-2), 8,38 (1H, s, H-5), 7,82 (2H, d, ³J= 8,5 Hz, H-3' e H-5'), 7,58 (2H, d, ³J= 8,5 Hz, H-2' e H-6'), 7,37 (1H, s, H-8), 4,02 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3397 (N-H), 3031 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1290 (C-O-C), 872-779 (C-H), 501 (C-I). MS(EI), m/z (%): 407,0 [M⁺] (100), 406,0 [M-H]⁺ (93,2). Análise calculada para C₁₆H₁₄N₃O₂I.HCl: C, 43,31; H, 3,41; N, 9,47. Determinada: C, 43,44; H, 3,42; N, 9,28.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f): rendimento de 0,094 g (0,270 mmol, 61%): p.f. 216-218^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,39 (1H, s, NH), 8,81 (1H, s, H-2), 8,37 (1H, s, H-5), 7,39 (1H, s, H-8), 7,39 (1H, t, ³J= 8,0 Hz; H-5'), 7,35 (1H, t, ⁴J= 2,0 Hz, H-2'), 7,31 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 2,0 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-6'), 6,90 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 2,5 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-4'), 4,03 (3H, s, H-

6a), 4,00 (3H, s, H-7a), 3,80 (3H, s, H-7'). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3438 (N-H), 3005 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1496 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 872-774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 311,0 [M⁺] (79,3), 310,0 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₇H₁₇N₃O₃.HCl: C, 58,71; H, 5,22; N, 12,08. Determinada: C, 58,52; H, 5,00; N, 12,17.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f'): rendimento de 0,101 g (0,291 mmol, 65%): p.f. 205-207⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,52 (1H, s, NH), 8,76 (1H, s, H-2), 8,38 (1H, s, H-5), 7,59 (2H, d, ³J= 9,0 Hz; H-2' e H-6'), 7,38 (1H, s, H-8), 7,02 (2H, d, ³J= 9,0 Hz, H-3' e H-5'), 4,01 (3H, s, H-6a), 3,97 (3H, s, H-7a), 3,80 (3H, s, H-7'). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3403 (N-H), 2949 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1243 (C-O-C), 862-774 (C-H). MS(EI), m/z (%): 311,1 [M⁺] (100), 310,1 [M-H]⁺ (64,9). Análise calculada para C₁₇H₁₇N₃O₃.HCl: C, 58,71; H, 5,22; N, 12,08. Determinada: C, 58,68; H, 5,03; N, 12,10.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-metil)fenilaminoquinazolina (4g) [4]: rendimento de 0,075 g (0,226 mmol, 51%): p.f. 221-223⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,24 (1H, s, NH), 8,78 (1H, s, H-2), 8,29 (1H, s, H-5), 7,50 (2H, sobreposição de sinais, H-2' e H-5'), 7,36 (2H, sobreposição de sinais, H-8 e H-6'), 7,14 (1H, d, ³J= 8,0 Hz, H-4'), 4,02 (3H, s, H-6a), 3,99 (3H, s, H-7a), 2,37 (3H, s, H-7'). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3418 (N-H), 3008 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1511 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 775 (C-H). MS(EI), m/z (%): 295,0 [M⁺] (87,4), 294,0 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₇H₁₇N₃O₂.HCl: C, 61,54; H, 5,47; N, 12,66. Determinada: C, 61,96; H, 5,55; N, 12,96.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-metil)fenilaminoquinazolina (4g'): rendimento de 0,096 g (0,290 mmol, 65%): p.f. 227-229⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ : 11,26 (1H, s, NH), 8,75 (1H, s, H-2), 8,30 (1H, s, H-5), 7,57 (2H, d, ³J= 8,3 Hz, H-2' e H-6'), 7,36 (1H, s, H-8), 7,28 (2H, d, ³J= 8,3 Hz, H-3' e H-5'), 4,01 (3H, s, H-6a), 3,98 (3H, s, H-7a), 2,35 (3H, s, H-7'). IV (KBr/cm⁻¹) ν : 3419 (N-H), 2949 (C-H), 1635 (C-N de aromático), 1506 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 867-779 (C-H). MS(EI), m/z (%):

295,1 [M⁺] (85,1), 294,1 [M-H]⁺ (100); Análise calculada para C₁₇H₁₇N₃O₂.HCl: C, 61,54; H, 5,47; N, 12,66. Determinada: C, 61,27; H, 5,53; N, 12,42.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-acetil)fenilaminoquinazolina (4h): rendimento de 0,097 g (0,270 mmol, 61%): p.f. 219-221^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 11,49 (1H, s, NH), 8,79 (1H, s, H-2), 8,45 (1H, s, H-5), 8,34 (1H, t, ⁴J= 2,0 Hz, H-2'), 8,10 (1H, ddd, ³J= 8,1 Hz, ⁴J= 2,1 Hz, ⁴J= 1,1 Hz, H-6'), 7,87 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 1,7 Hz, ⁴J= 1,1 Hz, H-4'), 7,62 (1H, t, ³J= 8,0 Hz, H-5'), 7,42 (1H, s, H-8), 4,05 (3H, s, H-6a), 3,99 (3H, s, H-7a), 2,63 (3H, s, H-8'). IV (KBr/cm⁻¹) ν: 3428 (N-H), 3036 (C-H de aromático), 1681 (C=O), 1635 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 882-779 (C-H). MS(EI), m/z (%): 323,0 [M⁺] (83,9), 322,0 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₈H₁₇N₃O₃.HCl: C, 60,09; H, 5,04; N, 11,68. Determinada: C, 59,07; H, 4,69; N, 11,72.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-acetil)fenilaminoquinazolina (4h'): rendimento de 0,110 g (0,306 mmol, 69%): p.f. 218-220^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 11,33 (1H, s, NH), 8,84 (1H, s, H-2), 8,35 (1H, s, H-5), 8,03 (2H, d, ³J= 9,0 Hz, H-3' e H-5'), 7,98 (2H, d, ³J= 9,0 Hz, H-2' e H-6'), 7,36 (1H, s, H-8), 4,03 (3H, s, H-6a), 3,98 (3H, s, H-7a), 2,60 (3H, s, H-8'). IV (KBr/cm⁻¹) ν: 3412 (N-H), 2995 (C-H de aromático), 1671 (C=O), 1635 (C-N de aromático), 1516 (C-C de aromático), 1279 (C-O-C), 872-779 (C-H). MS(EI), m/z (%): 323,1 [M⁺] (73), 322,1 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₈H₁₇N₃O₃.HCl: C, 60,09; H, 5,04; N, 11,68. Determinada: C, 59,07; H, 4,67; N, 11,73.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-N',N'-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i): rendimento de 0,128 g (0,355 mmol; 80%): p.f. 198-200^oC. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 10,39 (1H, s, NH), 8,60 (1H, s, H-2), 8,11 (1H, s, H-5), 7,27 (1H, s, H-8), 7,22 (1H, t, ³J= 8,0 Hz, H-5'), 7,10 (2H, sobreposição de H-2' e H-6'), 6,59 (1H, ddd, ³J= 8,2 Hz, ⁴J= 2,4 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-4'), 3,99 (3H, s, H-6a), 3,95 (3H, s, H-7a), 2,93 (6H, s, H-7' e H-8'). IV (KBr/cm⁻¹) ν: 3418 (N-H), 3119 (C-H de aromático), 1624 (C-N de aromático), 1511 (C-C de aromático), 1228 (C-O-C), 846-764 (δ =C-H). MS(EI), m/z (%):

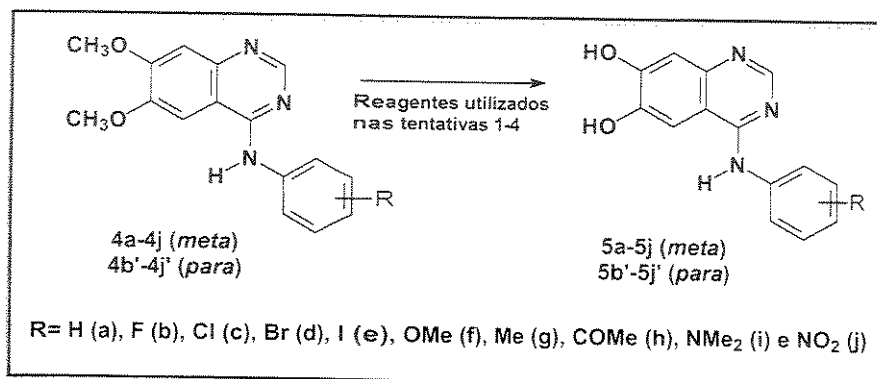
324,1 [M⁺] (100), 323,1 [M-H]⁺ (75,5). Análise calculada para C₁₈H₂₀N₄O₂.HCl: C, 59,91; H, 5,87; N, 15,53. Determinada: C, 60,01; H, 5,66; N, 15,62.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-N',N'-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i'): rendimento de 0,110 g (0,305 mmol, 69%): p.f. 204-206⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 11,83 (1H, s, NH), 8,80 (1H, s, H-2), 8,51 (1H, s, H-5), 7,80 (2H, d, ³J= 8,50 Hz, H-2' e H-6'), 7,59 (2H, d, ³J= 8,50 Hz, H-3' e H-5'), 7,42 (1H, s, H-8), 4,03 (3H, s, H-6a), 3,98 (3H, s, H-7a), 3,11 (6H, s, H-7'). MS(EI), m/z (%): 324,1 [M⁺] (100), 323,1 [M-H]⁺ (23,2); Análise calculada para C₁₈H₂₀N₄O₂.HCl: C, 59,91; H, 5,87; N, 15,53. Determinada: C, 59,34; H, 5,60; N, 15,29.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(3'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j): rendimento de 0,093 g (0,256 mmol, 58%): p.f. 279-281⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 11,10 (1H, s, NH), 8,82 (1H, s H-2), 8,76 (1H, t, ⁴J= 2,0 Hz, H-2'), 8,34 (1H, s, H-5), 8,33 (1H, ddd, ³J= 8,0 Hz, ⁴J= 2,2 Hz, ⁴J ~ 1,0 Hz, H-4'), 8,07 (1H, ddd, ³J= 8,2 Hz, ⁴J= 2,2 Hz e ⁴J ~ 1,0 Hz, H-6'), 7,74 (1H, t, ³J= 8,5 Hz, H-5'), 7,31 (1H, s, H-8), 4,04 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν: 3443 (N-H), 3026 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1511 (C-C de aromático), 1532 (NO₂), 1284 (C-O-C), 872-733 (C-H). MS(EI), m/z (%): 326,0 [M⁺] (100), 325,0 [M-H]⁺ (83,5). Análise calculada para C₁₆H₁₄N₄O₄.HCl: C, 52,97; H, 4,17; N, 15,44. Determinada: C, 52,68; H, 4,04; N, 15,04.

Cloridrato de 6,7-Dimetóxi-4-N-(4'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j'): rendimento de 0,121 g (0,334 mmol, 75%): p.f. 228-230⁰C. RMN de ¹H [500 MHz, (CD₃)₂SO, ppm] δ: 10,70 (1H, s, NH), 8,78 (1H, s, H-2), 8,32 (2H, d, ³J= 9,0 Hz, H-3' e H-5'), 8,18 (2H, d, ³J= 9,0 Hz, H-2' e H-6'), 8,11 (1H, s, H-5), 7,31 (1H, s, H-8), 4,02 (3H, s, H-6a), 4,00 (3H, s, H-7a). IV (KBr/cm⁻¹) ν: 3428 (N-H), 3119 (C-H de aromático), 1635 (C-N de aromático), 1511 (C-C de aromático), 1573 (NO₂), 1279 (C-O-C), 867-779 (C-H). MS(EI), m/z (%): 326,1 [M⁺] (86,9), 325,1 [M-H]⁺ (100). Análise calculada para C₁₆H₁₄N₄O₄.HCl: C, 52,97; H, 4,17; N, 15,44. Determinada: C, 52,76; H, 4,10; N, 14,98.

3.2.4) Síntese dos derivados fenólicos (5a-5j e 5b'-5j'), quarta etapa do Esquema 1 (v. Objetivos, p.5).



1a. Tentativa [10,29]

Uma mistura de 0,10 g (0,278 mmol) de 6,7-dimetóxi-4-(N-3-bromo-fenilamino)quinazolina e 3,00 g (26,2 mmol) de cloridrato de piridina foi aquecida, sob atmosfera de N₂ e agitação, a 190⁰C por 12 horas. Após resfriamento, o resíduo oleoso foi lavado com 20 mL de água destilada, sendo coletado, ao final, 15 mg de um sólido marrom identificado por RMN de ¹H como o material de partida. Não foi obtido o composto alvo.

2a. Tentativa [94]

Uma mistura de 0,10 g (0,278 mmol) 6,7-dimetóxi-4-(N-3-bromofenil)-aminoquinazolina e 8 mL de ácido bromídrico (48%; utilizado após destilação) foi aquecida à temperatura de refluxo por 8 horas. Preparou-se um banho de metanol em gelo para absorver o brometo de metila que poderia estar se desenvolvendo durante o refluxo.

Para isolar o fenol, tratou-se o resíduo no balão com carbonato de sódio aquoso até pH alcalino e extraiu-se a mistura com éter (6 x 30 mL). Lavou-se o extrato etéreo com solução aquosa saturada de carbonato de sódio e, em seguida, tratou-se com solução aquosa de hidróxido de sódio 2 mol.L⁻¹ (10 mL). Após acidificação do meio, o fenol foi extraído com éter (3 x 20 mL). Deixou-se o extrato por 4 horas em sulfato de magnésio e, em seguida, filtrou-se em funil de vidro e o solvente foi evaporado em rota-

evaporador. O resíduo amarelo (30 mg) foi seco sob vácuo. Não foi obtido o fenol de interesse.

Utilizando-se o mesmo procedimento adotado na 2a. tentativa, reagiu-se a quinazolina com HI (57%; utilizado após destilação). Também, com este reagente, não foi obtido o fenol de interesse.

3a. Tentativa [95-98]

Em uma balão de 3 bocas, ao qual foi conectado um funil de adição e um tubo com agente secante (CaCl_2), foram adicionados 0,10 g (0,278 mmol) de 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-bromo)fenilaminoquinazolina (**4d**) em 5 mL de diclorometano (super seco). A esta suspensão foram adicionados, vagarosamente, 14 mL de uma solução de tribrometo de boro em diclorometano. A mistura reacional foi deixada, à temperatura ambiente, sob agitação por 24 horas. Após esse período, adicionou-se, lentamente, 50 ml de água para hidrolisar o excesso de reagente e o complexo de boro (alcóxiborano). O produto fenólico foi coletado através de extração com éter (3 X 30 mL). O extrato etéreo foi deixado por 4 horas em sulfato de magnésio anidro. Após filtragem em funil de vidro, o solvente foi evaporado em rota evaporador para fornecer um sólido levemente amarelo. Infelizmente, não foi obtido o derivado fenólico.

OBS.: Este mesmo procedimento foi repetido utilizando-se os compostos 6,7-dimetóxi-4-quinazolinona (**2a**), 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**), 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolina (**4a**) e 6,7-dimetóxi-4-*N*-(4'-fluoro)fenilaminoquinazolina (**4b'**), como material de partida. No entanto, também para estes compostos, não foi obtido sucesso.

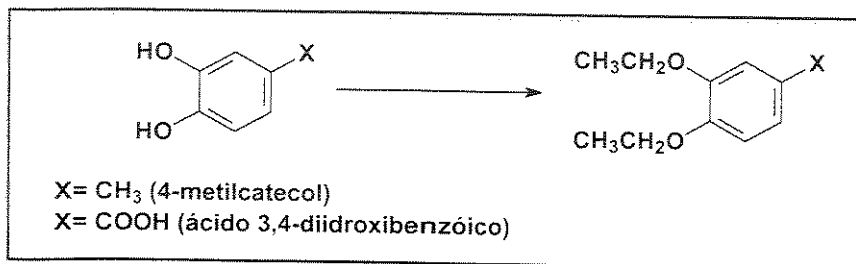
4a. Tentativa [99]

Em um balão de 100 mL de três bocas, ao qual foi conectado um funil de adição e um tubo com agente secante (CaCl_2), foram adicionados 0,75 g (5,60 mol) de brometo de alumínio. Em seguida, adicionou-se gota a gota, sob agitação, 1,0 mL de etanotiol. Após ter deixado a mistura 15 min sob agitação em um banho de gelo, adicionou-se uma suspensão que continha 0,10 g (0,278 mmol) de 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-

bromo)fenilaminoquinazolina (**4d**) em 1 mL de diclorometano seco. O banho de gelo foi retirado e a mistura reacional foi deixada, à temperatura ambiente, sob agitação por 12 horas. Após esse período, adicionou-se, lentamente, 10 mL de água para hidrolisar o excesso de reagente. Em seguida, com solução de carbonato de sódio elevou-se o pH para 8 e, então, o composto foi extraído com diclorometano (3 X 50 mL). A fase orgânica foi lavada com solução salina, seca em sulfato de sódio por 1 hora e, finalmente, após filtragem, o diclorometano foi evaporado em rota evaporador para fornecer um composto amarelo. Foi obtido o composto de partida e não o fenólico.

5a. tentativa [29,100]

- Alquilação do 4-metilcatecol e do ácido 3,4-diidróxibenzóico



Em um balão de 100 mL de três bocas, provido de agitador magnético, funil de adição e condensador de refluxo com tubo de cloreto de cálcio, colocou-se uma solução de 1 g (1,34 mol) de 4-metilcatecol em 15 mL de éter etílico anidro e adicionou-se 0,8 g (5,36 mol) de hidreto de sódio, mantendo-se a mistura sob agitação por 1 hora. Após esse período, adicionou-se 8,40 g (4,40 mL; 5,36 mol) de iodeto de etila em 5 mL de éter anidro, gota a gota, e refluxou-se a mistura por 6 horas. Adicionou-se água destilada (10 mL) e foi feita a extração da fase aquosa com éter (3 X 50 mL). A fase etérea foi seca com sulfato de sódio e o solvente foi evaporado em rota evaporador. Não foi obtido o composto alquilado.

Este procedimento também foi repetido para o ácido 3,4-diidróxibenzóico, utilizando-se as seguintes quantidades de material: 1 g (6,5 mmol) do ácido; 0,8 g de NaH (5,36 mol) e 3,0 g (1,5 mL, 19 mmol) de iodeto de etila. Também neste caso não foi obtido o composto alquilado.

Em ambos os casos houve a formação de um sal insolúvel (fenolato de sódio) em éter, no momento da adição do hidreto de sódio.

6a. tentativa [100]

- Alquilação do ácido 3,4-diidróxibenzóico

Para uma mistura de 1,0 g (6,5 mmol) do ácido 3,4-diidróxibenzóico, 1,80 g (13 mmol) de carbonato de potássio e de 20 mL de DMF foram adicionados 3,0 g (1,5 mL; 19 mmol) de iodeto de etila. A mistura reacional foi aquecida, à temperatura de refluxo, por 6 horas. Um complemento de mais 1,5 mL de iodeto de etila e 0,90 g de carbonato de potássio foram adicionados e a reação foi mantida sob refluxo por mais três horas. Após esse período, a mistura reacional foi, então, filtrada. O material insolúvel foi lavado com DMF e, então, o filtrado e o solvente de lavagem foram juntados e evaporados em evaporador rotatório. O resíduo foi lavado com água, filtrado e seco sob vácuo. Não foi obtido o composto desejado.

3.3. RMN de ^1H e de ^{13}C

Na obtenção dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos sintetizados foi utilizado um espectrômetro de RMN de 500 MHz (INOVA 500 da VARIAN). As condições experimentais de RMN de ^1H e de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ estão apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Condições experimentais de RMN de ^1H em um equipamento de 500 MHz

Condições Experimentais de RMN de ^1H	
Espectrômetro	INOVA-500
Solvente	DMSO
Concentração	15-20 mg.mL ⁻¹
Referência	0,03% TMS (v/v)
sfrq (Frequência)	499,88 MHz
Tn (Núcleo)	^1H
At (Tempo de Aquisição)	4,000 s
np (Número de Pontos de Dados)	64 K
sw (Largura Espectral)	16 ppm
d1 (Tempo de espera da reciclagem)	0
nt (Número de Transientes/Incremento)	32
fn (Preenchimento de Zero)	64 K
lb (Largura de Linha)	0,3 – 0,9 Hz
Temperatura	ambiente

Tabela 2. Condições experimentais de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ em um equipamento de 500 MHz

Condições Experimentais de RMN de ^{13}C	
Espectrômetro	INOVA-500
Solvente	DMSO
Concentração	15-20 mg.mL ⁻¹
Referência	0,03% TMS (v/v)
sfrq (Frequência)	125,696 MHz
nt (Núcleo)	^{13}C
at (Tempo de Aquisição)	1,024 s
np (Número de Pontos de Dados)	64 K
sw (Largura Espectral)	256 ppm
d1 (Tempo de espera da reciclagem)	1,5
nt (Número de Transientes/Incremento)	10000-18000
fn (Preenchimento de Zero)	64 K
lb (Largura de Linha)	1 Hz
Temperatura	ambiente

Para se obter uma melhoria na resolução de alguns sinais de hidrogênios (principalmente dos duplo duplo dubletos de H-4' e H-6' que apareceram distorcidos em dubletos), na série das quinazolininas com *N*-fenila *m*-substituídas (**4a-4j**), utilizou-se funções de apodização ($gf = 1,2$ s e $lb = -0,80$ Hz).

Para uma atribuição mais precisa dos sinais de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, utilizou-se os experimentos bidimensionais gCOSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$), HSQC ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) e gHMBC ($^n\text{J}_{\text{C-H}}$). Na aquisição dos diagramas de contorno gHMBC foi utilizado $^n\text{J}_{\text{C-H}} = 8,0$ Hz. O experimento gCOSY ajudou na atribuição dos sinais de hidrogênios, principalmente das metoxilas ligadas nas posições 6 e 7 do anel quinazolinico. Já o diagrama de contorno HSQC contribuiu para a atribuição dos sinais dos carbonos metínicos. Os sinais dos carbonos quaternários foram atribuídos corretamente através das correlações a longa distância, observadas no diagrama de contorno gHMBC.

3.4- Coeficientes de Partição

3.4.1- Determinação do índice cromatográfico de hidrofobicidade (CHI) através de HPLC de gradiente rápido de fase reversa em valores de pH baixo, neutro e alto [62,70].

Este método foi desenvolvido e completamente automatizado por Valkó [62] nos laboratórios de Ciências Físicas da GlaxoSmithKline Medicine Research Centre, Stevenage, Inglaterra.

Os parâmetros instrumentais estão apresentados abaixo:

HPLC	HP Hewlett – Packard Série 1100		
Coluna analítica	50 X 4.6 mm 5µm Luna C-18 (2) Phenomenex Cat#: 00B-4252-E0		
Fase móvel	ver 3.4.1.1		
Gradiente	Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
	0	100	0
	0.5	100	0
	3	0	100
	3.5	0	100
	3.7	100	0
	4.5	100	0
Fluxo	2.0mL/min		
Temperatura	25 ⁰ C		
Detecção	UV @ 230nm e 254 nm		
Volume de injeção	3µL		
Tempo aproximado de corrida	5 min		

As 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas (**3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'**) estudadas foram sintetizadas conforme apresentado na Parte Experimental 3.2 (v. p. 33). As amostras foram preparadas pela dissolução de aproximadamente 1 mg de cada quinazolina em 0,5 mL de solução de acetonitrila 50% (v/v) (Rathburn, Walkerburn, UK) e 0,5 mL acetato de amônio 50% (v/v) 50 mM L⁻¹ (Fisons, Loughborough, UK), solução de pH 7,4. Uma alíquota da solução (3 µL) foi injetada no sistema de HPLC.

A aquisição e o processamento dos dados foram executados em um PC Hewlett Packard com software Chemstation HP (Hewlett – Packard).

3.4.1.1- Preparação das fases móveis

Três fases móveis diferentes foram usadas como fase móvel **A** para a análise das 4-anilinoquinazolinas **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'**. Primeiramente, para obter um valor equivalente ao logP_{oct}, em pH 7,4, foi usado um tampão de acetato de amônio com concentração de 50 mM. Para reduzir a ionização de compostos básicos, o pH da solução de acetato de amônio 50 mM foi ajustado para pH 10,5 com amônia concentrada. Por último, foi usado como fase móvel 0,01 mol. L⁻¹ de ácido fosfórico (pH 2,0) para as medidas dos tempos de retenção das quinazolinas em pH ácido.

Como modificadores orgânicos, **B**, utilizou-se acetonitrila ou metanol.

3.4.1.2- Calibração do HPLC

Primeiramente, as soluções padrões foram injetadas no sistema HPLC e seus tempos de retenção foram medidos. A mistura padrão continha os compostos apresentados na Tabela 3 em uma concentração de aproximadamente 0,2 mg/mL em acetonitrila:água (50:50, v/v). Para obter os valores de CHI com gradiente de metanol, uma mistura padrão um pouco diferente foi usada [0,2mg/mL em metanol:água (50:50, v/v)]. Seus componentes e seus valores de CHI_{MeOH} estão listados na Tabela 4.

Um cromatograma típico da mistura teste é mostrado na Figura 7 (v. p. 24). Para se obter as equações da linha reta a partir das análises de regressão, foram construídos gráficos dos tempos de retenção obtidos (tR) *versus* os valores de CHI da

mistura padrão, nos respectivos valores de pH e modificadores orgânicos, conforme listado nas Tabelas 3 e 4.

Os tempos de retenção de alguns dos componentes da mistura teste variam com o pH, porque estes possuem cargas em valores de pH baixo ou alto. O tempo de retenção da acetofenona, propiofenona, butirofenona e da valerofenona é constante, em todos os valores de pH [62].

Os gráficos de calibração para as medidas de CHI são mostrados nas Figuras 9-12. O coeficiente (**A**) e interseção (**B**) da linha reta (Equação 26) foram usados para converter os tempos de retenção (t_R) do gradiente das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinias (**3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'**), medidos sob as mesmas condições da mistura teste, para valores de CHI, em cada valor de pH que é representado por a.

$$CHI_a = AtR_a + B \quad (26)$$

Tabela 3- Os valores de CHI conhecidos [62,69,70] e os tempos de retenção (t_R) dos compostos da mistura padrão para a calibração do gradiente do HPLC para medidas de CHI em três valores diferentes de pH, usando gradiente de acetonitrila.

Compostos padrão	t_R (7,4)	CHI _{7,4} em pH 7,4	t_R (10,5)	CHI _{10,5} em pH 10,5	t_R (2,0)	CHI _{2,0} em pH 2,0
Teofilina	1,294	18,40	1,080	4,97	1,032	6,30
Feniltetrazol	1,396	23,60	1,331	15,98	1,299	17,90
Benzimidazol	1,539	34,30	1,525	30,61	1,736	42,20
Cochicina	1,758	42,00	1,759	43,86	1,915	43,90
Fenilteofilina	1,906	51,20	2,013	51,30	2,007	51,70
Acetofenona	2,103	65,10	2,091	64,12	2,093	64,10
Indol	2,271	71,50	2,252	72,07	2,268	72,10
Propiofenona	2,359	77,40	2,349	77,42	2,350	77,40
Butirofenona	2,552	87,50	2,544	87,33	2,545	87,30
Valerofenona	2,727	96,20	2,721	96,36	2,723	96,40

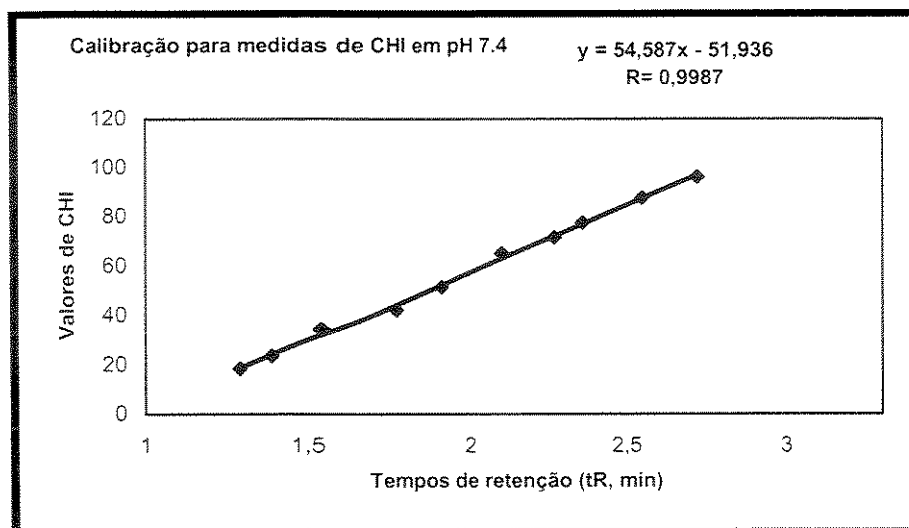


Figura 9- Gráfico dos tempos de retenção (tR) *versus* valores de CHI da mistura padrão, em pH 7,4, com gradiente de acetonitrila.

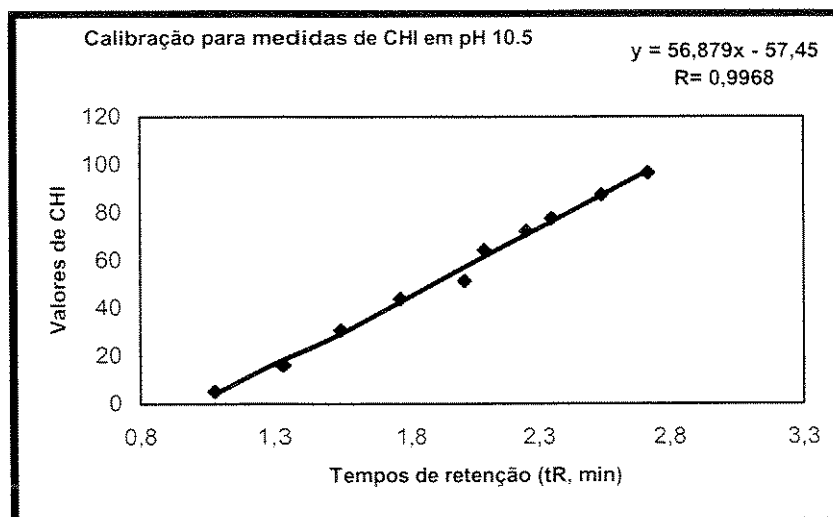


Figura 10- Gráfico dos tempos de retenção (tR) *versus* valores de CHI da mistura padrão, em pH 10,5, com gradiente de acetonitrila.

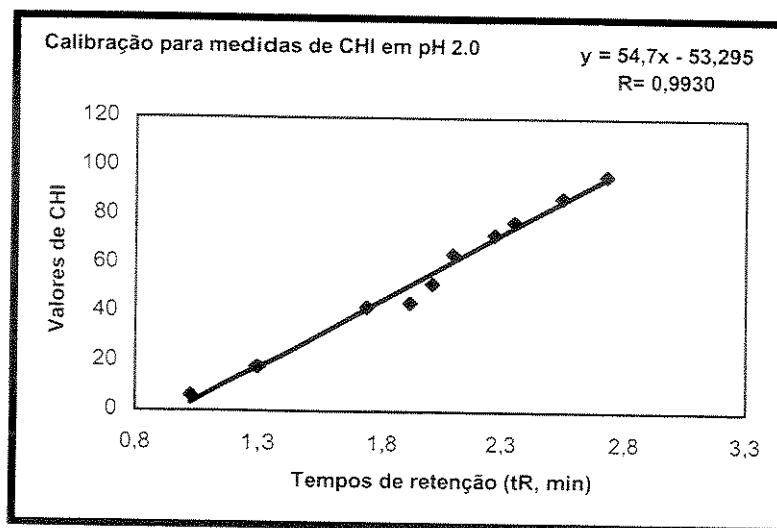


Figura 11- Gráfico dos tempos de retenção (tR) *versus* valores de CHI da mistura padrão, em pH 2.0, com gradiente de acetonitrila.

Tabela 4- Os valores de CHI estabelecidos [62,69,70] e os tempos de retenção obtidos dos compostos da mistura padrão para a calibração do gradiente do HPLC para medidas de CHI em pH 7.4, usando gradiente de metanol.

Compostos padrão	tR (7,4)	CHI _{7,4} em pH 7,4
Octanofenona	3,260	96,11
Heptanofenona	3,171	93,95
Hexanofenona	3,065	91,32
Valerofenona	2,933	87,53
Butirofenona	2,773	83,53
Propiofenona	2,585	78,29
Acetofenona	2,333	69,17
Acetanilida	2,060	54,50
Paracetamol	1,563	40,80

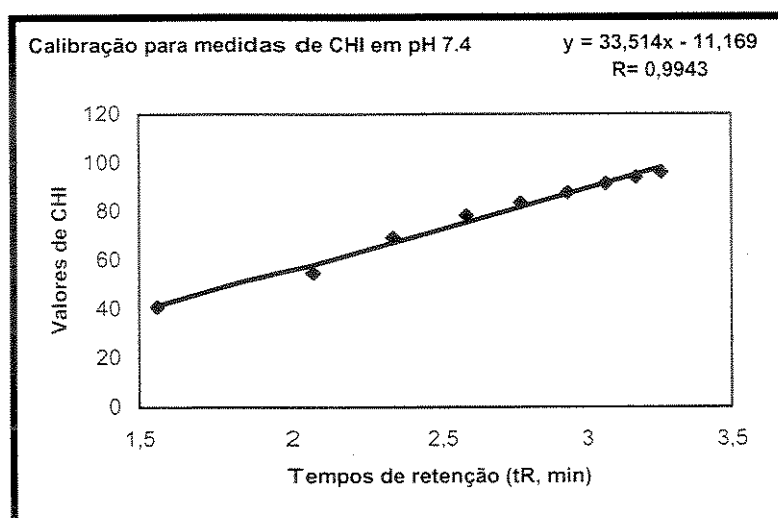


Figura 12- Gráfico dos tempos de retenção (tR) *versus* valores de CHI da mistura padrão, em pH 7,4, com gradiente de metanol.

Como pode ser verificado nos gráficos de regressão linear acima, os coeficientes de correlação ($R = 0,9987$; $0,9968$; $0,9930$ e $0,9943$, respectivamente) mostram muito boa concordância entre os dados (tempos de retenção *versus* valores de CHI da mistura teste). Tem sido apresentado [62,70] que a reprodutibilidade das medidas para compostos novos pode ser dentro de ± 2 unidades do índice CHI.

3.4.2- Determinação do coeficiente de partição, logP, no sistema octanol/água através das análises em HPLC (Método “Micro-Shake-Flask”) [67].

Este método foi desenvolvido e completamente automatizado por Hill [67] nos laboratórios de Ciências Físicas da GlaxoSmithKline Medicine Research Centre, Stevenage, Inglaterra.

Nesta parte do trabalho, será descrito o procedimento para a determinação dos valores de lipofilicidade para os compostos **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. Esquema 1, p. 5), considerando a distribuição/partição dos mesmos no sistema de solventes octanol/água tradicional. Com os dados experimentais em mãos foi possível confrontar com os valores obtidos através de métodos de cálculos.

Sem a utilização desta técnica (“micro-shake-flask”), que aceita o uso de DMSO para a dissolução dos compostos, não seria possível a obtenção desses resultados. Uma vez que o método “shake-flask” tradicional tem por regra, primeiro a dissolução do composto em água e depois apenas a análise da distribuição do mesmo na fase do octanol. As quinazolíνας estudadas, bem como uma grande maioria de outros fármacos, são muito pouco solúveis em água, o que inviabiliza o método tradicional.

3.4.2.1- Preparação das soluções saturadas para medidas de partição [67]

- O tampão de fosfato em pH 7,4, 50mM.

Para 1 litro:

1,309g de KH_2PO_4 (MM= 136,09 g.mol⁻¹)

7,185g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (MM=177.99 g.mol⁻¹)

Foi preciso medir o pH da solução e ajustá-lo conforme requerido.

- Octan-1-ol, em grau analítico.

Misturou-se aproximadamente 1 litro da solução tampão e 200 mL de octanol e a mistura foi agitada por no mínimo 5 horas até que as duas fases estivessem em

equilíbrio. A faixa de agitação foi branda o suficiente para permitir uma mistura razoável e também para impedir a formação de uma emulsão, que é difícil de ser separada.

A mistura foi transferida para um funil de separação para permitir a separação das duas fases. Em seguida, cada solução (tampão e octanol) foi deixada escorrer em seus frascos determinados. Então, cada solução foi filtrada utilizando os seguintes papéis filtro:

Solução tampão – Whatman no. 1

Octanol – Whatman 1PS, papel separador de fase de silicone.

O padrão interno, normalmente fenol, foi então adicionado ao octanol, 10 mg/100 mL.

3.4.2.2- Preparação das amostras a serem analisadas

As 20 quinazolinas foram preparadas em soluções com concentrações de 10 mM em DMSO.

3.4.2.3- Soluções da partição

Em um frasco de vidro (viável para o HPLC, Chromacol Gold) com capacidade para 2 mL e tampa selante, foram colocadas as seguintes soluções:

20 μ L da solução de quinazolina (10 mM em DMSO)

980 μ L da solução tampão aquosa, saturada com octanol.

200 μ L de octanol, saturado com solução tampão aquosa, com padrão interno (fenol).

O preparo da solução de particionamento foi executado com um “robot” de dispersão de líquido.

Os frascos das amostras foram selados e deixados em um misturador rotatório por no mínimo 1,5 h para permitir o equilíbrio completo (distribuição da amostra entre as fases octanol/água).

Foi preparado um **branco**, usando 20 μL de DMSO e 200 μL de octanol sem o padrão interno.

3.4.2.4- Medidas

A análise no HPLC foi feita em ambas as fases (octanólica e aquosa) e utilizou um gradiente genérico, como descrito abaixo:

HPLC	Agilent (HP) modelo 1100		
Coluna analítica	50 X 4.6 mm 5 μm Luna C-18 (2) Phenomenex Cat#: 00B-4252-E0		
Fases móveis	A- $\text{H}_2\text{O} + 0,1\% \text{H}_3\text{PO}_4$ B- 95% MeCN + 5% $\text{H}_2\text{O} + 0,1\% \text{H}_3\text{PO}_4$		
Gradiente genérico	Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
	0 – 0,5	100	0
	0.5 – 4,0	0	100 (linear)
	4,0 – 5,5	0	100
	5.5 – 5,7	100	0
	5,7 – 7,5	100	0
Fluxo	1,5 mL/min		
Volumes de injeção	Fase aquosa – 10 μL Fase do octanol – 1 μL		
Temperatura	40°C		
Deteccção	UV @ 215, 230, 256, 350 e 450 nm		
Tempo do ciclo	7,5 minutos		

O equipamento foi programado para realizar o estágio de mistura e injeção. Na injeção de 10 μL da fase aquosa, a agulha do injetor pode penetrar na fase aquosa sem, no entanto, carregar qualquer traço da fase do octanol. Para a análise da fase octanólica, antes de fazer a injeção na coluna, o equipamento removeu 1 μL da fase do octanol e 10 μL de metanol (de outro frasco) e fez a mistura dos dois volumes.

A determinação do **branco** foi realizada em todas as etapas.

3.4.3- Os valores dos coeficientes de partição, logP, obtidos através de alguns métodos de cálculos

Vários métodos de cálculos estão disponíveis para que os coeficientes de partição no sistema octanol/água (logP) possam ser estimados a partir da estrutura química [62]. Sendo que, o programa mais amplamente usado e antigo é o “MedChem clogP” (Daylight Chemical Information Systems), que é baseado no uso de valores de logP de fragmentos moleculares derivados de uma database imensa de dados medidos [64]. Há também métodos de cálculos que são baseados nas constantes dos fragmentos atômicos, ou outros descritores 2D da estrutura química, tal como ACD/logP [65].

Abraham [72-74] sugeriu uma relação linear de energia livre (LFER) para descrever vários processos de partição das moléculas. A Equação 15 apresenta a equação de solvatação (v. p. 27):

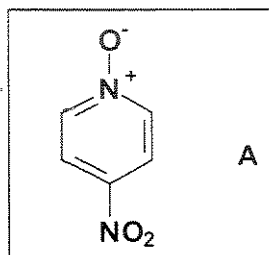
$$SP = c + rR_2 + s\pi_2^H + a\sum\alpha_2^H + b\sum\beta_2^H + vV_x \quad (15)$$

onde SP é uma propriedade do soluto (como por exemplo, solubilidade e logaritmo do coeficiente de partição) e as variáveis explicativas são descritoras do soluto e as constantes de regressão c, r, s, a, b e v (obtidas por análise de regressão linear múltipla) representam as características da combinação particular de sistemas de solventes [62,72-74]. Os descritores moleculares (R_2 , π_2^H , $\sum\alpha_2^H$, $\sum\beta_2^H$ e V_x) são calculados utilizando-se o programa ABSOLV [72,81]. Os dados são calculados a partir das estruturas químicas dos compostos (“Smiles”), desenhadas no programa clogP [64]. O programa ABSOLV inclui vários métodos semi-empíricos de cálculos de propriedades físico-químicas (logP em vários sistemas de solventes e de HPLC) e biológicas. Todos estes modelos foram desenvolvidos e testados por Platts e col. [73,81] a partir da parametrização com dados experimentais. Os valores do volume característico de McGowan (V_x), em unidades de $\text{cm}^3/100 \text{ mol}$, foram calculados a partir da estrutura molecular usando os volumes atômicos, constantes da ligação [75] e o algoritmo de Abraham [72] para o número de ligações.

3.4.4- Determinação dos valores de logP através do método Shake-flask tradicional [66]

Esta parte foi desenvolvida no laboratório de Físico-Química do Dr. Michael H. Abraham, na “University College London”, em Londres.

Este foi o primeiro método testado experimentalmente para as determinações dos coeficientes de partição. Para esse fim, o Dr. Abraham sugeriu um composto modelo (**A**, 4-nitropiridina-*N*-óxido) para serem determinados os valores de logP em vários sistemas de solvente/água. Assim, foi feito um bom treinamento para a determinação de coeficientes de partição através do método “shake-flask” tradicional.



É interessante ressaltar que, esta etapa experimental foi focalizada no uso de solventes que são mais densos do que a água, de maneira a facilitar o experimento. Tais solventes podem ser clorofórmio, diclorometano, tetraclorometano, 1,2-dicloroetano, clorobenzeno, bromobenzeno e etc.

Normalmente, o experimento é realizado como descrito no Esquema 7 [66]:

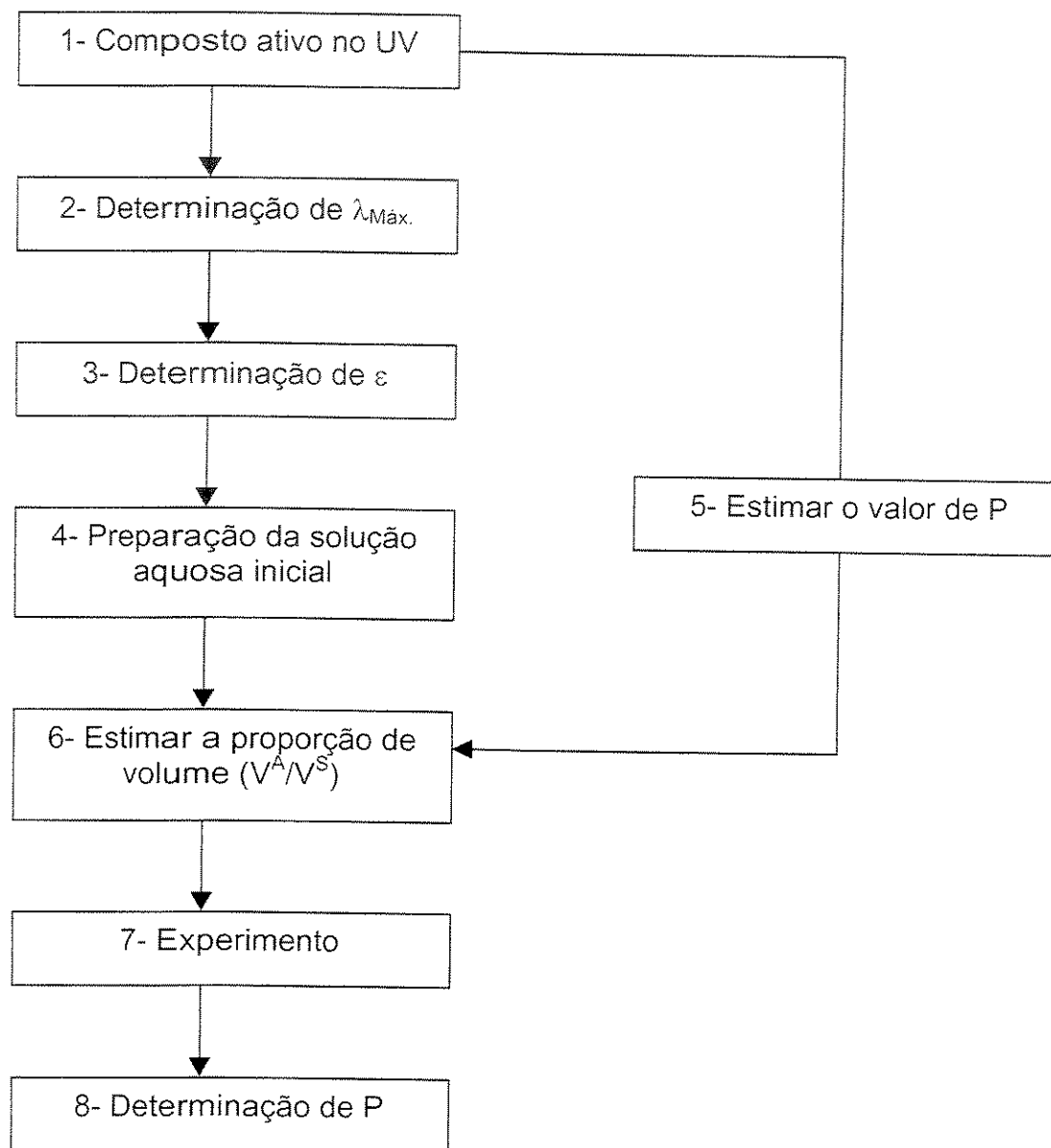
Primeira etapa – É necessário que o composto selecionado seja ativo na região UV.

Procurar na literatura o comprimento de onda máximo do composto, $\lambda_{\text{máx.}}$, que é o valor em que o soluto tem a maior absorbância no UV e seu coeficiente de absorptividade molar, ϵ , é o maior. Se não há dados disponíveis, eles têm que ser determinados.

Além disso, alguns compostos não serão solúveis em água mas em solventes orgânicos tais como acetona, metanol e etc. A alternativa é, então, preparar uma solução estoque do analito em um dos solventes orgânicos e dissolver alguma

quantidade desta solução estoque em água para obter a solução desejada. É claro que somente solventes que são solúveis em água serão considerados!

Abaixo segue um esquema experimental [66]:



Esquema 7- Caminho experimental para a determinação dos coeficientes de partição ($\log P$) pelo método "shake-flask".

Segunda etapa – O soluto na fase aquosa ou em água e mais uma pequena quantidade de solvente é analisado por espectroscopia no UV entre 800 e 200 nm de forma a determinar o comprimento de onda no qual a absorbância é máxima.

Em geral, uma solução do analito (10^{-5} a 10^{-4} mol/L) é preparada e analisada na região do UV. Soluções de concentrações maiores ou menores do que a citada acima podem ser requeridas, dependendo da sensibilidade do analito estudado no UV.

Terceira etapa – Uma vez que o valor do $\lambda_{\text{máx}}$ é determinado, o coeficiente de absorptividade molar do soluto, neste comprimento de onda, pode ser obtido.

Este experimento consiste em preparar uma série de soluções cobrindo uma faixa de concentrações, por exemplo de 10^{-5} a 10^{-3} . A absorbância, A , de cada solução é medida no valor de $\lambda_{\text{máx}}$. Os valores de A são, então, plotados contra os valores de C (concentrações) correspondentes. Uma reta deveria ser obtida. De acordo com a Equação 10 (v. Revisão Bibliográfica 2.4.1, p. 22) e devido à largura da célula de UV ser igual a 1 cm, o valor do coeficiente de absorptividade molar é obtido a partir da inclinação da reta.

Embora o valor de ε não seja requerido na determinação de P , veja Equação 11 (v. Revisão Bibliográfica 2.4.1, p. 22), ele é importante para verificar se a correlação linear entre A e a concentração, C , é respeitada naquela faixa de concentração escolhida.

Quarta etapa - A concentração inicial é determinada através do gráfico de A contra C . A concentração que conduz ao maior valor de absorbância (A) é freqüentemente a escolhida.

Quinta etapa – É interessante estimar previamente o valor de P , porque isto pode ajudar na escolha da fração de volume, V^A/V^S .

Os valores de P podem ser estimados através do uso do método de fragmentação [64].

Sexta etapa – A proporção de volume pode ser calculada a partir da Equação 11 (v. p.22).

Em seguida, a fração A_0/A_e pode ser estabelecida pelo pesquisador. A_0 , a absorbância da solução inicial, que foi medida. A_e pode ser algum valor de absorbância bem abaixo de A_0 . Por exemplo, se A_0 é igual a 1.5, A_e poderia ser igual a 0.5, a proporção dos dois sendo 3.

Se $P=30$

Então, através da Eq. 11, $(V^A/V^S)=30/[(1.5/0.5)-1]=15$

$$V^A = 15 * V^S$$

O volume da fase aquosa precisa ser 15 vezes maior do que o volume da fase orgânica.

Conforme pôde ser verificado acima, quanto maior é o valor de P maior será o excesso da solução aquosa.

Sétima etapa – Uma vez que a proporção de volume foi estimada, o experimento pode ser iniciado.

O volume apropriado da fase orgânica é adicionado à solução aquosa.

As fases são agitadas por no mínimo três horas de maneira a alcançar o equilíbrio.

Para saber se o equilíbrio é alcançado, é necessário medir a absorbância do soluto na fase aquosa a cada hora. Assim, o pesquisador pode acompanhar o decréscimo na absorbância conforme o soluto se distribui nas duas fases. Um gráfico da absorbância *versus* tempo deve ser feito. O equilíbrio é alcançado quando a absorbância não muda mais.

3.5- O efeito de compostos quinazolínicos sobre a função contrátil do coração

Os resultados de atividade biológica para algumas das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas sintetizadas, foram obtidos no laboratório de Fisiopatologia Cardiovascular (FCM-UNICAMP) pelos alunos de mestrado Rodrigo Miguel Marin e Jêniifer Silmara Mataruco Sant'Ana, sob a orientação do Dr. Kleber Gomes Franchini [101,102].

Para testar os efeitos das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas **3a**, **4b'**, **4d**, **4e**, **4e'**, **4h**, **4h'**, **4i** e **4j'** (v. Esquema 1, p. 5) sobre a função contrátil do coração utilizamos preparação de coração isolado do tipo Langendorff. Nesta preparação o coração é perfundido com tampão HEPES oxigenado contendo em mM (20 HEPES, 137 NaCl, 1,2 MgSO₄, 5 KCl, 1,5 CaCl₂ e 16 D-glucose). O coração de rato Wistar macho é conectado pela aorta ascendente ao reservatório de tampão e então perfundido a uma pressão hidrostática de 70 mmHg, de acordo com o esquema da Figura 13.

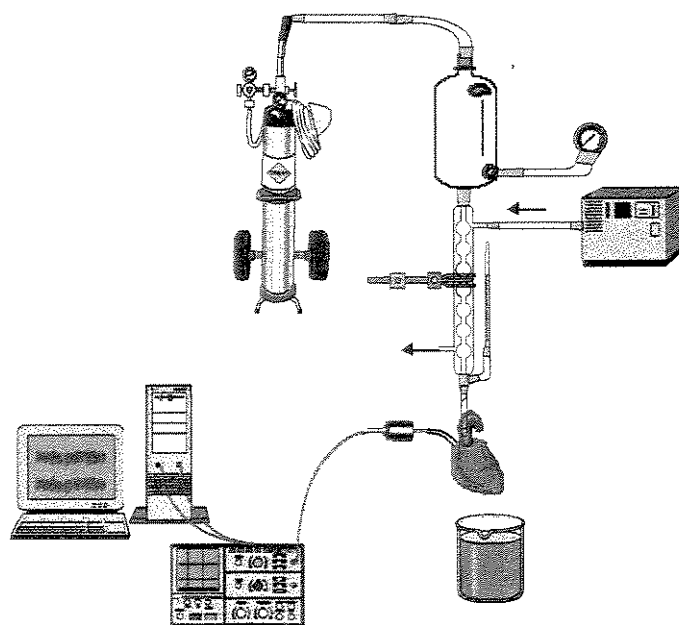


Figura 13- Esquema do sistema de perfusão de coração isolado e registro da pressão ventricular esquerda utilizado.

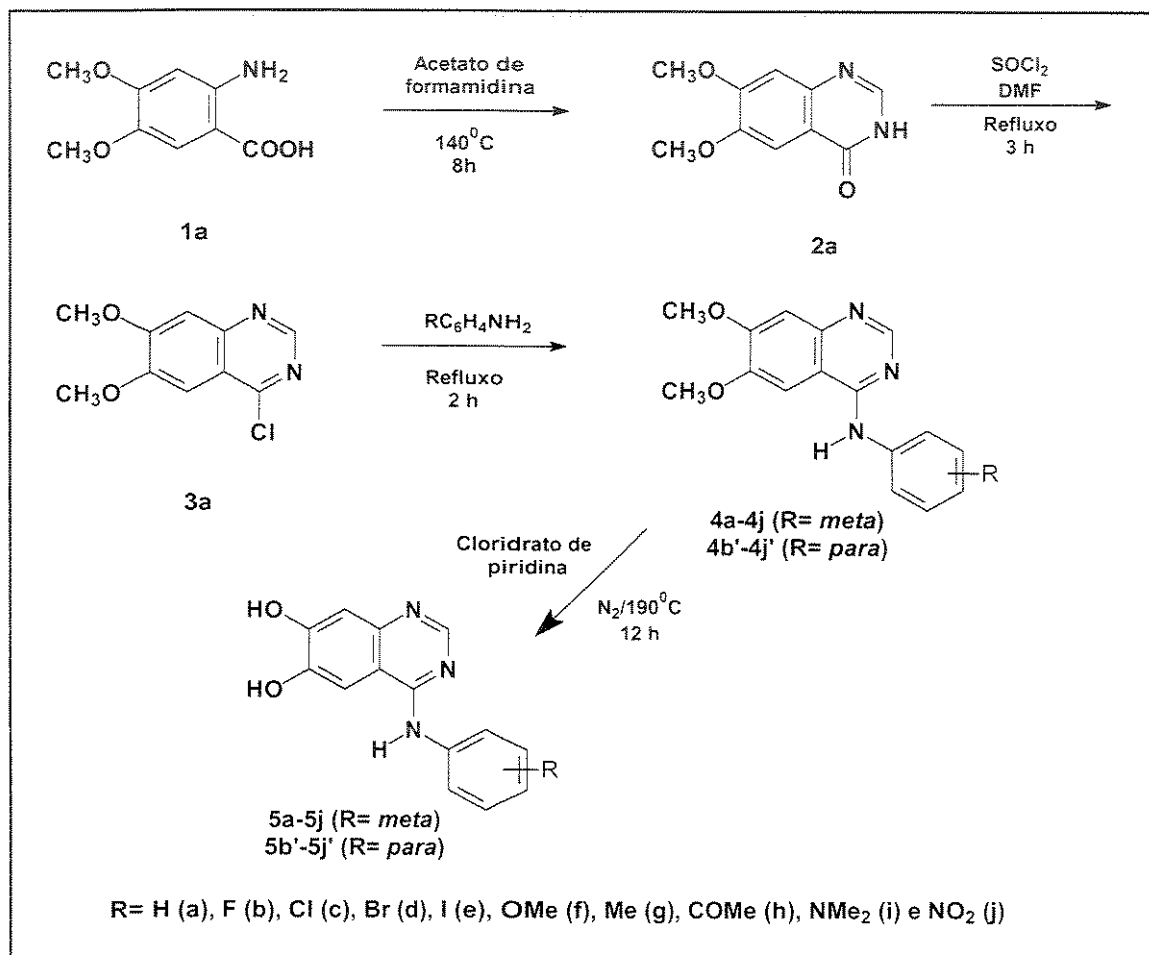
A função cardíaca foi avaliada através da pressão gerada pela contração isovolumétrica em um balão de látex posicionado no ventrículo esquerdo. A onda de pressão pulsátil gerada no balão intraventricular foi detectada por transdutor de pressão conectado ao balão, através de cânula de polietileno, preenchida com solução salina. O sinal de pressão foi amplificado e, através de um conversor analógico/digital, digitalizado e armazenado em computador para a análise através do programa Windaq.

A preparação de coração isolado do tipo Langendorff (Figura 13) tem sido largamente empregada para se avaliar a função contrátil do ventrículo esquerdo. Este experimento avalia o desempenho contrátil durante a contração isovolumétrica. Experimentos como aumento do volume diastólico ou estiramento diastólico, adição de substâncias com efeito inotrópico positivo (inibidores que atuam em múltiplos sítios e mecanismos intracelulares) no tampão e alteração na concentração de cálcio no banho de perfusão provocam aumento na força de contração que é avaliada como aumento de pressão sistólica [101,102].

4- Resultados e Discussão

4.1- Síntese dos compostos

As etapas sintéticas exploradas para a preparação dos compostos estão ilustradas no Esquema 8. Os derivados de 4-anilinoquinazolininas **4a-4j** (substituinte na posição *meta*) e **4b'-4j'** (substituinte na posição *para*) e seus intermediários (**2a** e **3a**) foram sintetizados com base na metodologia geral, que já é bem descrita na literatura [29]. As condições sintéticas e os dados físico-químicos e espectroscópicos estão descritos na Parte Experimental 3.2 (v. p. 33).



Esquema 8- Síntese dos compostos fenólicos **5a-5j** e **5b'-5j'**.

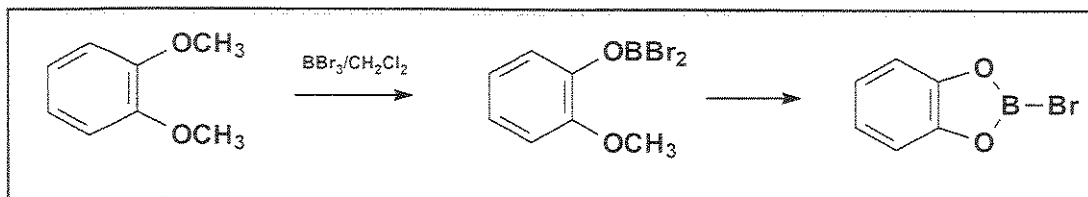
Na primeira etapa, a reação do ácido 2-amino-4,5-dimetoxibenzóico (**1a**) com acetato de formamidina conduziu à subsequente ciclização *in situ* para a 6,7-dimetóxi-4-quinazolinona (**2a**), em rendimento razoável (76%) (v. Exp. 3.2.1, p. 33). A segunda etapa na derivatização, envolveu a conversão de **2a** para o derivado 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) com cloreto de tionila contendo uma quantidade catalítica de DMF (rendimento de 79%) (v. Exp. 3.2.2, p. 34) [29].

Na terceira etapa, a reação do composto 4-cloroquinazolina (**3a**) com as respectivas anilinas substituídas, em isopropanol sob refluxo, levou à formação das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas 3'- e 4'-substituídas (R=H, F, Cl, Br, I, OME, Me, C(O)CH₃, N(CH₃)₂ e NO₂) através da substituição nucleofílica aromática do cloro do intermediário **3a** (v. Exp. 3.2.3, p. 35). Os rendimentos das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas (**4a-4j**) e (**4b'-4j'**) foram na faixa de 51 a 93%. Talvez, a variação grande de rendimentos se deva à solubilidade baixa de algumas das anilinas 3'- e 4'-substituídas em isopropanol. Sendo que 12 dos 19 compostos sintetizados ainda não estão descritos na literatura. Entre os inéditos encontram-se os derivados **4b'**, **4d'**, **4e'**, **4f**, **4f'**, **4g'**, **4h**, **4h'**, **4i**, **4i'**, **4j** e **4j'**.

A quarta etapa envolveu a preparação dos compostos fenólicos a partir da desmetilação (clivagem da ligação CH₃-O) dos 6,7-dimetóxi-derivados pela fusão com cloridrato de piridina a 190°C (v. Esquema 8). Este procedimento foi relatado [29] como sendo efetivo na desproteção de grupamentos metila do alcóxi do composto 6,7-dimetóxi-4-(N-3'-bromofenil)aminoquinazolina (**4d**) e na formação de outros derivados de quinazolininas [10]. No entanto, não conseguimos reproduzir este procedimento. Algumas tentativas de desmetilação com outros reagentes sugeridos pela literatura clássica [94-96] [HBr (48%) e HI (57%)] também não produziram os fenóis esperados (v. Exp. 3.2.4, p. 42).

Foi verificado em levantamento bibliográfico [96-98], que o BBr₃ em CH₂Cl₂ é o reagente mais efetivo na clivagem da ligação CH₃-O (forma brometo de alquila e o alcóxiborano) (Esquema 9). No entanto, cabe salientar que nossas numerosas tentativas de síntese dos derivados fenólicos, utilizando este reagente, não conduziram aos produtos (v. Exp 3.2.4, 3a. Tentativa, p. 43). Um outro artigo [99] enfatiza que a

combinação dos reagentes tribrometo de alumínio e etanotiol ($\text{AlBr}_3\text{-EtSH}$) é altamente ativa na formação de fenóis (v. Exp. 3.2.4, 4a. Tentativa, p. 43).

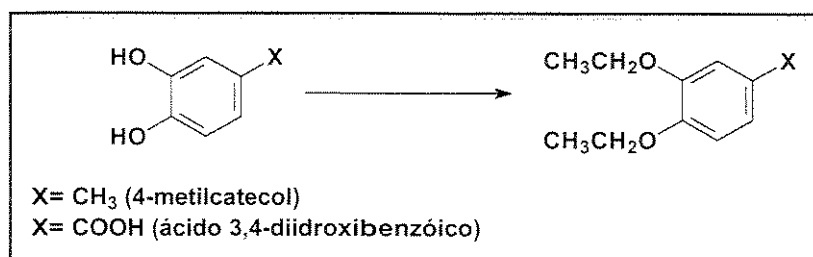


Esquema 9- Etapas envolvidas na desproteção de metilas do catecol [97].

Em todos os procedimentos, foi utilizado 1 mol de reagente para cada grupo alcóxi e mais um excesso de 1 mol para cada grupo contendo N ou O potencialmente básicos [97].

Diante de todas as tentativas negativas para a obtenção desses derivados fenólicos, acredita-se que os vários pares de elétrons não-ligantes da estrutura possam estar interferindo na ação desses reagentes (BBr_3 , AlBr_3 , AlCl_3). Uma vez que eles atuam como ácidos de Lewis ligando-se aos pontos que contêm elétrons livres.

Tentou-se, então, preparar o aminoácido de partida, ácido 2-amino-4,5-dietoxibenzóico (não é produto comercial), a partir da etilação dos grupamentos OH do 4-metilcatecol e do ácido 3,4-diidróxibenzóico (Esquema 10). O problema encontrado na alquilação das hidroxilas desses dois reagentes, utilizando iodeto de etila e hidreto de sódio, foi com relação à formação de um sal insolúvel (fenolato de sódio) que impede a reação com o iodeto de etila.



Esquema 10- Alquilação dos grupamentos fenólicos do 4-metilcatecol e do ácido 3,4-diidroxibenzóico.

No caso do ácido 3,4-diidróxibenzóico, uma recente publicação [100] descreve as etapas sintéticas para a alquilação, nitração e redução do nitro para amino, para a obtenção de um derivado aminoéster alquilado. Estas etapas deveriam se aplicar à preparação do nosso aminoácido alvo. No entanto, conforme descrito na Parte Experimental 3.2.4 (5a. e 6a. Tentativas, pp. 44 e 45), a etapa de proteção do fenol com iodeto de etila não aconteceu.

Devido às dificuldades encontradas na preparação do material de partida e dos intermediários fenólicos, não foi possível a obtenção dos derivados 6,7-dietóxi-4-anilinoquinazolinas (**6a-6j**) e (**6b'-6j'**), conforme proposto no Esquema 1 (Objetivos, p. 5). No entanto, pode-se considerar que o conjunto de resultados obtidos para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas (**4a-4j**) e (**4b'-4j'**) sob o ponto de vista de síntese, espectroscopia, coeficientes de partição experimentais e calculados, atividade biológica (avaliação dos efeitos desses inibidores de tirosina quinases sobre a função contrátil do coração) é bastante interessante, o que tornam estes compostos tão importantes quanto os 6,7-dietóxiderivados.

4.2- Caracterização das estruturas por RMN de ^1H e de ^{13}C

Os compostos obtidos foram caracterizados através dos seus espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C (Tabela 5), IV, análise elementar, espectros de massas e de seus ponto de fusão. Nesta etapa do trabalho serão discutidas as atribuições de RMN de ^1H e de ^{13}C . Os outros dados estão compilados na Parte Experimental 3.2 (v. p. 33).

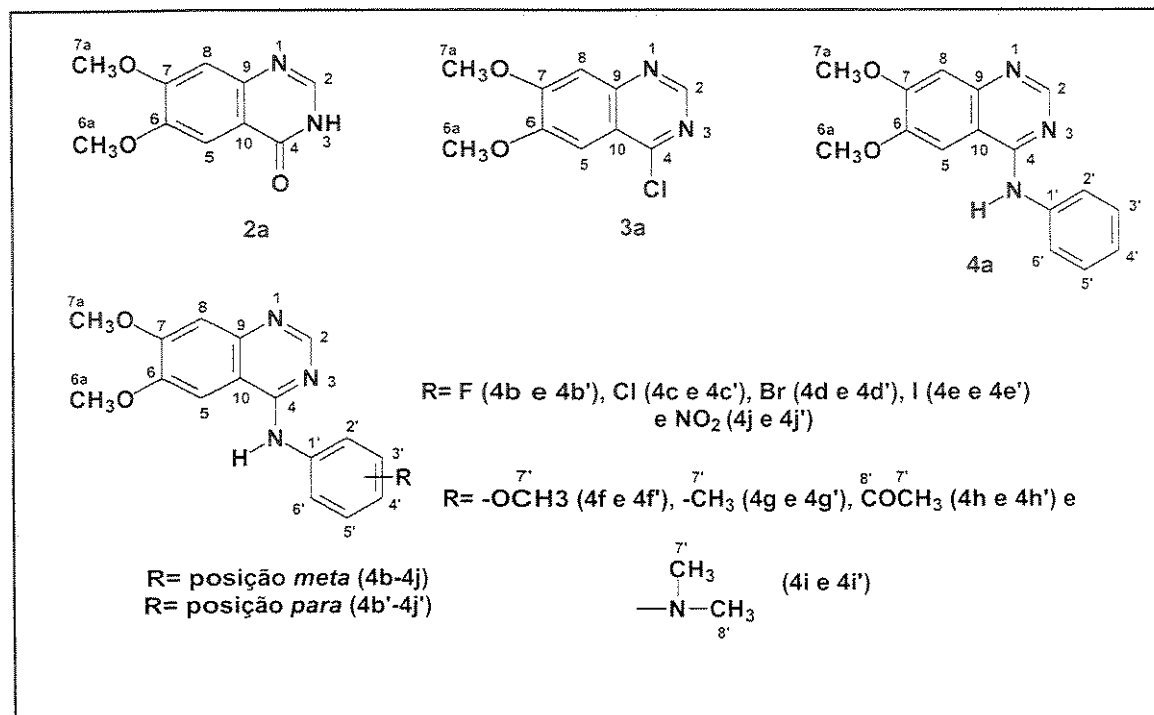


Figura 14- Numeração adotada para os átomos nas estruturas do sistema quinazolinico e N-fenila.

Os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e constantes de acoplamento (J), bem como multiplicidades, para os compostos **2a**, **3a**, **4a-4j** (*meta*) e **4b'-4j'** (*para*) (Figura 14) estão descritos na Parte Experimental 3.2 (v. p. 33). Devido a grande quantidade de espectros, optou-se por apresentar todos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e apenas alguns espectros de RMN em 2D (v. Anexo, p. 121).

Esses compostos apresentaram espectros de RMN de ^1H muito semelhantes, com padrões de acoplamentos característicos. Os hidrogênios H-2, H-5 e H-8 da estrutura quinazolinica básica dos compostos (Figura 15) apresentaram-se como

singletos. Os sinais dos hidrogênios dos grupos anilino (**4a**) e anilinos 1,3- e 1,4-dissubstituídos (como por exemplo, 3'- e 4'-bromoanilina), ligadas ao carbono C-4, apresentaram padrões de acoplamento característicos de anéis benzênicos monossustituídos (sistema AA'MM'X), 1,3-dissubstituídos (sistema ABMX) e 1,4-dissubstituídos (sistema AA'XX' ou AA'BB'), respectivamente (Figura 15) [103-105].

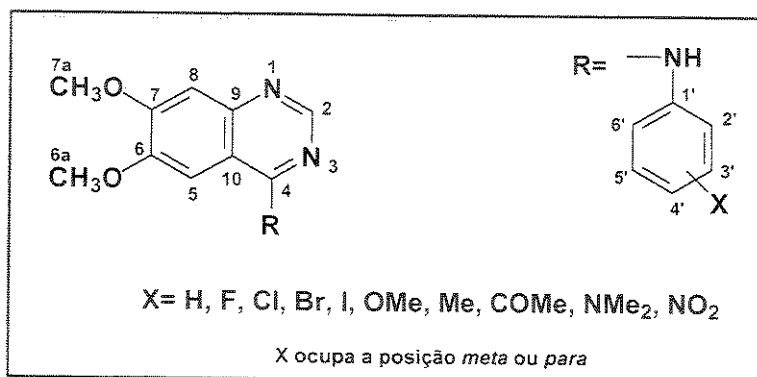


Figura 15- Fragmentos da estrutura dos compostos.

Além dos sinais dos hidrogênios H-2, H-5 e H-8 aparecerem como singletos bem definidos, H-2 apresentou-se sempre como o hidrogênio mais desprotegido. Isto pode ser atribuído ao fato de H-2 estar próximo a dois átomos de nitrogênio (eletronegativo) e sofrer, também, eventual desproteção anisotrópica pelos pares de elétrons não-ligantes dos mesmos. Já para os hidrogênios H-5 e H-8, o primeiro apresentou-se sempre mais desprotegido do que o segundo. Esta desproteção pode ser atribuída ao efeito anisotrópico provocado pela presença de grupamentos carbonila (**2a**), cloro (**3a**) e *N*-fenila substituídos (demais compostos) vizinhos a H-5, sendo que os grupamentos *N*-fenila provocam um efeito mais pronunciado. O hidrogênio H-8, em todas as estruturas, está sob uma menor influência anisotrópica do par de elétrons não-ligante do nitrogênio N-1.

Os sinais dos hidrogênios das metoxilas (H-6a, H-7a) apresentaram-se como dois singletos intensos e distintos na região entre 3,90-4,00 ppm. No diagrama de contorno gCOSY foi possível observar as correlações dos hidrogênios das metoxilas H-6a com H-5 (⁵J_{H-H}) e H-7a com H-8 (⁵J_{H-H}). Os deslocamentos químicos na região entre 10-11 ppm são referentes aos sinais dos hidrogênios N-H.

Os sinais dos hidrogênios dos anilinos 1,3-dissubstituídos (**4b-4j**) foram atribuídos corretamente (Figura 15a). Os sinais dos hidrogênios H-2' apresentaram-se como tripletos com $^4J_{H-H} \sim 2,0$ Hz devido ao acoplamento *meta* com H-4' e H-6'. Já os duplo duplo dubletos ($^3J_{orto} \sim 8,0$ Hz, $^4J_{meta} \sim 2,0$ Hz e $^4J_{meta} \sim 1,0$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-4' e H-6', pois apresentaram acoplamentos com H-5', H-2' e entre si. Os sinais dos hidrogênios H-5' desdobraram-se em tripletos, devido ao acoplamento *orto* deste com H-4' e H-6' ($^3J_{orto} \sim 8,0$ Hz). A ordem de proteção e desproteção destes hidrogênios é dependente da natureza dos substituintes.

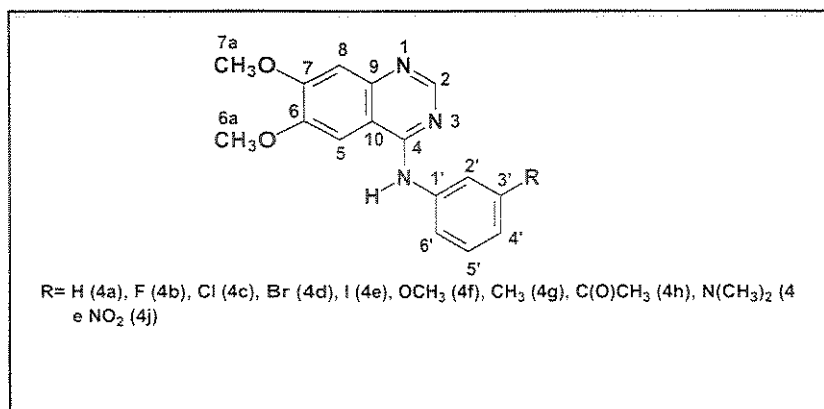


Figura 15a- Compostos com substituintes na posição *meta* do grupamento anilino.

Na estrutura da 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (**4b**), os sinais dos hidrogênios da parte 3'-fluorofenila apresentaram os seguintes desdobramentos: H-2' apresentou-se como um dubleto de tripletos com 3J (H-2'-F)= 11,0 Hz e $^4J_{meta}$ = 2,2 Hz. O sinal do hidrogênio H-6' não mostrou acoplamento com o flúor, então, o mesmo desdobrou-se em um ddd [3J = 8,3 Hz, 4J (H₆-H₂)= 2,2 Hz e 4J (H₆-H₄) ~ 1,0 Hz]. Já o dubleto de tripletos em 7,52 ppm foi atribuído ao próton H-5' [3J (H₅-H₄)= 3J (H₅-H₆)= 8,3 Hz e $^4J_{H-F}$ = 6,7 Hz]. Em 7,15 ppm, foi observado um tripleto de dubleto de dubletos [$^3J_{H-H}$ = $^3J_{H-F}$ = 8,3 Hz, 4J (H₄-H₂)= 2,2 Hz e 4J (H₄-H₆)= 1,0 Hz] que foi atribuído ao próton H-4' (v. Anexo, Figura A9, p. 131).

Os sinais dos hidrogênios H-2'/H-6' e H-3'/H-5' (cada par correspondendo a dois prótons quimicamente equivalentes, porém magneticamente distintos), do anilino (**4a**) (Figura 15a) e anilinos 1,4-dissubstituídos (**4b'-4j'**) (Figura 15b), apresentaram-se como dubletos sobrepostos ($^3J_{orto} \sim 8,0$ Hz). Já H-3' e H-5' do composto **4a** apareceram como

um tripleto devido ao acoplamento, também, com H-4' (para **4a**, o sistema de spins é AA'MM'X). Esta equivalência dos sinais foi atribuída à livre rotação, que é muito rápida para a escala da ressonância, entre as ligações dos grupamentos *N*-fenila e *N*-fenilas substituídos [103-105].

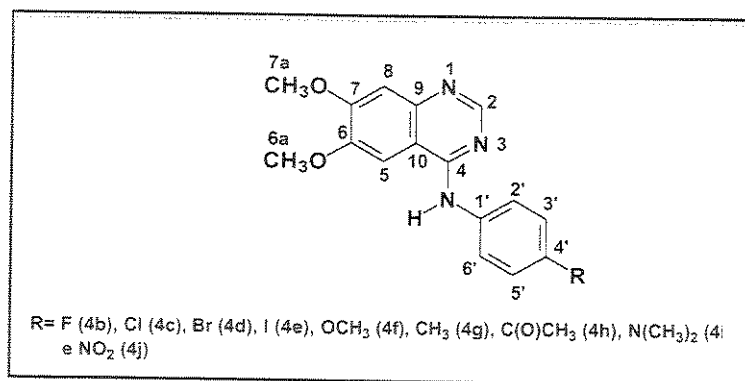


Figura 15b- Compostos com substituintes na posição *para* do grupamento anilino.

No caso dos grupamentos anilinos 1,4-dissubstituídos, seus hidrogênios se apresentam como um sistema de spins do tipo AA'XX' (ou AA'BB') e os sinais dos espectros com uma falsa aparência simples, em que os complexos multipletos de segunda ordem normalmente se mostram como pares de dubletos distorcidos [103-105]. Um caso extremo dessa falsa simplicidade se dá com o 6,7-dimetóxi-4-*N*-(4'-bromo)fenilaminoquinazolina (**4d'**), em que apenas um singlete (δ em 7,70 ppm) é observado no espectro de RMN de ^1H (v. Anexo, Figura A25, p. 147), levando a crer, numa análise descuidada, que não haja acoplamento entre os hidrogênios constituintes do sistema de spins. Na verdade, a simplicidade do espectro se deve a uma grande proximidade dos deslocamentos químicos de H-2'/H-6' e H-3'/H-5' [103-105].

Para o composto 6,7-dimetóxi-4-*N*-(4'-fluoro)fenilaminoquinazolina (**4b'**), com o flúor ligado ao carbono 4' da *N*-fenila, foram observados um duplo dubleto aparente ($^3J_{\text{H-H}} = 9,0$ Hz e $^4J_{\text{H-F}} = 5,0$ Hz) em 7,75 ppm para H-2' e H-6' e um tripleto aparente ($^3J_{\text{H-H}} = ^3J_{\text{H-F}} = 9,0$ Hz) em 7,32 ppm para H-3' e H-5' (v. Anexo, Figura A14, p. 136).

Parte de nossos objetivos foi realizar uma correta atribuição dos sinais de ^{13}C , uma vez que a literatura não apresenta estudos sistemáticos sobre este parâmetro para estes compostos. Os valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C para os

compostos **2a**, **3a**, **4a-4j** (*meta*) e **4b'-4j'** (*para*) (Figura 14) estão descritos na Tabela 5. Os seus espectros de RMN de ^{13}C estão apresentados no Anexo (v. p. 121).

Na atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C , os diagramas de contorno HSQC ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) e gHMBC ($^n\text{J}_{\text{C-H}}$) foram de importância fundamental. A ordem de proteção e desproteção, principalmente dos grupamentos *N*-fenila monossustituídos e dissustituídos, foi regida pela natureza protetora ou desprotetora dos substituintes.

Os sistemas bicíclicos apresentaram dois sinais referentes aos carbonos das metoxilas (C-6a e C-7a), atribuídos na região de aproximadamente 56-60 ppm. Apresentaram também, cinco sinais relacionados aos carbonos quaternários, sendo dois destes referentes aos carbonos de junção de anel benzênico (C-9 e C-10) e três sinais relacionados aos carbonos C-4 (C₄=O, C₄-Cl ou C₄-NHPh), C-6 e C-7. Os carbonos C-2, C-5 e C-8 são os metínicos.

Para os sistemas *N*-fenila dissustituídos foram observados dois sinais de carbonos quaternários [C-1' e C-3' (anilina 1,3-dissustituída) ou C-1' e C-4' (anilina 1,4-dissustituída)] e quatro sinais referentes aos carbonos metínicos (C-2', C-3' ou C-4', C-5' e C-6'). Na estrutura **4a**, foram observados cinco carbonos metínicos e um quaternário (C-1'), além de uma sobreposição dos sinais dos carbonos C-2' com C-6' e C-3' com C-5' (v. Anexo, Figura A4, p. 126) devido à livre rotação das ligações **C₄-NH-Ph**. Analogamente, esta sobreposição foi observada na série das anilinas *p*-substituídas (**4b'-4j'**).

Com relação aos carbonos metínicos (C-2, C-5, C-8, C-2', C-3' ou C-4', C-5' e C-6'), uma correta atribuição pode ser feita através do diagrama de contorno HSQC ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$), uma vez que a atribuição dos sinais dos hidrogênios correspondentes já tinha sido concluída. No caso dos carbonos metoxílicos C-6a e C-7a, a atribuição foi um pouco dificultada pela pequena diferença entre os deslocamentos químicos destes dois átomos de carbono ($\sim 0,5$ ppm). Contudo, através de uma análise cuidadosa no HSQC e no gHMBC, pôde-se fazer a elucidação.

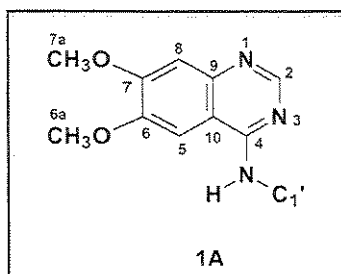
Tabela 5- Deslocamentos químicos^a de RMN de ¹³C dos compostos* 2a, 3a, 4a-4j e 4b'-4j'. $\delta(\text{ppm})$

No.	C-2	C-4	C-5	C-6	C-6a	C-7	C-7a	C-8	C-9	C-10	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'	C-8'
2a	143,8	160,0	107,9	148,5	55,8	154,3	55,6	104,8	144,8	115,5	-	-	-	-	-	-	-	-
3a ^b	146,0	158,6	105,4	149,3	56,1	155,0	55,9	103,5	137,7	114,6	-	-	-	-	-	-	-	-
4a	148,5	158,1	104,0	150,2	56,9	156,2	56,4	99,6	135,8	107,1	136,8	124,8	128,6	126,2	128,6	124,8	-	-
4b	148,7	158,0	104,0	150,2	57,0	156,3	56,4	100,0	136,1	107,4	138,8	111,5	161,7	112,6	130,1	120,3	-	-
4b'	148,7	158,2	104,1	150,1	57,0	156,2	56,4	99,9	135,7	107,2	133,3	126,9	115,4	160,0	115,4	126,9	-	-
4c	148,6	158,0	104,1	150,2	57,0	156,3	56,4	99,8	135,8	107,4	132,7	124,2	138,5	123,0	130,1	125,7	-	-
4c'	149,4	157,6	103,6	149,9	56,8	155,9	56,2	101,3	137,8	107,6	136,4	125,7	128,4	129,4	128,4	125,7	-	-
4d	148,7	158,1	104,3	150,3	57,2	156,4	56,6	99,7	135,8	107,5	138,8	127,2	121,2	123,7	130,6	128,8	-	-
4d'	148,6	157,9	103,6	150,2	56,9	156,3	56,4	99,5	135,3	107,1	136,0	126,7	131,5	118,6	131,5	126,7	-	-
4e	148,6	158,0	104,1	150,2	57,0	156,3	56,4	99,8	135,8	107,3	138,4	132,7	93,9	123,9	130,4	134,5	-	-
4e'	148,5	157,8	104,0	150,1	56,9	156,2	56,3	99,7	136,8	107,3	137,2	126,7	137,2	90,9	137,2	126,7	-	-
4f	148,5	158,1	104,0	150,1	56,9	156,2	56,4	99,7	135,6	107,2	138,0	110,8	159,3	111,6	129,4	116,9	55,2	-
4f'	148,3	157,9	104,0	149,9	56,9	155,9	56,3	99,3	134,8	106,9	129,4	126,3	113,7	157,4	113,7	126,3	55,2	-
4g	148,5	158,0	103,9	150,0	56,9	156,0	56,3	99,7	135,5	107,1	136,7	125,2	137,9	126,9	121,9	128,4	20,9	-
4g'	148,8	157,9	103,9	150,0	56,8	156,0	56,3	100,1	135,9	107,2	134,3	124,6	129,0	135,5	129,0	124,6	20,6	-
4h	149,1	157,8	103,1	150,1	56,7	156,1	56,4	100,8	137,6	107,4	137,6	123,4	137,2	125,8	129,2	128,9	26,7	197,9
4h'	148,4	157,8	104,1	150,1	57,1	156,3	56,3	99,7	136,0	107,5	141,4	123,7	128,6	133,6	128,6	123,7	26,5	196,7
4i	149,3	157,3	103,2	150,6	56,6	155,0	56,0	103,0	140,8	107,8	138,7	107,9	150,5	109,2	128,7	111,9	40,1	40,1
4i'	148,2	157,9	104,3	150,1	57,1	156,1	56,3	99,3	135,0	107,1	134,1	125,9	118,3	143,1	118,3	125,9	43,8	43,8
4j	150,1	157,2	104,6	151,4	56,8	155,8	56,6	102,5	140,1	108,7	130,4	129,2	148,2	117,3	119,1	120,2	-	-
4j'	149,8	156,6	102,6	150,6	56,5	155,6	56,1	103,8	140,5	108,6	142,6	122,1	124,4	145,0	124,4	122,1	-	-

*Substituintes R= H (4a), F (4b e 4b'), Cl (4c e 4c'), Br (4d e 4d'), I (4e e 4e'), OCH₃ (4fe 4f'), CH₃ (4g e 4g'), C(O)CH₃ (4h e 4h'), N(CH₃)₂ (4i e 4i') e NO₂ (4j e 4j')

^a Em DMSO-d₆ a 30°C. ^b Em CDCl₃ a 21°C.

Os diagramas de contorno gHMBC apresentaram correlações $^nJ_{C-H}$ e ajudaram na elucidação dos sinais dos carbonos, principalmente dos quaternários. Para a parte quinazolinica (**1A**) de todos os compostos sintetizados, foram observadas, no gHMBC, as seguintes correlações $^nJ_{C-H}$: os sinais dos carbonos quaternários C-6 e C-7 foram facilmente identificados através da observação de uma forte correlação ($^3J_{C-H}$) dos prótons metoxílicos H-6a com C-6 e H-7a com C-7. H-2 apresentou correlações ($^3J_{C-H}$) com C-4 e C-9 e em alguns casos $^4J_{C-H}$ com C-10 (v. Figura A20, p. 142). Já o sinal do hidrogênio H-5 correlacionou-se através de $^3J_{C-H}$ com os carbonos C-4, C-7 e C-9 e através de $^2J_{C-H}$ com o carbono C-6. Pôde-se observar que H-8 apresentou correlações a três ligações com C-6 e C-10 e a duas ligações com os carbonos C-7 e C-9. Dessa forma, todos os carbonos quaternários desta parte da estrutura foram atribuídos corretamente.



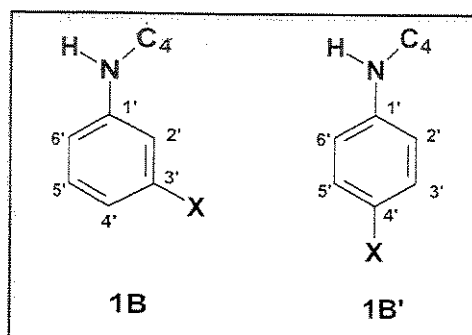
O carbono C-4 está ligado a elementos eletronegativos como nitrogênio, oxigênio ($C_4=O$), cloro (C_4-Cl) e um grupo $-NHPh$, que retiram elétrons por efeito mesomérico, diretamente ligados a ele. Portanto, estes fatores explicam o fato deste carbono ser, na maioria das estruturas, o mais desprotegido (acima de 157 ppm) quando comparado aos outros. O carbono C-2 também sofre desproteção pelos dois átomos de nitrogênio diretamente ligados a ele.

O carbono C-9 apresentou sempre maior desproteção do que C-10. Isto já era esperado, pois em C-9 há o efeito de desproteção *ipso* referente ao grupo $-N=C(H)-$, enquanto que C-10 não está diretamente ligado a nenhum átomo eletronegativo.

Com relação aos carbonos C-6 e C-7, estes são desprotegidos por terem o átomo de oxigênio (eletronegativo) diretamente ligado a eles. No entanto, C-7 apresentou maior desproteção quando comparado a C-6, o que já era esperado, pois C-7 está em posição *para* em relação aos grupos desprotetores $-C(=O)-NH-$ (**2a**), -

$\text{C}(\text{Cl})=\text{N}-$ (**3a**) e $-\text{C}(\text{NHPH})=\text{N}-$ (demais estruturas). Além disso, o carbono C-7 está ligado ao oxigênio que participa do sistema π , enquanto que o oxigênio de C-6 não participa da conjugação.

Com relação aos carbonos dos substituintes *N*-fenila *meta* (**1B**) e *para*-substituídos (**1B'**), os sinais dos carbonos metínicos e metílicos foram atribuídos através dos seus respectivos diagramas de contorno HSQC, enquanto que os sinais dos quaternários foram elucidados através das correlações a duas e a três ligações observadas no gHMBC. Deve ser ressaltado que houve facilidade na atribuição dos sinais dos carbonos C-3' ou C-4', aos quais estão os grupamentos OMe, Me, COMe e NMe₂, uma vez que foram observadas, no gHMBC, as correlações dos prótons das metilas destes com seus respectivos carbonos *ipso*.



Para os compostos 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (**4b**) e 6,7-dimetóxi-4-*N*-(4'-fluoro)fenilaminoquinazolina (**4b'**) foram observados os seguintes acoplamentos $^{13}\text{C}-^{19}\text{F}$:

Estrutura **4b**: $^1\text{J}(\text{C}_{3'}-\text{F}) = 242,6 \text{ Hz}$, $^2\text{J}(\text{C}_{4'}-\text{F}) = 21,0 \text{ Hz}$, $^2\text{J}(\text{C}_{2'}-\text{F}) = 24,9 \text{ Hz}$, $^3\text{J}(\text{C}_{1'}-\text{F}) = 10,8 \text{ Hz}$ e $^3\text{J}(\text{C}_{5'}-\text{F}) = 9,3 \text{ Hz}$.

Estrutura **4b'**: $^1\text{J}(\text{C}_{4'}-\text{F}) = 241,6 \text{ Hz}$, $^2\text{J}(\text{C}_{3',5'}-\text{F}) = 23,0 \text{ Hz}$ e $^3\text{J}(\text{C}_{2',6'}-\text{F}) = 8,3 \text{ Hz}$.

Na série das quinazolininas com halogênios em posições 3' ou 4' da parte *N*-fenila, observou-se que o flúor e o cloro (elementos mais eletronegativos dos halogênios) provocam um efeito de desproteção mais pronunciado sobre o carbono *ipso* (C-3' ou C-4') quando comparados ao bromo e ao iodo. Este efeito pode ser atribuído à alta

densidade eletrônica sobre estes carbonos, devido à nuvem eletrônica volumosa, facilmente polarizável, do bromo e do iodo.

Ainda, é interessante notar a largura e a intensidade dos sinais atribuídos a alguns carbonos diretamente ligados a átomos de nitrogênio, especialmente os carbonos C-9 e C-1'. Para estes, a relaxação escalar do N-14 causou um alargamento das linhas e diminuição de suas intensidades [105,106]. No caso do composto **4i'**, com substituinte $N(CH_3)_2$ ligado ao carbono C-4', foi observado este efeito sobre os carbonos C-1' (134,1 ppm), C-3' e C-5' (118,3 ppm), C-4' (143,1 ppm) e C-7' (43,8 ppm) (v. Anexo, Figura A50, p.172).

Nestes casos, as atribuições destes sinais só foram possíveis porque, no gHMBC, foram observadas correlações a longa distância, como por exemplo no caso de C-9 que tem seu sinal correlacionado com os hidrogênios H-2, H-5 e H-8 (v. Figura A20, 142).

4.3- Coeficientes de partição

4.3.1- Determinação do índice cromatográfico de hidrofobicidade (CHI) através de HPLC de gradiente rápido de fase reversa, em valores de pH baixo, neutro e alto [62,70].

4.3.1.1- Cálculo de CHI

Nesta etapa utilizaremos as constantes, **A** (inclinação da reta) e **B** (interseção em Y), derivadas dos gráficos de regressão linear dos tempos de retenção (t_R) *versus* valores de CHI de uma mistura padrão determinada, conforme mostrado na Parte Experimental 3.4.1.2 (v. p. 49), para converter os tempos de retenção obtidos para a 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) e para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinias com substituintes em posições *meta* (**4a-4j**) e *para* (**4b'-4j'**) (v. Esquema 1, p. 5) para valores de CHI, em cada valor de pH que é representado por a (Equação 26).

$$CHI_a = AtR_a + B \quad (26)$$

Tomando-se como exemplo o composto 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**), temos que:

O cromatograma, em pH 7,4 com gradiente de acetonitrila, apresentou um tempo de retenção igual a **2,023**. Então, de acordo com a Equação 27, que descreve a tendência da curva, obtida no gráfico de calibração da Figura 9 (v. Exp. 3.4.1.2, p. 51), temos:

$$y = 54,587x - 51,936 \quad (27)$$

onde, $y=CHI_a$, $x=tR_a$, $A=54,587$ e $B= -51,936$.

Logo, se $tR_{7,4}= 2,023$ para o composto **3a**, obtemos que:

$$CHI_{7,4}= 54,587 (2,023) - 51,936$$

$$CHI_{7,4}= 58,49$$

Dessa mesma forma, foram calculados os índices cromatográficos de hidrofobicidade (CHI) para as outras 19 quinazolininas (**4a-4j** e **4b'-4j'**), é claro que considerando os tempos de retenção e curvas de calibração respectivos, em cada valor de pH.

Os tempos de retenção (tR), bem como os valores correspondentes de CHI e CHIlogP, em acetonitrila e metanol e valores de pH 7,4, 10,5 e 2,0, para os compostos alvo estão compilados na Tabela 6. Os valores de CHI são dependentes do pH da fase móvel.

4.3.1.2- Cálculo do CHIlogP (um equivalente do logP)

A Tabela 6 mostra que, para as quatro condições experimentais, foram determinados os valores de CHIlogP (que é um equivalente do logP). Estes são os resultados da conversão dos valores de CHI através das Equações 13 (em acetonitrila) e 14 (em metanol) (v. Revisão Bibliográfica, p. 25):

$$\text{CHIlogP}_{(\text{ACN})} = 0.0525 * \text{CHI}_{\text{ACN}} - 1.467 \quad (13)$$

e

$$\text{CHIlogP}_{(\text{MeOH})} = 0.0735 * \text{CHI}_{\text{MeOH}} - 37523 \quad (14)$$

Então, novamente, tomando como exemplo o composto **3a**, temos que:

$\text{CHI}_{7,4} = 58,49$ equivale a um $\text{CHIlogP} = 1,60$

$\text{CHI}_{10,5} = 57,5$ equivale a um $\text{CHIlogP} = 1,55$

$\text{CHI}_{2,0} = 57,09$ equivale a um $\text{CHIlogP} = 1,53$

$\text{CHI}_{7,4} (\text{metanol}) = 73,45$ equivale a um $\text{CHIlogP} = 1,65$

Note que, ao contrário dos demais compostos que, em pH 2,0, apresentaram valores de CHIlogP bem diferentes do que nas outras condições de pH, para o composto **3a**, os valores estão na mesma faixa. Esta observação será explicada no tópico seguinte.

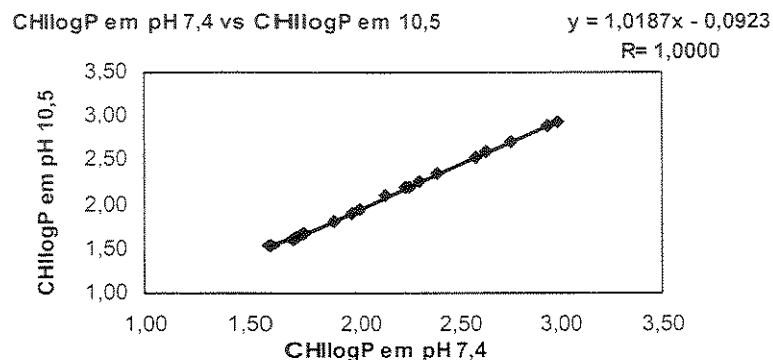
Tabela 6- Valores dos tempos de retenção (tR), CHI e CHIlogP (equivalente do logP) para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas **3a**, **4a-4j**, **4b'-4j'**, em valores de pH neutro, alto e baixo, em acetonitrila e metanol.

Composto	pH 7,4 ^a			pH 10,5 ^a			pH 7,4 ^b			pH 2,0 ^a		
	tR	CHI _{7,4}	CHIlogP	tR	CHI _{10,5}	CHIlogP	tR	CHI	CHIlogP	tR	CHI _{2,0}	CHIlogP
3a	2,023	58,49	1,60	2,021	57,50	1,55	2,525	73,45	1,65	2,018	57,09	1,53
4a (H)	2,116	63,57	1,87	2,106	62,34	1,81	2,728	80,26	2,15	1,461	26,62	-0,07
4b (m-F)	2,248	70,78	2,25	2,236	69,73	2,19	2,841	84,04	2,42	1,516	29,63	0,09
4b' (p-F)	2,161	66,03	2,00	2,150	64,84	1,94	2,766	81,53	2,24	1,493	28,37	0,02
4c (m-Cl)	2,382	78,09	2,63	2,369	77,30	2,59	2,964	88,17	2,73	1,590	33,68	0,30
4c' (p-Cl)	2,366	77,22	2,59	2,352	76,33	2,54	2,954	87,83	2,70	1,593	33,84	0,31
4d (m-Br)	2,426	80,49	2,76	2,411	79,69	2,72	2,998	89,31	2,81	1,618	35,21	0,38
4d' (p-Br)	2,423	80,33	2,75	2,406	79,40	2,70	2,999	89,34	2,81	1,615	35,05	0,37
4e (m-I)	2,486	83,77	2,93	2,471	83,10	2,90	3,032	90,45	2,90	1,642	36,52	0,45
4e' (p-I)	2,504	84,75	2,98	2,488	84,06	2,95	3,047	90,95	2,93	1,652	37,07	0,48
4f (m-OMe)	2,148	65,32	1,96	2,139	64,21	1,90	2,757	81,23	2,22	1,505	29,03	0,06
4f' (p-OMe)	2,066	60,84	1,73	2,059	59,66	1,67	2,692	79,05	2,06	1,485	27,93	0,00
4g (m-Me)	2,241	70,39	2,23	2,234	69,62	2,19	2,856	84,55	2,46	1,537	30,78	0,15
4g' (p-Me)	2,243	70,50	2,23	2,236	69,73	2,19	2,854	84,48	2,46	1,555	31,76	0,20
4h (m-COMe)	2,050	59,97	1,68	2,043	58,75	1,62	2,685	78,82	2,04	1,454	26,24	-0,09
4h' (p-COMe)	2,054	60,19	1,69	2,046	58,92	1,63	2,710	79,65	2,10	1,461	26,62	-0,07
4i (m-NMe₂)	2,208	68,59	2,13	2,202	67,80	2,09	2,82	83,34	2,37	1,278	16,61	-0,59
4i' (p-NMe₂)	2,208	68,59	2,13	2,202	67,80	2,09	2,82	83,34	2,37	1,278	16,61	-0,59
4j (m-NO₂)	2,265	71,70	2,30	2,255	70,81	2,25	2,857	84,58	2,46	1,540	30,94	0,16
4j' (p-NO₂)	2,298	73,50	2,39	2,286	72,58	2,34	2,885	85,52	2,53	1,576	32,91	0,26

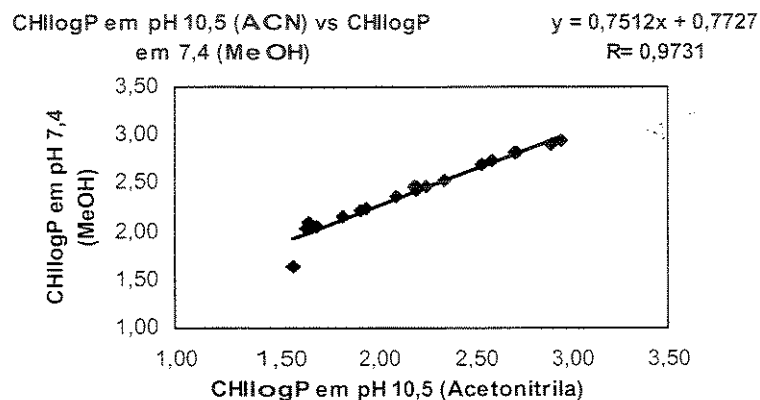
^aAcetonitrila. ^bmetanol.

Figura 16- Os gráficos dos valores de CHlogP obtidos a partir dos valores de CHI em pH 7,4 (acetonitrila e metanol) e pH 10,5, respectivamente.

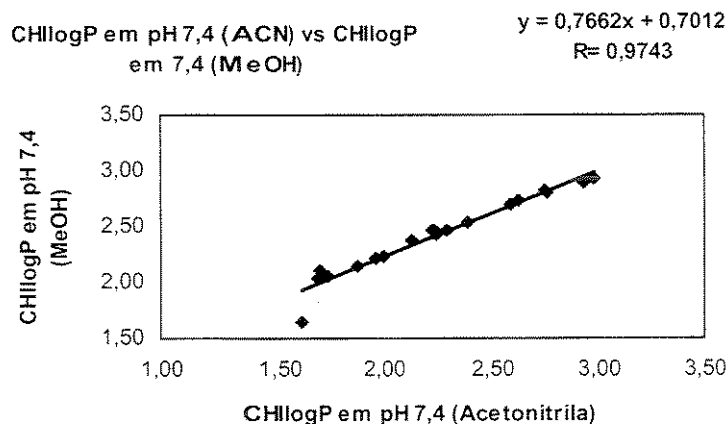
A



B



C



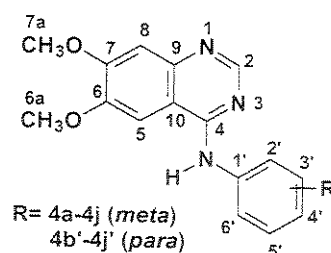
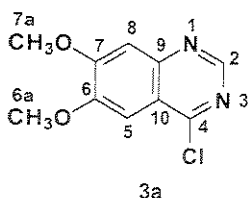
Os gráficos A, B e C, da Figura 16, mostram boa concordância ($R = 1,0000$, $0,9743$ e $0,9731$, respectivamente) entre os dados de CHlogP (pH 7,4 e 10,5), em

acetonitrila e metanol. Isto nos leva a acreditar que esta é uma técnica eficiente para a determinação da lipofilicidade de compostos novos, tais como as quinazolininas.

4.3.1.3 - O valor do ΔCHI e a conclusão do caráter ácido/base dos compostos quinazolinínicos em estudo [62,71].

Tabela 7- Os valores de ΔCHI para os compostos **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'**.

Quinaz. R=	$\Delta\text{CHI}(1)$
3a	0,41
4a (H)	35,72
4b (m-F)	40,10
4b' (p-F)	36,47
4c (m-Cl)	43,62
4c' (p-Cl)	42,49
4d (m-Br)	44,48
4d' (p-Br)	44,35
4e (m-I)	46,58
4e' (p-I)	46,99
4f (m-OCH₃)	35,18
4f' (p-OCH₃)	31,73
4g (m-CH₃)	38,84
4g' (m-CH₃)	37,97
4h (m-COMe)	32,51
4h' (p-COMe)	32,30
4i (m-NMe₂)	51,19
4i' (p-NMe₂)	51,19
4j (m-NO₂)	39,87
4j' (p-NO₂)	39,67



A definição do valor do ΔCHI é descrito através da Equação 28.

$$\Delta\text{CHI} = \text{CHI}_{10,5} - \text{CHI}_{2,0} \quad (28)$$

Quando o valor de ΔCHI é menor do que 5, assume-se que o composto é neutro nos três valores de pH investigados. Compostos neutros apresentam os mesmos valores de CHI em diferentes pH [71].

Isto pode ser conferido para o composto **3a**, da Tabela 6, que apresentou os mesmos CHI em valores de pH 7,4, 10,5 e 2,0.

Os compostos restantes exibiram caráter de base. Pois, quando o ΔCHI é positivo e maior do que 5, o composto é uma base. Quando é negativo e menor do que 5, é um ácido [71]. As bases apresentam os mesmos valores de CHI em pH 7,4 e 10,5. No entanto, valores de CHI em pH 2,0 menores (esta afirmação pode ser verificada na Tabela 6).

4.3.2- Determinação do coeficiente de partição, $\log P$, no sistema octanol/água através das análises em HPLC (método “Micro-Shake-Flask”) [67].

4.3.2.1- Análise dos dados

Nos cromatogramas, ambos os picos da amostra e do fenol foram integrados depois da subtração da linha base, usando o **branco** (v. Exp. 3.4.2, p. 54). O $\log P$ foi calculado tanto para as amostras quanto para o fenol, usando o programa Excel (Tabela 8). As equações utilizadas na análise dos dados [67], obtidos conforme Parte Experimental 3.4.2, são:

$$\log P \text{ do fenol} = \text{LOG} [\text{fenol no oct (mAU)}/\text{fenol na água (mAU)}] \quad (29)$$

$$\log P \text{ da amostra} = \text{LOG} [\text{amostra no oct. (mAU)}/\text{fenol no oct. (mAU)}] \quad (30)$$

$$\log P \text{ corrigido da amostra} = \log P \text{ da amostra} + (1,46 - \log P \text{ do fenol}) \quad (31)$$

mAU- área do pico no cromatograma

Os valores de $\log P$ no sistema octanol-água, obtidos através das Equações 29-31, para as 6,7-dimetóxiquinazolininas **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. Esquema 1, p. 5), bem como todos os dados fornecidos pelos cromatogramas, estão compilados na Tabela 8.

Este procedimento experimental foi repetido três vezes para testar a reprodutibilidade do método. Os resultados da primeira análise não foram muito satisfatórios. Já para as duas últimas análises, os valores são muito próximos. Então, optou-se por compilar apenas os valores de $\log P$ do segundo e do terceiro experimento.

Tabela 8- Os valores de logP determinados para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas 3a, 4a-4j e 4b'-4j'.

Compostos	Tempo Retenção (tR) do fenol	Área do fenol (aquosa) (mAU)	Tempo de Retenção (tR) da amostra	Área da amostra (aquosa) (mAU)	Área do fenol (octanol) (mAU)	Área da amostra (octanol) (mAU)	logP do Fenol (octanol)	logP da amostra (octanol)	logP em pH 7,4
3a	2,896	689,8	3,308	590,8	193,7	424,7	-0,55159	-0,14336	1,87
4a (H)	2,897	672,2	2,564	98,6	183,7	700,3	-0,56339	0,851407	2,87
4b (m-F)	2,897	673,2	2,646	43,2	194,7	658,1	-0,53878	1,182808	3,18
4b' (p-F)	2,896	673,4	2,608	75,7	190,9	722,5	-0,54747	0,979742	2,99
4c (m-Cl)	2,896	672,7	2,762	20,1	201,0	799,1	-0,52463	1,599405	3,58
4c' (p-Cl)	2,896	671,5	2,76	23,0	193,7	706,7	-0,53992	1,487507	3,49
4d (m-Br)	2,896	672,3	2,798	12,2	187,7	779,2	-0,5541	1,805289	3,82
4d' (p-Br)	2,898	674,4	2,802	50,6	192,9	772,9	-0,54359	1,183973	3,19
4e (m-I)	2,897	676,6	2,847	32,6	197,7	839,1	-0,53433	1,410596	3,40
4e' (p-I)	2,897	682,8	2,814	3,6	191,7	758,7	-0,55167	2,323768	4,34
4f (m-OMe)	2,896	671,8	2,625	93,8	182,6	816,6	-0,56574	0,939807	2,97
4f' (p-OMe)	2,896	670,9	2,602	104,3	186,9	632,1	-0,55505	0,782501	2,80
4g (m-Me)	2,896	669,2	2,694	40,7	192,9	756,4	-0,54022	1,269157	3,27
4g' (p-Me)	2,896	674,0	2,706	46,4	193,2	778,8	-0,54265	1,224908	3,23
4h (m-COMe)	2,897	683,7	2,549	136,3	194,2	777,2	-0,54662	0,756037	2,76
4h' (p-COMe)	2,897	673,1	2,559	111,5	204,3	790,2	-0,51781	0,850462	2,83
4i (m-NMe ₂)	2,896	668,9	2,32	63,0	204,4	724,7	-0,51488	1,060818	3,04
4i' (p-NMe ₂)	2,896	668,9	2,32	63,0	204,4	724,7	-0,51488	1,060818	3,04
4j (m-NO ₂)	2,896	666,1	2,668	16,4	188,7	319,9	-0,54777	1,29017	3,30
4j' (p-NO ₂)	2,897	676,1	2,719	41,9	189,9	681,0	-0,55149	1,210933	3,22

4.3.3- Os valores dos coeficientes de partição, logP, obtidos através de alguns métodos de cálculos

Os descritores moleculares (R_2 , π_2^H , $\sum\alpha_2^H$, $\sum\beta_2^H$ e V_x) para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. Esquema 1, p. 5) foram obtidos utilizando-se o programa ABSOLV [72,73,81]. Estes dados foram calculados a partir das estruturas químicas dos compostos ("Smiles"), desenhadas no programa clogP [64]. Portanto, os valores destas variáveis explicativas da Equação de solvatação genérica (Equação 15, v. p. 27) estão compilados na Tabela 9.

Abraham e col. [72-74] obtiveram uma Equação de solvatação (25) que descreve a partição do soluto no sistema octanol e água, $\log P_{\text{oct}}$ [62] (v. p. 32):

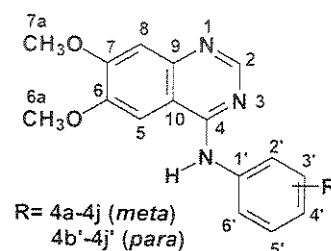
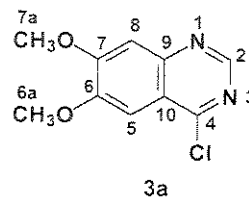
$$\log P_{\text{oct}} = 0,088 + 0,562R_2 - 1,054\pi_2^H + 0,034\sum\alpha_2^H - 3,460\sum\beta_2^H + 3,841 V_x \quad (25)$$

$n=613 \quad r=0,997 \quad sd= 0,116 \quad F=23162$

Onde n é o número de compostos, r é o coeficiente de correlação múltipla, s.d. é o desvio padrão, F é a estatística de Fisher. Pode ser observado na Equação 25, que a polarizabilidade – dipolaridade (π_2^H) e a basicidade da ligação de hidrogênio ($\sum\beta_2^H$) diminuem o particionamento do composto para o octanol, enquanto que a acidez tem muito pouca influência ($\sum\alpha_2^H$).

Tabela 9- Valores dos descritores moleculares da Equação de solvatação de Abraham (15) [72-75], calculados para os compostos alvos.

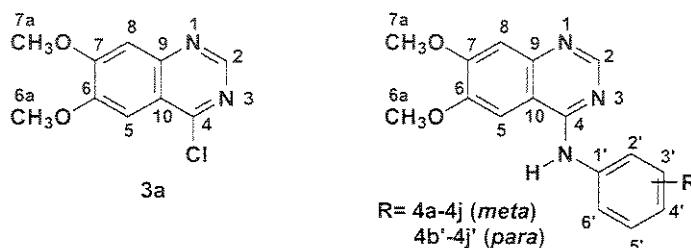
Compostos	R_2	π_2^H	$\Sigma\alpha_2^H$	$\Sigma\beta_2^H$	V_x
3a	1,63	1,64	0	1,14	1,52
4a (H)	2,50	2,32	0,20	1,57	2,11
4b (<i>m</i> -F)	2,39	2,34	0,28	1,51	2,13
4b' (<i>p</i> -F)	2,39	2,37	0,28	1,49	2,13
4c (<i>m</i> -Cl)	2,64	2,42	0,28	1,52	2,23
4c' (<i>p</i> -Cl)	2,64	2,46	0,28	1,51	2,23
4d (<i>m</i> -Br)	2,81	2,5	0,28	1,51	2,29
4d' (<i>p</i> -Br)	2,81	2,54	0,28	1,50	2,29
4e (<i>m</i> -I)	3,15	2,53	0,28	1,52	2,37
4e' (<i>p</i> -I)	3,15	2,57	0,28	1,51	2,37
4f (<i>m</i> -OMe)	2,53	2,45	0,20	1,74	2,31
4f' (<i>p</i> -OMe)	2,53	2,49	0,20	1,73	2,31
4g (<i>m</i> -Me)	2,51	2,3	0,20	1,56	2,25
4g' (<i>p</i> -Me)	2,51	2,3	0,20	1,56	2,25
4h (<i>m</i> -COMe)	2,65	2,77	0,20	1,9	2,41
4h' (<i>p</i> -COMe)	2,65	2,94	0,20	1,75	2,41
4i (<i>m</i> -NMe ₂)	2,75	2,48	0,20	1,86	2,49
4i' (<i>p</i> -NMe ₂)	2,75	2,48	0,20	1,86	2,49
4j (<i>m</i> -NO ₂)	2,53	2,45	0,20	1,74	2,31
4j' (<i>p</i> -NO ₂)	2,53	2,49	0,20	1,73	2,31



Os valores de coeficientes de partição calculados para as quinazolininas alvos, utilizando-se alguns métodos empíricos tais como: clogP (1) (programa MedChem clogP) [64], ACDlogP/D (2) (ACD/logP/D) [65], Octanol (3) (ABSOLV) [72,73,81], através das equações de solvatação (4) [72,74], que descrevem o equilíbrio de

particionamento dos compostos nos sistemas octanol/água e clorofórmio/água e através do $\log P$ via $\text{CHI}_{7,4}$ estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10- Valores de coeficientes de partição calculados, $\log P$, utilizando métodos baseados na estrutura molecular (quatro primeiras colunas) e nas Equações de solvatação (15).



Série de Quinazol.	clogP (1)	ACDLogP (2)	ACDLogD (2)	Octanol (3)	$\log P_{\text{oct}}$ (4)	$\log P_{\text{clorof}}$ (4).	$\log P$ via $\text{CHI}_{7,4}$
3a	1,92	1,42	1,42	1,07	1,15	2,41	1,28
4a (H)	4,00	2,87	2,84	1,60	1,67	2,62	1,82
4b (<i>m</i> -F)	4,16	3,36	3,33	1,80	1,86	2,62	2,31
4b' (<i>p</i> -F)	4,16	3,32	3,28	1,72	1,90	2,68	2,06
4c (<i>m</i> -Cl)	4,73	3,90	3,85	2,21	2,29	3,03	2,71
4c' (<i>p</i> -Cl)	4,73	3,86	3,79	2,13	2,28	3,05	2,66
4d (<i>m</i> -Br)	4,88	4,08	4,01	2,46	2,53	3,28	2,84
4d' (<i>p</i> -Br)	4,88	4,04	3,97	2,38	2,52	3,30	2,83
4e (<i>m</i> -I)	5,14	4,34	4,30	2,89	2,97	3,64	3,02
4e' (<i>p</i> -I)	5,14	4,30	4,27	2,81	2,97	3,66	3,07
4f (<i>m</i> -OMe)	3,93	3,13	3,11	1,65	1,72	2,83	1,91
4f' (<i>p</i> -OMe)	3,93	2,82	2,69	1,57	1,72	2,85	1,67
4g (<i>m</i> -Me)	4,50	3,33	3,31	2,18	2,27	3,26	2,19
4g' (<i>p</i> -Me)	4,50	3,33	3,20	2,18	2,27	3,26	2,19
4h (<i>m</i> -COMe)	3,48	2,67	2,64	1,21	1,27	2,58	1,63
4h' (<i>p</i> -COMe)	3,48	2,75	2,74	1,55	1,61	3,03	1,64
4i (<i>m</i> -NMe ₂)	4,20	3,32	3,21	2,03	2,09	3,20	2,09
4i' (<i>p</i> -NMe ₂)	4,20	3,32	3,21	2,03	2,09	3,20	2,09
4j (<i>m</i> -NO ₂)	3,93	3,26	3,25	3,08	1,72	2,83	2,36
4j' (<i>p</i> -NO ₂)	3,93	3,33	3,31	3,00	1,72	2,85	2,46

(1) Programa clog P (MedChem) [64], (2) Programa ACD/logP [65], (3) Programa ABSOLV [81], (4) Equação de Solvatação [62,72,74] ($\log P_{\text{clorofórmio}}$, as constantes são: $c=0,327$, $s=0,157$, $e=-0,391$, $a=-3,191$, $b=-3,437$ e $v=4,191$; $\log P_{\text{oct}}$ foi calculado conforme Equação 25, acima).

Os valores de $\log P_{\text{oct}}$ via $\text{CHI}_{7,4 (\text{ACN})}$, para os compostos quinazolínicos, foram estimados através Equação 32 [70]:

$$\log P_{\text{oct}} = 0,054 \text{ CHI}_{7,4 (\text{ACN})} + 1,319 \sum \alpha_2^{\text{H}} - 1,877 \quad (32)$$

N=86 r=0,970 s=0,29 F=655

A Equação 32 é usada para alinhar as escalas de lipofilicidade entre o $\text{CHI}_{\log P_{\text{ACN}}}$ e o $\log P_{\text{oct}}$. Uma vez que a maior diferença entre as escalas de lipofilicidade do CHI_{ACN} e $\log P_{\text{octanol/água}}$ é com relação à sensibilidade à acidez da ligação de hidrogênio ($\sum \alpha_2^{\text{H}}$) dos compostos [62,70].

De acordo com o que está apresentado na Tabela 10, há diferenças entre os valores obtidos através dos vários métodos. A precisão do cálculo depende, em grande parte, do tamanho e da qualidade da base de dados de $\log P$ medidos que foi usada para desenvolver o algoritmo [62,70].

A melhor forma de avaliar a qualidade dos valores de $\log P$ empíricos é compará-los com os dados experimentais. Esta análise foi feita em Resultados e Discussão (v. p. 92).

4.3.4- Considerações gerais sobre os resultados de logP, obtidos através dos dois métodos cromatográficos e dos métodos de cálculos.

A lipofilicidade das moléculas de droga desempenha um papel importante na absorção, permeabilidade e disposição das mesmas no sistema biológico [62]. Logo, como as quinazolininas **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. Esquema 1, p. 5) são consideradas quimioterápicos potenciais para o tratamento de doenças tais como câncer, daí surgiu o interesse em se determinar os valores dos coeficientes de partição, logP, das mesmas.

Conforme descrito na Parte Experimental 3.4 (v. p. 48), os valores dos coeficientes de partição para os compostos **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** foram determinados por cromatografia de fase reversa. Tais métodos são:

- Determinação do índice cromatográfico de hidrofobicidade (CHI) [62] – método que utiliza os tempos de retenção do gradiente para medir a lipofilicidade. O gradiente foi, previamente, calibrado com uma mistura padrão de compostos, sendo que os tempos de retenção foram expressos pela porcentagem do volume da concentração orgânica quando os compostos eluíram na coluna.

- O “micro-shake-flask”, que é um método modificado do “shake-flask” tradicional. Nesta técnica observa-se, no cromatograma, o decréscimo na área do pico (mAU) da fase aquosa devido à partição do composto para o octanol [62,67].

Estes dois métodos proporcionaram maior rapidez e eficiência às medidas de lipofilicidade em relação ao método tradicional (“shake-flask”).

A grande vantagem do método CHI é que se o equipamento de HPLC foi calibrado, previamente, e as mesmas condições de calibração são aplicadas às novas amostras, não há necessidade de medidas extras de lipofilicidade. No entanto, as vantagens em se obter as medidas de logP no sistema octanol/água são que elas podem ser calculadas e uma grande quantidade de dados determinados está disponível em bases de dados [64,65,81].

Como pode ser verificado nas Tabelas 6 (CHIlogP em valores de pH 7,4, 10,5, 2,0) e 8 (logP no sistema octanol/água em pH 7,4), onde estão compilados os valores de lipofilicidade para as quinazolininas **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. pp. 80 e 84), os dados

sugerem alto caráter lipofílico para os compostos, ou seja, eles se distribuem melhor em ambientes lipídicos.

Para as medidas de CHI, o equivalente ao logP é expresso pelo CHIllogP. De acordo com a Tabela 6 (v. p. 80), a faixa de valores para o CHIllogP variou entre 1,55 e 2,98, em valores de pH 7,4 e 10,5. Ao contrário, em pH 2,0 os valores correspondentes de CHIllogP são muito baixos. Isto aconteceu para os compostos **4a-4j** e **4b'-4j'** que, com exceção do composto **3a**, que é neutro e apresentou os mesmos valores nos três pHs, foram caracterizados como bases fracas (v. 4.3.1.3, p. 82).

Os valores de logP medidos para o sistema octanol/água (v. Tabela 8, p. 84) apresentaram-se na faixa entre 1,87 e 3,58. No entanto, o valor de logP= 4,34 para o composto **4e'** não pode ser considerado. Isto se deve ao fato de que não foi possível integrar a área do pico da amostra na fase aquosa, no cromatograma. Verificou-se que o composto, no equilíbrio, deslocou-se completamente para o octanol. Através da média dos valores das áreas dos outros compostos, estimou-se este valor.

Comparando-se os resultados obtidos através das duas técnicas cromatográficas, nota-se que as escalas entre a lipofilicidade do CHIllogP_{ACN} e do logP octanol/água são ligeiramente diferentes (Figura 17), uma vez que a correlação ($R=0,8527$) entre os dados experimentais é baixa.

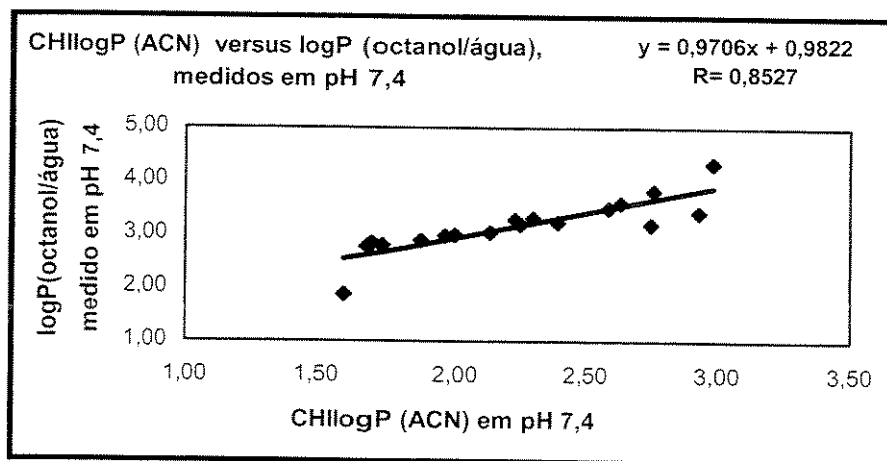


Figura 17- A correlação entre os valores da lipofolicidade do CHIllogP_{ACN} e do LogP_{octanol/água}, medidos em pH 7,4.

De acordo com a literatura [62,69-71] este efeito é atribuído a:

Compostos doadores de ligação de hidrogênio apresentam melhor particionamento em octanol por causa dos grupamentos OH (octanol) que podem interagir com o grupo doador da ligação de H do soluto, resultando em maiores valores de $\log P$ (estes compostos parecem mais lipofílicos). No entanto, grupos aceptores/doadores não interagem com a fase estacionária de hidrocarboneto (C-18) do HPLC, então os compostos parecem mais hidrofílicos. Logo, a grande diferença entre as escalas de lipofilicidade está relacionada à acidez da ligação de H ($\sum \alpha_2^H$) dos compostos.

$$\log P_{\text{oct}} = 0,054 \text{ CHI}_{7,4}(\text{ACN}) + 1,319 \sum \alpha_2^H - 1,877 \quad (32)$$

N=86

r=0,970

s=0,29

F=655

As duas escalas podem ser corrigidas pela introdução do termo da acidez ($\sum \alpha_2^H$), conforme Equação 32.

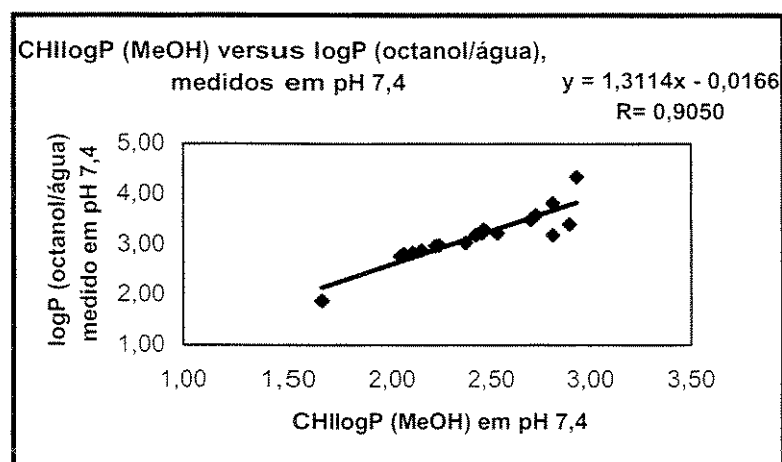


Figura 18- A correlação entre os valores da lipofolicidade do $\text{CHIlogP}_{\text{MeOH}}$ e do $\text{LogP}_{\text{octanol/água}}$, medidos em pH 7,4.

A Figura 18, mostra um leve aumento na correlação ($R=0,9050$) entre os dados experimentais do CHIlogP em metanol e do $\log P$ no sistema octanol/água. Este

resultado sugere uma certa proximidade entre as escalas de lipofilicidade do $\text{CHllogP}_{\text{MeOH}}$ e do $\text{logP}_{\text{octanol}}$.

4.3.4.1- Comparação entre os valores de lipofilicidade medidos e calculados

Os resultados dos cálculos empíricos e os métodos utilizados estão listados na Tabela 9 (v. p. 86).

Os valores de lipofilicidade medidos (CHllogP e $\text{logP}_{\text{octanol/água}}$) foram, em muitos casos, 2 unidades menores do que os dados estimados através dos métodos de cálculos, como por exemplo através do programa clogP .

Foi feita uma comparação entre os valores de logP calculados, obtidos através de cinco métodos diferentes de cálculo [clogP , ACDlogP/D , ABSOLV e logP_{oct} calculado pela Equação de solvatação (25)] (v. Tabela 10, p. 87), com os valores experimentais de $\text{CHllogP}_{\text{ACN}}$ e logP para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinás **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** (v. Esquema 1, p. 5).

Os dados fornecidos pelos métodos de cálculo que apresentaram correlações razoáveis com os de $\text{CHllogP}_{\text{ACN}}$ foram: ACDlogP/D ($R = 0,917$, Figura 19) e logP calculado através da Equação de solvatação (25) ($R = 0,906$, Figura 20). Já para os outros métodos, as correlações foram baixas (clogP ; $R = 0,842$ e ABSOLV ; $R = 0,818$).

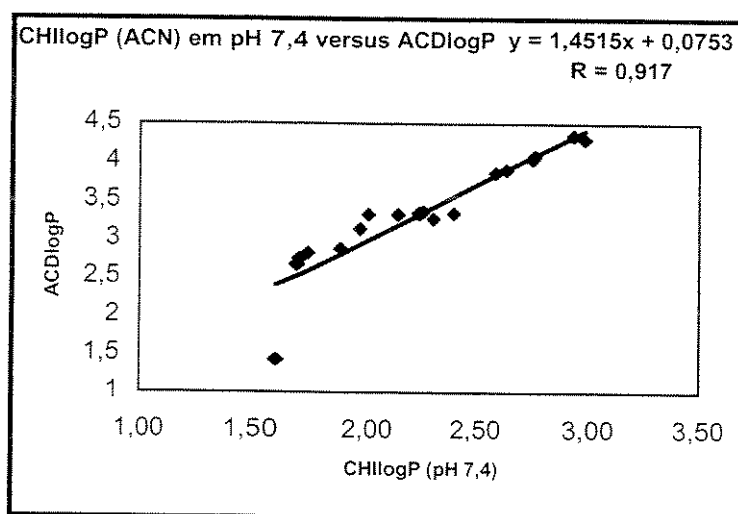


Figura 19- Gráfico da lipofilicidade do CHllogP obtido em pH 7,4 versus ACDlogP/D .

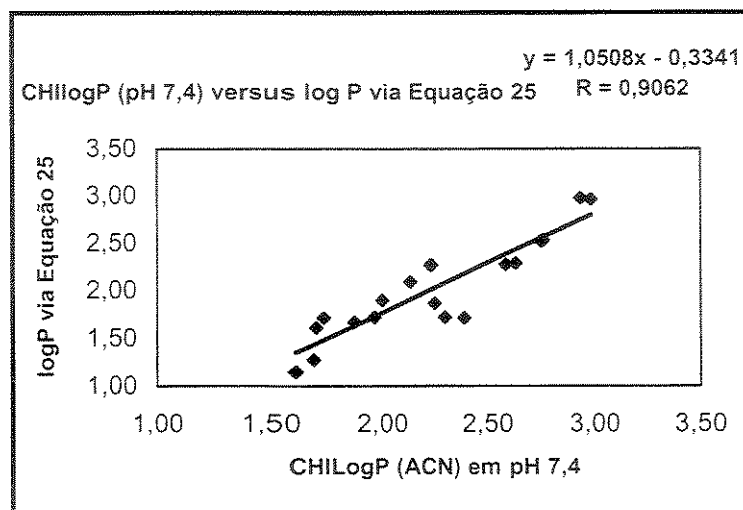


Figura 20- Gráfico da lipofilicidade do CHLogP_{ACN} obtido em pH 7,4 *versus* logP calculado através da Equação 25.

No entanto, um gráfico da lipofilicidade do CHLogP em pH 7,4 com a média dos valores de logP obtidos através dos cinco métodos, apresentou um aumento significativo na concordância entre dados ($R = 0,9487$, Figura 21)

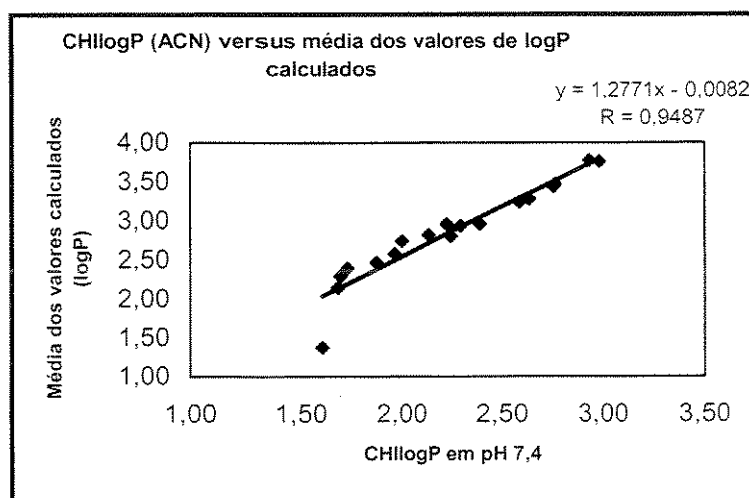


Figura 21- Gráfico da lipofilicidade do CHLogP obtido em pH 7,4 *versus* média dos valores de logP calculados (5 métodos).

Agora, comparando-se os dados de logP medidos no sistema octanol/água, em pH 7,4, com os valores obtidos pelos vários métodos de cálculo, pode-se dizer que as correlações obtidas através de gráficos de regressão linear foram desapontantes.

O melhor resultado foi aquele obtido pela correlação entre os dados de logP medidos e os calculados pelo método ACDlogP/D ($R = 0,906$, Figura 22). Os outros forneceram as seguintes correlações: clogP ($R = 0,883$), log P via $CHI_{7,4}$ ($R = 0,880$), logP pelo ABSOLV ($R = 0,739$), logP calculado pela Equação 25 ($R = 0,736$).

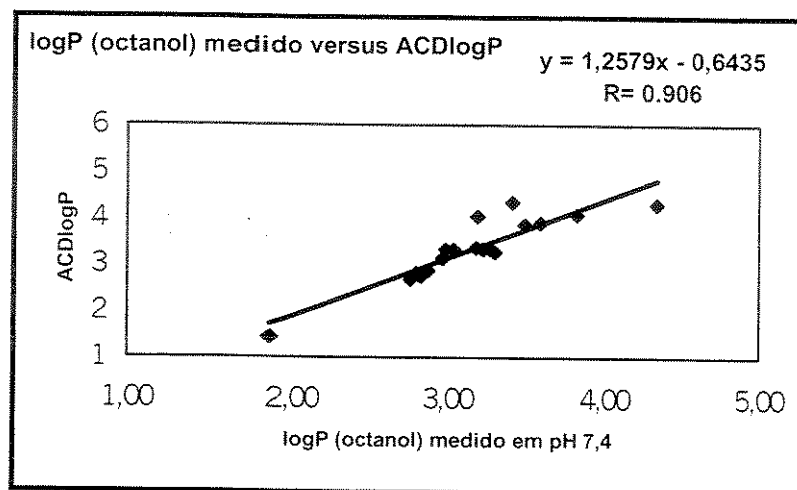


Figura 22- Gráfico dos valores de log P_{octanol} medidos *versus* ACDlogP (logP calculado).

No entanto, o gráfico das médias dos valores calculados (5 métodos) com os dados de lipofilicidade medidos, em pH 7,4, resultou em um coeficiente de correlação melhor ($R = 0,911$, Figura 23). Sendo que os dados do $CHI_{\log P_{ACN}}$ também apresentaram melhor correlação com a média dos resultados calculados.

Isto sugere que cada método de cálculo funciona bem para certos tipos de compostos e que emprega diferentes aproximações para o cálculo [62,58]. Além disso, a precisão do cálculo depende, em grande parte, do tamanho e da qualidade da base de dados de logP medidos, que foi usada para desenvolver o algoritmo [58].

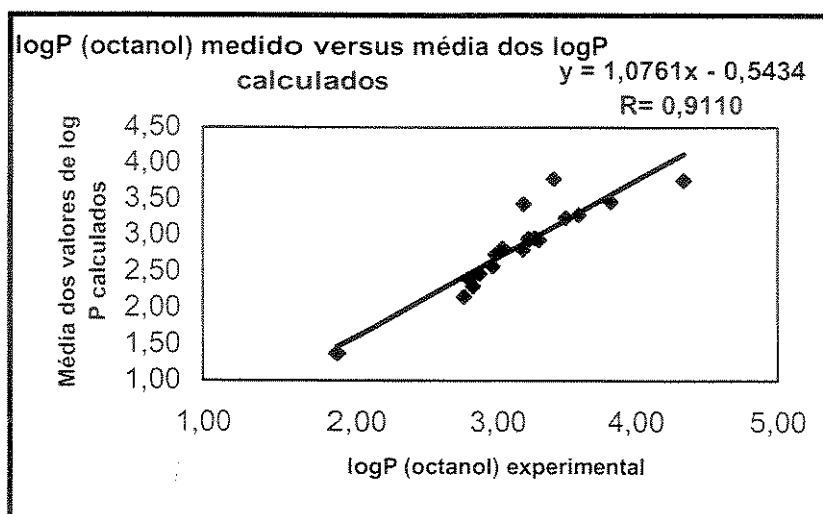
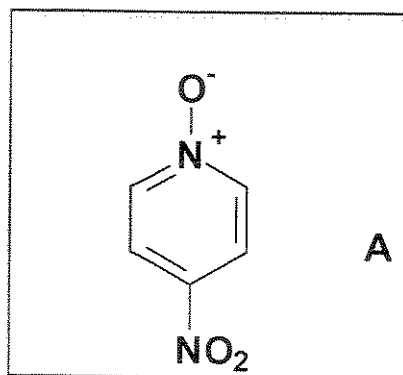


Figura 23- Gráfico dos valores de logP medidos versus a média dos valores calculados (5 métodos).

4.3.5- Determinação dos valores de logP através do método “Shake-flask” tradicional [53]

Foram determinados os valores de logP para o 4-nitropiridina-*N*-óxido (**A**), através do método shake-flask, em vários sistemas de solvente/água.



Primeiramente, foi preparada uma solução do composto **A** em água, na concentração de $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Então, o $\lambda_{\text{máx}}$ foi determinado através da análise no espectrômetro de UV (janela espectral de 700 a 200 nm): $\lambda_{\text{máx}} = 313 \text{ nm}$

Neste estudo, vários sistemas de solvente/água, para os quais os coeficientes estimados eram disponíveis para o composto **A**, foram considerados. Estes sistemas e seus coeficientes correspondentes são dados na Tabela 11.

Tabela 11- Valores das razões dos volumes, V^A/V^S , obtidos para cada sistema [53].

Sistemas	logP _{estimado}	P _{estimado}	V^A/V^S	V^A (mL)	V^S (mL)
Clorofórmio/água	0,12	1,318	1,7	30	18
Diclorometano/água	0,20	1,58	1,26*	30	20
Dicloroetano/água	0,02	1,05	1,31	30	23
Clorobenzeno/água	-0,818	0,152	0,19	20	58
Bromobenzeno/água	-0,400	0,398	0,5	10	20
Tolueno/água	-0,93	0,117	0,15	4,5	30

*Neste sistema a razão de absorvâncias usada foi $A_0/A_e = 1,8/0,8 = 2,25$.

A concentração inicial foi determinada através do gráfico de A (absorbância) contra C (concentração), obtido através de uma série de soluções na faixa de 10^{-5} a 10^{-4} mol.L⁻¹. A concentração que conduz ao maior valor de absorbância (A) é normalmente a escolhida.

Uma vez que os valores de P são conhecidos e a faixa de absorbância foi estabelecida (A_0/A_e), a razão de volume pode ser estimada a partir da Equação 11 (v. Revisão Bibliográfica, p.22).

A fração A_0/A_e foi estabelecida pelo Dr. Abraham. A_0 , é a absorbância da solução inicial que foi medida e A_e pode ser um valor bem abaixo de A_0 . Por exemplo, se A_0 é igual a 1,8, A_e pode ser igual a 1,0 ou 0,8. Então, a razão será de 1,8 e 2,25, respectivamente.

Considerando o sistema em clorofórmio temos que:

$$\text{Log}P_{\text{estimado}} = 0,12 \quad P_{\text{estimado}} = 1,318$$

$$A_0/A_e = 1,8/1 = 1,8$$

$$\text{Então,} \quad P = [(A_0/A_e) - 1] V^A/V^S \quad (11)$$

$$1,318 = [1,8 - 1] V^A/V^S$$

$$V^A/V^S = 1,318/0,8$$

$$V^A = 1,7 V^S$$

Esta razão nos indicou que o volume da fase aquosa deveria ser de 1,7 vezes maior do que o do clorofórmio. A partir disso, os volumes utilizados foram: $V^A = 30$ mL de solução aquosa e $V^S = 18$ mL de clorofórmio.

Utilizando-se esse mesmo procedimento descrito acima para o clorofórmio, foram obtidos os resultados para os outros sistemas de solventes utilizados na determinação dos correspondentes coeficientes de partição. Estes dados estão compilados na Tabela 11.

Uma vez que a razão entre os volumes (V^A/V^S) foi estimada, o experimento foi iniciado. Considerando o sistema clorofórmio/água, procedeu-se da seguinte maneira:

Uma solução $1,62 \times 10^{-4}$ mol/L da 4-nitropiridina-*N*-óxido (A) foi preparada em 1L de água. Em seguida, em três frascos com capacidade para 100 mL, foram adicionados, em cada, 30 mL da solução aquosa (é necessário que as medidas sejam feitas em triplicata). A absorbância inicial, A_0 , desta solução foi medida em $\lambda_{\text{máx}} = 313$ nm. A absorbância foi medida três vezes para cada uma das soluções (i, ii e iii) e a média dos valores foi obtida como A_0 . Então, de acordo com o valor de V^S calculado, foram adicionados 18 mL de clorofórmio saturado com água, em cada um dos frascos. As fases foram, então, agitadas por 30 min e deixadas em repouso por 5 minutos. As fases aquosas das misturas foram analisadas três vezes para cada solução no UV. O valor médio das três medidas foi obtido para cada uma das três soluções e foi considerado como o valor A_e . As soluções foram agitadas por mais 30 min e analisadas novamente. Em seguida, novamente, as soluções foram analisadas depois de mais 1 hora de agitação. Este passo foi repetido por mais 1 hora (completando-se 3 horas de agitação) e, então, valores de absorbância constantes foram obtidos (v. Figura 24).

Na Tabela 12, são apresentados os valores médios de absorbâncias obtidos no início do experimento, A_0 , e depois de três horas de agitação, A_e . Esta tabela apresenta, também, os valores de P e de $\log P$ obtidos.

Tabela 12- Resultados experimentais para o sistema Clorofórmio/água.

Solução	V^A/V^S	A_0 (a)	$A_e(a)$	A_0/A_e	P	$\log P$
i	1,7	2,121	1,191	1,781	1,327	0,123
ii	1,7	2,123	1,192	1,781	1,328	0,123
iii	1,7	2,124	1,196	1,776	1,319	0,120
média		2,123	1,193	1,779	1,325	0,122
dp		0,002	0,003	0,003	0,005	0,002

(a)média dos valores das absorbâncias

dp = desvio padrão

Foi construído um gráfico (Figura 24) utilizando-se a média dos valores das absorbâncias, A , obtidas para cada uma das soluções (i, ii e iii), contra o tempo (0, 30,

60, 120 e 180 minutos), em min. Este mostra, claramente, que o equilíbrio foi alcançado após três horas de experimento.

Os valores de P para cada solução (i, ii e iii) foram calculados de acordo com a Equação 11. Os mesmos estão listados na Tabela 12.

$$P = (30/18) [(2,121/1,191) - 1] = 1,327$$

$$\text{Log } P = 0,123$$

Sendo este o cálculo para a solução (i), assim foi feito, sucessivamente, para as outras soluções.

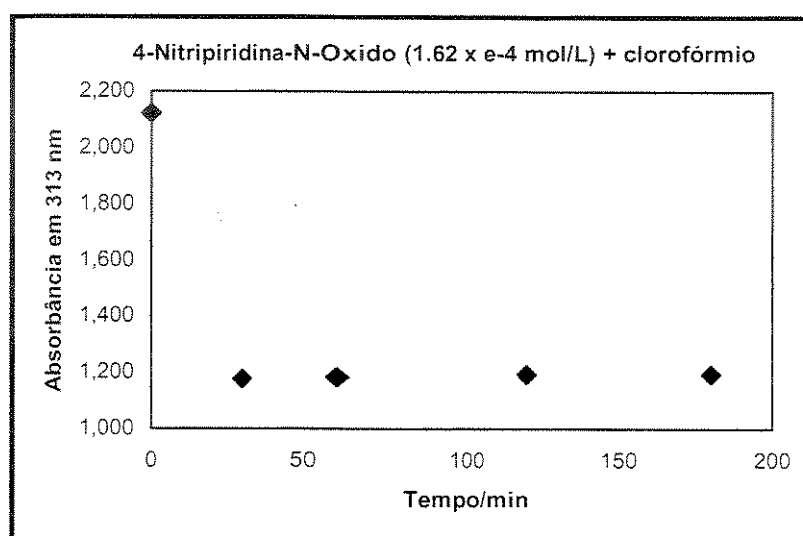


Figura 24- Absorbância (A) *versus* o tempo de experimento, em minutos.

Os valores de $\log P$ foram também determinados para o composto 4-nitropiridina-*N*-óxido (A), na concentração de $1,62 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ em solução aquosa, em todos os sistemas listados na Tabela 11. Isto foi feito seguindo o mesmo procedimento experimental descrito para o sistema clorofórmio/água. Os dados experimentais, bem como os valores de $\log P$ determinados e o desvio padrão, dp , estão compilados nas Tabelas 13-17.

Tabela 13- Resultados experimentais para o sistema diclorometano/água.

Solução	V^A/V^S	A_0 (a)	A_e (a)	A_0/A_e	P	logP
i	1,5	2,128	1,042	2,042	1,563	0,194
ii	1,5	2,127	1,057	2,012	1,518	0,181
iii	1,5	2,126	1,048	2,029	1,543	0,188
Média		2,127	1,049	2,028	1,542	0,188
dp		0,001	0,008	0,015	0,022	0,006

(a)valores médios das absorbâncias

Tabela 14- Resultados experimentais para o sistema dicloroetano/água.

solução	V^A/V^S	A_0	A_e	A_0/A_e	P	logP
i	1,3	2,082	1,100	1,893	1,161	0,065
ii	1,3	2,089	1,106	1,889	1,155	0,063
iii	1,3	2,090	1,106	1,890	1,157	0,063
média		2,087	1,104	1,890	1,158	0,064
dp		0,004	0,003	0,002	0,003	0,001

(a)média dos valores das absorbâncias

Tabela 15- Resultados experimentais para o sistema clorobenzeno/água.

solução	V^A/V^S	A_0 (a)	A_e (a)	A_0/A_e	P	logP
i	0,2	2,060	0,795	2,591	0,318	-0,497
ii	0,2	2,104	0,821	2,563	0,313	-0,505
iii	0,2	2,103	0,860	2,445	0,289	-0,539
média		2,089	0,825	2,533	0,307	-0,514
dp		0,025	0,033	0,077	0,015	0,022

(a)média dos valores das absorbâncias

Tabela 16- Resultados experimentais para o sistema bromobenzeno/água.

solução	V^A/V^S	A_0 (a)	A_e (a)	A_0/A_e	P	logP
i	0,5	2,092	1,254	1,668	0,334	-0,476
ii	0,5	2,123	1,272	1,669	0,335	-0,476
iii	0,5	2,095	1,287	1,628	0,314	-0,503
média		2,103	1,271	1,655	0,328	-0,485
dp		0,017	0,017	0,024	0,012	0,016

(a)média dos valores das absorbâncias

Tabela 17- Resultados experimentais para o sistema tolueno/água.

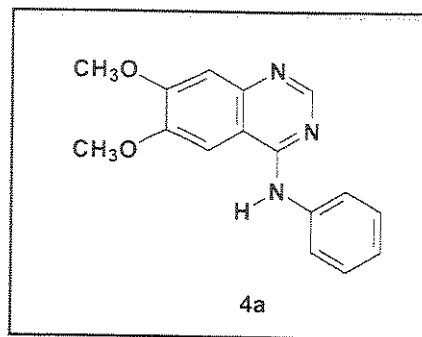
solução	V^w/V^S	A_e (a)	A_e (a)	A_0/A_e	P	logP
i	0,15	2,029	0,705	2,878	0,282	-0,550
ii	0,15	2,059	0,745	2,764	0,265	-0,577
iii	0,15	2,039	0,810	2,517	0,228	-0,643
média		2,042	0,753	2,720	0,258	-0,590
dp		0,015	0,053	0,184	0,028	0,048

(a)média dos valores das absorbâncias

As médias dos valores de logP apresentadas nas Tabelas 13-17, mostram que os resultados parecem estar corretos e não muito longe daqueles esperados (v. Tabela 11, p. 96). O erro das medidas é baixo, menos do que 0,1 unidades de log.

Finalmente, pode-se concluir que o método desenvolvido aqui é uma técnica fácil e que permite resultados consideráveis. Entretanto, seria interessante e melhores resultados seriam obtidos, se a concentração do soluto (ativo no UV) em equilíbrio fosse analisada em ambas as fases, no UV.

O coeficiente de partição, $\log P$, foi determinado para a quinazolina **4a** no sistema clorofórmio/água.



Foi preparada uma solução do composto **4a** em solução aquosa saturada com clorofórmio (2:1) água, na concentração de $7,12 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Então, o $\lambda_{\text{máx}}$ foi determinado através da análise no espectrômetro de UV (janela espectral de 700 a 200 nm): $\lambda_{\text{máx}} = 218,2, 250,2 \text{ e } 337,6 \text{ nm}$

O comprimento de onda escolhido para análise dos resultados foi o de 337,6 nm, pois os outros encontram-se na mesma faixa de absorção do clorofórmio no UV.

O valor calculado de $\log P$ em clorofórmio ($\log P_{\text{CHCl}_3} = 2,62$) foi obtido através da Equação de solvatação (15) (v. Tabela 10, p. 87), desenvolvida por Abraham [72-74].

A partir do dado calculado, foi possível estimar a razão entre os volumes (V^A/V^S) dos solventes. Então,

$$\text{Se } \log P (\text{CHCl}_3) = 2,62 \quad P = 416,9$$

A razão entre os volumes, sugerida pelo Dr. Abraham, foi de $V^A = 200 V^S$.

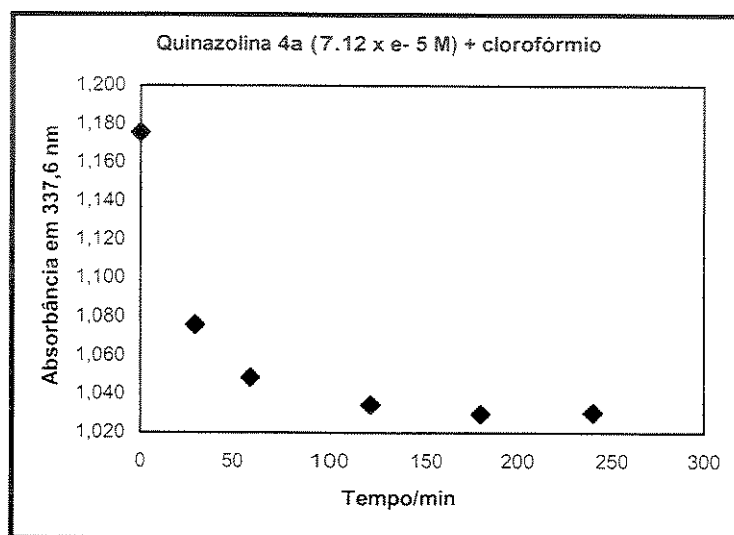
$V^A = 1000 \text{ mL}$ para a solução aquosa saturada com clorofórmio e $V^S = 5 \text{ mL}$ de clorofórmio saturado com clorofórmio.

O procedimento experimental foi desenvolvido da mesma maneira como foi explicado acima. Com a diferença de que para que esta mistura atingisse o equilíbrio foram requeridas 4 horas de experimento, 1 h a mais do que para os outros experimentos. Também trabalhou-se com apenas duas soluções e um branco, por causa da quantidade de material e volume grande dos frascos das soluções.

Os resultados são mostrados na Tabela 18 e Figura 25.

Tabela 18- Resultados experimentais para o composto **4a** no sistema clorofórmio/água.

solução	V^A/V^S	A_0	A_e	A_0/A_e	P	logP
i	200	1,183	1,049	1,128	25,548	1,407
ii	200	1,168	1,012	1,154	30,830	1,489
média		1,176	1,031	1,141	28,189	1,448
dp		0,011	0,026	0,019	3,735	0,058

Figura 25- Absorbância (A) *versus* o tempo de experimento, em minutos.

Apesar do erro experimental ter sido baixo ($\pm 0,06$), o valor de logP obtido ficou abaixo, em mais do que 1 unidade de *log*, do valor estimado.

4.4- O efeito de compostos quinazolinicos sobre a função contrátil do coração

Os resultados de atividade biológica, para algumas das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas sintetizadas, foram obtidos no laboratório de Fisiopatologia Cardiovascular (FCM-UNICAMP) pelos alunos de mestrado Rodrigo Miguel Marin e Jênifer Silmara Mataruco Sant'Ana, sob a orientação do Dr. Kleber Gomes Franchini. Os compostos avaliados estão descritos na Figura 26.

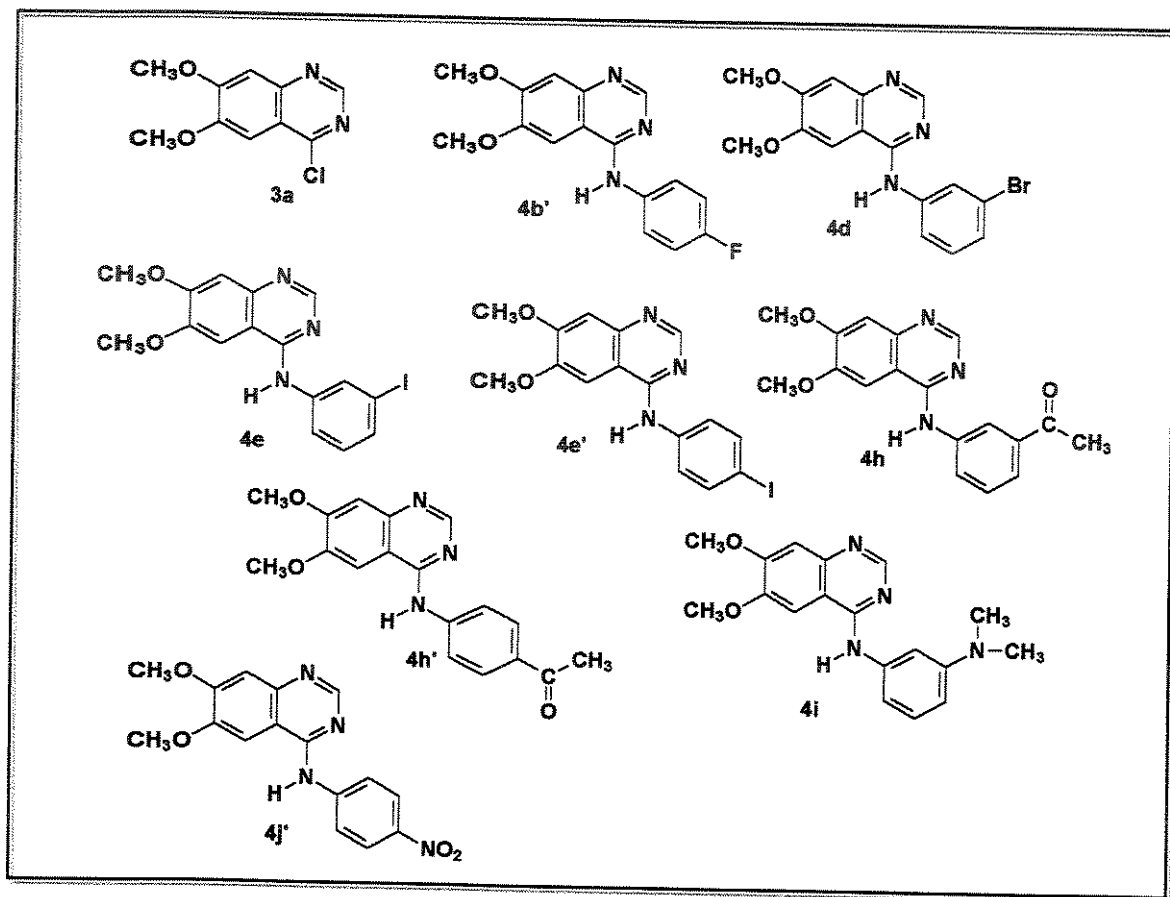
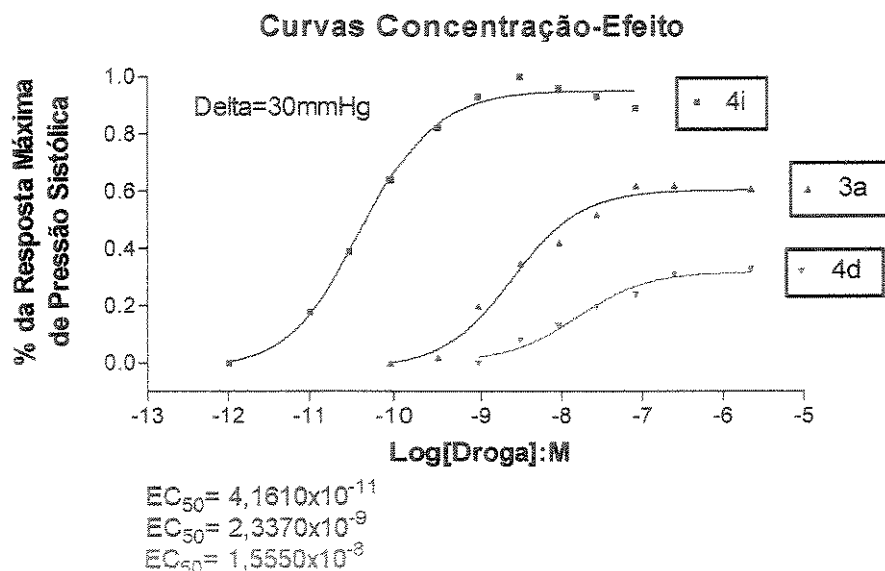


Figura 26- Compostos avaliados quanto aos efeitos sobre a função contrátil do coração.

As doenças do coração apresentam-se, com frequência, com disfunção contrátil do miocárdio. Esta resulta em síndrome de insuficiência cardíaca, condição clínica causadora de elevadas morbidade e mortalidade na população em geral [101,102]. O desenvolvimento de fármacos com função específica sobre uma enzima determinada pode ser fundamental para o conhecimento da importância da mesma sobre as funções

celulares e sua correlação com as doenças [101]. Além disso, fármacos com essas características apresentam potencial aplicação terapêutica na insuficiência cardíaca [12].



EC₅₀= concentração da droga que promoveu 50% do efeito na pressão (inclinação da curva).

M= mol.L⁻¹ Delta= 30 mmHg (variação que a droga provoca na pressão sistólica)

Figura 27- Resultados de experimentos realizados em corações, utilizando preparação do tipo Langendorff, para avaliar os efeitos das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas **3a**, **4d** e **4i** sobre a atividade contrátil do ventrículo esquerdo.

Foram realizados experimentos onde avaliou-se a resposta da pressão sistólica do ventrículo esquerdo a doses crescentes das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas **3a**, **4d** e **4i** (Figura 27). Estas quinazolinas provocaram aumentos consistentes da pressão sistólica gerada pelo ventrículo esquerdo com doses iniciais na faixa de pM, sugerindo efeito em mecanismos específicos. Através da análise do gráfico da resposta percentual de pressão sistólica *versus* Log [droga]:mol.L⁻¹ da Figura 27, pode-se observar que o composto inédito **4i** (EC₅₀= 4,16x10⁻¹¹) promoveu o maior aumento da pressão sistólica do coração quando comparada às drogas **3a** (EC₅₀=2,34X10⁻⁹) e **4d** (EC₅₀=1,55X10⁻⁸), em doses relativamente baixas, indicando a especificidade e

potência desse composto para o efeito inotrópico (aumento na força de contração do coração).

As respostas apresentadas pelos compostos **3a**, **4d** e **4i** nos motivaram à realização de experimentos para avaliar a atividade de outras quinazolininas (**4b'**, **4e**, **4e'**, **4h**, **4h'** e **4j'**) sobre a função contrátil do coração (Figura 28).

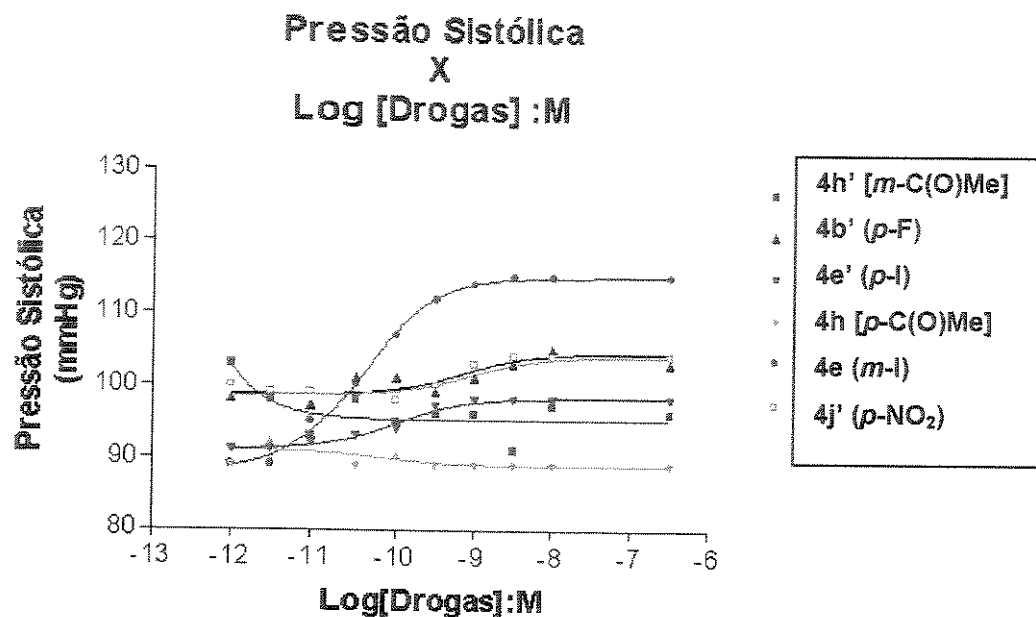


Figura 28- Resultados de experimentos realizados em corações, utilizando preparação do tipo Langendorff, para avaliar os efeitos das 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas **4b'**, **4e**, **4e'**, **4h**, **4h'** e **4j'** sobre a atividade contrátil do ventrículo esquerdo.

Na Figura 28, estão representadas as curvas de resposta da pressão sistólica do ventrículo esquerdo às doses crescentes de 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolininas **4b'**, **4e**, **4e'**, **4h**, **4h'** e **4j'**. Através da análise deste gráfico, pode-se observar que o composto **4e** promoveu maior resposta no aumento da pressão sistólica quando comparado com os demais compostos quinazolínicos. Outro ponto importante é observado para o composto **4e'**, isômero de **4e**, que apresenta um efeito positivo, porém com intensidade menor. Já os isômeros **4h** e **4h'** não promoveram efeito sobre a função cardíaca. Os compostos **4b'** e **4j'** apresentaram respostas pouco expressivas.

O efeito inotrópico positivo observado com os compostos 3a, 4d, 4e, 4e' e 4i pode ser devido à sua ação em múltiplos sítios e mecanismos intracelulares [101]. Independentemente do mecanismo de ação, os resultados observados, em doses relativamente baixas das quinazolininas, indicam ação bastante específica. Um dos mecanismos possíveis pelos quais agentes inotrópicos agem é através de modificação da disponibilidade de Ca^{2+} para o aparelho contrátil dos cardiomiócitos [101,102].

Os mecanismos pelos quais este aumento do estado inotrópico ocorre ainda não são compreendidos [101]. No entanto, torna-se interessante investigar se esses fármacos estariam atuando através da ativação de vias conhecidas, que promovem o aumento da função contrátil. Para tais experimentos, foi escolhido o composto inédito 4i que promoveu a maior resposta sobre a pressão sistólica em comparação com os demais compostos.

Uma primeira hipótese, seria a participação de receptores β -adrenérgicos nas respostas inotrópicas positivas [102]. Uma outra, seria o aumento da concentração de íons cálcio no interior da célula cardíaca, motivado pelo composto 4i.

Para verificar o envolvimento dos receptores β -adrenérgicos do coração, foram avaliados os efeitos da adição, no tampão de perfusão, de um antagonista β ($2\mu\text{M}$ de propranolol) sobre a curva concentração-efeito do 4i em corações isolados de ratos.

Com relação ao envolvimento do íon cálcio, nas respostas obtidas com o composto 4i, utilizaram-se dois procedimentos:

- Adição de um bloqueador de canal de cálcio tipo L ($1\mu\text{M}$ de diltiazem).
- Redução da concentração de cálcio no tampão de perfusão do coração isolado.

A Figura 29, mostra que a adição de propranolol ao tampão não provocou alteração no efeito inotrópico positivo causado pelo composto 4i em corações isolados. Isto sugere que o composto 4i não exerceu seu efeito inotrópico por ação no receptor β .

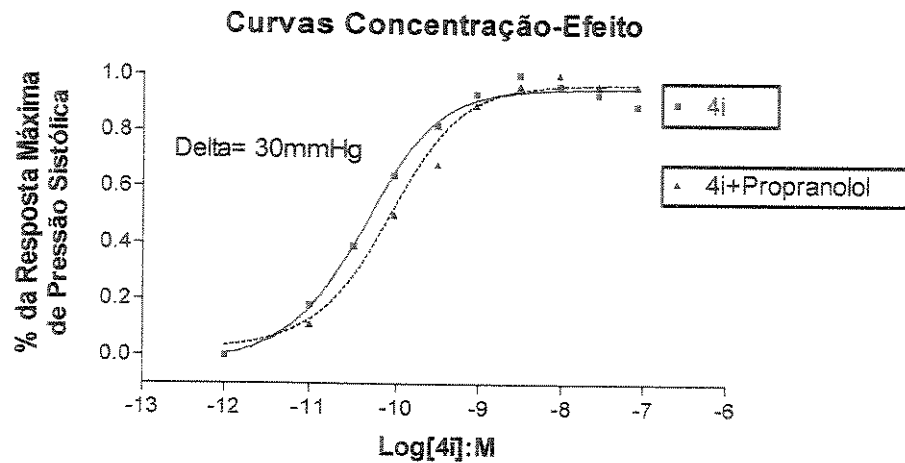


Figura 29- Efeito da adição de $2\mu\text{M}$ de propranolol sobre a curva concentração-efeito de 4i em corações isolados de ratos. Os dados representam a média de 6 experimentos.

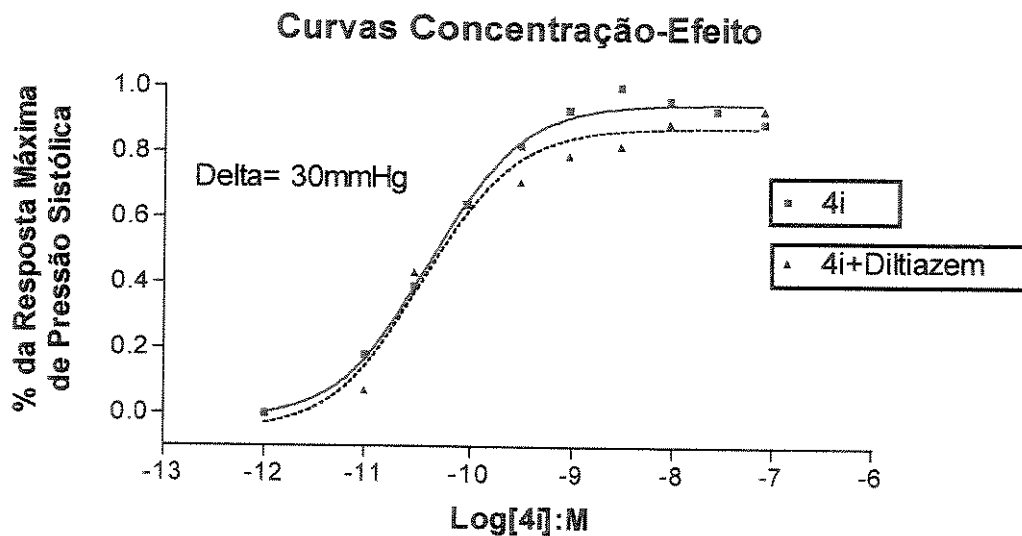


Figura 30- Efeito da adição de $1\mu\text{M}$ de diltiazem sobre a curva concentração-efeito de 4i em corações isolados de ratos. Os dados representam a média de 6 experimentos.

A adição de diltiazem ao tampão, como apresentado na Figura 30, também não provocou alteração no efeito inotrópico positivo causado pelo 4i em corações isolados. O diltiazem é um inibidor conhecido do canal de cálcio do tipo L, responsável pela modulação da entrada de cálcio no miócito cardíaco, um importante modulador do inotropismo. Nosso resultado sugere que o efeito inotrópico do composto 4i não se dá através do canal tipo L de cálcio.

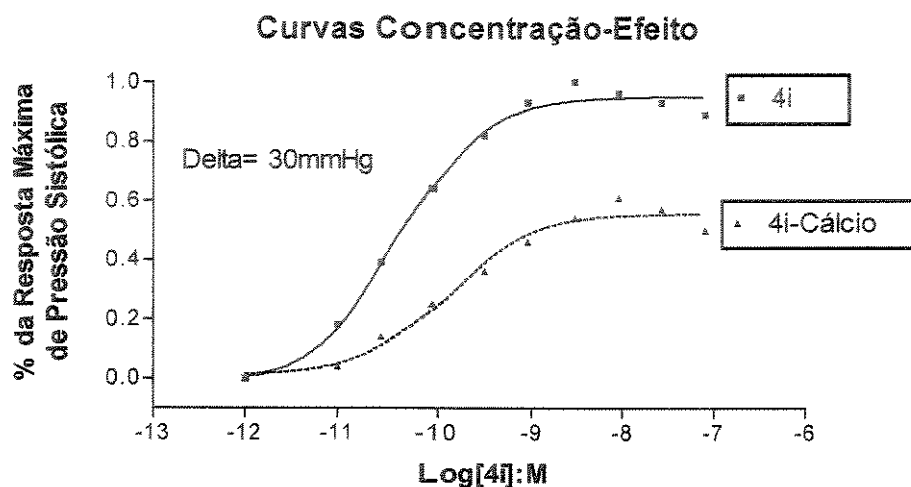


Figura 31- Efeito da redução da concentração de cálcio sobre a curva concentração-efeito de 4i em corações isolados de ratos. Os dados representam a média de 6 experimentos.

O efeito inotrópico positivo em resposta às doses do composto 4i foi atenuado pela redução da concentração de cálcio no tampão de perfusão (Figura 31). Este resultado foi interpretado como inespecífico, já que modificações na disponibilidade do cálcio para o aparelho contrátil sempre provocaram alterações no inotropismo, devido ao fato desse mecanismo ser a via final comum de todos os mecanismos que regulam o inotropismo [101,102]. No entanto, estes resultados são úteis para a reafirmação da consistência dos resultados dos demais experimentos (Figuras 29 e 30), que não influenciaram o efeito inotrópico do 4i.

De maneira geral, estes resultados indicaram que o composto 4i produz efeito inotrópico por mecanismo específico intracelular [101,102]. Com base em informações anteriores [3-6] de que compostos semelhantes têm efeito inibidor na atividade de tirosina quinases, pode-se sugerir que seu efeito inotrópico positivo se deva à inibição da fosforilação em tirosinas de proteínas envolvidas no mecanismo de contração muscular [102].

5-Conclusões

Os resultados obtidos permitiram chegar às seguintes conclusões:

Síntese: através da utilização de uma metodologia descrita na literatura, conforme proposto no Esquema 1 (v. Objetivos, p. 5), foram obtidos todos os 19 derivados de 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas (**4a-4j** e **4b'-4j'**) e seus intermediários **2a** e **3a**, em rendimentos de razoáveis a satisfatórios. O 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (**3a**) foi utilizado como um composto alternativo para reagir com as anilinas 3- e 4-substituídas. O átomo de cloro apresentou-se como um bom grupo de saída frente a nucleófilos tais como os grupos anilinos, possibilitando assim, a reação de substituição nucleofílica aromática [29].

Nenhum dos procedimentos testados, mesmo aqueles indicados como altamente eficientes [94-99], na desmetilação dos 6,7-dimetóxiderivados para levar à formação dos intermediários fenólicos (**5a-5j** e **5b'-5j'**) conduziu a resultados satisfatórios. Consequentemente, não foi possível testar a quinta etapa do Esquema 1 (v. Objetivos, p.5). Tentou-se, então, preparar o aminoácido de partida, o ácido 2-amino-4,5-dietoxibenzóico (não é produto comercial), a partir da etilação dos grupamentos OH do 4-metilcatecol e, posteriormente, do ácido 3,4-diidroxibenzóico. No entanto, também aqui não conseguimos reproduzir os resultados da literatura [100].

Devido às dificuldades encontradas na preparação do material de partida e dos intermediários fenólicos, não foi possível a obtenção dos derivados 6,7-dietóxi-4-anilinoquinazolinas (**6a-6j** e **6b'-6j'**), conforme proposto no Esquema 1 (Objetivos, p. 5). No entanto, pode-se considerar que o conjunto de resultados obtidos para as 6,7-dimetóxi-4-anilinoquinazolinas (**4a-4j**) e (**4b'-4j'**) sob o ponto de vista de síntese (12 dos 19 compostos sintetizados são inéditos), espectroscopia, coeficientes de partição experimentais e calculados, atividade biológica (avaliação dos efeitos desses inibidores de tirosina quinases sobre a função contrátil do coração) é bastante interessante, o que tornam estes compostos tão importantes quanto os 6,7-dietóxiderivados.

Espectros de RMN: foram obtidos os espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C e em 2D (gCOSY, HSQC e gHMBC) para os compostos sintetizados **4a-4j** e **4b'-4j'** e seus intermediários **2a** e **3a**. Os sinais dos hidrogênios das metoxilas H-6a e H-7a foram identificados através das correlações de H-6a com H-5 ($^5J_{\text{H-H}}$) e H-7a com H-8 ($^5J_{\text{H-H}}$) observadas nos diagramas de contorno gCOSY. Tendo-se concluído as atribuições dos sinais dos hidrogênios, os sinais dos respectivos carbonos metínicos foram facilmente identificados nos diagramas de contorno HSQC ($^1J_{\text{C-H}}$). Devido à quantidade de carbonos quaternários, as correlações à longa distância, que são observadas nos diagramas de contorno gHMBC, tornaram-se indispensáveis. Nestes, foram observadas as seguintes correlações $^nJ_{\text{C-H}}$: os sinais dos carbonos quaternários C-6 e C-7 foram facilmente identificados através da observação de uma forte correlação ($^3J_{\text{C-H}}$) dos prótons metoxílicos H-6a com C-6 e H-7a com C-7. H-2 apresentou correlações ($^3J_{\text{C-H}}$) com C-4 e C-9. Já o hidrogênio H-5 correlacionou-se através de $^3J_{\text{C-H}}$ com os carbonos C-4, C-7 e C-9 e através de $^2J_{\text{C-H}}$ com o carbono C-6. Pode-se observar que H-8 apresentou correlações a três ligações com C-6 e C-10 e a duas ligações com os carbonos C-7 e C-9. Com relação aos sinais dos carbonos dos sistemas *N*-fenila substituídos, houve facilidade na atribuição dos sinais dos carbonos C-3' ou C-4', aos quais estão os grupamentos OMe, Me, COMe e NMe₂, uma vez que foram observadas, no gHMBC, as correlações dos prótons das metilas destes com seus respectivos carbonos. Dessa forma, todos os carbonos quaternários da estrutura foram atribuídos corretamente.

Coeficientes de Partição: Os dois métodos [Índice Cromatográfico de Hidrofobicidade (CHI) e o "Micro-Shake-Flask"] utilizados na determinação dos valores dos coeficientes de partição, na forma de logP, proporcionaram rapidez e eficiência às medidas da lipofilicidade dos compostos **3a**, **4a-4j** e **4b'-4j'** [62,70]. Os dados apresentados nas Tabelas 6 e 8 sugerem alto caráter lipofílico para as quinazolininas, ou seja, que elas se distribuem melhor em ambientes lipofílicos. Os valores de lipofilicidade medidos (CHIlogP e logP octanol/água) foram, em muitos casos, 2 unidades menores do que os dados estimados através dos métodos de cálculos (por exemplo, *clogP*).

Os gráficos de regressão linear entre os valores determinados e calculados mostraram algumas correlações expressivas e outras baixas. Isto pode ser atribuído ao fato de que cada método de cálculo funciona bem para certos tipos de compostos e, também, que cada um emprega aproximações diferentes para o cálculo [71].

Com relação ao método “shake-flask” tradicional, foram determinadas a partição/distribuição de um composto modelo A (4-nitropiridina-*N*-óxido), considerando vários sistemas de solvente/água [66]. Os resultados experimentais mostraram muito boa concordância com aqueles estimados por meio de cálculos. Também foi verificada a distribuição da quinazolina **4a** no sistema clorofórmio/água, entretanto, apesar do erro experimental ter sido baixo ($\pm 0,06$), o valor de logP obtido ficou abaixo, em mais do que 1 unidade, do valor estimado.

Atividade biológica sobre a função contrátil do coração: embora os ensaios biológicos, que avaliam os efeitos dessas drogas sobre a função contrátil do coração, tenham sido iniciados há pouco mais de 1 ano, os experimentos ainda estão em andamento. Uma vez que a maior parte desse período foi destinada ao processo de otimização e validação do método.

Das nove substâncias testadas destacam-se as **3a**, **4d**, **4e**, **4e'** e **4i**, que promoveram maior efeito inotrópico positivo (aumento da pressão sistólica). O efeito destas drogas pode ser devido a sua ação em múltiplos sítios e mecanismos intracelulares [101,102]. No entanto, os mecanismos pelos quais este aumento do estado inotrópico ocorre, ainda não são compreendidos.

Tornou-se interessante investigar se estes fármacos estariam atuando através de vias conhecidas como receptores β -adrenérgicos, adição de bloqueadores de canal de cálcio tipo L e redução da concentração de cálcio no tampão [101,102]. Para estes testes foi escolhido o composto **4i**, por ser inédito e ter a melhor resposta sobre a pressão sistólica em ensaios anteriores (v. Figura 27, p. 105). O composto **4i** apresentou uma melhor resposta no ensaio de redução da concentração de cálcio no tampão, pois o efeito inotrópico positivo, em resposta à adição de **4i**, foi atenuado pela redução da concentração de Ca^{2+} (v. Figura 31, p. 109).

Com base em informações anteriores [3-6] que compostos semelhantes tem efeito inibidor na atividade de tirosina quinases, pode-se sugerir que seu efeito inotrópico positivo se deva à inibição da fosforilação em tirosinas de proteínas envolvida no mecanismo de contração muscular [102].

6- Referências Bibliográficas

- 1- Montanari, C. A.; *Quím. Nova* **1995**, 18, 56.
- 2- Rocco, S. A.; *Dissertação de Mestrado*, UNICAMP (1998).
- 3- Fry, D. W.; Kraber, A. J.; McMichael, A.; Ambroso, L. A.; Nelson, J. M.; Leopold, W. R.; Connors, R. W.; Bridges, A. J.; *Science* **1994**, 265, 1093.
- 4- Fry, D. W.; *Annu. Rep. Med. Chem.* **1996**, 31, 151.
- 5- Fry, D.W.; *Pharmacol. Ther.* **1999**, 82, 207.
- 6- Levitzki, A.; *Pharmacol. Ther.* **1999**, 82, 231.
- 7- Raymond, E.; Sandrine, F.; Armand, J. P.; *Drugs* **2000**, 60 (supl.1), 15.
- 8- McMahon, G.; Shawver, L. K.; Narog, B.; Tang, P. C.; Hirth, K. P.; WO9810767; *Chem. Abstr.* **1998**, 128, 261949.
- 9- Shewchuk, L.; Hassell, A.; Wisely, B.; Rocque, W.; Holmes, W.; Veal, J.; Kuyper, L. F.; *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 133.
- 10-Hennequin, L. F.; Thomas, A. P.; Jonhstone, C.; Stokes, E. S. E.; Plé, P. A.; Lohmann, JJ. M.; Ogilvie, D. J.; Dukes, M.; Wedge, S. R.; Curwen, J. O.; Kendrew, J.; Lambert-Van der Brempt, C.; *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 5369.
- 11-Nomoto, Y.; Obase, H.; Takai, H.; Tadashi, H.; Teranishi, M.; Nakamura, J.; Kubo, K.; *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, 38, 1591.
- 12-Takase, Y.; Saeki, T.; Watanabe, N.; Adachi, H.; Souda, S.; Saito, I.; *J. Med. Chem.* **1994**, 37,2106.
- 13-Watanabe, N.; Adachi, H.; Takase, Y.; Ozaki, H.; Matsukura, M.; Miyazaki, K.; Ishibashi, K.; Ishihara, H.; Kodama, K.; Nishino, M.; Kakiki, M.; Kabasawa, Y.; *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2523.
- 14-Stryer, L.; *Bioquímica* **1985**, Ed. Reverté S. A., Barcelona, 2a. edição, 791.
- 15-Savage, C. R.; Hash, J. H.; Cohen, S.; *J. Biol. Chem.* **1973**, 248, 7669.
- 16-Carpenter, G.; *Annu. Rev. Biochem.* **1987**, 56, 881.
- 17-Gill, G. N.; Bertics, P. J.; Santon; J. B.; *Mol. Cell. Endocrinol.* **1987**, 51, 169.
- 18-Schlessinger, J. Ullrich, A.; *Neuron* **1992**, 9, 383.
- 19-Panayoton, G.; Waterfield, M. D.; *Bioessays* **1993**, 15, 171.
- 20-Aaronson, S. A.; *Science* **1991**, 254, 1146.

- 21-Cantley, L. C.; Anger, K. R.; Carpenter, C.; Duckworth, B.; Graziani, A.; Kapeller, R.; Soltoff, S.; *Cell*, **1991**, 64, 281.
- 22-Schlessinger, J.; *Trends Biochem. Sci.* **1993**, 18, 273.
- 23-Chang, C.; Geahlen, R. L.; *J. Nat. Prod.* **1992**, 55, 1529.
- 24-Sandgren, E. P.; Luetkeke, N. C.; Palmiter, R. D.; Brinster, R. L.; Lee, D. C.; *Cell*, **1990**, 61, 1121.
- 25-Masui, H.; Kawamoto, T.; Sato, J. D.; Wolf, B.; Sato, G.; Mendelsohn, J.; *Cancer Res.* **1984**, 44, 1002.
- 26-Osherov, N.; Levitzki, A.; *Eur. J. Biochem.* **1994**, 225, 1047.
- 27-Ward, W. H. J.; Cook, P. N.; Slater, A. M.; Davies, H.; Holdgate, G. A.; Green, L. R.; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48, 659.
- 28-Rewcastle, G. W.; Denny, W. A.; Bridges, A. J.; Zhou, H.; Cody, D. R.; McMichael, A.; Fry, D. W.; *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3482.
- 29-Bridges, A. J.; Zhou, H.; D. Cody, R.; Rewcastle, G. W.; McMichael, A.; Showalter, H. D. H.; Fry, D. W.; Kraber, A. J.; Denny, W. A.; *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 267.
- 30-Gazit, A.; Chen, J.; McMahon, Hirth, P. Chen, I., Levitzki, A.; *Bioorg. Med. Chem.*, **1996**, 4, 1203.
- 31-Gibson, K. H.; Grundy, W.; Godfrey, A. A.; Woodburn, J. R.; Ashton, S. E.; Curry, B. J.; Scarlett, L.; Barker, A. J.; Brown, D. S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, 7, 2723.
- 32-Rewcastle, G. W.; Denny, W. A.; Showalter, H. D. H.; *Curr. Org. Chem.* **2000**, 4, 679.
- 33-Ciardiello, F.; *Drugs* **2000**, 60 (supl. 1), 25.
- 34-Gibson, K.; World Patent Application WO 96/33980, **1996**.
- 35-Woodburn, J. R.; Barker, A. J.; Gibson, K. H.; *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* **1997**, 38, 633.
- 36-Moyer, J. D.; Barbacci, E. G.; Iwata, k.; *Cancer Res.* **1997**, 57, 4838.
- 37-Fry, D. W.; Bridges, A. J.; Denny, W. A.; Doherty, A.; Gries, K. D.; Hicks, J. L.; Hook, K. E.; Keller, P. R.; Leopold, W. R.; Loo, J. A.; McNamara, D. J.; Nelson, J. M.; Sherwood, V.; Smaill, J. B.; Trumpp-Kallmeyer, S.; Dobrusin, E. M.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95, 12022.
- 38-Smaill, J. B.; Palmer, B. D.; Rewcastle, G. W.; Denny, W. A.; McNamara, D. J.; Dobrusin, E. M.; Bridges, A. J.; Zhou, H.; Showalter, H. D. H.; Winters, R. T.;

- Leopold, W. R.; Fry, D. W.; Nelson, J. M.; Slintak, V.; Elliot, W. L.; Roberts, B. J.; Vincent, P. W.; Patmore, S. J.; *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1803.
- 39-Discafani, C. M.; Carroll, M. L.; Floyd, M. B. Jr.; Hollander, I. J.; Hussain, Z.; Johnson, B. D.; Kitchen, D.; May, M. K.; Malo, M. S.; Minnick, A. A. Jr.; Nilakantan, R.; Shen, R.; Wang, Y.-F.; Wissner, A.; Greenberger, L. M.; *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 57, 917.
- 40-Tsou, H.-R.; Mamuya, N.; Johnson, B. D.; Reich, M. F.; Gruber, B. C.; Ye, F.; Nilakantan, R.; Shen, R.; Discafani, C.; DeBlanc, R.; Davis, R.; Koehn, F. E.; Greenberger, L. M.; Wang, Y.-F.; Wissner, A.; *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2719.
- 41-Smaill, J. B.; Rewcastle, G. W.; Bridges, A. J.; Zhou, H.; Showalter, H. D. H.; Fry, D. W.; Nelson, J. M.; Sherwood, V.; Elliot, W. L.; Vincent, P. W.; DeJohn, D. E.; Loo, J. A.; Greis, K. D.; Chan, O. H.; Reyner, E. L.; Lipka, E.; Denny, W. A.; *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 1380.
- 42-Rewcastle, G. W.; Palmer, B. D.; Thompson, A. M.; Bridges, A. J.; Cody, D. R.; Zhou, H.; Fry, D. W.; McMichael, A.; Denny, W. A.; *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1823.
- 43-Traxler, P. M.; Furet, P.; Mett, H.; Buchdunger, E.; Meyer, T.; Lyndon, N.; *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2285.
- 44-Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M.; *Princípios de Bioquímica* **2000**, 2a. edição, 571
- 45-Fujishige, K.; Kotera, J.; Michibata, H.; Yuasa, K.; Takebayashi, S.-I.; Okumura, K.; Omoris, K.; *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 18438.
- 46-Ukita, T.; Nakamura, Y.; Kubo, A.; Yamamoto, Y.; Moritani, Y.; Saruta, K.; Higashijima, T.; Kotera, J.; Michino, T.; Kikkawa, K.; Omori, K.; *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2204.
- 47-Corbin, J. D.; Francis, S. H.; *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 13729.
- 48-Lee, S. J.; Konishi, Y.; Yu, D. T.; Miskowski, T. A.; Riviello, C. M.; Macina, O. T.; Frierson, M. R.; Kondo, K.; Sugitani, M.; Sircar, J. C.; Blazejewski, K. M.; *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3547.
- 49-Terret, N. K.; Bell, A. S.; Brown, D.; Ellis, P.; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 1819.

- 50-Armarego, W. L. F.; in *"The Chemistry of Heterocyclic Compounds"*, D. J. Brown ed. Interscience: New York, Vol. 24, 1967.
- 51-Barton, D.; Ollis, W. D.; *"Comprehensive Organic Chemistry"*; Pergamon: Oxford, Vol. 4, 1979, p.122.
- 52-Girgis, N. S.; Möller J.; Pedersen, E. B.; *Chem. Scripta*, **1986**, 26, 617.
- 53-Levitzki, A.; Gazit, A.; *Science*, **1995**, 267, 1782.
- 54-Rewcastle, G. W.; Palmer, B. D.; Bridges, A. J.; Showalter, H. D. H.; Sun, L.; Nelson, J.; McMichael, A.; Kraber, A. J.; Fry, D. W.; Denny, W. A.; *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 918.
- 55-Hansch, C.; Majoney, P.P. ; Fujita, T. ; Muir, R. M.; *Nature* **1962**, 194, 178.
- 56-Hansch, C; Fujita, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 1616.
- 57-Leo; A.; Hansch, C.; Elkins, D.; *Chem. Rev.* **1971**, 7, 525.
- 58-Hansch, C.; Leo; A.; *Chem. Rev.* **1993**, 91, 1281.
- 59-Berthelot, M.; Jungfleish, E.; *Ann. Chim. Phys.* **1872**, 26, 396.
- 60-Meyer, H.; *Arch, Exp. Pathol. Pharmacol.* **1899**, 42, 109.
- 61-Overton, E.; *Z. Phys. Chem.* **1897**, 22, 189.
- 62-Valkó K. (Ed.), *Separation Methods in Drugs Synthesis and Purification*, Handbook of Analytical Separations, Elsevier, Vol. 1, **2000**.
- 63-Valkó, K.; Plass, M.; Bevan, C.; Reynolds, D.; Abraham, M. H.; *J. Chromatogr. A* **1998**, 797, 41.
- 64-Hansch, C.; Leo , A.; *MedChem clogP Program*, Daylight, Medicinal Chemistry Project, Pomona College, CA, USA, **1993**.
- 65-ACD/logP, *Advanced Chemistry Development Inc.*, Toronto, ON, Canada, **1996**, Version 1.
- 66-Abraham, M. H.; University College London, Londres, Inglaterra, comunicação pessoal.
- 67-Hill, A. P.; McDonough, P.; Bevan, C. D.; *GlaxoSmithKline*, Stevenage, Inglaterra, comunicação pessoal.
- 68-Vlakó, K.; Bevan, C.; Reynolds, D.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2022.
- 69-Du, C. M.; Valkó, K.; Bevan, C.; Reynolds, D.; Abraham, M. H. ; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4228.

- 70-Vlakó, K.; Du, C. M.; Bevan, C.; Reynolds, D.; Abraham, M. H.; *Curr. Med. Chem.* **2001**, 8, 1137.
- 71-Valkó, K.; *GlaxoSmithKline*, Stevenage, UK, protocolo interno.
- 72-Abraham, M. H.; *Chem. Soc. Rev.* **1993**, 22, 73.
- 73-Platts, J. A.; Butina, D.; Abraham, M. H.; Hersey, A.; *Chem. Inf. & Comp. Sci.* **1999**, 39, 835. Software comercialmente (ABSOLV) disponível pela Sirius.
- 74-Abraham, M. H.; *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3484.
- 75-Abraham, M. H.; McGowan, J. C.; *Chromatographia* **1987**, 23, 243.
- 76-Vlakó, K.; Espinosa, S.; Du, C. M.; Bosch, E.; Rosés, M.; Bevan, C.; Abraham, M. H.; *J. Chromatogr. A* **2001**, 933, 73.
- 77-Abraham, M. H.; University College London Database, 1997.
- 78-Green, C. E.; Abraham, M. H.; Jr. Acree, W. E.; De Fina, K. M.; Sharp, T. L.; *Pest. Manag. Sci.* **2000**, 56, 1043.
- 79-Kamlet, M. J.; Doherty, R. M.; Abboud J.-L. M.; Abraham, M. H.; Taft, R. W.; *CHEMTECH* **1986**, 16, 566.
- 80-Abraham, M. H.; Doherty, R. M.; Kamlet, M. J.; Taft, R. W.; *Chem. Brit.* **1986**, 22, 551.
- 81-ABSOLV (Solute property prediction) é software comercial, Sirius Analytical, Sussex, Inglaterra, **2000**.
- 82-Abraham, M. H.; Duce, P. P.; Grellier, P. L.; Prior, D. V.; Morris, J. J.; Taylor, P. J.; *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 1587.
- 83-Abraham, M. H.; Grellier, P. L.; Prior, D. V.; Duce, P. P.; Morris, J. J.; Taylor, P. J.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1989**, 699.
- 84-Abraham, M. H.; Grellier, P. L.; Prior, D. V.; Morris, J. J.; Taylor, P. J.; Laurence, C.; Berthelot, M.; *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2571.
- 85-Abraham, M. H.; Grellier, P. L.; Prior, D. V.; Morris, J. J.; Taylor, P. J.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1990**, 5211.
- 86-Abraham, M. H.; Whiting, G. S.; *J. Chromatogr.* **1992**, 594, 229.
- 87-Abraham, M. H.; *J. Chromatogr.* **1993**, 644, 95.
- 88-Abraham, M. H.; *J. Phys. Org. Chem.* **1993**, 6, 660.
- 89-Abraham, M. H.; Takacs-Novak, K.; Mitchell, R. C.; *J. Pharm. Sci.* **1997**, 86, 310.

- 90-Abraham, M. H.; Martins, F.; Mitchell, R. C.; Salter, C. J. *J. Pharm. Sci.* **1999**, 88, 241.
- 91-Plass, M.; Valkó, K.; Abraham, M. H.; *J. Chromatogr. A* **1998**, 803, 51.
- 92-Abraham, M. H.; Green, C. G.; Acree, W. E., Jr.; Hernandez, C. E.; Roy, L. E.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1998**, 2677.
- 93-Abraham, M. H.; Whiting, G. S.; Doherty, R. M.; Shuely, W. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2* **1990**, 1451.
- 94-Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Rogers, V.; Smith, P. W. G.; Tatchell, A.; *Vogel's Text Book of Practical Organic Chemistry*, 4a. ed., 1978.
- 95-Clarke, H. T.; Taylor, E. R.; *Org. Synth., Collect.* **1941**, vol. I, 150.
- 96-Kocienski, P. J.; *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1994**.
- 97-McMie, J. F. W.; Watts, M. L.; West, D. E.; *Tetrahedron* **1968**, 24, 2289.
- 98-Mahood, S. A.; Schaffner, P. V. L.; *Org. Synth., Collect.* **1943**, vol. II, 160.
- 99-Node, M.; Nishide, K.; Fuji, K.; Fujita, E.; *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4275.
- 100-Wissner, A.; Berger, D. M.; Boschelli, D. H.; Floyd, M. B.; Greenberger L. M.; Gruber, B. C.; Johnson, B. D.; Mamuya, N.; Nilakantan, R.; Reich, M. F.; Shen, R.; Tsou, H.-R.; Upeslakis, E.; Wang, Y. F.; Wu, B.; Ye, F.; Zhang, N.; *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3244.
- 101-Franchini, K. G.; Torsoni, A. S.; Soares, P. H. A.; Saad, M. J. A.; *Circ. Res.* **2000**, 87, 558.
- 102-Franchini, K. G.; *Projeto Temático* (submetido), 2001.
- 103-Crews, P.; Rodríguez, J.; Jaspars, M.; *Organic Structure Analysis*, Oxford University Press, **1998**, p. 125.
- 104-Gil, V. M. S.; Geraldies, C. F. G. C.; *Ressonância Magnética Nuclear – Fundamentos, Métodos e Aplicações*, Fundação Calouste (Gulbenkian), **1987**, p.119.
- 105-Günther, H.; *NMR Spectroscopy – Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, John Wiley & Sons, 2a. Edition, **1994**, p.135.
- 106-Breitmaier, E.; Voelter, W.; *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, VCH, 3a. Edition, **1989**, p. 295.

ANEXO

Espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C
Diagramas de contorno gCOSY, HSQC, gHMBC

Silvana Quina DMSO abr27sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp: 25.0 C / 298.1 K

File: abr27sarH

INOVA-500 "nmrsun"

Pulse 25.9 degrees

Acq. time 3.277 sec

Width 6934.8 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1, 499.851289 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.2 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 45 sec

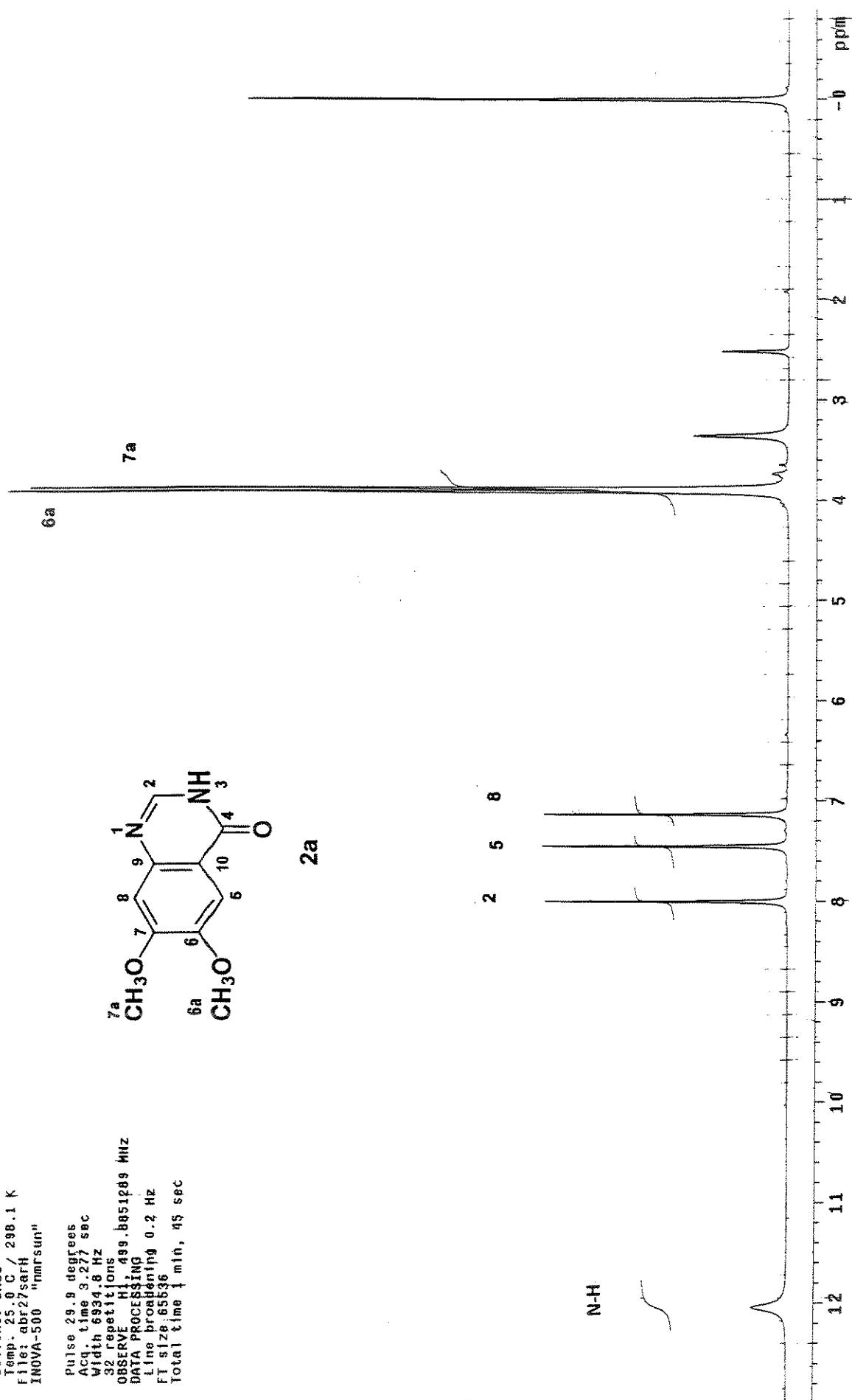
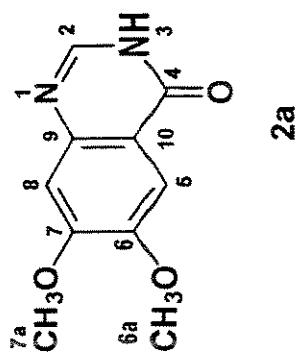


Figura A1- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-quinazolinona (2a).

Silvana Quina DMSO abr27sarç

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp. 25.0 C / 298.1 K

User: 1-14-87

File: abr27sarç

INOVA-500 "nmf'sun"

Relax. delay 1.50b sec

Pulse 45.0 degree

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

2115 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962847 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876503 MHz

Power 34 dB

continuously on

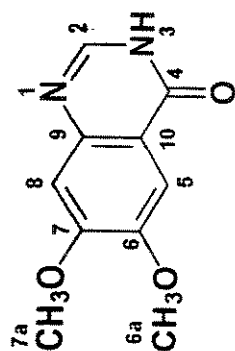
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 3 hr, 31 min, 6 sec



2a

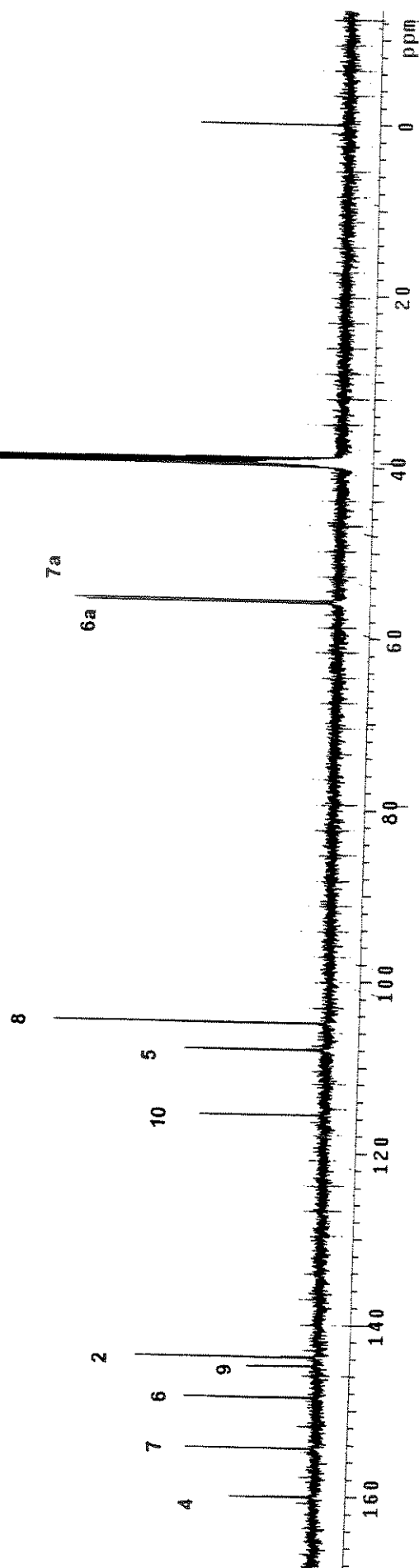


Figura A2- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetóxi-4-quinazolinona (2a).

Silyana Qloroqui DMSO abr06sarç1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: abr06sarç1

INDVA-B00 "nmr.sun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

688 repetitions

OBSERVE C13, 125.5962837 MHz

DECOUPLE H1, 499.8676903 MHz

Power 45 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 4 hr, 12 min, 46 sec

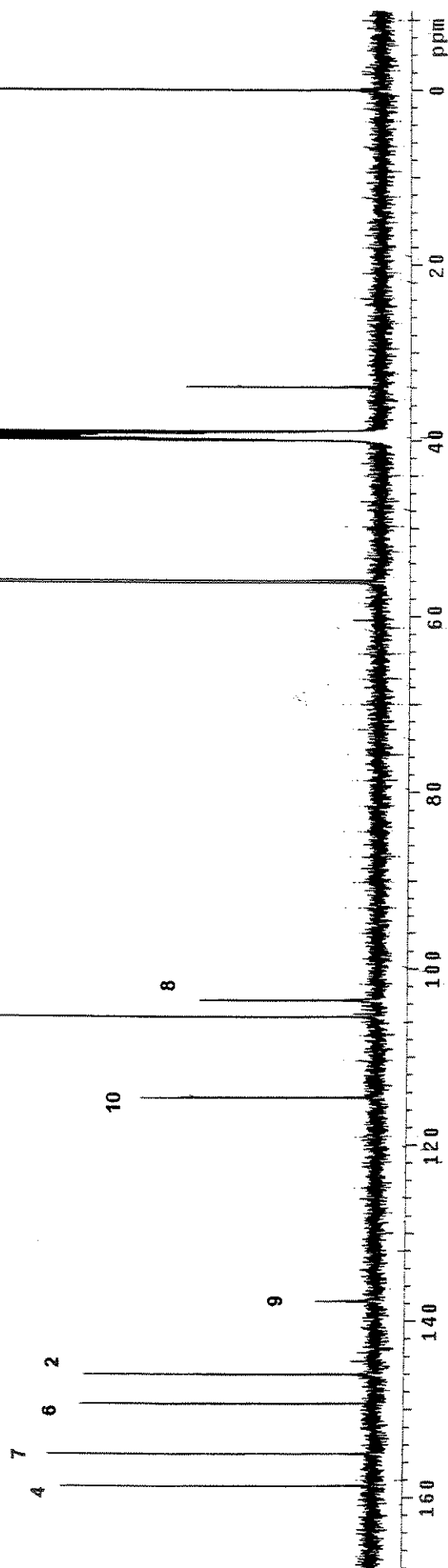
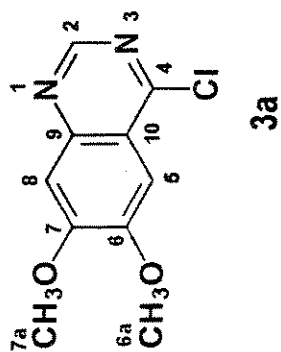
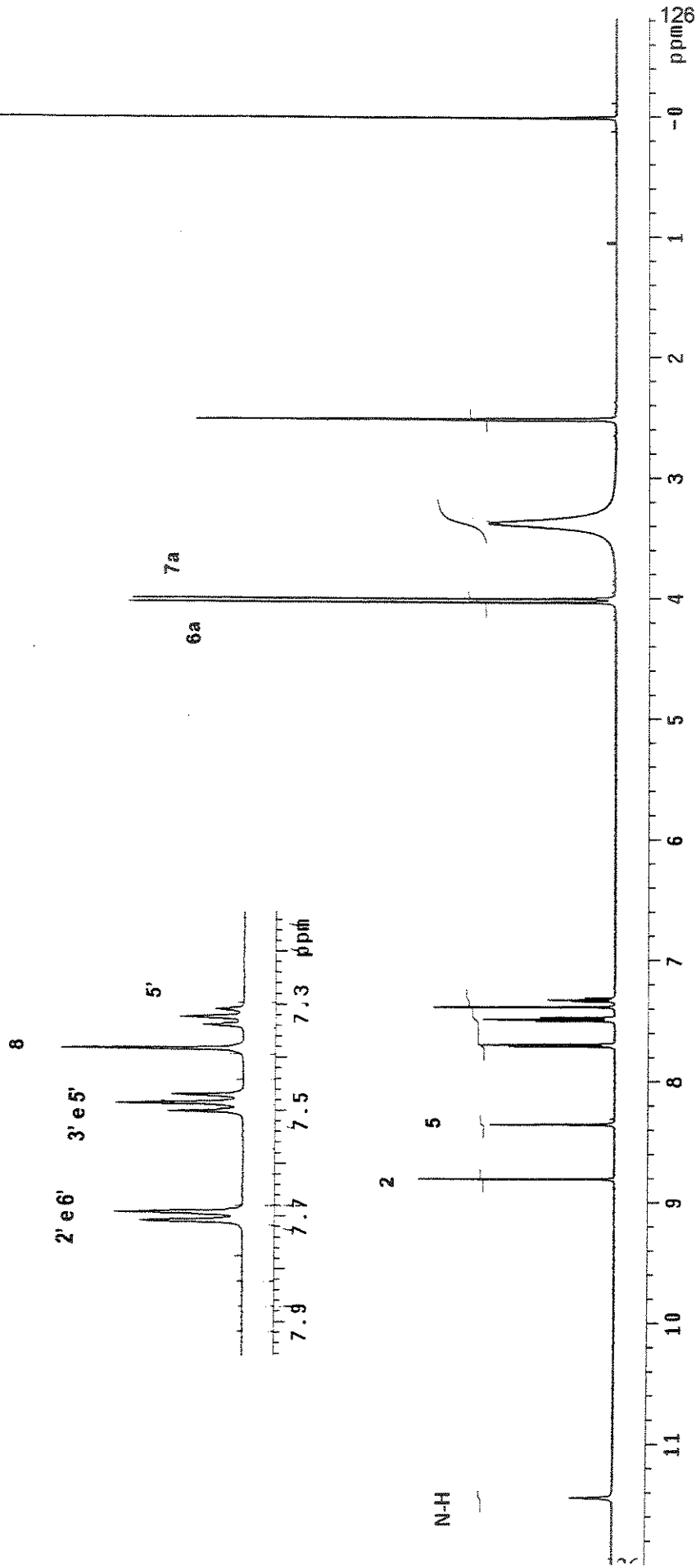


Figura A3- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-cloroquinazolina (3a).

Total time 0 min, 20 sec



Silvana anllinaq DMSO fev03sarC

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: fev03sarC

INOVA-500 "nmrsun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 47.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

4000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962835 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz

Power 33 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 131072

Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

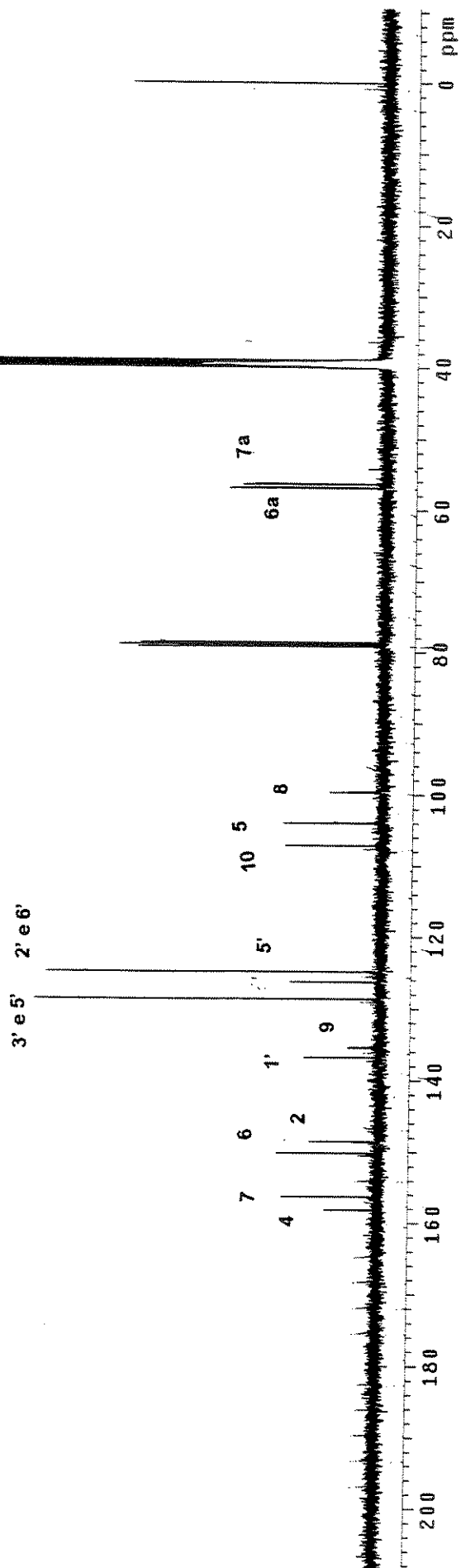
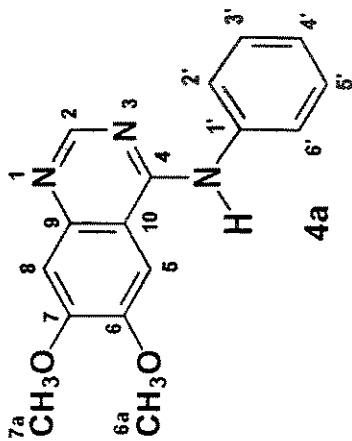


Figura A5- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetóxi-4-N-(fenil)aminoquinazolina (4a).

Silvana Anllinaq DMSO fev03sargCOSY

Figura A6- Diagrama de contorno gCOSY da 6,7-dimetóxi-4-N-(fenil)aminoquinazolina (4a).

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: fev03sargCOSY

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.155 sec

Width 6607.2 Hz

2D width 6607.2 Hz

10 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8851214 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.077 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.019 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 25 min, 26 sec

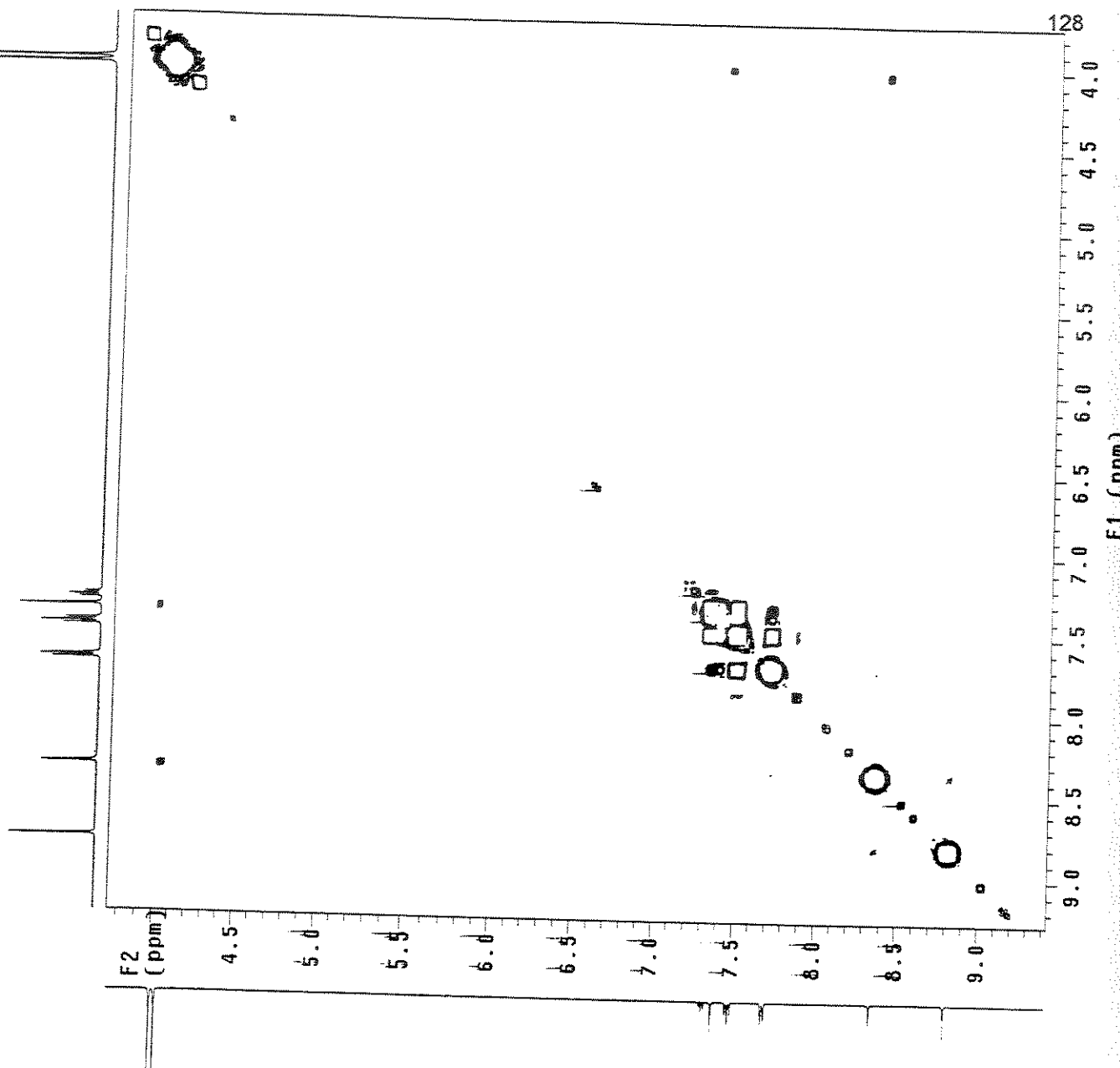
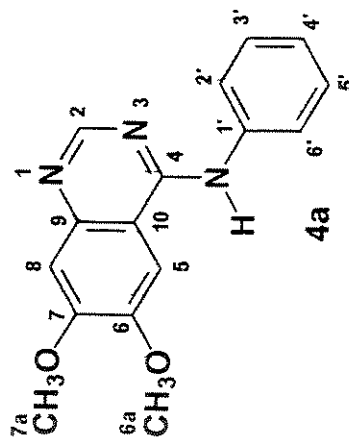


Figura A7- Diagrama de contorno HSQC da 6,7-dimetóxi-4-N-(fenil)aminoquinazolina (4a).

Silvana anilinaq DMSO fev03sarHSQC

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: fev03sarHSQC

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.157 sec

Width 6526.4 Hz

2D Width 27510.3 Hz

30 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.8851273 MHz

DECOUPLE C13, 125.7087095 MHz

Power 46 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.072 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.005 sec

FI size 2048 x 1024

Total time 2 hr, 34 min, 18 sec

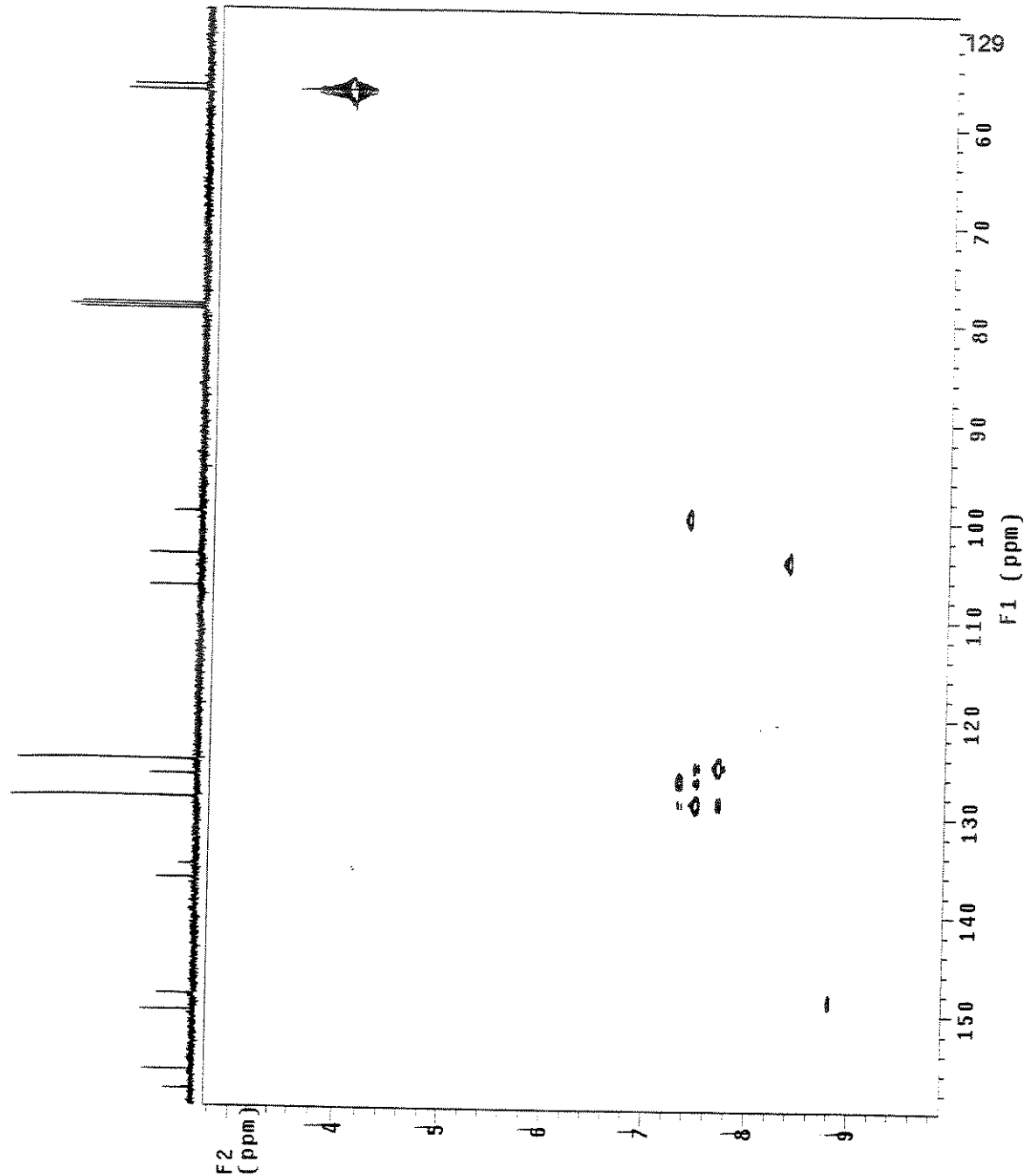
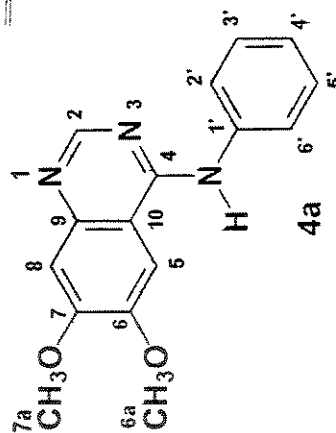
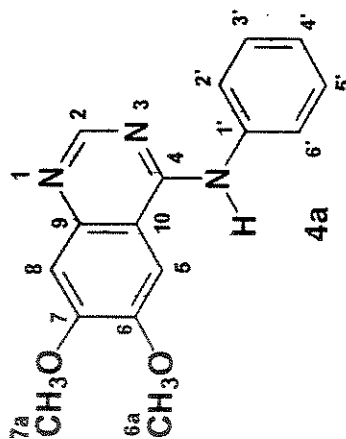
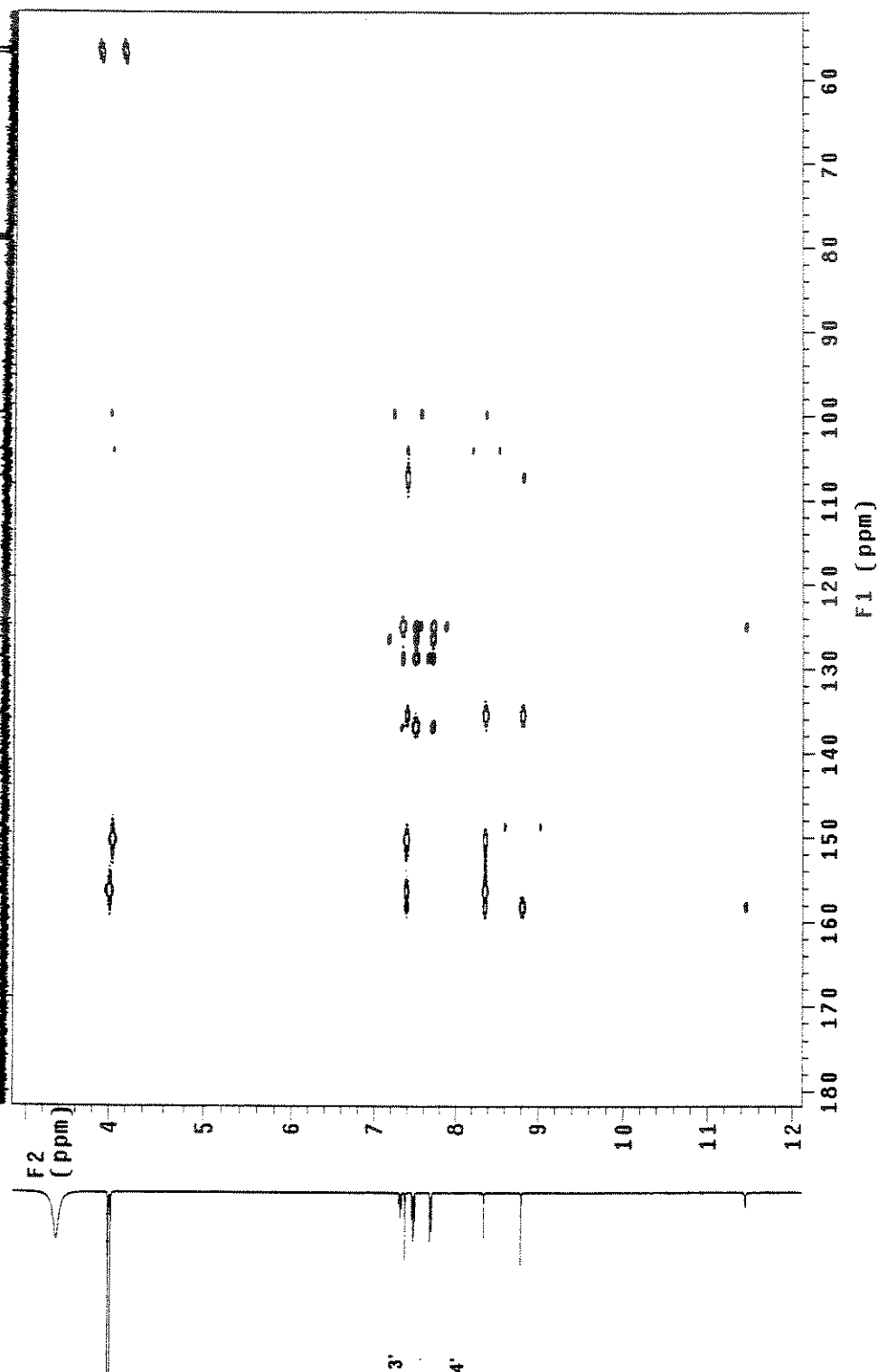


Figura A8- Diagrama de contorno gHMBC da 6,7-dimetóxi-4-*N*-(fenil)aminoquinazolina (4a).

11vra
 Pulse Sequence: gHMBC
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 User: 1-14-87
 File: fev03sargHMBC
 INOVA-500 "nmrshn"
 PULSE SEQUENCE: gHMBC
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.151 sec
 Width 6801.6 Hz
 2D Width 27510.3 Hz
 60 repetitions
 400 increments
 OBSERVE H1. 499.8851271 MHz
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.075 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.007 sec
 FT size 2048 x 4096
 Total time 7.7 hours



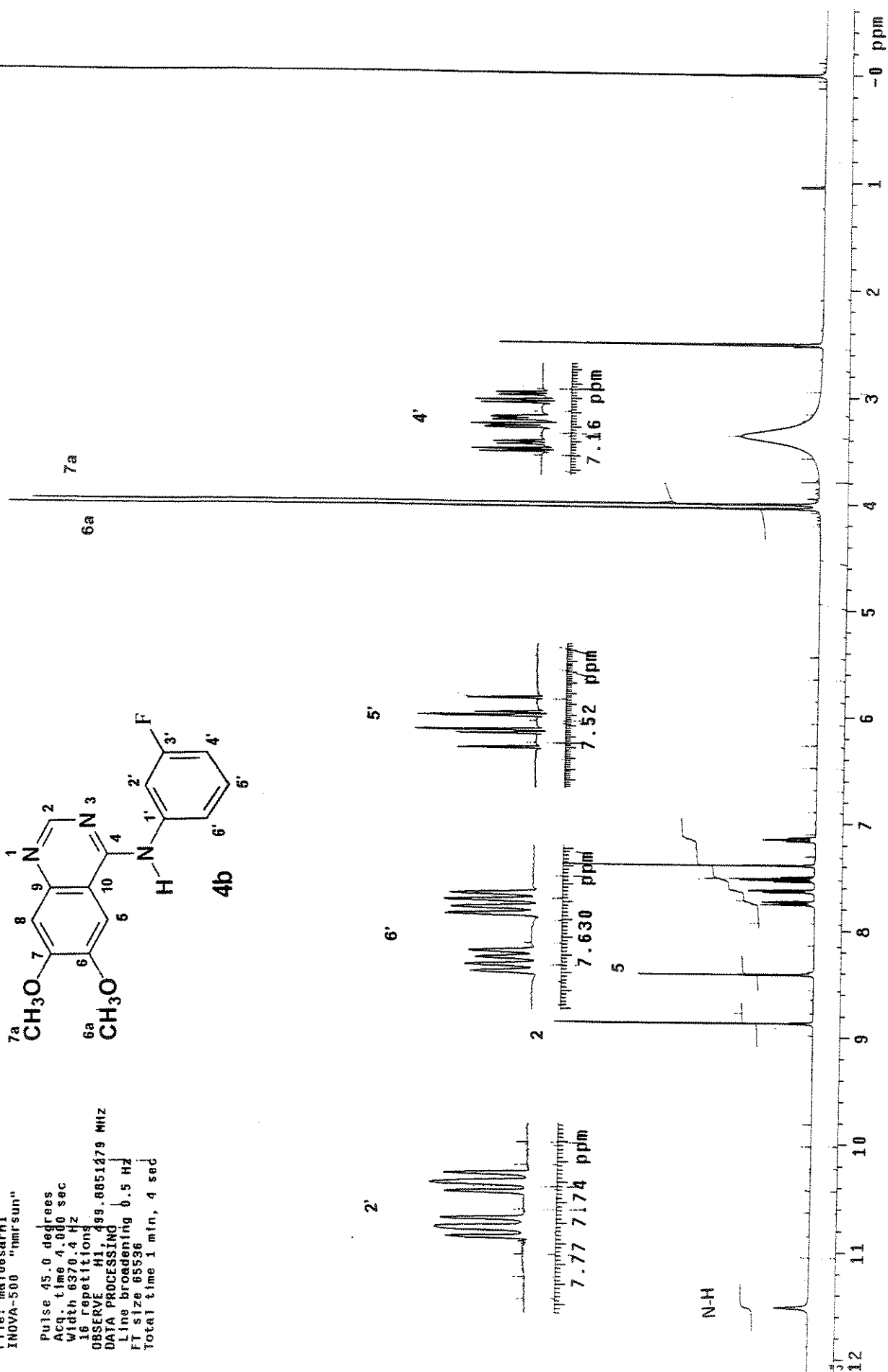


Figura A9- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b).

Silvana F-3 DMSO mai20sarC1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp: 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: mai20sarC1

INNOVA-500 "nmfsun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.9 Hz

4288 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962665 MHz

DECOUPLE H1, 499.18876302 MHz

Power 30 dB

continuously dn

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 131072

Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

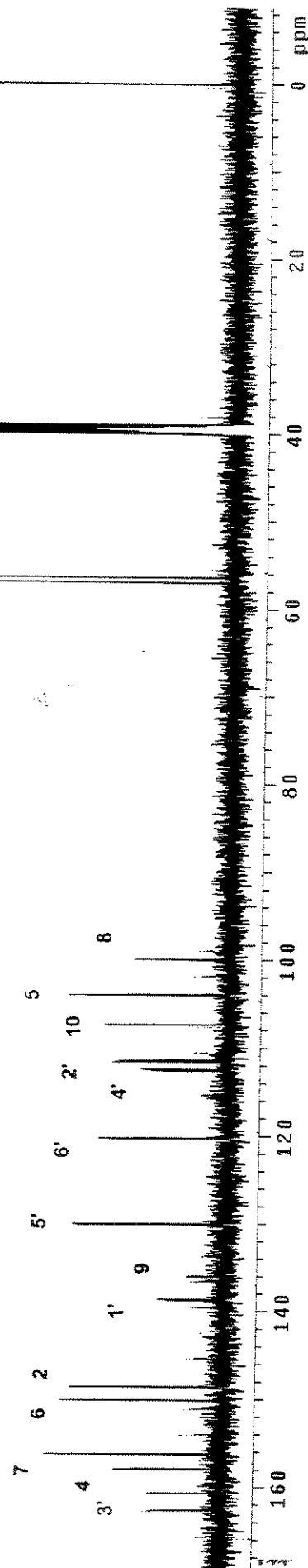
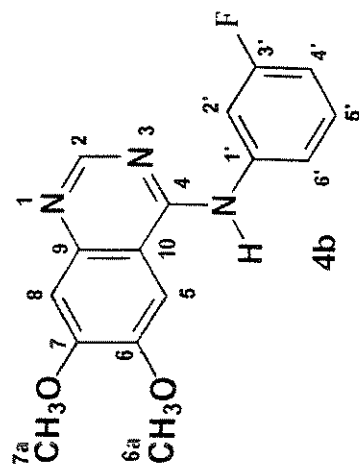
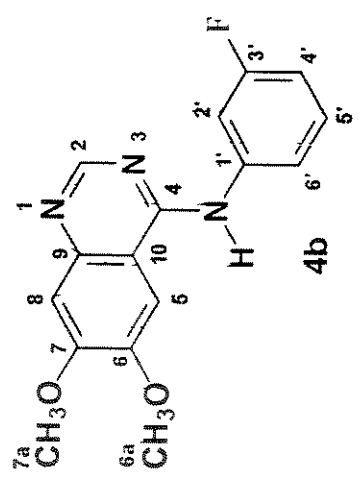
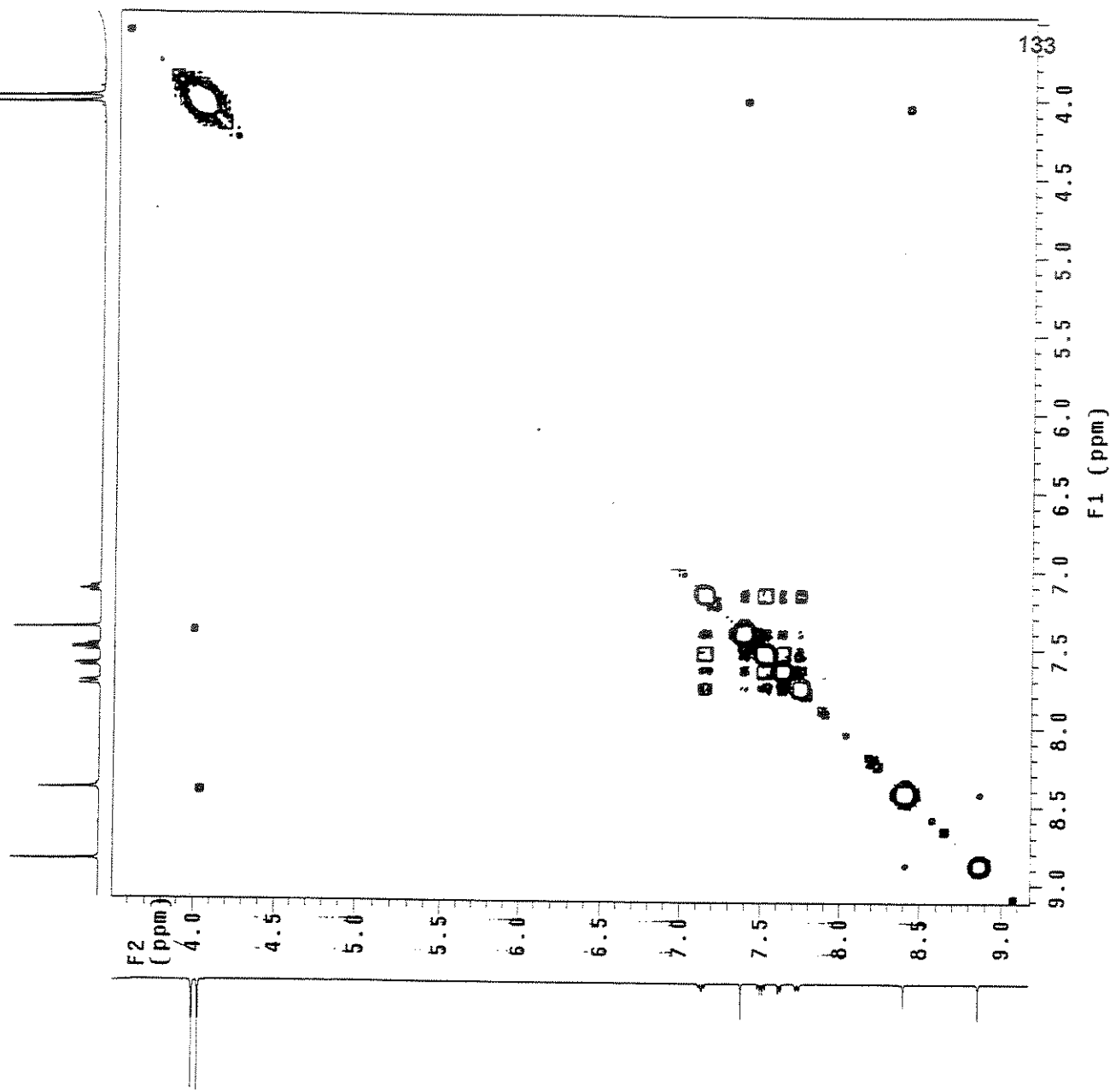


Figura A10- Espectro de RMN de ¹³C da 6 Z dimetóxi 4 N (3) fluorófenil

Silvana F-3 DMSO mai06sargCOSY1
 Pulse Sequence: gCOSY
 Solvent: DMSO
 Temp: 30.0 C / 303.1 K
 File: mai06sargCOSY1
 INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.000 sec.
 Acq. time 0.161 sec
 Width 6370.4 Hz
 2D width 6370.4 Hz
 6 repetitions
 128 increments
 OBSERVE H1 489.8651279 MHz
 DATA PROCESSING
 Sg. sine bell 0.080 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sing bell 0.020 sec
 F1 size 2048 x 2048
 Total time 20 min, 30 sec

Figura A11- Diagrama de contorno gCOSY da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b).



Silvana F-3 DMSO mai06sarHSQC1

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: mai06sarHSQC1

INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.161 sec

Width 6370.4 Hz

2D Width 24382.8 Hz

30 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1; 499.8851309 MHz

DECOUPLE C13; 125.7070794 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.074 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.005 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 3 hr, 39 min, 5 sec

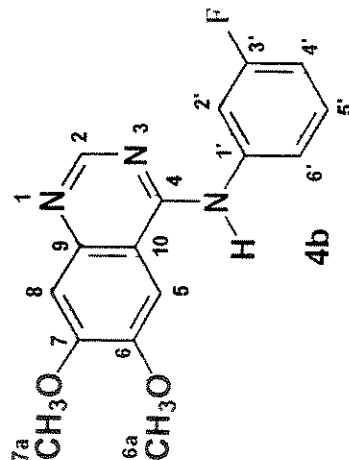
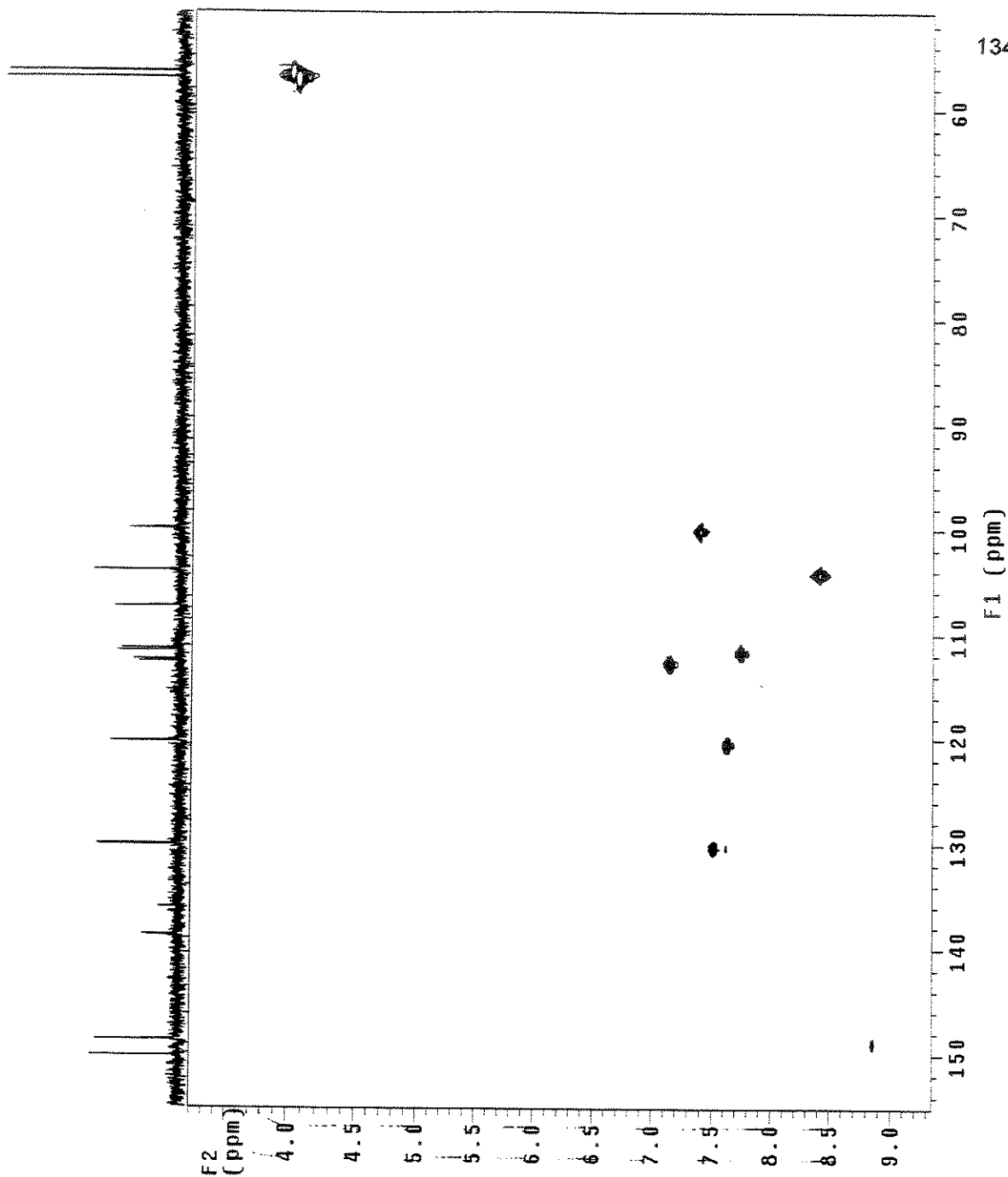


Figura A12- Diagrama de contorno HSQC da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b).



Silvana F-3 DMSO ma106sargHMBC1 Figura A13- Diagrama de contorno gHMBC da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-fluorofenilamino)quinazolina (4b).

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: ma106sargHMBC1

INOVA-500 "nmrsun"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.161 sec

Width 6370.4 Hz

2D Width 24382.8 Hz

200 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8851261 MHz

DATA PROCESSING

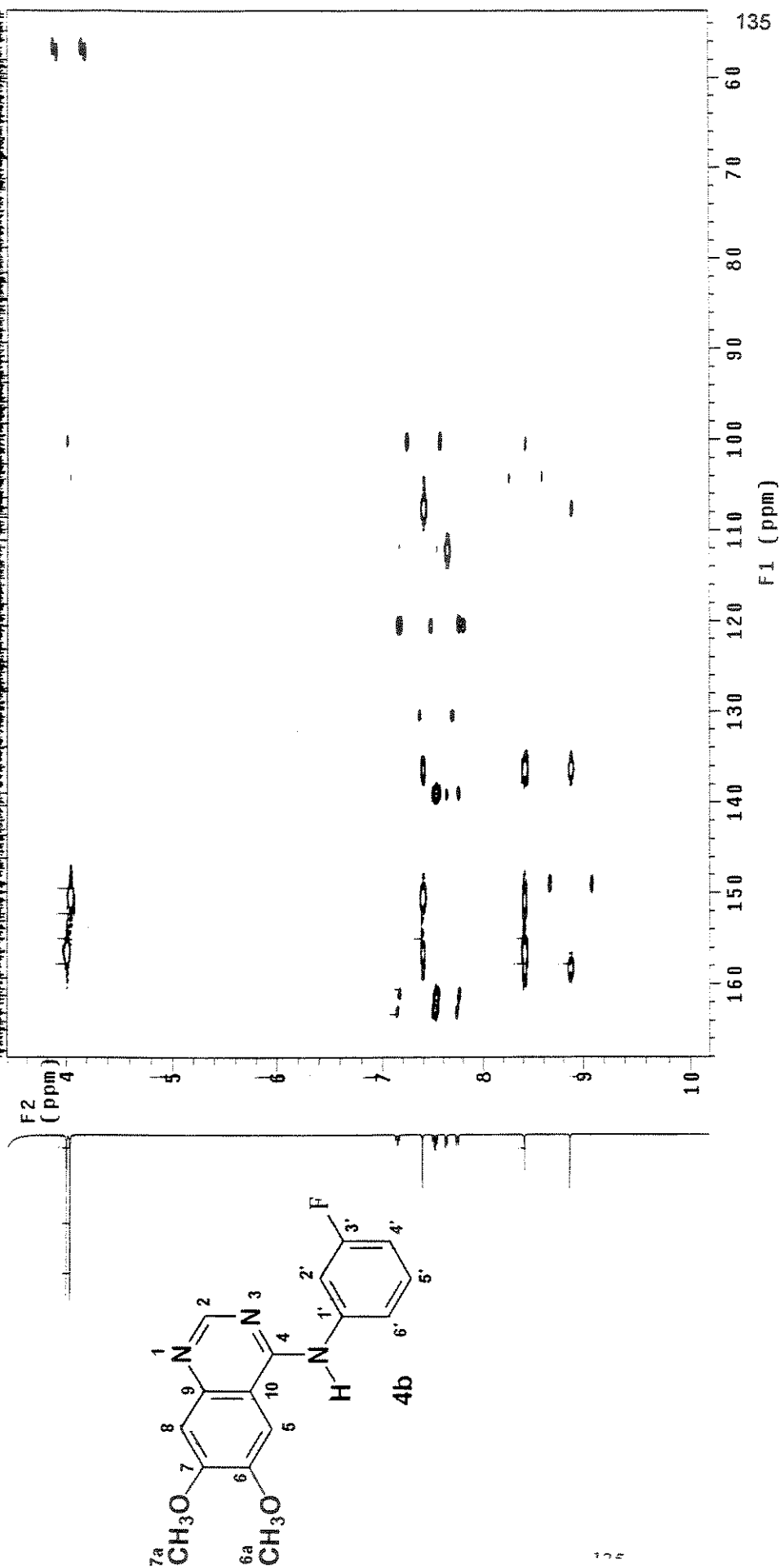
Sine bell 0.080 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.005 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 8 hr, 51 min, 54 sec



Silvana 4-F DMSO abri17sarH1

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp. 25.0 C / 298.1 K

File: abri17sarH1

INOVA-500 "nmr-sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6530.1 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1 499.8851282 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec

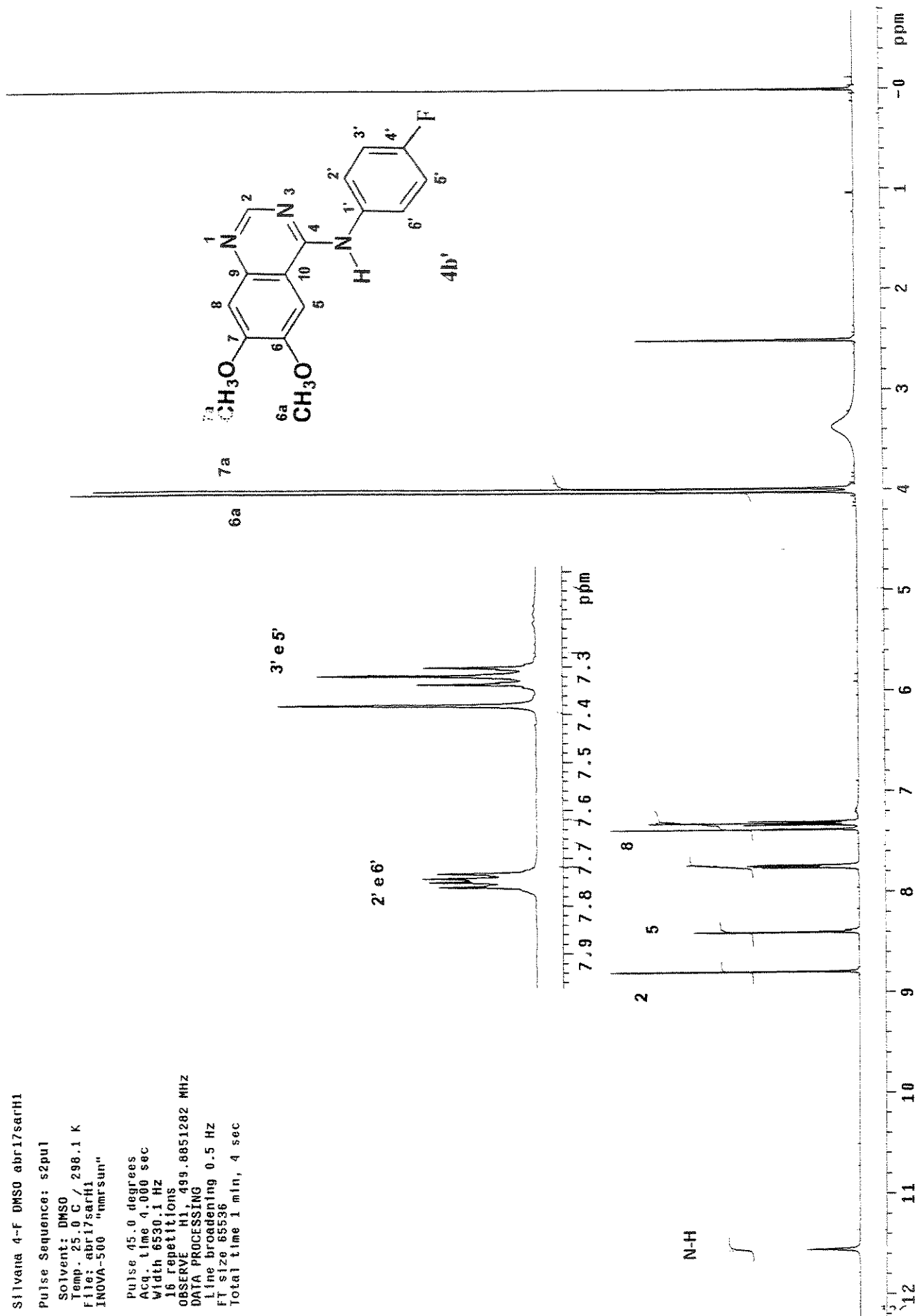


Figura A14- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b').

Silvana 4-F DMSO abri17sarC1

Pulse Sequence: s2put

Solvent: DMSO

Temp. 25.0 C / 298.1 K

User: 1-14-87

File: abri17sarC1

INOVA-500 "nmrsun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

2176 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962869 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz

Power 30 dB

Continuously on

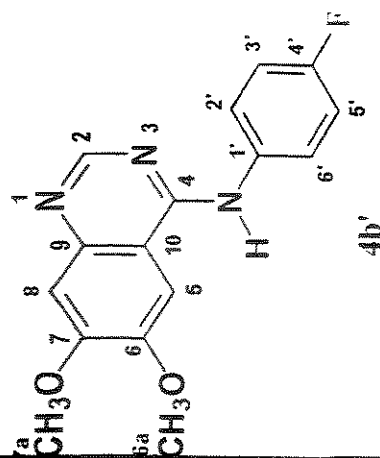
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 6.0 Hz

FT size 131072

Total time 2 hr, 6 min, 39 sec



2' e 6'

3' e 5'

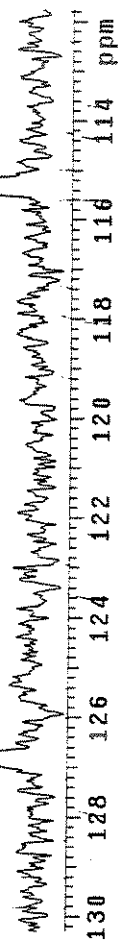


Figura A15- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-fluoro)fenilaminoquinazolina (4b').

Silvana CI-3 DMSO mal12sarH

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: mal12sarH

INNOVA-500 "nmr'sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6477.7 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851299 MHz

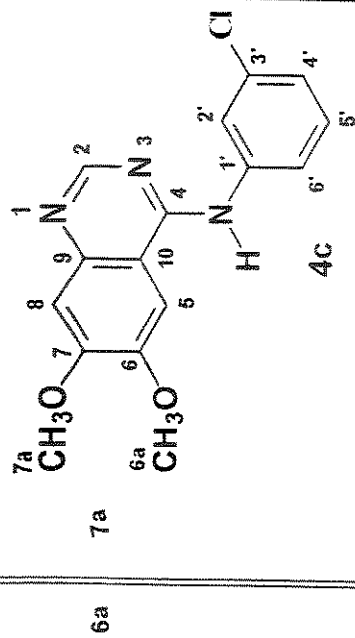
DATA PROCESSING

Release 1.000 Hz

Frequency 499.8851299 MHz

Resolution 1.200 sec

Total time 2 min, 8 sec



2'

4'

7.96 7.92 7.88 7.84 7.80 7.76 ppm

2

8

5

5'

N-H

6'

12

11

10

9

8

7

6

5

4

3

2

1

0

ppm

Figura A16- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c).

Silvana C1-3 DMSO mal12sarC
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Temp. 30.0 C / 303.1 K
 User: 1-14-87
 File: mal12sarC
 INOVA-500 "mrsun"
 Relax. delay 1.500 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.024 sec
 Width 32051.3 Hz
 2176 repetitions
 OBSERVE C13, 125.6962860 MHz
 DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz
 Power 30 dB
 Continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 131072
 Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

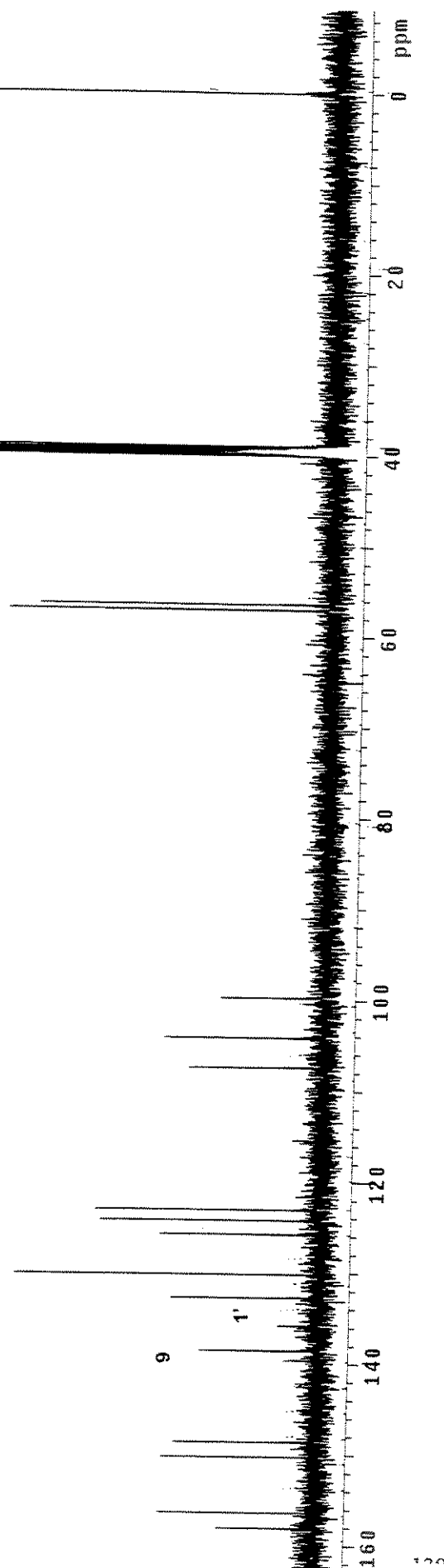
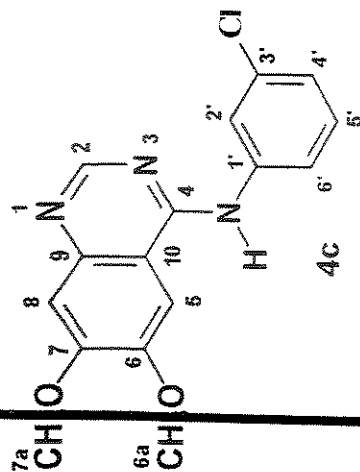


Figura A17- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c).

Silvana Cl-3 DMSO mal12sargCOSY

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: mal12sargCOSY

INNOVA-500 "nmrsum"

Relax.: delay 1.000 sec

Acq. time 0.158 sec

Width: 6477.7 Hz

2D Width 6477.7 Hz

10 repetitions

128 increments

OBSERVE: H1, 499.8851277 MHz

DATA PROCESSING

Sq. (sine bell) 0.078 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.020 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 25 min, 30 sec

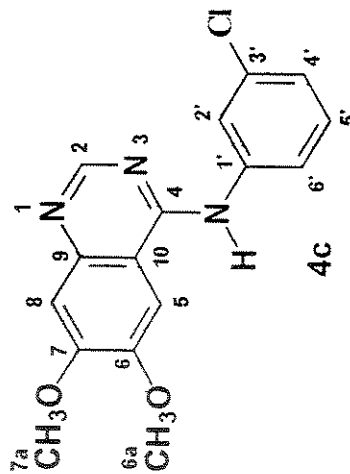
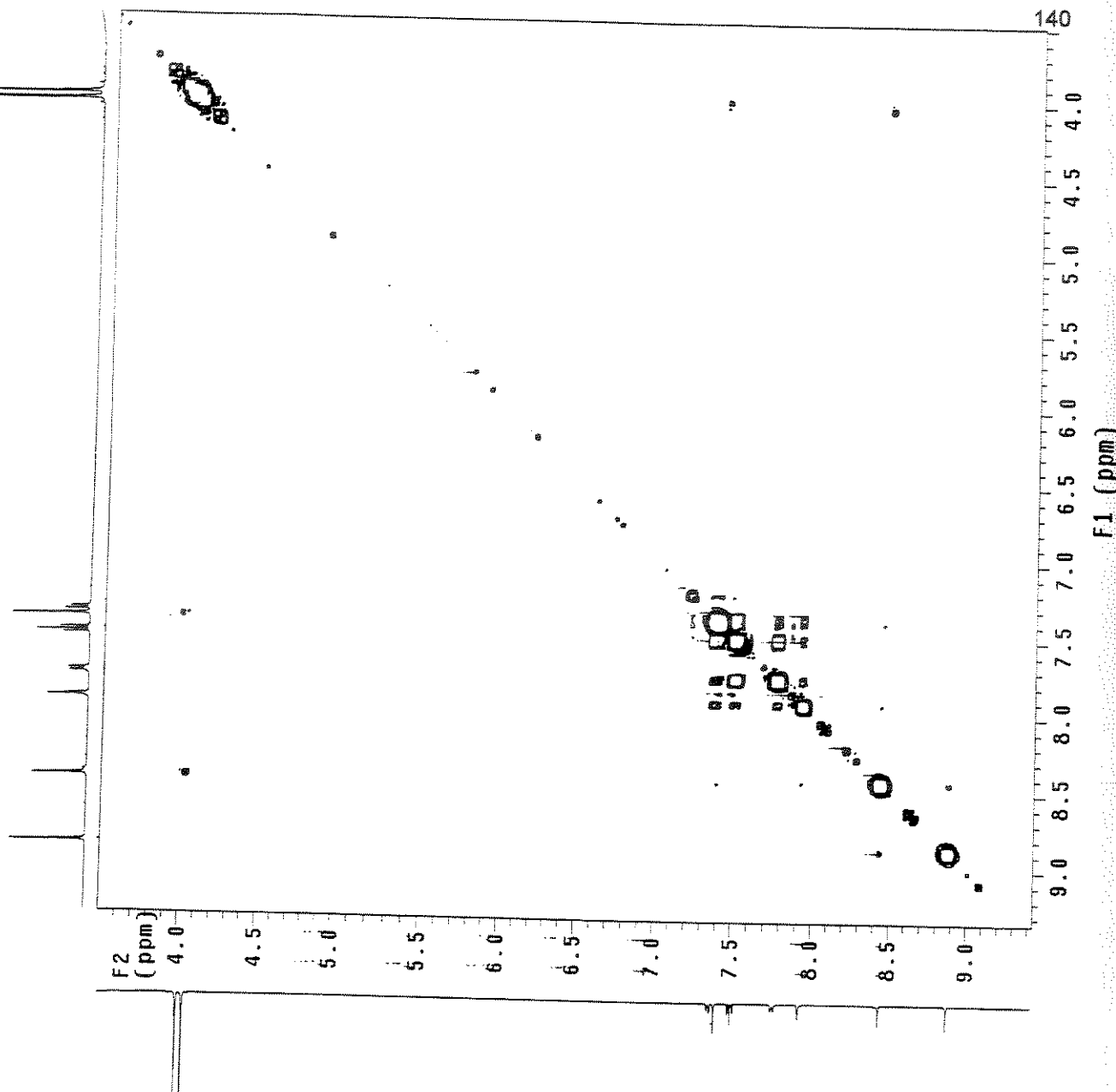


Figura A18- Diagrama de contorno gCOSY da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c).



Silvana C1-3 DMSO mal12sarHSQC

Figura A19- Diagrama de contorno HSQC da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c).

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: mal12sarHSQC

INNOVA-500 "nmr5un"

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.156 sec

Width 6477.7 Hz

2D width 24434.9 Hz

40 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.8351289 MHz

DECOUPLE C13, 125.7671473 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

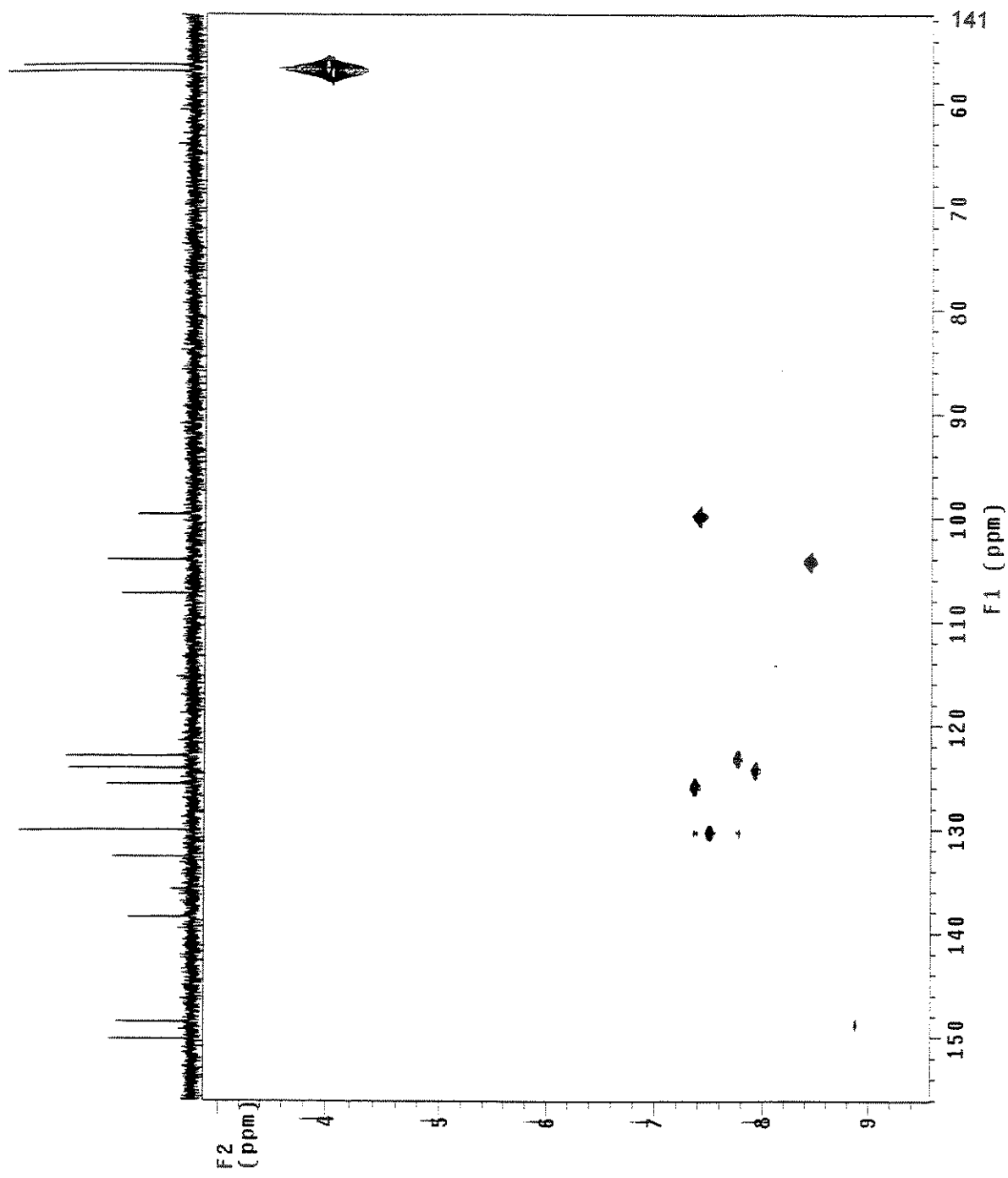
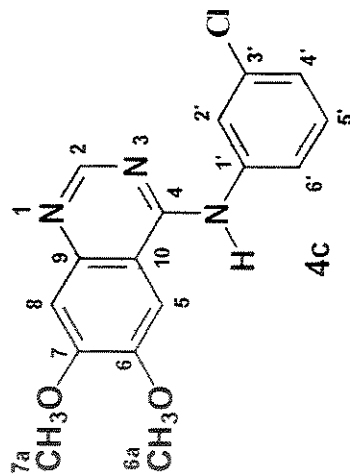
Gauss apodization 0.073 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.005 sec

FT size 2048 x 1024

Total time 4 hr, 51 min, 22 sec



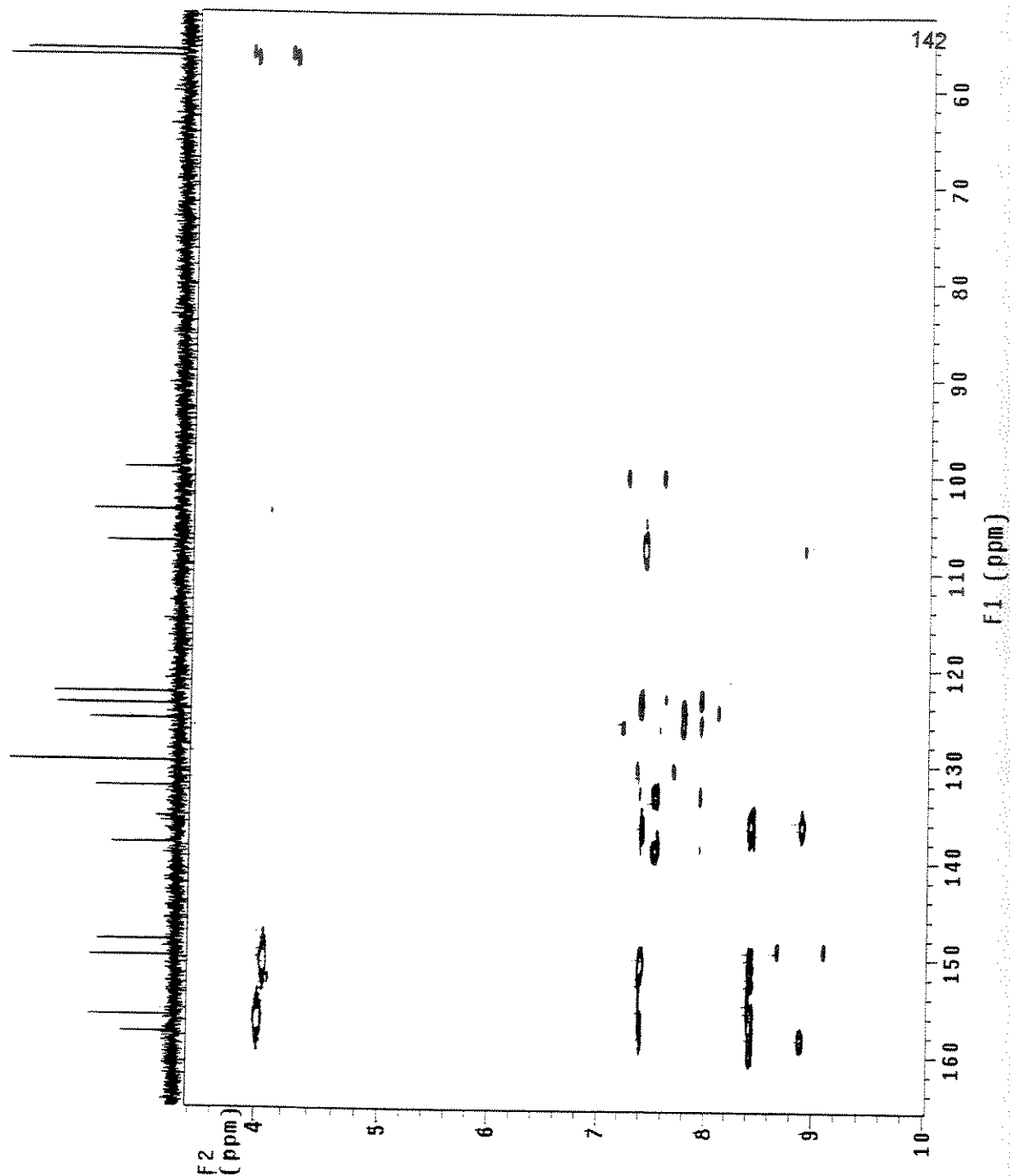
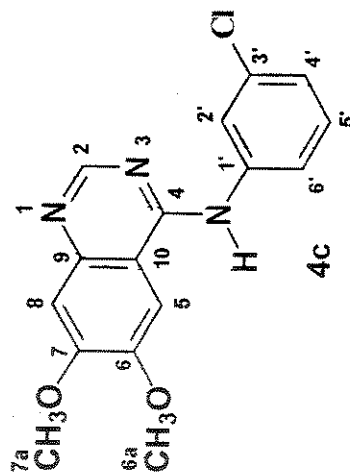
Silvana Cl-3 DMSO mal12sargHMBC Figura A20- Diagrama de contorno gHMBC da 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c).

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: DMSO
Temp: 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
File: mal12sargHMBC
INOVA-500 "hmrsum"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.158 sec
Width 6477.7 Hz
2D Width 24434.9 Hz
2D repetitions
128 increments

OBSERVE H1, 499.8851242 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.079 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.005 sec
F1 size 2048 x 1024
Total time 9 hr, 43 min, 46 sec



Silvana C1-4 DMSO ma113sarH1

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp: 30.0 C / 303.1 K

File: ma113sarH1

INOVA-500 "nmr'sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.00 sec

Width 6288.8 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1, 499.8951296 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 2 min, 8 sec

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

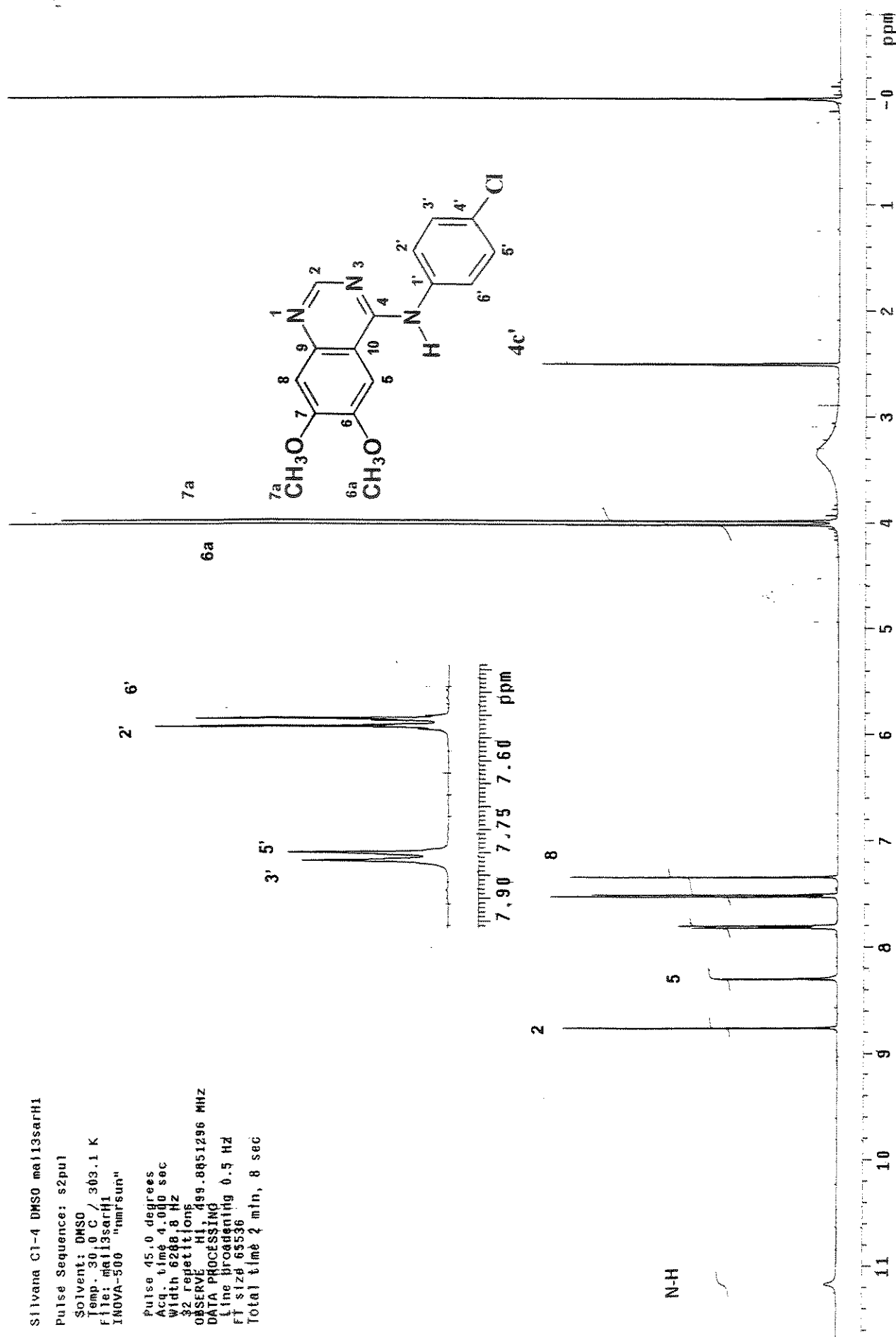


Figura A21- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-cloro)fenilaminoquinazolina (4c').

Silvana C1-4 DMSO abr06sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: abr06sarC

INOVA-500 "nmrsum"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31308.5 Hz

1488 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962631 MHz

DECOUPLE H1, 499.8076903 MHz

Power 45 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

Ft size 65536

Total time 3 hr, 31 min, 6 sec

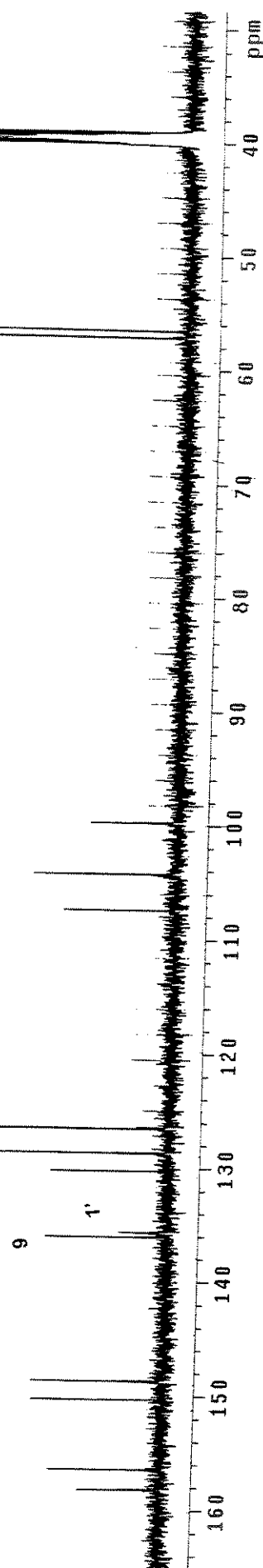
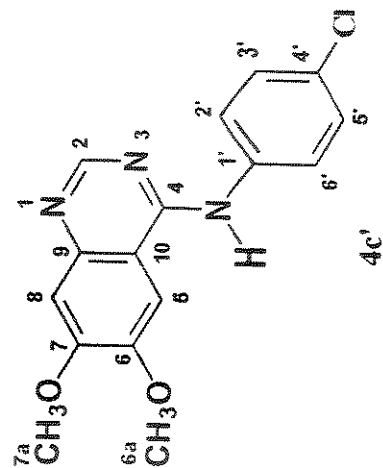


Figura A22- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetoxi-1,4-N(4'-cloro-fenil)-1,4-dihidroquinolina

Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 File: ju131sarh
 INOVA-500 "hmr500"
 Pulse 30.0 degrees
 Acq. time 3.277 sec
 Width 6784.8 Hz
 4 repetitions
 OBSERVE H1 499.8851272 MHz
 DATA PROCESSING
 Line broadening 0.2 Hz
 FT size 85536
 Total time 0 min, 13 sec

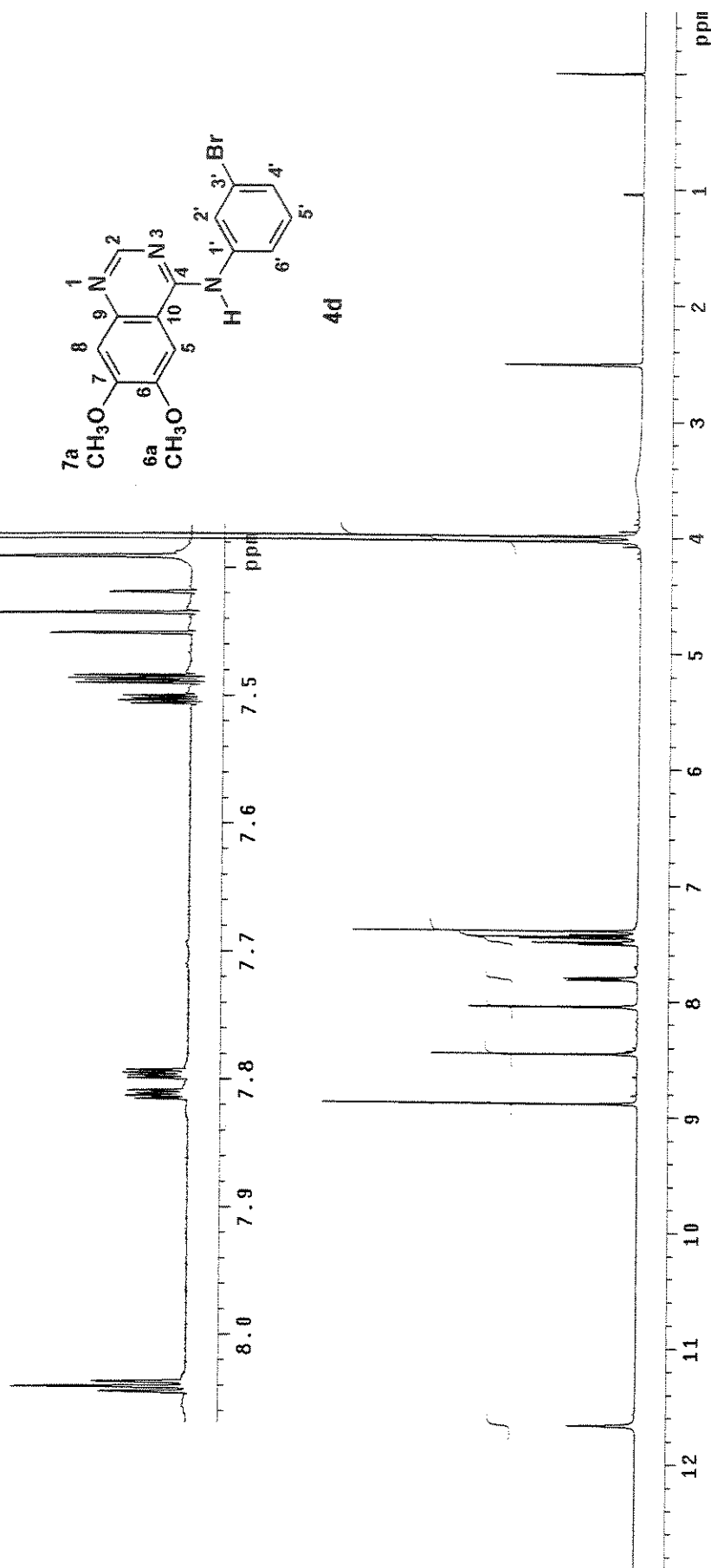


Figura A23- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-bromo)fenilaminoquinazolina (**4d**)

Silvana 3-Br DMSO Jul31sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: Jul31sarC

INOVA-500 "nmrsun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

2368 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962622 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876303 MHz

Power 34 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 5 hr, 37 min, 46 sec

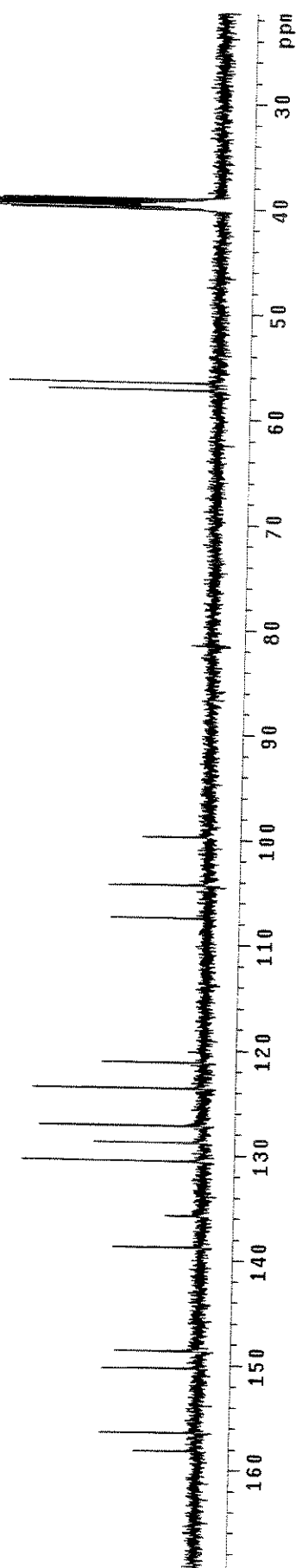
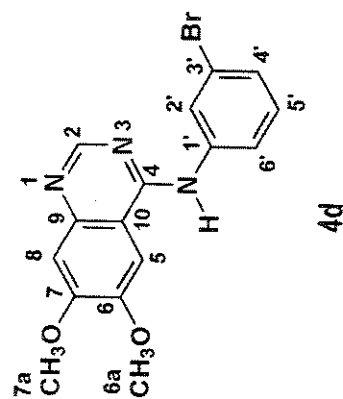


Figura A24- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-bromo)fenilaminoquinazolina (4d)

Silvana 4-Br DMSO abri16sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp: 28.0 C / 301.1 K

File: abri16sarH

INNOVA-500 "nmr'sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6372.5 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851191 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec

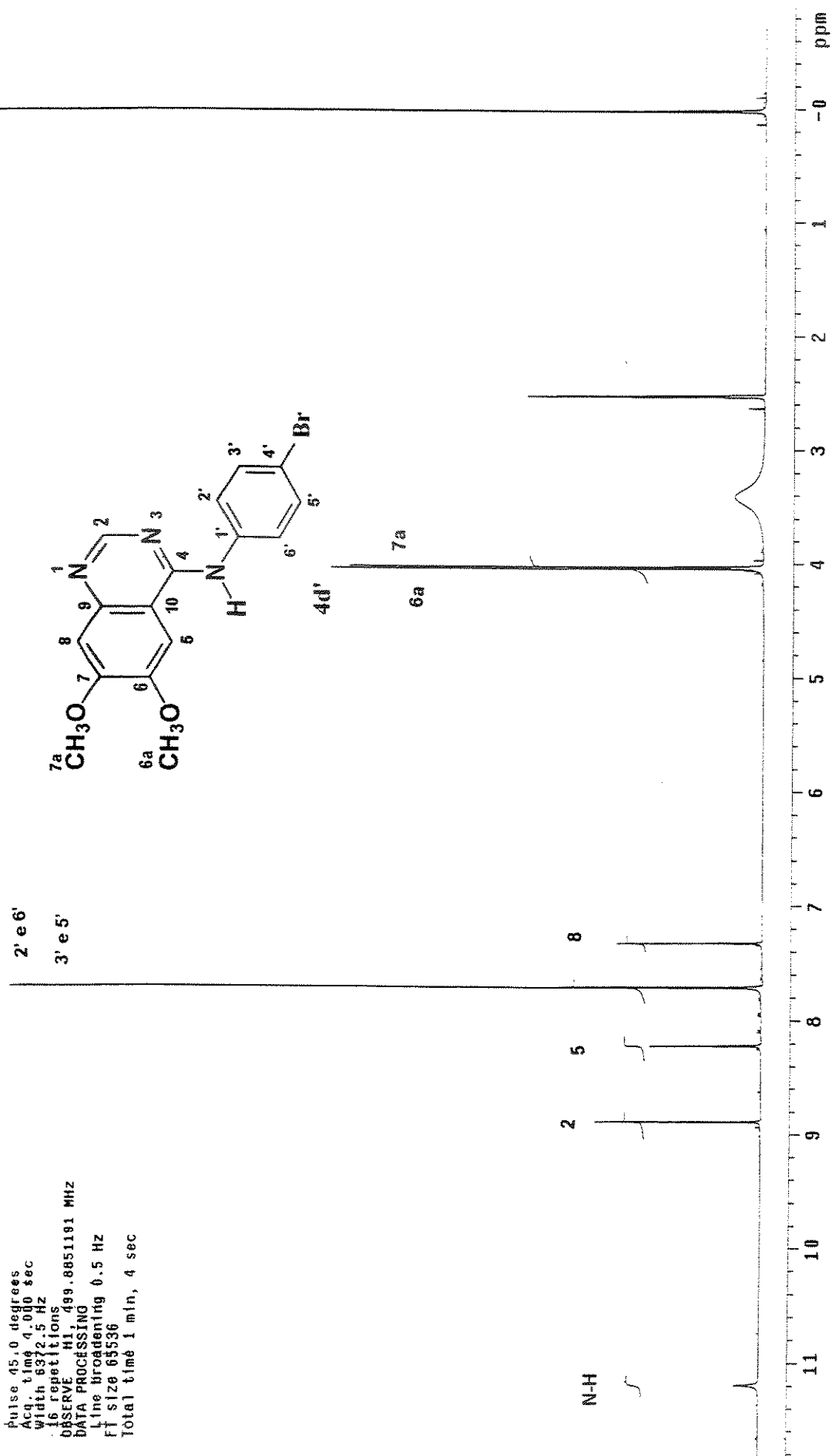


Figura A25- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-bromo)fenilaminoquinazolina (4d').

Silvana Br-4 DMSO mar06sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: mar06sarC

INOVA-500 "nmr'sun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

1728 repetitions

OBSERVE C13, 125.6862874 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz

Power 50 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 131072

Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

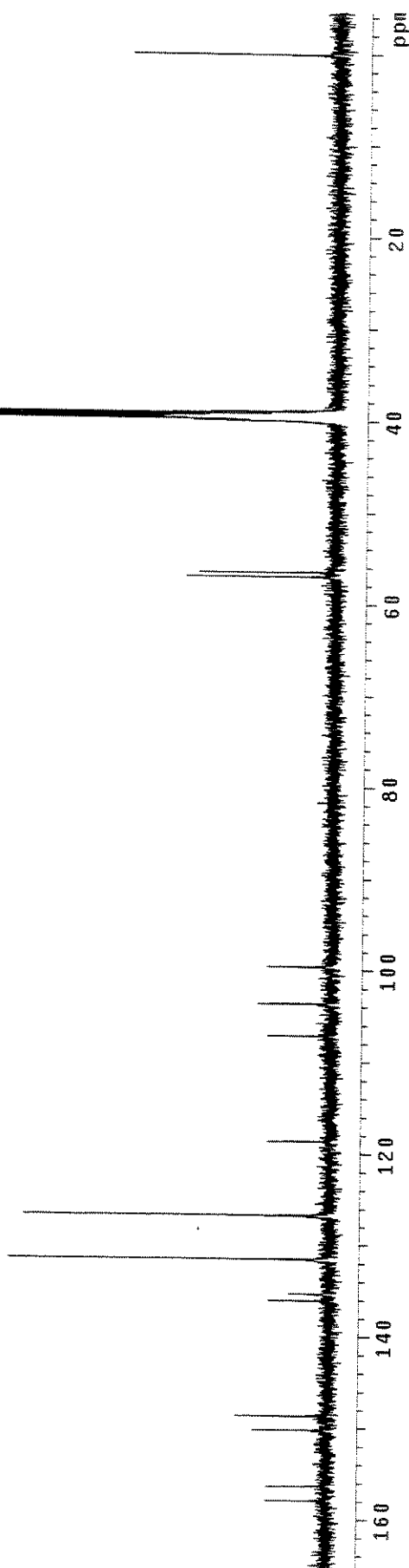
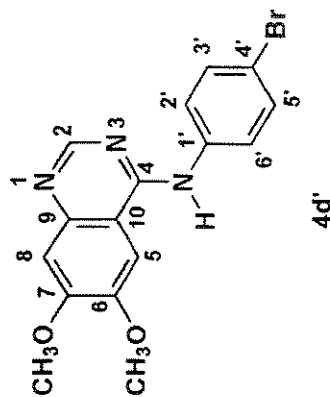
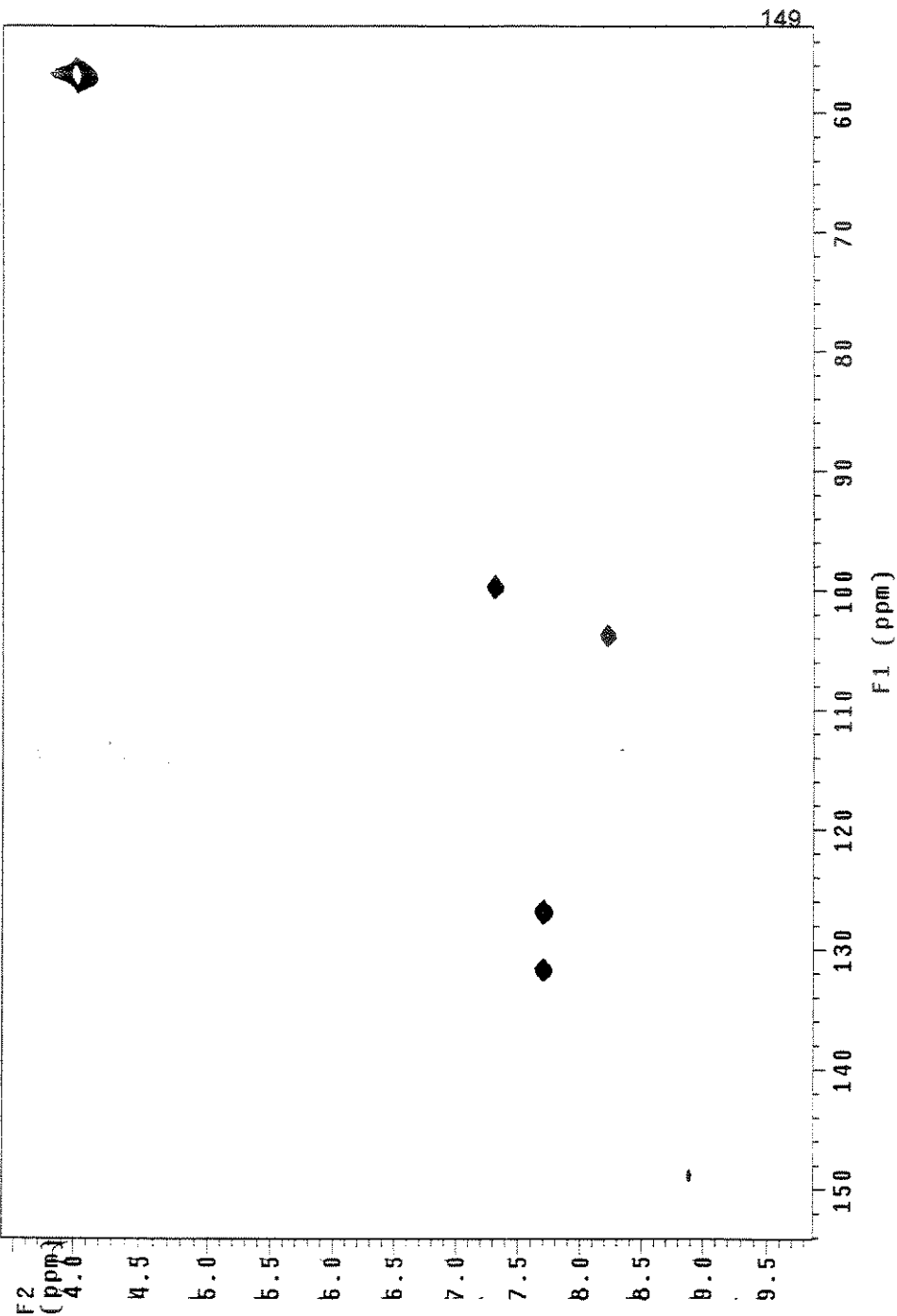
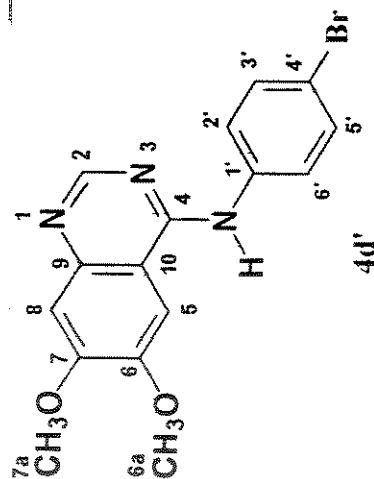


Figura A26- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-bromo)fenilaminoquinazolina (**4d'**)

Silvana Br-4 DMSO mar06sarHSQC
 Pulse Sequence: HSQC
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 User: 1-14-87
 File: mar06sarHSQC
 INOVA-500 "nmrSun"

Relax. delay 1.500 sec
 Acq. time 0.159 sec
 Width 6425.2 Hz
 2D Width 23068.3 Hz
 30 repetitions
 2 x 128 increments
 OBSERVE H1, 499.8851255 MHz
 DECOUPLE C13, 125.7066847 MHz
 Power 50 dB
 on during acquisition
 off during delay
 GARP-1 modulated
 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.074 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Gauss apodization 0.004 sec
 FI size 2048 x 1024
 Total time 3 hr, 38 min, 56 sec



Silvana 4-Br DMSO abri16sargHMBC

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: DMSO

Temp. 28.0 C / 301.1 K

User: i-14-87

File: abri16sargHMBC

INOVA-500 "nmrsum"

PULSE SEQUENCE: gHMBC

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.161 sec

Width 6372.5 Hz

20 Width 22586.1 Hz

120 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8851257 MHz

DATA PROCESSING

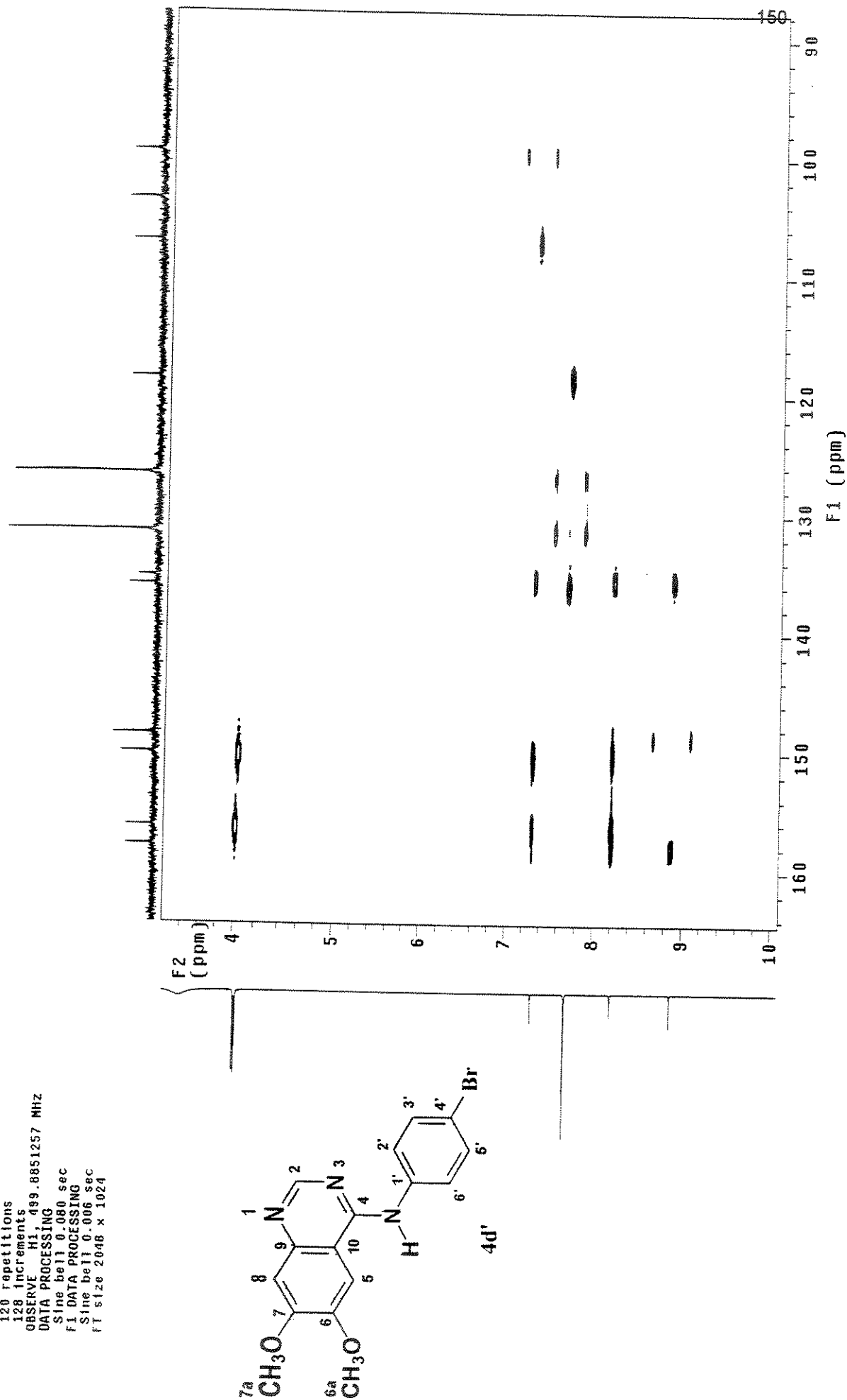
Sine bell 0.080 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.006 sec

FT size 2048 x 1024

Figura A28- Diagrama de contorno gHMBC da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-bromo)fenilaminoquinazolina (4d').



Silvana 3-I DMSO abr27sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp: 30.0 C / 303.1 K

File: abr27sarH

INNOVA-500 "hmr5un"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 8000.0 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851293 MHz

DATA PROCESSING

Resolution 0.50 Hz

Frequency 499.8851293 MHz

Integration 1.200 sec

Total time 1 min, 4 sec

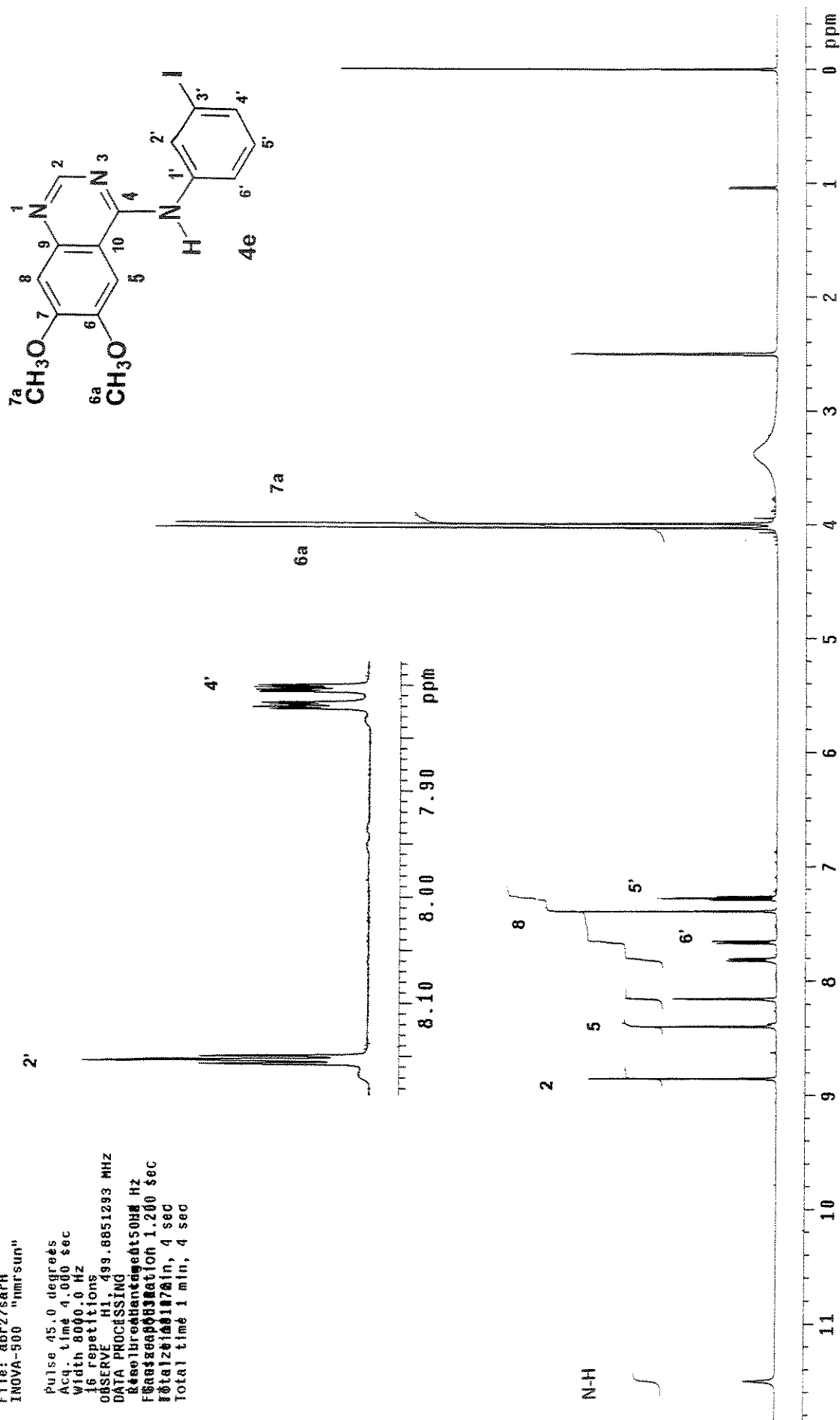


Figura A29- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-iodo)fenilaminoquinazolina (4e).

Silvana 3-1 DMSO abr27sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp: 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: abr27sarC

INOVA-500 "nmr'sun"

Relax. delay 1.500 sec
pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.024 sec
Width 32051.3 Hz
3000 repetitions
OBSERVE C13, 125.6962869 MHz
DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz
Power 30 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
Ft size 131072
Total time 2 hr, 6 min, 39 sec

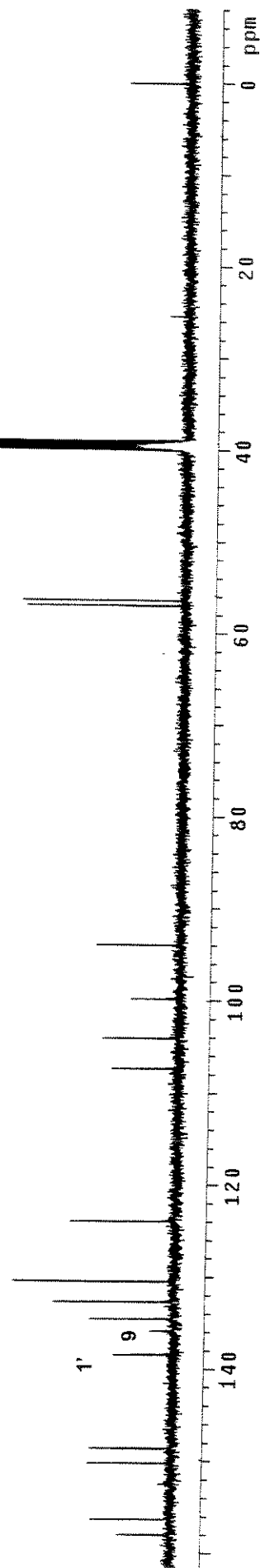
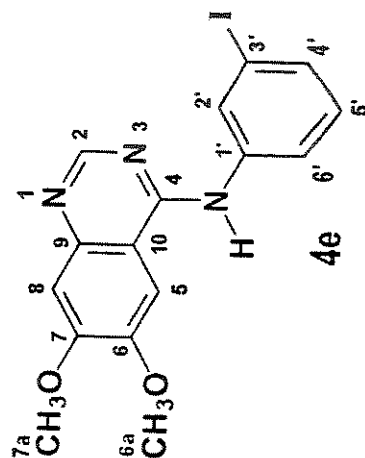


Figura A30- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-iodo)fenilaminoquinazolina (4e).

Silvana 4-I DMSO abrl3sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

file: abrl3sarH

INOVA-500 "nmrsun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6355.8 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851209 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec

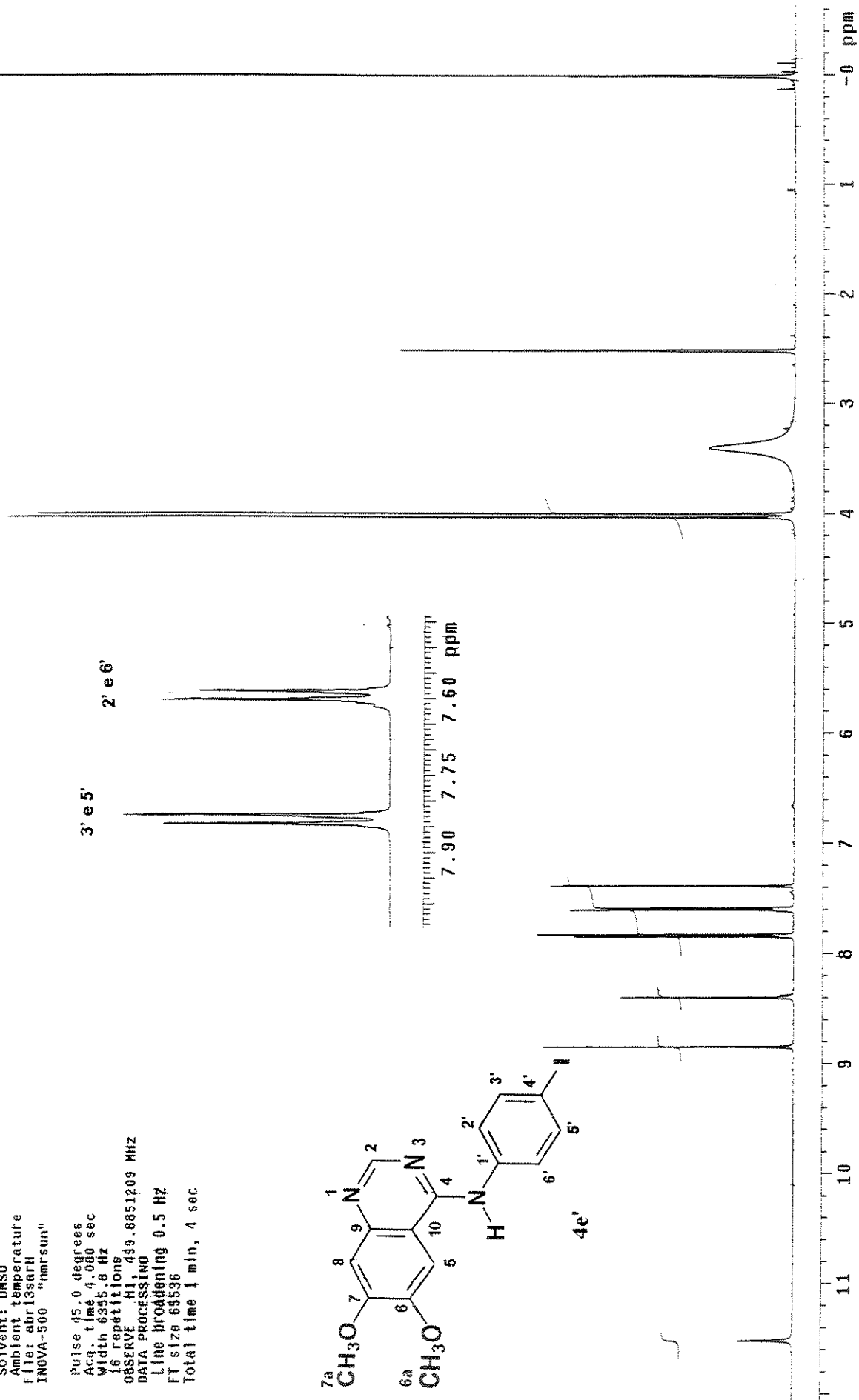
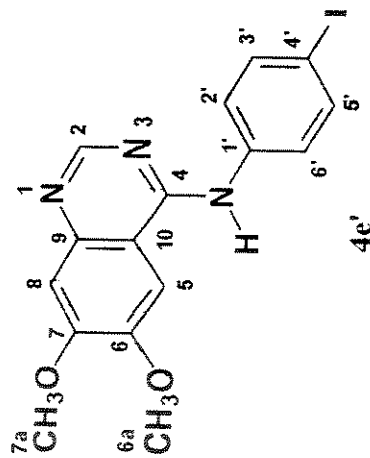


Figura A31- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-iodo)fenilaminoquinazolina (4e').

Silvana 4I DMSO mar24sarC2

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 User: 1-14-87
 File: mar24sarC2
 INOVA-500 "nmrshn"

Relax. delay 1.500 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.024 sec
 Width 31508.5 Hz
 24000 repetitions
 OBSERVE C13, 125.6962856 MHz
 DECOUPLE H1, 499.8876902 MHz
 Power 34 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 F1 size 65536
 Total time 16 hr, 53 min, 18 sec

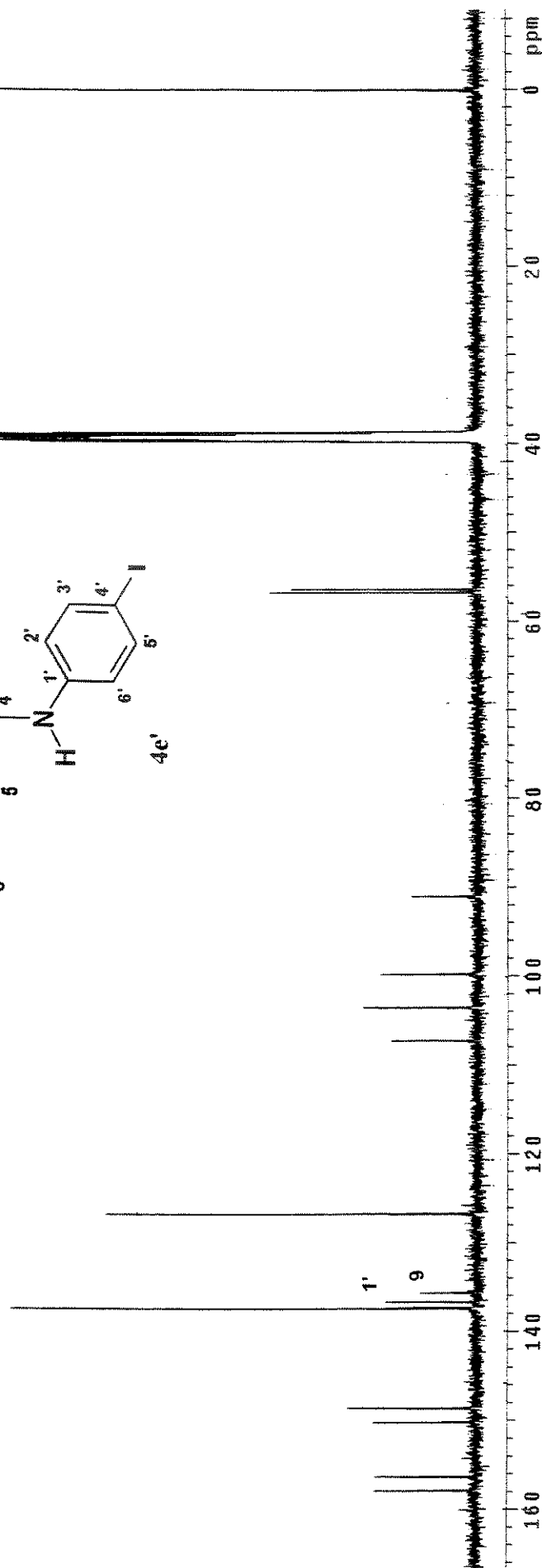
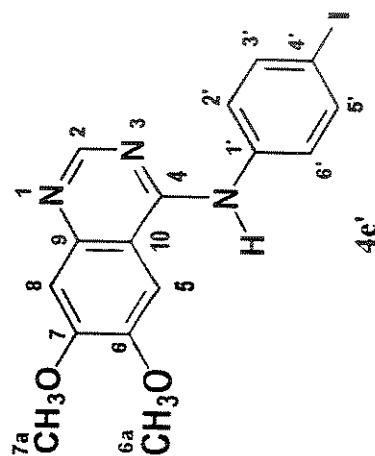


Figura A32- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-iodo)fenilaminopiridinazolina (4e')

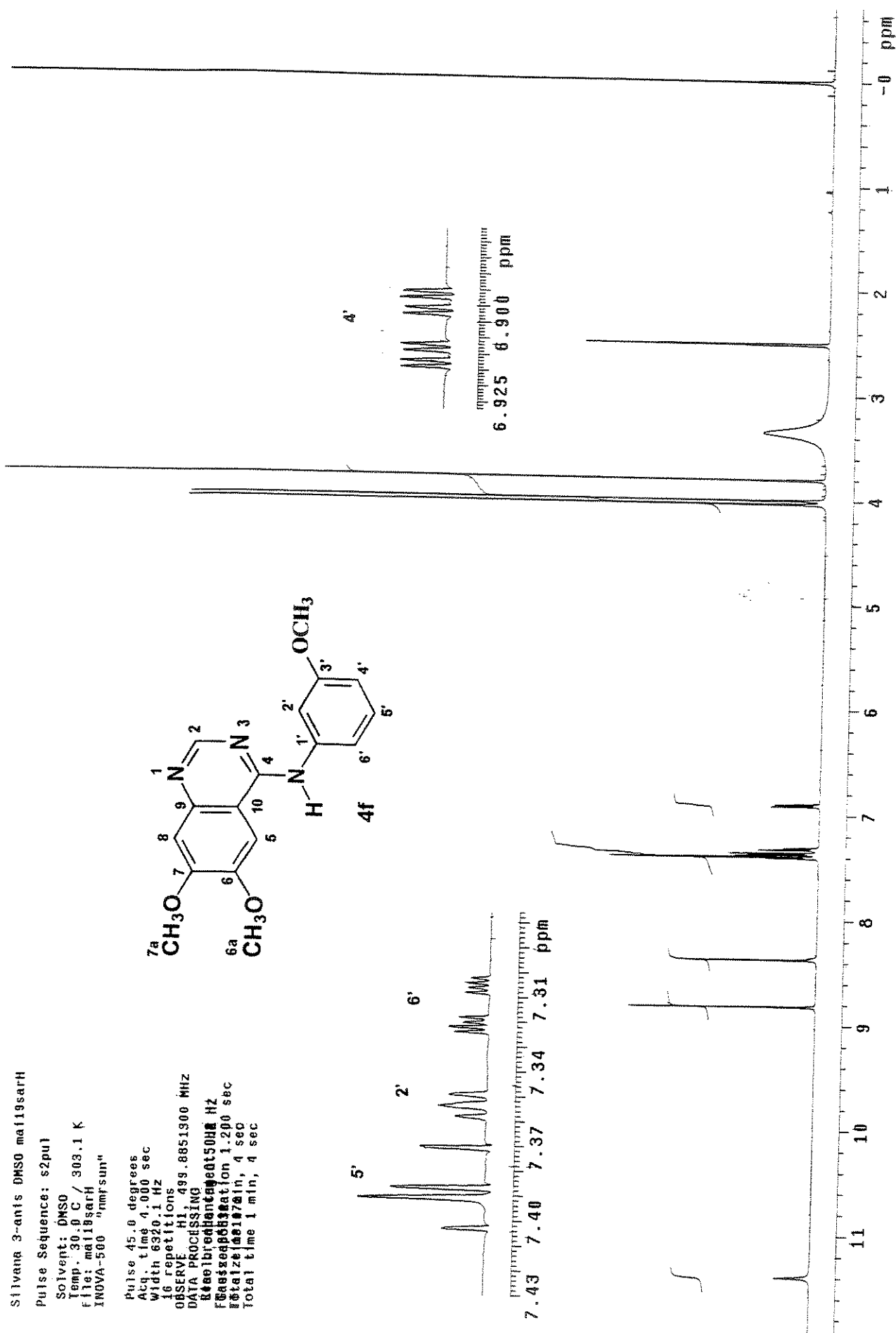


Figura A33- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f).

Silvana 3-anis mal19sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: mal19sarC

INOVA-500 "nmr'sun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

4000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962865 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876902 MHz

Power 30 dB

Continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

F1 size 131072

Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

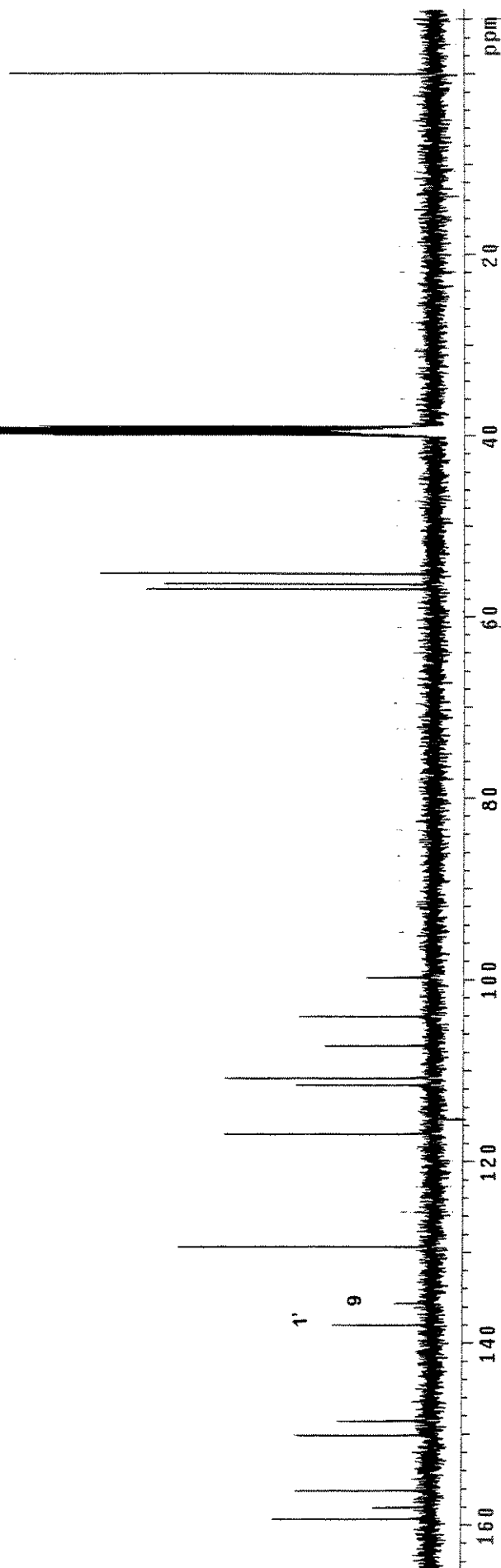
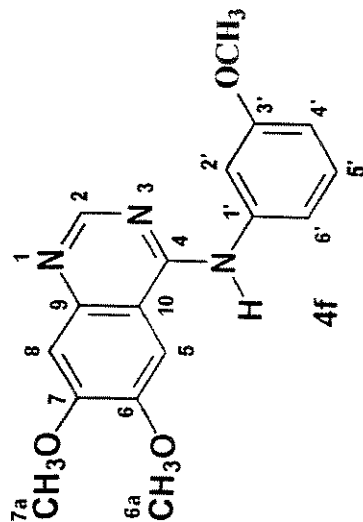


Figura A34- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-metóxi)fenilaminopiridina (7a)

Silvana MeO-4 pms0 mar11sarH1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: mar11sarH1

INNOVA-500 "nmrsun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 8000.0 Hz

16 repetitions

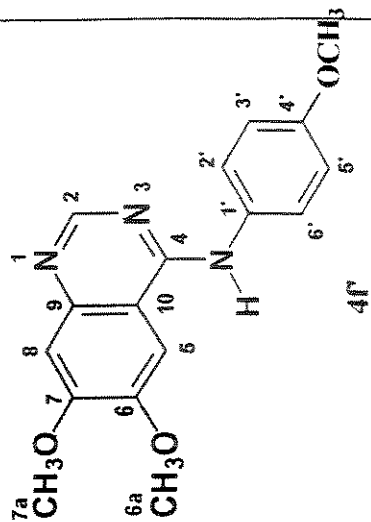
OBSERVE H1 499.8851315 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec



2' e 6'

3' e 5'

7.7 7.5 7.3 7.1 ppm

11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 -0 ppm

Figura A35- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f).

Silvana MeO-4 DMSO mar11sarç1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: i-14-87

File: mar11sarç1

INDVA-500 "nmr\$un"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

3000 repetitions

OBSERVE C13, 125.8962874 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876902 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 131072

Total time 2 hr, 6 min, 39 sec

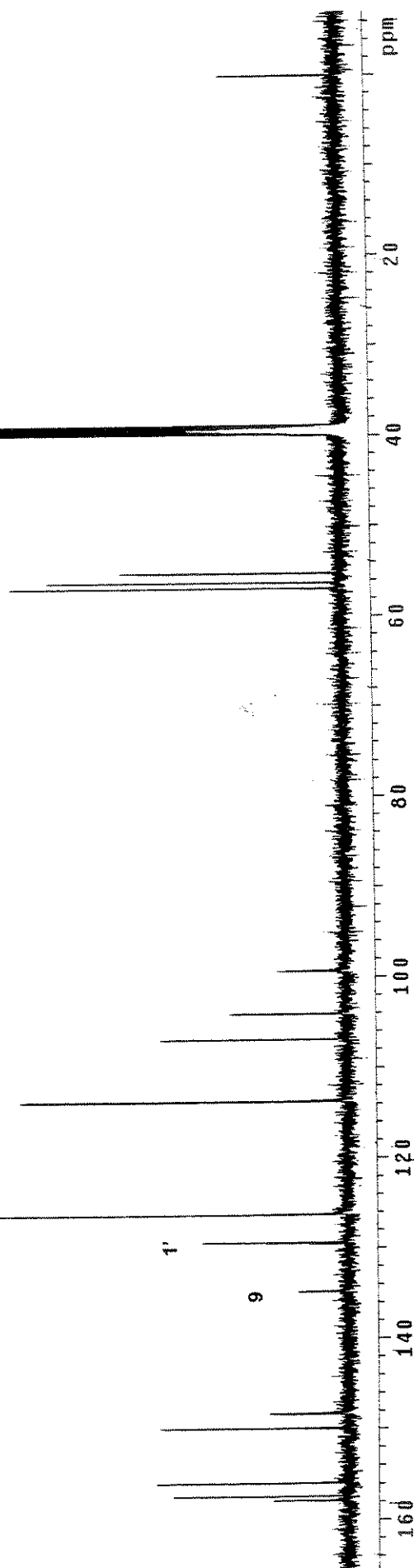
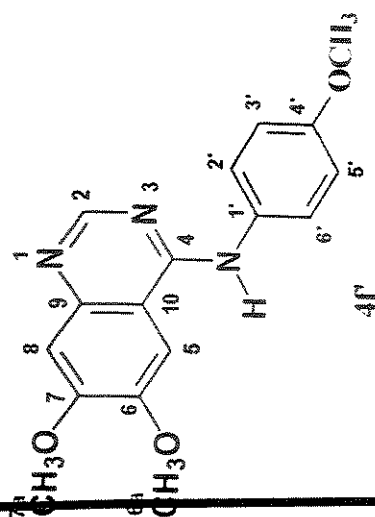


Figura A36- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metóxi)fenilamino-1,2,3,4-tetra-hidropiridina

Silvana MeO-4 DMSO mar11sarHSQC1

Pulse Sequence: HSQC

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: mar11sarHSQC1

INNOVA-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE: HSQC

Relax. delay 1.500 sec

Acq. time 0.161 sec

Width 6372.5 Hz

2D width 23809.5 Hz

20 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.8851272 MHz

DECOUPLE C13, 125.7070422 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.074 sec

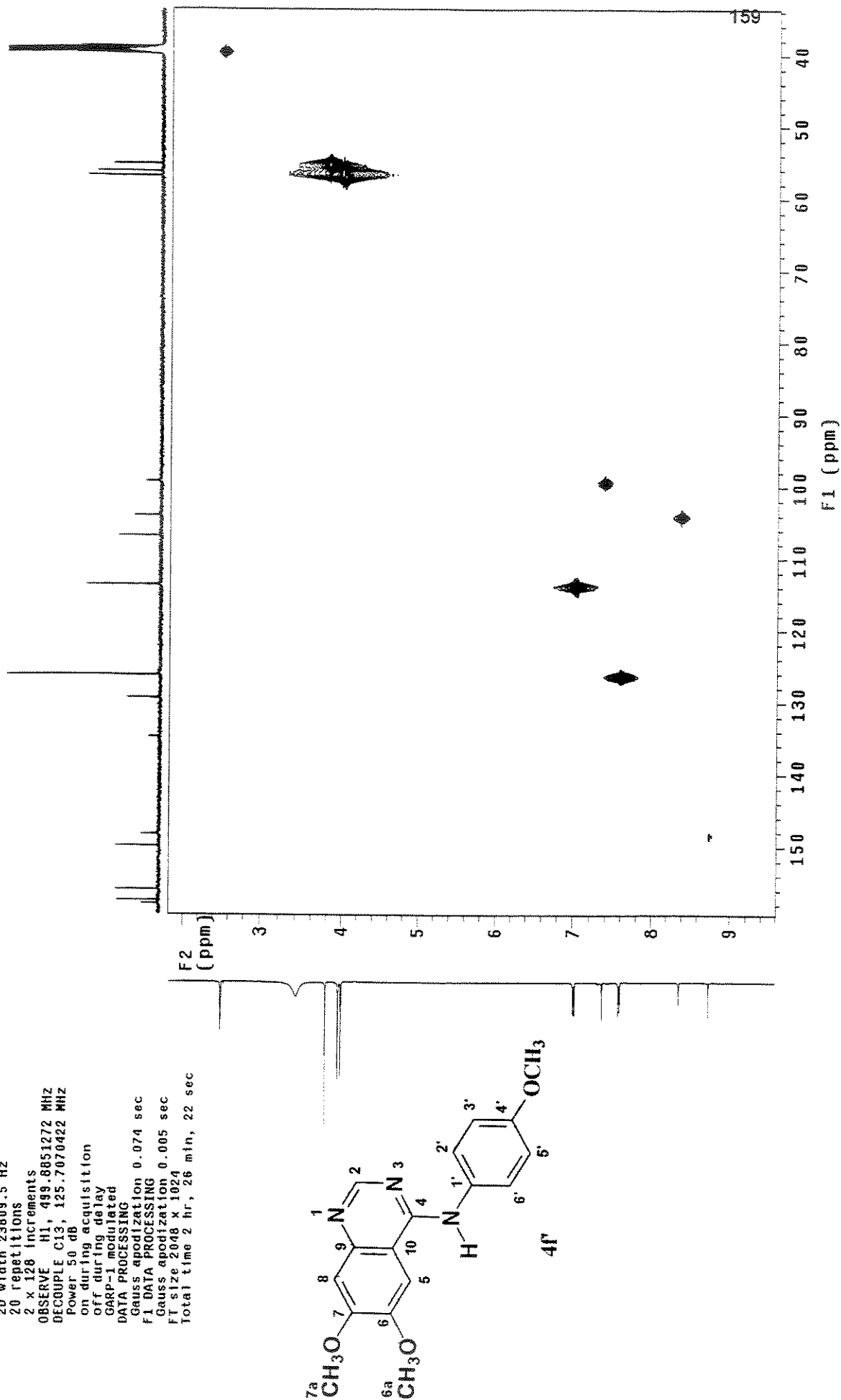
F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.005 sec

FI size 2048 x 1024

Total time 2 hr, 26 min, 22 sec

Figura A37- Diagrama de contorno HSQC da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f).



Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: mar11sargHMBC1

INOVA-500 "nmrSun"

PULSE SEQUENCE: gHMBC

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.161 sec

Width 6372.5 Hz

2D Width 23809.5 Hz

200 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.8851318 MHz

DATA PROCESSING

Sine bell 0.080 sec

F1 DATA PROCESSING

Sine bell 0.005 sec

FT size 2048 x 1024

Figura A38- Diagrama de contorno gHMBC da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metóxi)fenilaminoquinazolina (4f).

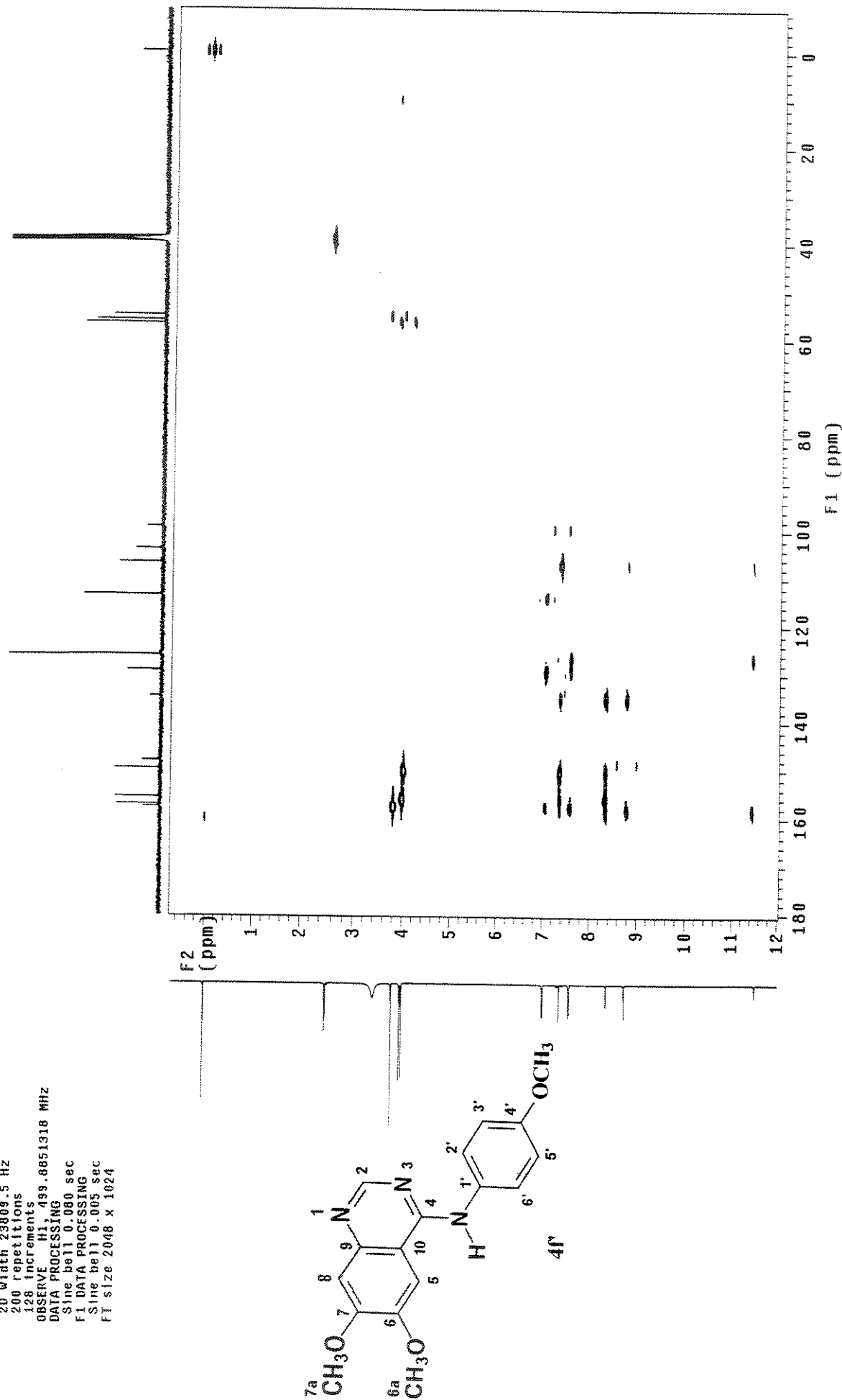




Figura A39- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-*N*-(3'-metil)fenilaminoquinazolina (4g).

Silvana Met(1)-8 DMSQ mar06sarC1

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: i-14-87

File: mar06sarC1

INQVA-500 "nmr3un"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

4000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962860 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876902 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 131072

Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

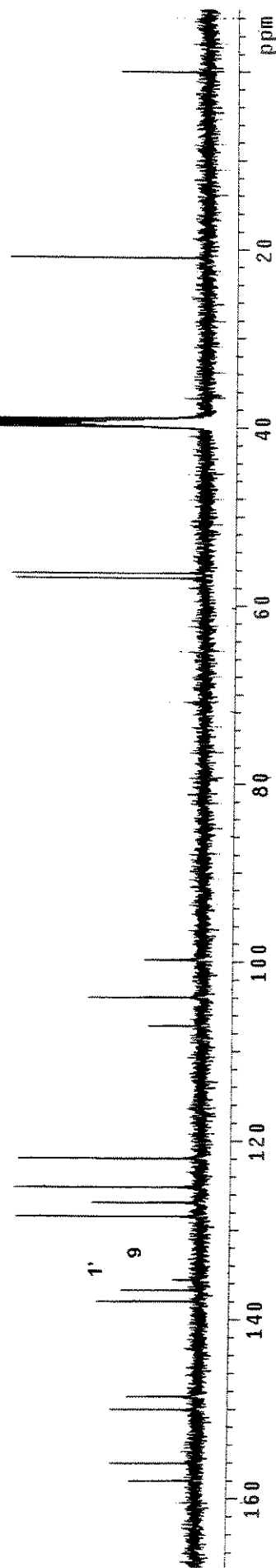
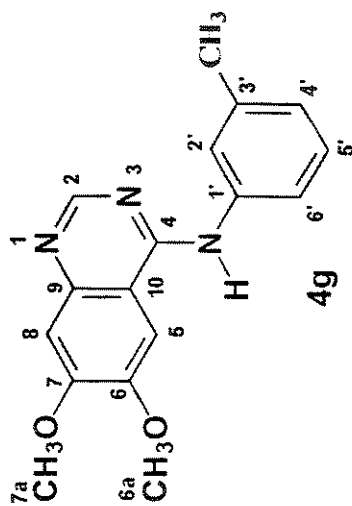


Figura A40- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-metil)fenilaminoquinazolina (4g).

Silvana Me-4 DMSO m4120sarH2

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: m4120sarH2

INDVA-500 "nmrSun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6320.1 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851304 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec

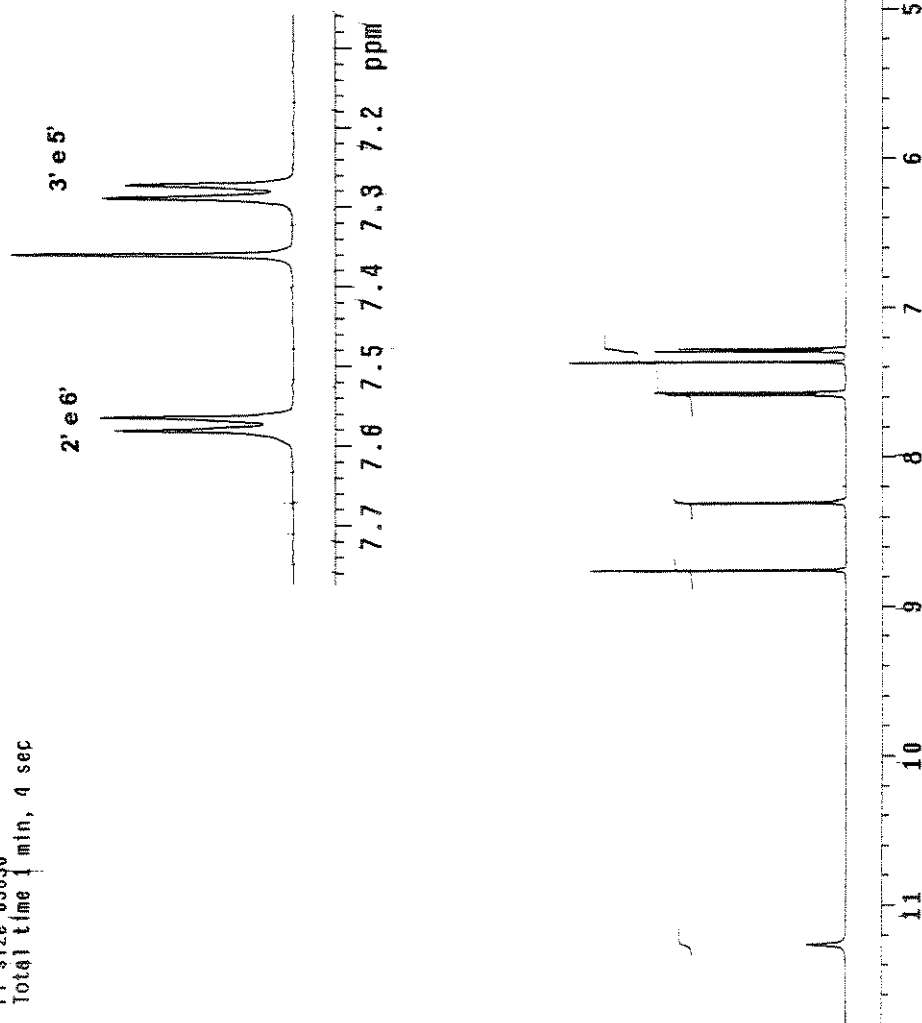
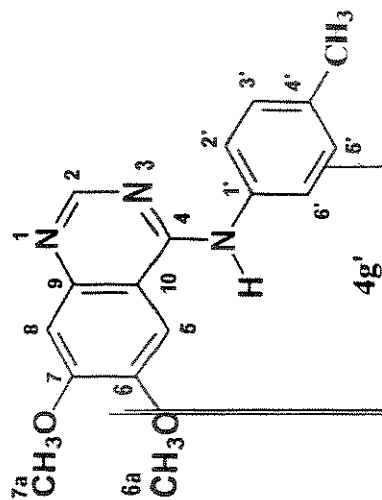


Figura A41- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metil)fenilaminoquinazolina (4g').

Silvany Me-4 DMSO ma120sarc2

Pulse Sequence: b2pul

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: i-14-87

File: ma120sarc2

INDVA-500 "nmr3unb"

Relax. delay 1.50b sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

6000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962889 MHz

DECOUPLE H1, 499.8676902 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 131072

Total time 4 hr, 13 min, 19 sec

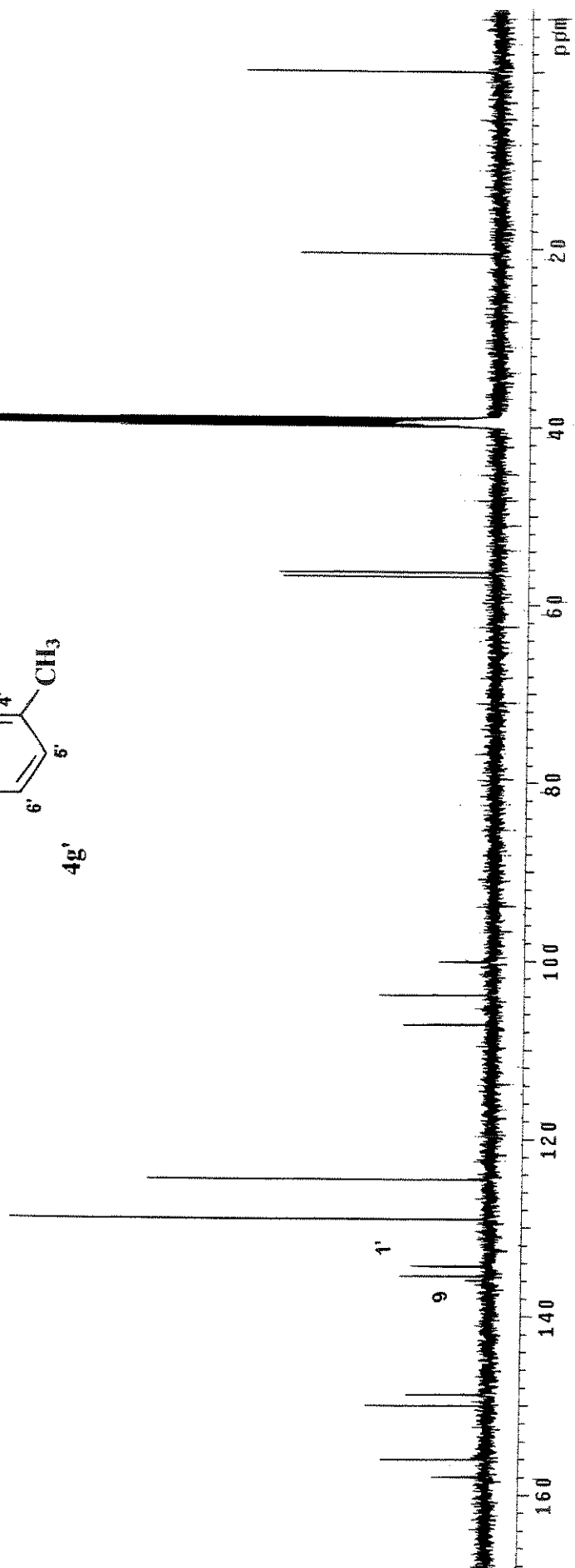
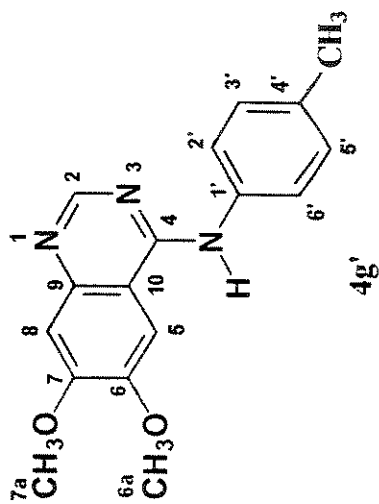


Figura A42- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-metil)fenilaminoquinazolina (4g').

Silvana acetof-3 DMSO mai06sarh

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: mai06sarh

INNOVA-500 "nmr-sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6402.0 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8051252 MHz

DATA PROCESSING

Reelbreakpoint 5000 Hz

Filesize 6688000

Format 170h, 4 sec

Total time 1 min, 4 sec

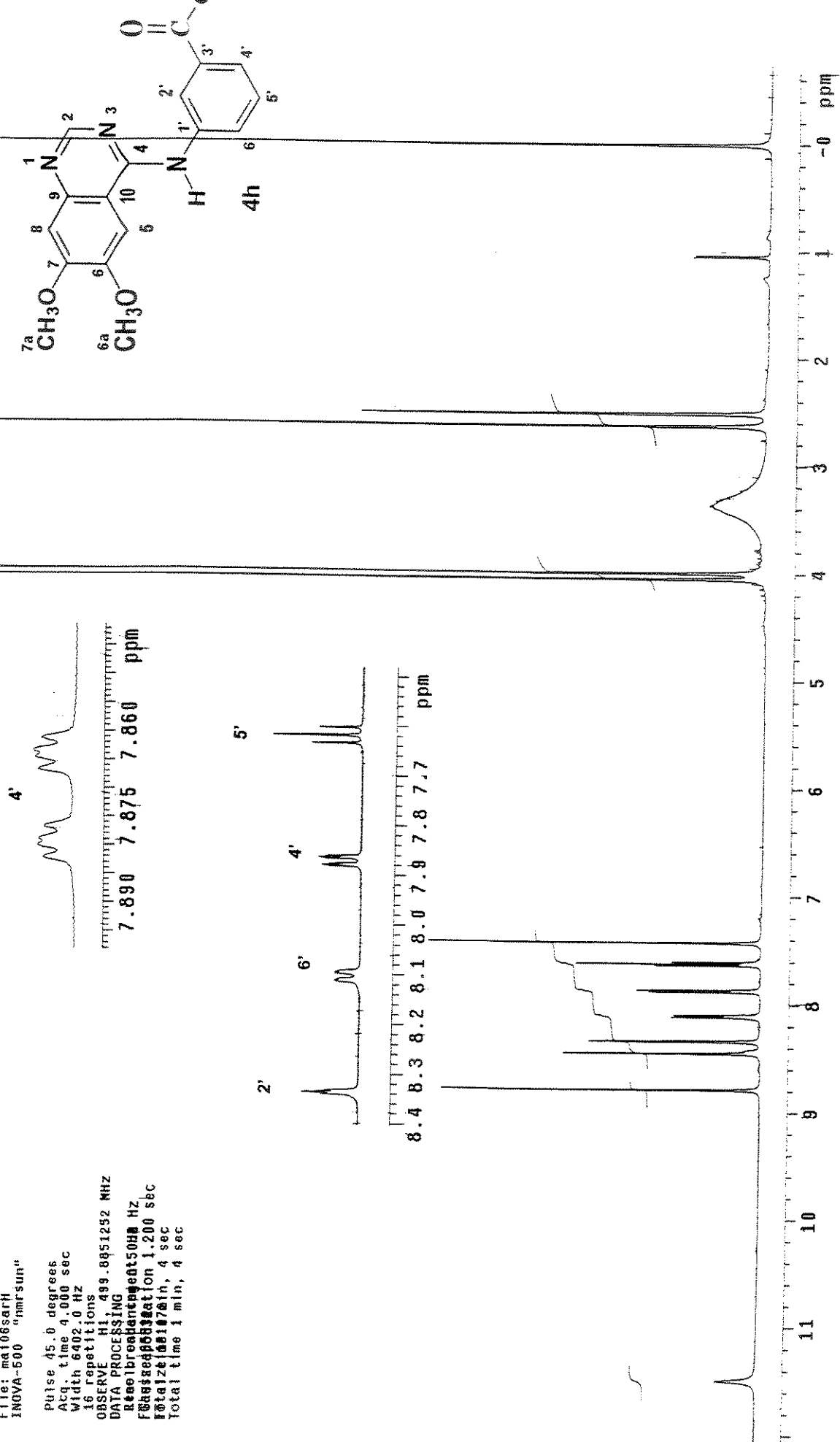


Figura A43- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-acetil)fenilaminoquinazolina (4h).

Silivana acetof-3 DMSO ma1063arC

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp: 30.0 C / 303.1 K

Usr: 1-14-87

File: ma1063arC

INOVA-500 "hmf'sun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

1344 repetitions

OBSERVE C13, 125.5962791 MHz

DECOUPLE H1, 400.8876902 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 131072

Total time 2 hr, 6 min, 39 sec

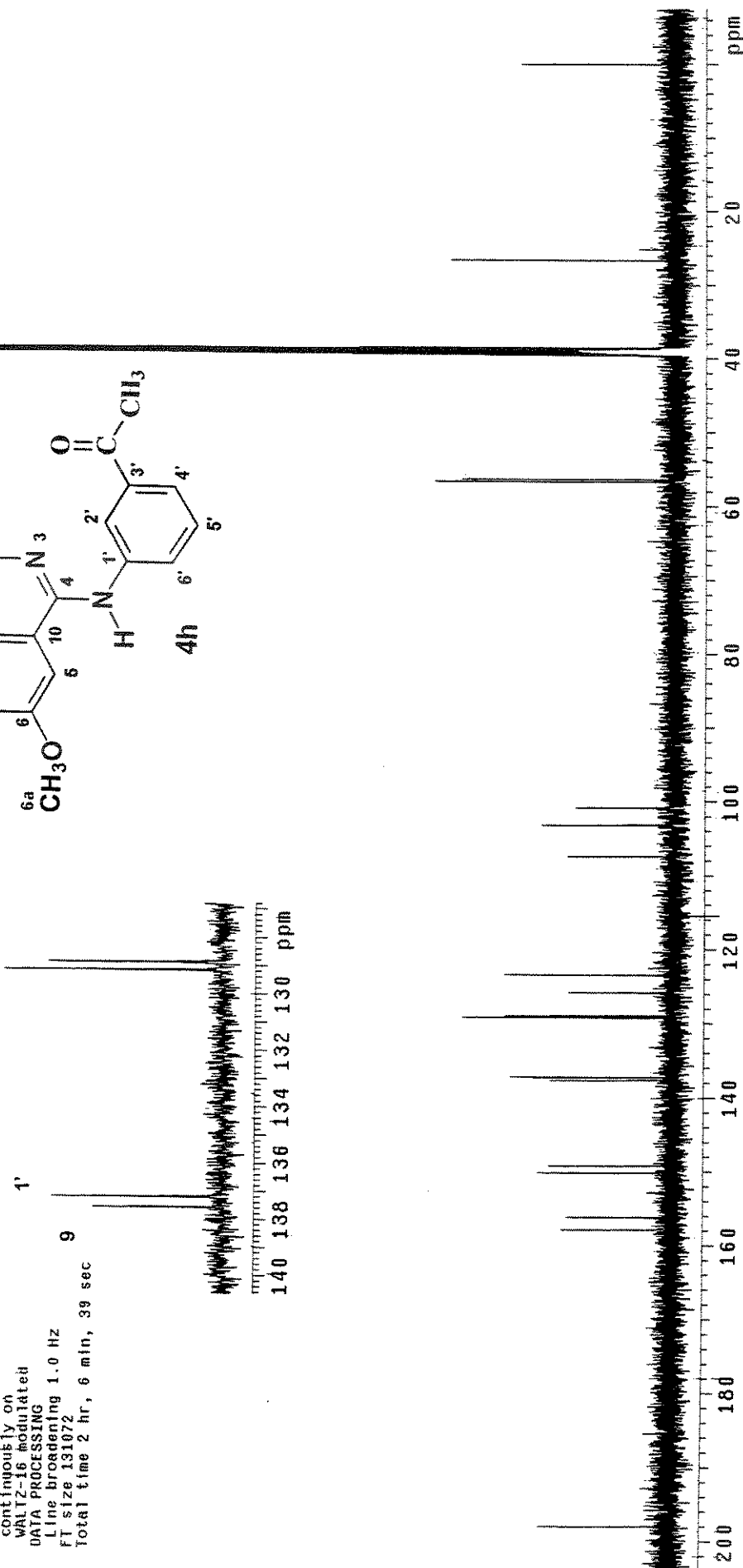
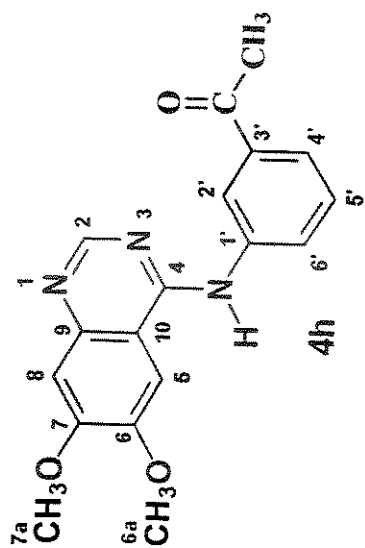


Figura A44- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-acetil)fenilaminoquinazolin-4(1h)

Silvana 4-acetof DMSO abr07sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: abr07sarH

INOVA-500 "hmr5un"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6446.4 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.8851175 MHz

DAYA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 1 min, 4 sec

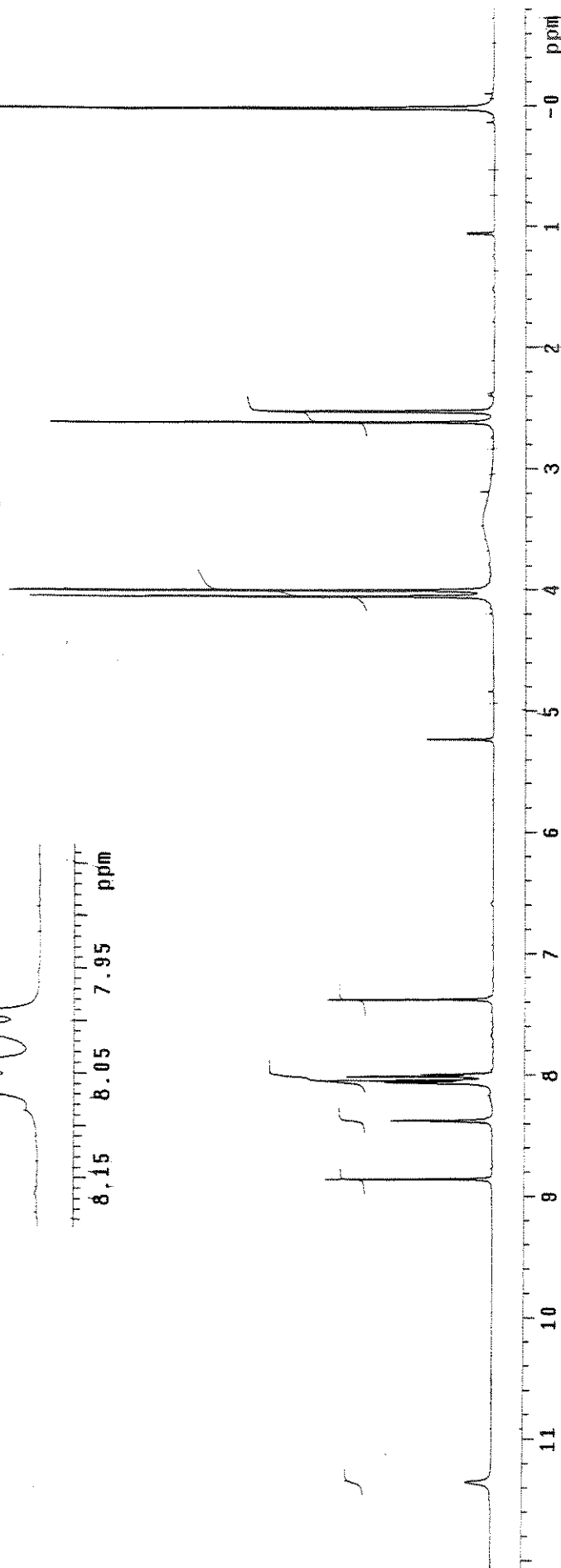
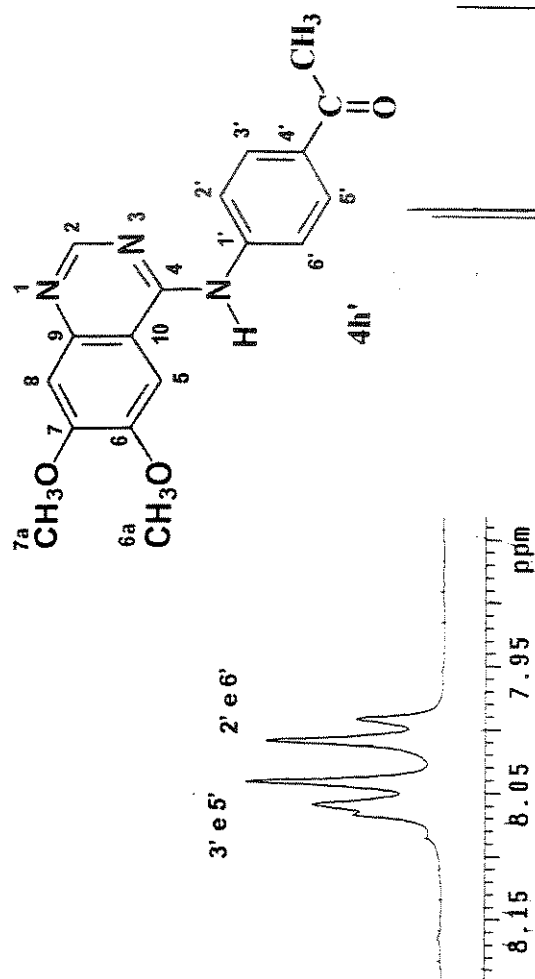


Figura A45- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-acetil)fenilaminoquinazolina (4h').

Silvana 4-acetof DMSO mar31sarC1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: mar31sarC1

INOVA-500 "jmrfsun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 45.4 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 20000.0 Hz

672 repetitions

OBSERVE C13, 75.4523956 MHz

DECOUPLE H1, 300.0702829 MHz

Power 41 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 32768

Total time 3 hr, 7 min, 15 sec

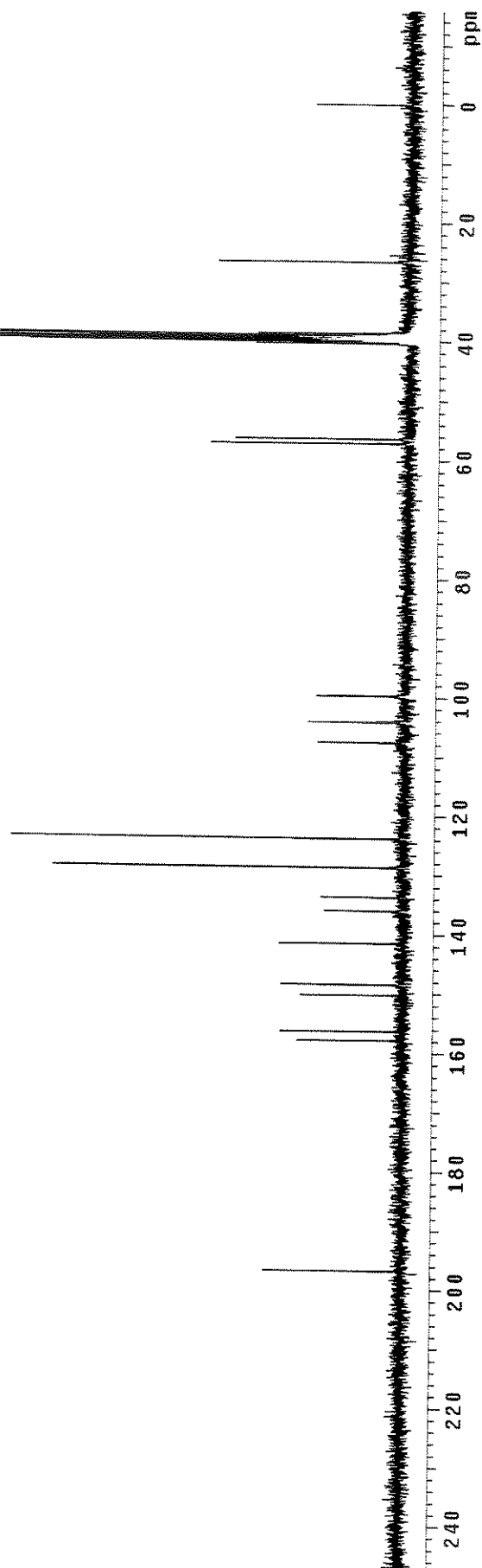
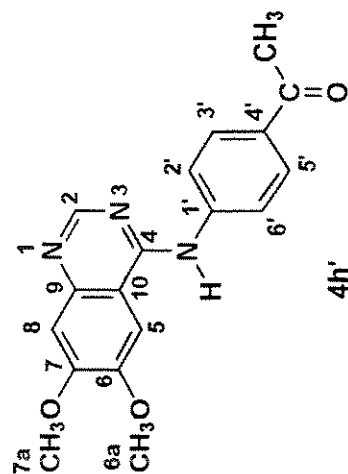


Figura A46- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-acetil)fenilaminoquinazolina (4h')

Silvana N-Dimetil13 DMSP Jan24sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: Jan24sarH

INOVA-500 "nmr.sun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 8000.0 Hz

32 repetitions

OBSERVE F1, 499.8851315 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65836

Total time 2 min, 8 sec

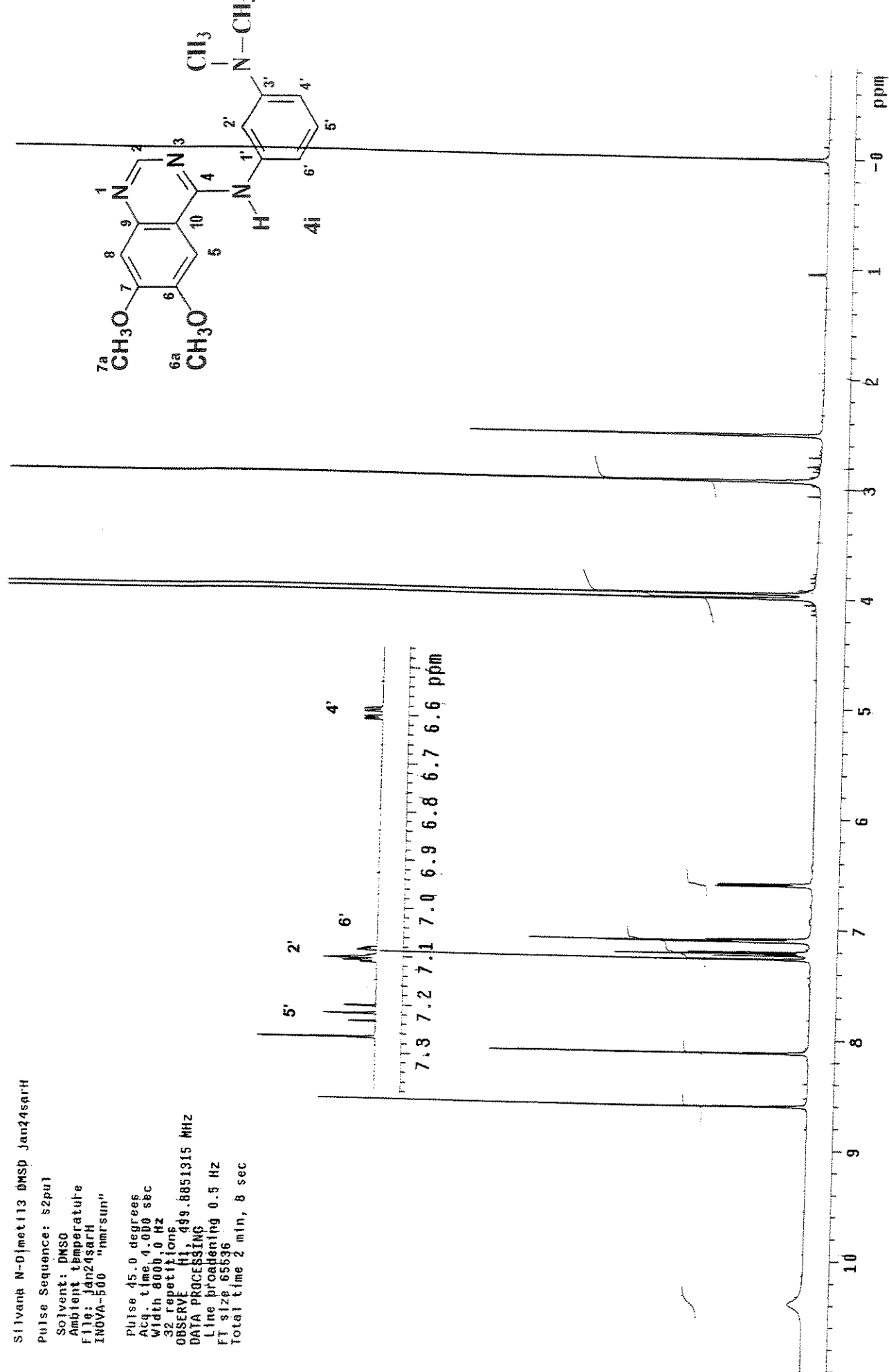


Figura A47- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-N,N-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i).

Silvana NDRe-3 DMSO marllsarc

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: i-14-87

File: marllsarc

INOVA-500 "hmr5un"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 32051.3 Hz

384 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962855 MHz

DECOUPLE H1, 499.8876302 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FI size 131072

Total time 2 hr, 48 min, 52 sec

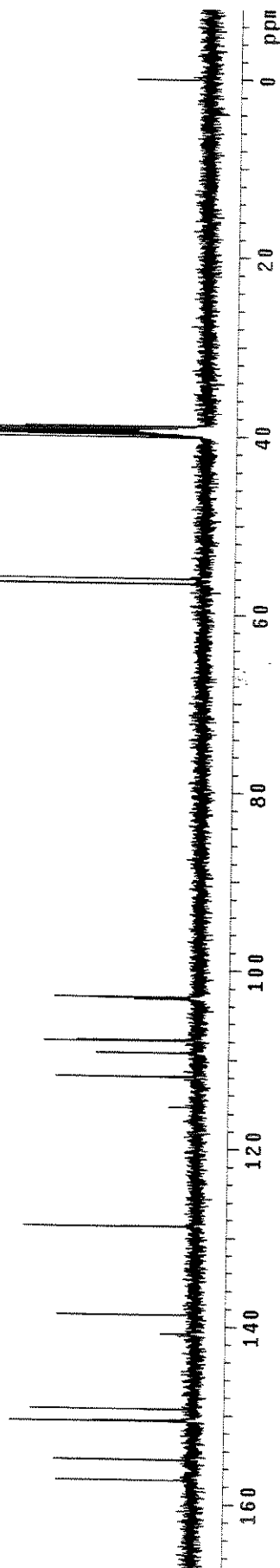
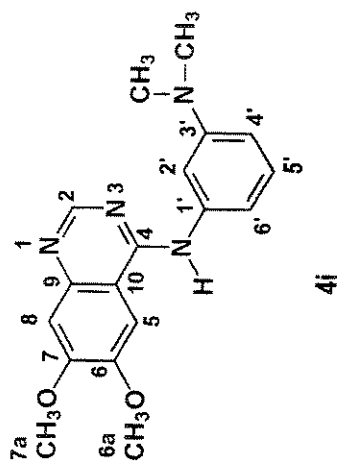


Figura A48- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-N,N-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i)

Silvana 4-DNA DMSO Jan15sarH

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: Jan15sarH

INNOVA-500 "nmf'sun"

Pulse 29.8 degrees

Acq. time 3.277 sec

Width 6927.0 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1 499.8851239 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.2 Hz

FT size 65536

Total time 0 min, 52 sec

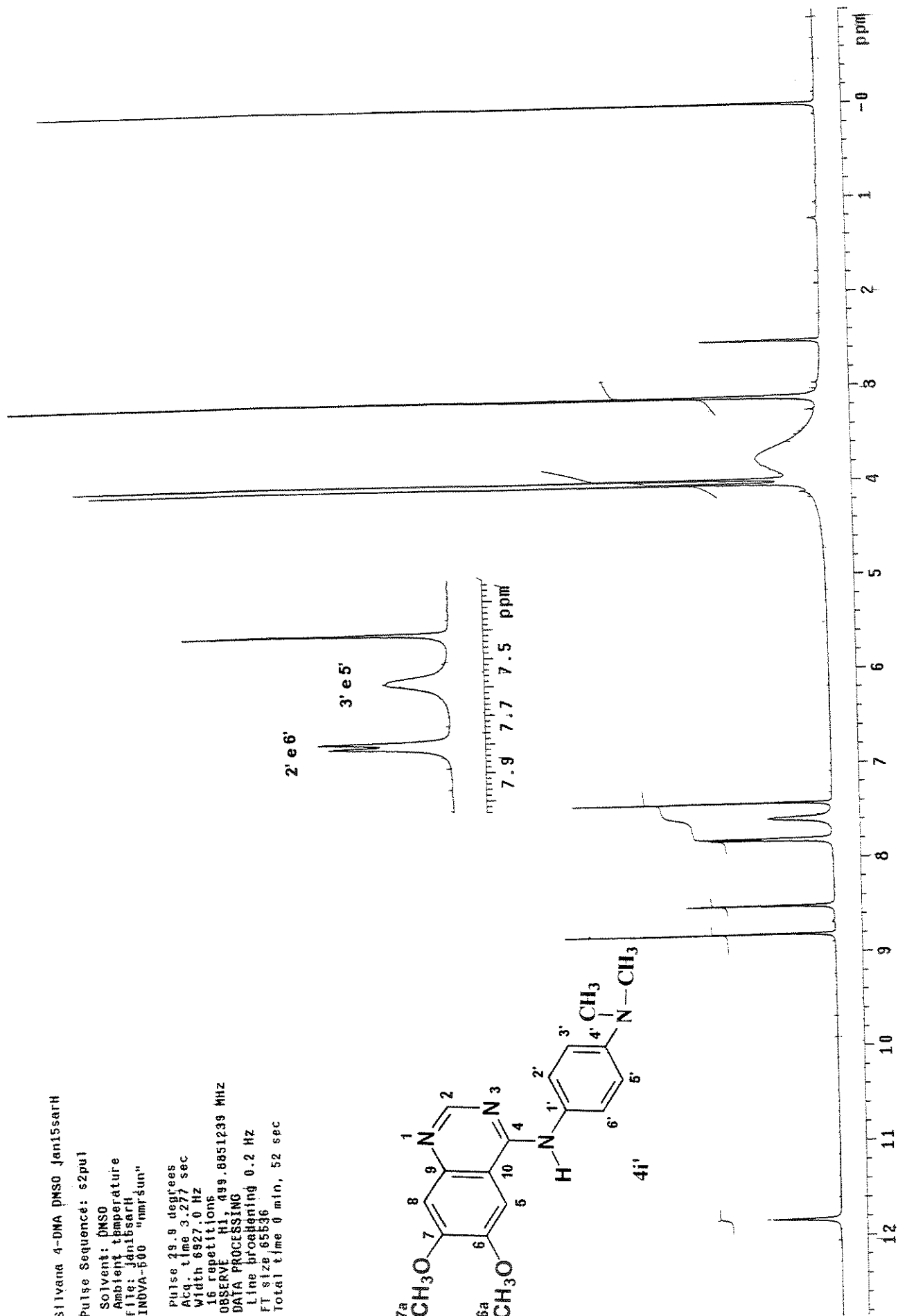
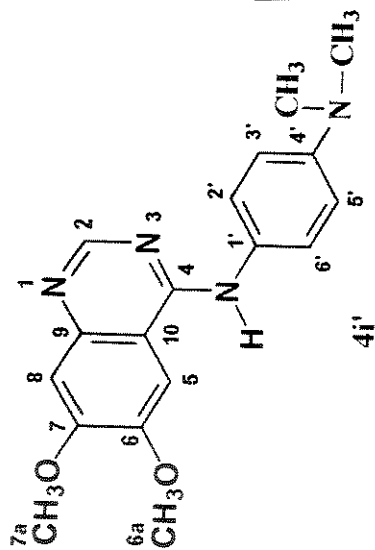


Figura A49- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-N,N-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i').

Silviana 4-DNA DMSO jan15sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: j-14-87

File: jan15sarC

INDVA-500 "nmr5un"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

6000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962866 MHz

DECOUPLE H1, 499.8476303 MHz

Power 34 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 4 hr, 13 min, 19 sec

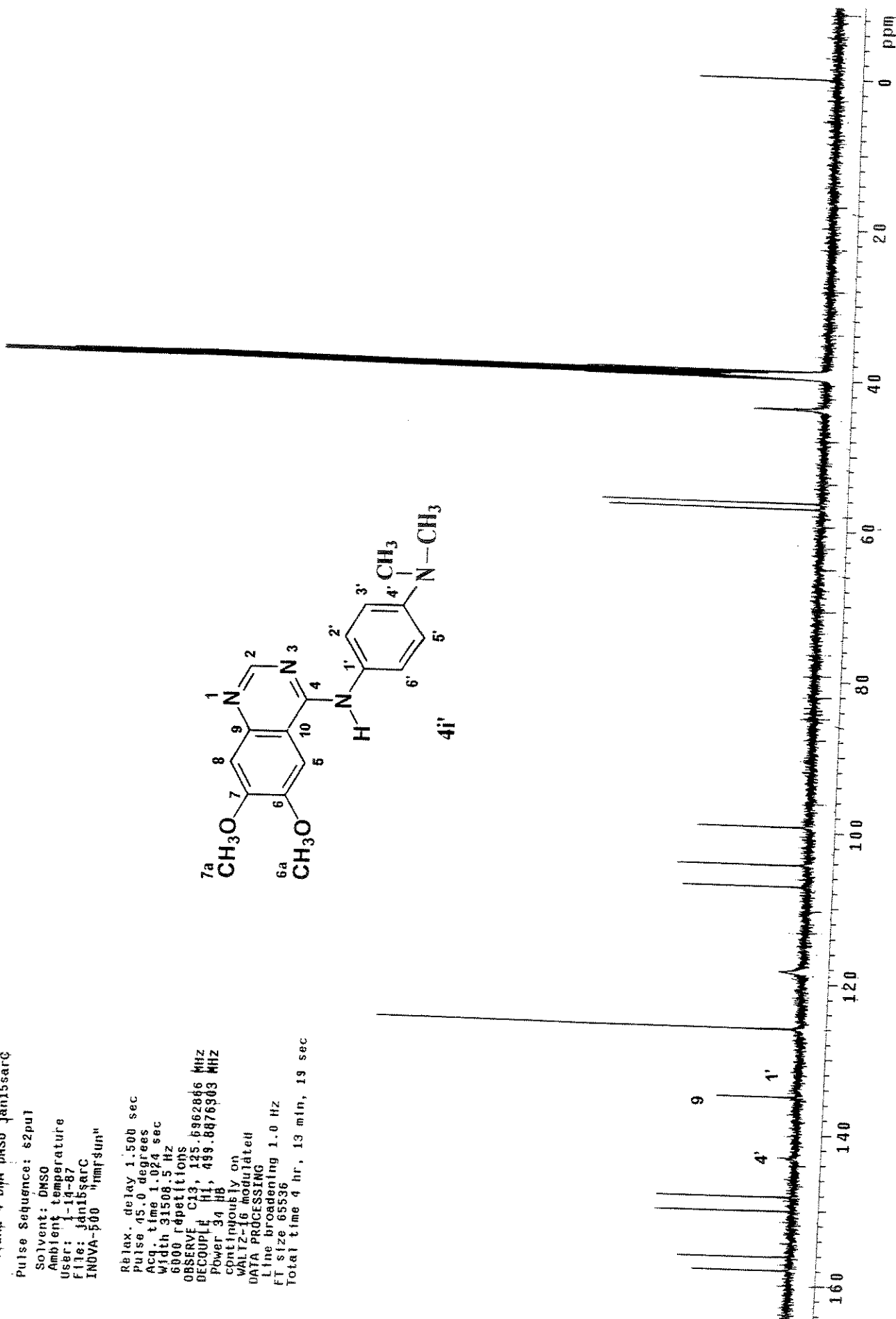
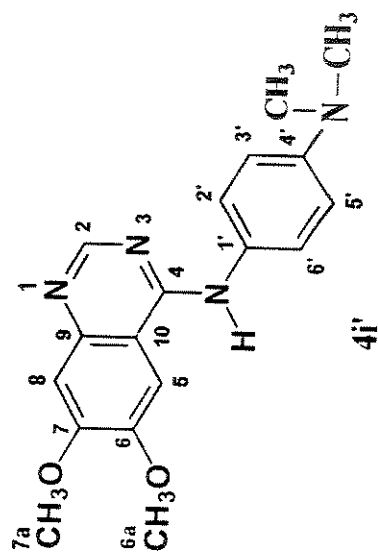


Figura A50- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-N,N-dimetil)fenilaminoquinazolina (4i')

Silyana 3-nitro DMSO ma127sarH1

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: ma127sarH1

INOVA-500 "nmrsun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6467.3 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1 499.8851286 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FI size 65536

Total time 2 min, 8 sec

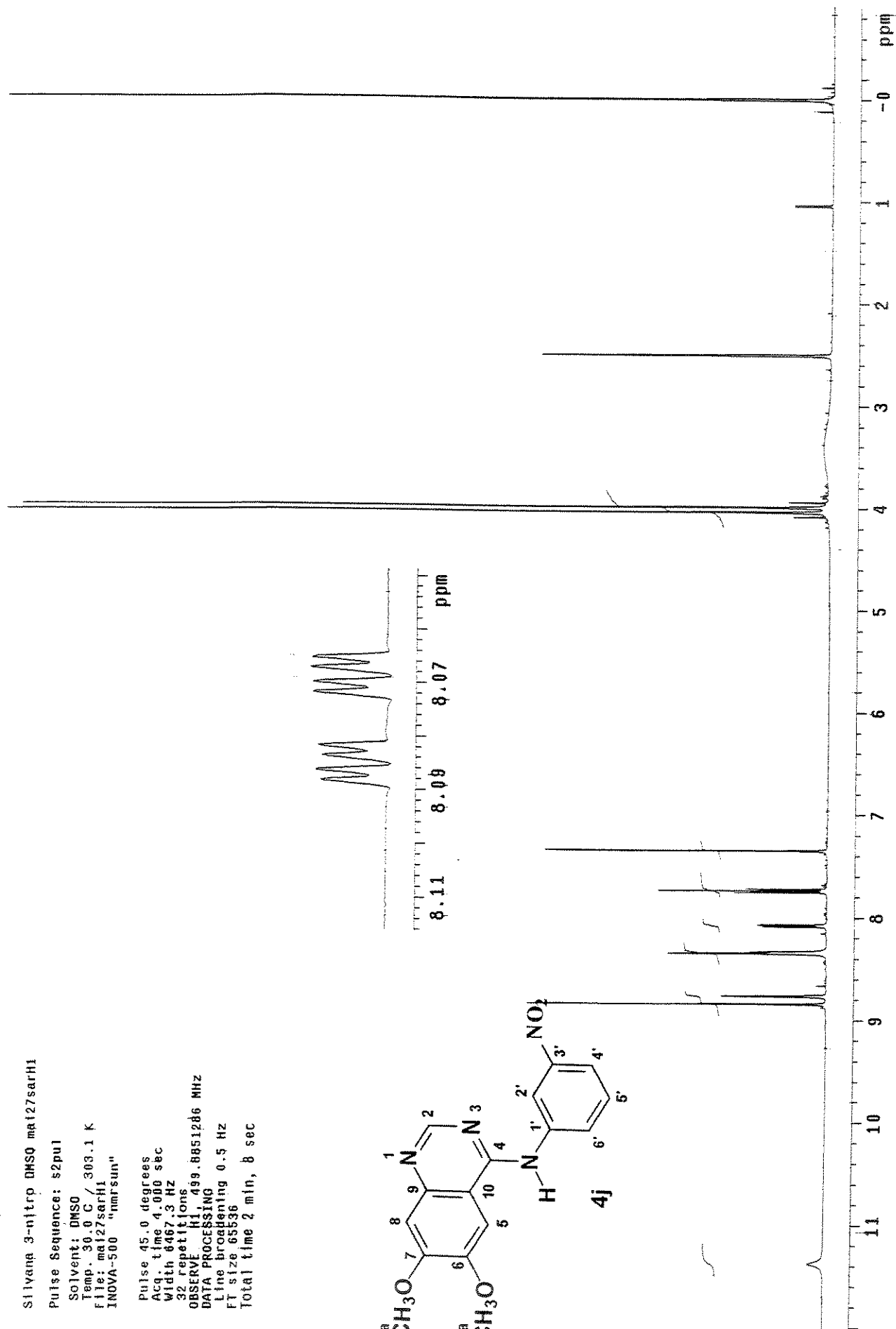
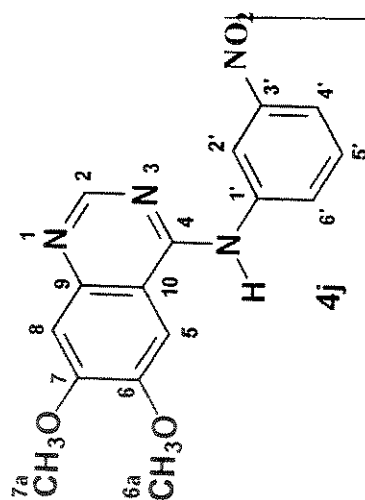


Figura A51- Espectro de RMN de ^1H da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j).

Silviana 3-NI dmsO-d6 mai03sarC

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

User: 1-14-87

File: mai03sarC

INOVA-500 "hmr'sun"

Relax. delay 1.500 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.024 sec

Width 31508.5 Hz

30000 repetitions

OBSERVE C13, 125.6962149 MHz

DECOUPLE H1, 499.8976302 MHz

Power 40 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 21 hr, 6 min, 37 sec

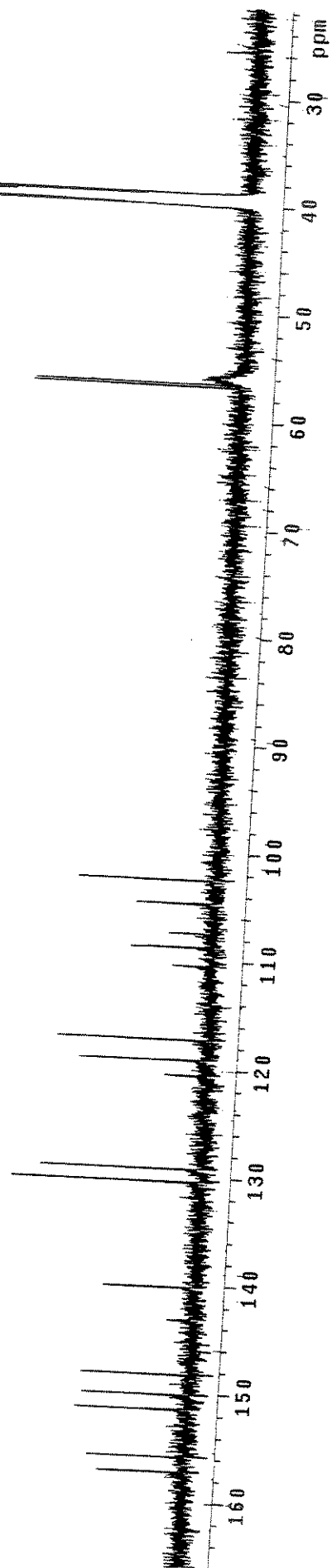
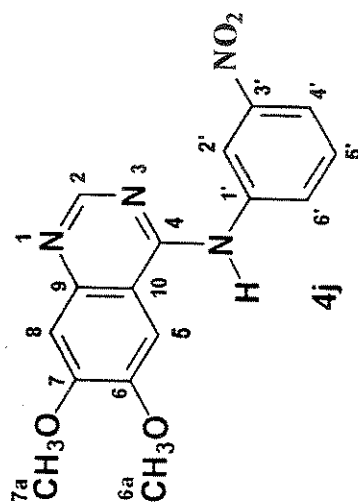


Figura A52- Espectro de RMN de ^{13}C da 6,7-dimetóxi-4-N-(3'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j).

Silvana 4-nitro DMSO ma127sarH

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: DMSO

Temp. 30.0 C / 303.1 K

File: ma127sarH

INOVA-500 "nmrsun"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.000 sec

Width 6152.4 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1 499.8851306 MHz

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz

FT size 65536

Total time 2 min, 8 sec

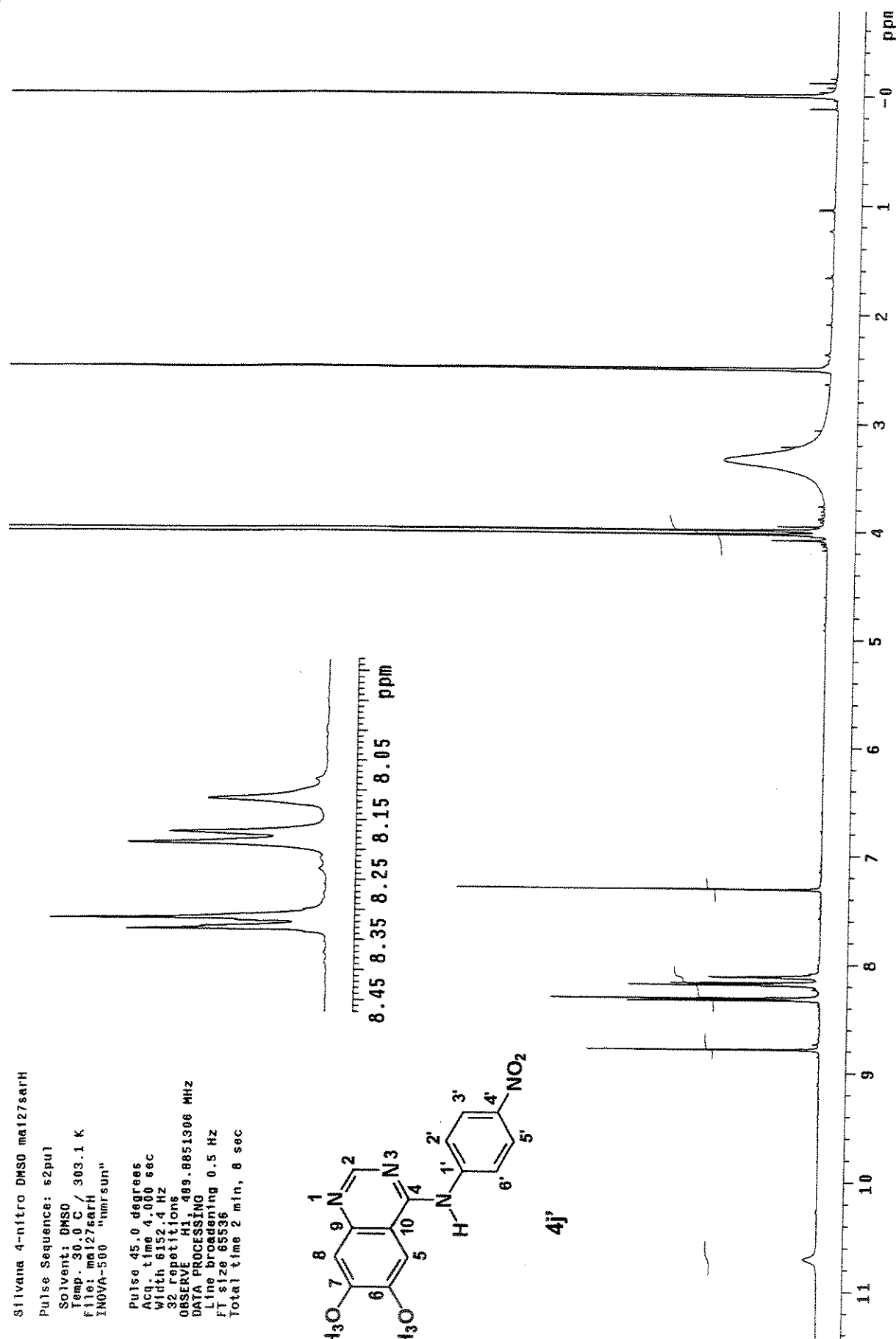
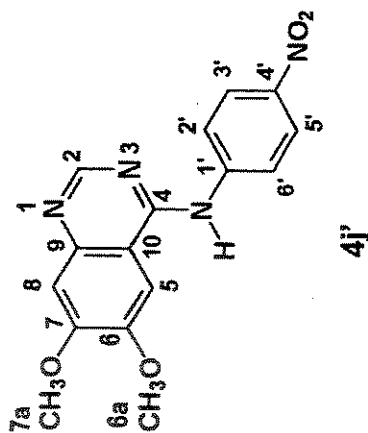


Figura A53- Espectro de RMN de ¹H da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j')

Silvana 4-NI DMSO jun02sarc

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO

Ambient temperature

File: jun02sarc

INOVA-500 "nmfsun"

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 45.4 degrees

Acq. time 0.800 sec

Width 20000.0 Hz

26208 repetitions

OBSERVE C13, 75.4523956 MHz

DECOUPLE H1, 300.0702829 MHz

Power 41 dB

continuously on

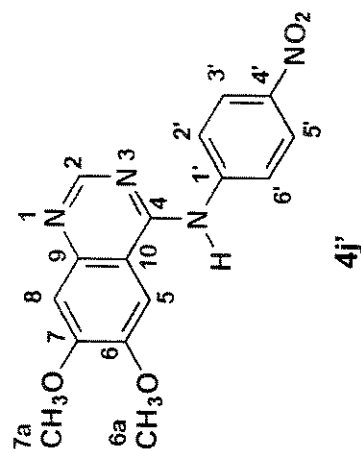
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 32768

Total time 39 hr, 42 sec



UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Figura A54- Espectro de RMN de ¹³C da 6,7-dimetóxi-4-N-(4'-nitro)fenilaminoquinazolina (4j')

