

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE
NOVOS COMPOSTOS MESOIÔNICOS**

CLEDUALDO SOARES DE OLIVEIRA

*João Pessoa – PB - Brasil
Abril/2009*



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS COMPOSTOS MESOIÔNICOS

CLEDUALDO SOARES DE OLIVEIRA *

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica.

Orientadores: Prof. Dr. Petrônio Filqueiras de Athayde Filho

Prof. Dr. Bruno Freitas Lira

*** Bolsista do CNPq**

**João Pessoa – PB - Brasil
Abril/2009**

Síntese, Caracterização e Avaliação Farmacológica de Novos Compostos Mesoiónicos

Aprovada pela banca examinadora:

Prof. Dr. Petrônio Filqueiras de Athayde Filho
Orientador

Prof. Dr. Bruno Freitas Lira
2º. Orientador

Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luís
Examinador

Profa. Dra. Juliana Alves Vale
Examinadora

Prof. Dr. José Régis Botelho
Examinador

"A grande realização é saber que você estudou e trabalhou duro, e deu o melhor de si. O sucesso é ser elogiado pelos outros, e isso também é bom, mas não tão importante nem tão gratificante. Busque sempre a realização e esqueça o sucesso."

(Helen Hayes)

"Que maravilha é podermos contar com a força em situações de emergência. Vivemos timidamente, fugindo das tarefas difíceis, até sermos obrigados ou nos decidirmos a enfrentá-las. De imediato, as forças que estavam ocultas se apresentam. A coragem surge diante do perigo. Quando postos à prova por pressões contínuas, descobrimos em nós o poder da resistência. Mas se o desastre leva à queda tão temida, sentimo-nos amparados e seguros pelos braços eternos. A experiência nos ensina que, quando submetidos a, pressões terríveis, a simples aceitação destemida libera capacidade e confiança. Toda dificuldade traz sua própria força." "Os teus dias serão tua força."

(J. A. Hadfield)

"Leva tempo para alguém ser bem sucedido porque o êxito não é mais do que a recompensa natural pelo tempo gasto em fazer algo direito."

(Joseph Ross)

Dedicatória

À Deus por me proporcionar a vida!

Aos meus pais, Moisés (in memoriam) e Reni que sempre me deram carinho e amor.

A meus irmãos, José Cleudson, Leonite Neide, Renicleide e Elicênia.

A minha sobrinha Raíssa.

A minha noiva Marcelle pelo apoio, compreensão e amor.

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus por estar comigo em todos os momentos da minha vida.

Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho por me aceitar como seu orientando, pela orientação segura, por tornar possível a realização deste trabalho e, sobretudo, pela amizade desenvolvida deste o tempo de minha graduação.

Ao Prof. Dr. Bruno Freitas Lira por me aceitar como seu orientando e pela ajuda valiosa na interpretação espectroscópica dos compostos sintetizados.

Aos professores Dr. Gerd Bruno, José Regis e Mario Vasconcellos, os quais foram meus professores e cujos ensinamentos foram de inestimado valor para minha formação continuada.

Ao mestre José Queiroz Caluête amigo de todas as horas.

Ao professor Dr. José Siqueira e sua aluna Vivyanne do Laboratório de Genética de Microrganismos (DBM) que realizou os estudos de atividade antimicrobiana.

A professora Dra. Edeltrudes do laboratório de Micologia (CCS) que realizou os estudos de atividade antifúngica.

Aos colegas: Manoel, Gabriel, Vasco, Cristiano, Nataly, André, Junior, Victor Hugo, Hemerson, Fábio, Saulo, Ramon, Vaeudo e Alberto e ao meu amigo Kerick Robert Leite.

Aos amigos do LPBS: Alexsandro, Enéias, Yuri, Juliana, Severino, Silvânio e Júlis.

Aos técnicos: Rogério e Vicente pela realização das análises de infravermelho e de RMN respectivamente.

Aos secretários da Pós-Graduação em Química, Marcos Pequeno e Glória.

E a todos aqueles que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida

RESUMO

Título: Síntese, Caracterização e Avaliação Farmacológica de Novos Compostos Mesoiónicos

Autor: Cleinaldo Soares de Oliveira

Orientadores: Prof. Dr. Petrônio Filqueiras de Athayde Filho
Prof. Dr. Bruno Freitas Lira

Os compostos heterocíclicos estão envolvidos em diversos tipos de reações químicas. Dentre os compostos heterocíclicos, destacam-se os compostos mesoiônicos que constituem um grupo de betaínas heterocíclicas estabilizadas por deslocalização de elétrons e cargas. Estes compostos apresentam um amplo espectro de atividades biológicas tais como: antimicrobiana, antineoplásica, antidepressivo e antileishmaniose. Sabendo da importância química desta classe de compostos heterocíclicos planejamos a obtenção de novos derivados mesoiônicos tanto do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato como do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida usando como metodologia sintética a reação de anidrocilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida com cloretos de ácidos. Foram sintetizados cinco novos compostos heterocíclicos mesoiônicos, suas estruturas foram elucidadas por meio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C e infravermelho. O cloridrato mesoiônico MI-05-CL apresentou atividade contra algumas espécies de leveduras. Contra a levedura *C. tropicalis* (LM 759) foi tão potente quanto o cetoconazol. O ensaio antibacteriano mostrou que o composto MI-03-CL apresentou atividade moduladora de bomba de efluxo, apresentando potencialidade como um adjuvante de antibióticos.

Palavras-chave: Compostos mesoiônicos. Avaliação farmacológica. Reações de anidrocilação.

ABSTRACT

Title: Synthesis, Characterization and Pharmacological Evaluation of New Mesoionic Compounds

Author: Cledualdo Soares de Oliveira

Adviser: Prof. Dr. Petrônio Filqueiras de Athayde Filho

Prof. Dr. Bruno Freitas Lira

The heterocyclic compounds are involved in several types of chemical reactions. Among them, there is a subclass known as mesoionic compounds, a group of heterocyclic betaines stabilized by delocalization of electrons and loads. These compounds have a broad spectrum of biological activity such as antimicrobial, antineoplastic, antidepressant and antileishmanial. Given the importance and potential of this class of heterocyclic, we planned the obtention of new mesoionic derivatives from both systems: 1,3,4-triazolium-2-thiolate and 1,3,4-thiodiazolium-2-aminide. The synthesis methodology was the 1,4-diphenylthiosemicarbazide anhydroacylation reaction with acyl chlorides. Five new heterocyclic mesoionic compounds were synthesized. Their structures were determined through ^1H NMR, ^{13}C NMR and IR spectroscopy techniques. The mesoionic hydrochloride MI-05-CL showed antimicrobial activity against some yeast species. Against the *C. tropicalis* yeast (LM 759) it was as potent as ketoconazole. The antibacterial assay showed the compound MI-03-CL has efflux pump modulator activity, indicating potential as antibiotic adjuvant

Keywords: Mesoionic Compounds. Pharmacological Evaluation, Anhydrous Acylation Reactions.

Lista de figuras

Figura 3.1: Formas canônicas do composto mesoiônico fenil-sidnona sugeridas por Baker et al em 1949.....	8
Figura 3.2: Formas de representação do composto mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.....	9
Figura 3.3: Estrutura mesoiônica estudada por Moura.....	10
Figura 3.4: Estruturas dos derivados do sistema 1,3,4-tiadiazólios estudados por Cheung e colaboradores.....	11
Figura 3.5. Algumas formas canônicas da estrutura da munchnona com seu híbrido de ressonância.....	12
Figura 3.6. Representação genérica para compostos mesoiônicos.....	12
Figura 3.7. Representação genérica do anel mesoiônico na forma de dipolo.....	13
Figura 3.8. Representação genérica dos mesoiônicos dos tipos A e B...	13
Figura 3.9. Representação e exemplos de compostos mesoiônicos dos tipos A e B.....	14
Figura 3.10: derivados da sidnona com importantes atividades biológicas.....	23
Figura 3.11: Fórmula estrutural do composto mesoiônico 3-fenil-1,3,4-tiadiazólio-5-R-2-tiolato.....	24
Figura 3.12: Cloridrato mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio com atividade antimelanoma.....	24
Figura 3.13: Estrutura química dos derivados mesoiônicos do sistema 1,3,4- tiadiazólio-2-aminida.....	25
Figura 3.14: Fórmula estrutural do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil -5-(5-nitrofurânil)-1,3,4-triazólio-2-tiol.....	27
Figura 3.15: Fórmula estrutural do composto mesoiônico 2-(4-metil-fenil)-4-(4-metóxi-fenil)-1,3-tiazol 5-tiolato.....	27
Figura 3.16: Estrutura química do 3-(4-cloro-3-nitro-fenil) -1,2,3-oxadiazólio-5-olato —SYD-1.....	28

Figura 3.17: Estrutura química do mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida com atividade tripanocida.....	28
Figura 3.18: Estruturas químicas da sidnona, sidnona-imideto e munchnona.....	29
Figura 3.19: Fórmula estrutural do mesoiônico 1,4-difenil-5-(4-(trifluorometil)fenil)-1,3,4-triazol-2-tiolato.....	30
Figura 3.20: Fórmula estrutural do captopril.....	32
Figura 3.21: Exemplos de fármacos descobertos ao acaso, penicilina e sildinafril.....	33
Figura 3.22: Exemplos de fármacos “me-too” descobertos através de modificações moleculares dos protótipos correspondentes.....	35
Figura 5.1: Cloretos de ácidos sintetizados para a etapa de ciclização dos derivados mesoiônicos.....	66
Figura 5.2: Fórmulas estruturais dos ácidos 2,2-dimetil-1,3-dioxalano-carboxílico e tetrahydrofurano-4-carboxílico.....	68
Figura 5.3: Estruturas dos cloridratos mesoiônicos testados na avaliação de atividade antifúngica.....	89

Lista de tabelas

Tabela 3.1: valores de ED ₅₀ de compostos mesoiônicos sobre promastigotos de <i>L. amazonensis</i> , <i>L. braziliensis</i> e <i>L. chagasi</i> e macrófagos murina.....	26
Tabela 5.1: Oxidação do álcool tetrahidrofurfurílico com permanganato de potássio.....	57
Tabela 5.2: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) do composto (3.9).....	58
Tabela 5.3: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) do composto (3.6).....	60
Tabela 5.4: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) do composto (3.7).....	61
Tabela 5.5: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) do composto (3.2).....	62
Tabela 5.6: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (D ₂ O) do composto (4.1).....	63
Tabela 5.7: Dados do espectro de RMN ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) do composto (4.3).....	65
Tabela 5.8: Ccompostos mesoiônicos obtidos por meio da reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida.....	70
Tabela 5.9: Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆ , 50,3 MHz) de alguns compostos mesoiônicos para os carbonos do anel heterocíclico.....	74
Tabela 5.10: Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆) do cloreto de 1,4-difenil-5-(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-triazólio-2-tiol.....	75
Tabela 5.11: Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆) do cloreto de 4-fenil-5-(4-nitrofenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	76
Tabela 5.12: Dados dos espectros de RMN ¹ H (200 MHz) e ¹³ C (50 MHz) em (DMSO-d ₆) de MI-01-CL.....	78
Tabela 5.13: Dados dos espectros de RMN ¹ H (200 MHz) e	

^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) MI-02-CL	80
Tabela 5.14: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e	
^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de MI-03-CL	82
Tabela 5.15: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e	
^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de MI-04-CL	84
Tabela 5.16: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e	
^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de MI-05-CL	86
Tabela 5.17: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e	
^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de MI-07-CL	88
Tabela 5.18: Resultados da avaliação da atividade antifúngica	
(em mm) de compostos mesoiônicos contra leveduras, em meio sólido.	90
Tabela 5.19: Atividade antimicrobiana dos cloridratos mesoiônicos.....	92
Tabela 5.20: Atividade Moduladora do cloridrato mesoiônico	
MI-03-CL.....	92

Lista de esquemas

Esquema 3.1: Reação de ciclodesidratação de N-nitroso-N-fenilglicina com anidrido acético.....	7
Esquema 3.2: Representação das estruturas de 1,3-dipolo.....	16
Esquema 3.3: Reação de cicloadição 1,3-dipolar concertada.....	17
Esquema 3.4: Reação de cicloadição 1,3-dipolar não concertada.....	18
Esquema 3.5: Exemplo da reação de cicloadição de nitronas com alquenos.....	19
Esquema 3.6: Reações de cicloadição 1,3-dipolar de tioisomunchnona com dipolarófilos quirais.....	20
Esquema 3.7: Reação envolvendo 1-carboxietoxi-2-nitro-indol com 3-benzil-2-metil-4-fenil-1,3-oxazólio-5-olato.....	20
Esquema 3.8: Reação das sidnonas (1,3-dipolo) com acetilenos (dipolarófilos).....	21
Esquema 3.9: Reação de tioisomunchnona com aril isotiocianato.....	22
Esquema 3.10: Síntese de derivados imidazol-sidnonil a partir da sidnona.....	23
Esquema 5.1: Mecanismo proposto para a formação de acetal catalizada com ácido.....	59
Esquema 5.2: Rota sintética para a obtenção do 2,2-dimetil-1,3 dioxalano-4-carboxilato de potássio a partir de triglicerídeos (óleos vegetais).....	59
Esquema 5.3: Mecanismo da reação entre fenil-hidrazina e isotiocianato de fenila.....	62
Esquema 5.4: Mecanismo da reação de um ácido com cloreto de tionila.....	66
Esquema 5.5: Metodologia para a obtenção de cloretos de ácidos.....	68
Esquema 5.6: Reação entre cloretos de aroílas e 1,4-difeniltiosemicarbazida.....	69
Esquema 5.7: Modificação estrutural dos compostos MI-01-CL e MI-07-CL.....	71
Esquema 5.8: Mecanismo proposto para a obtenção de cloridratos mesoiônicos do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato.....	72
Esquema 5.9: Mecanismo proposto para a obtenção de cloridratos mesoiônicos do sistema 1,3,4-triazólio-2-fenilaminida.....	73

Lista de Espectros

Espectro 8.1: Espectro de IV de MI-01-CL em KBr.....	111
Espectro 8.2: Espectro de RMN ¹³ C de MI-01-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	111
Espectro 8.3: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-01-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 135 a 112 ppm.....	112
Espectro 8.4: Espectro de RMN ¹ H de MI-01-CL (DMSO-d ₆ , 200MHz).....	112
Espectro 8.5: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-01-CL (DMSO-d ₆ , 200MHz).....	113
Espectro 8.6: Espectro de IV de MI-02-CL em KBr.....	113
Espectro 8.7: Espectro de RMN ¹³ C de MI-02-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	114
Espectro 8.8: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-02-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 136 a 114 ppm.....	114
Espectro 8.9: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-02-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 173 a 116 ppm.....	115
Espectro 8.10: Espectro de RMN ¹ H de MI-02-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	115
Espectro 8.11: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-02-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz) na região de 8,2 a 6,7 ppm.....	116
Espectro 8.12: Espectro de IV de MI-03-CL em KBr.....	116
Espectro 8.13: Espectro de RMN ¹³ C de MI-03-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	117
Espectro 8.14: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-03-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 134 a 104 ppm.....	117
Espectro 8.15: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-03-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 174 a 133 ppm.....	118
Espectro 8.16: Espectro de RMN ¹ H de MI-03-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	118
Espectro 8.17: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-03-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz) na região de 8,1 a 5,8 ppm.....	119
Espectro 8.18: Espectro de IV de MI-04-CL em KBr.....	119

Espectro 8.19: Espectro de RMN ¹³ C de MI-04-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	120
Espectro 8.20: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-04-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 135 a 117 ppm.....	120
Espectro 8.21: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-04-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 184 a 116 ppm.....	121
Espectro 8.22: Espectro de RMN ¹ H de MI-04-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	121
Espectro 8.23: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-04-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz) na região de 8,5 a 6,3 ppm.....	122
Espectro 8.24: Espectro de IV de MI-05-CL em KBr.....	122
Espectro 8.25: Espectro de RMN ¹³ C de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	123
Espectro 8.26: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 174 a 115 ppm.....	123
Espectro 8.27: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 133 a 116 ppm.....	124
Espectro 8.28: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 133 a 114 ppm.....	124
Espectro 8.29: Espectro de RMN ¹ H de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	125
Espectro 8.30: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-05-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz) na região de 8,5 a 6,6 ppm.....	125
Espectro 8.31: Espectro de IV de MI-07-CL em KBr.....	126
Espectro 8.32: Espectro de RMN ¹³ C de MI-07-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	126
Espectro 8.33: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de MI-07-CL (DMSO-d ₆ , 50 MHz) na região de 162 a 118 ppm.....	127
Espectro 8.34: Espectro de RMN ¹ H de MI-07-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	127
Espectro 8.35: Expansão do espectro de RMN ¹ H de MI-07-CL (DMSO-d ₆ , 200 MHz) na região de 8,3 a 6,8 ppm.....	128

Lista de Abreviaturas

Ar	-----	Arila
BB	-----	Broad band (banda larga)
CIM	-----	Concentração inibitória mínima
d	-----	Dubleto
dd	-----	Duplo dubleto
Dt	-----	Duplo tripleto
DCM	-----	Diclorometano
DMF	-----	Dimetilformamida
DMSO	-----	Dimetilsufóxido
DPCA	-----	Reações de cicloadição 1,3-dipolar
FEN	-----	Fenilefrina
HI	-----	Halo de inibição
HOMO	-----	Higest occupied molecular orbital
IV	-----	Espectroscopia de infravermelho
J	-----	Constante de acoplamento (em Hertz)
LUMO	-----	Lowest unoccupied molecular orbital
MI	-----	Mesoiônico
mmol	-----	Millimol
NOESY	-----	Nuclear Overhauser Experiment Spectroscopy
q	-----	Quarteto
RMN	-----	Ressonância magnética nuclear
s	-----	Singleto
sl	-----	Singleto largo
t	-----	Tripleto
δ	-----	Deslocamento químico em parte por milhão – (ppm)

Sumário

Capítulo 1 – Introdução

1.0-Introdução.....	2
---------------------	---

Capítulo 2 - Objetivos

2.1- Objetivo geral.....	5
--------------------------	---

2.2-Objetivos específicos	5
---------------------------------	---

Capítulo 3-Fundamentação teórica

3.1-Primeiros compostos heterocíclicos mesoiônicos.....	7
---	---

3.2-Definição de compostos mesoiônicos.....	7
---	---

3.3-Representação dos compostos mesoiônicos.....	9
--	---

3.4-Classificação dos compostos mesoiônicos.....	13
--	----

3.5-Importância química dos compostos mesoiônico.....	14
---	----

3.5.1 - Reação de cicloadição 1,3-dipolar de compostos mesoiônicos.....	15
---	----

3.5.2 - Regioseletividade nas reações de cicloadição 1, 3-dipolar de compostos mesoiônicos.....	17
---	----

3.6 - Importância farmacológica dos compostos mesoiônicos.....	22
--	----

3.7 - Nomenclatura de Compostos Mesoiônicos.....	29
--	----

3.8 - Definição de Química Medicinal.....	30
---	----

3.8.1 - Química Medicinal e a descoberta de Fármacos.....	31
---	----

Capítulo 4- Metodologia

4.1- Instrumentos.....	37
------------------------	----

4.2- Materiais.....	37
---------------------	----

4.3-Síntese e caracterização dos compostos intermediários.....	38
--	----

4.3.1- Preparação do 1,4-difeniltiosemicarbazida.....	38
---	----

4.3.2- Preparação do (±)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano -4-metanol.....	39
--	----

4.3.3- Preparação do (+)- 2,2-dimetil-1,3-dioxalano - 4-carboxilato de potássio.....	39
--	----

4.3.4- Preparação do tetrahidrofurano-2-carboxilato de potássio.....	40
4.3.5- Preparação do ácido tereftálico.....	41
4.3.6- Preparação do ácido acétil salicílico (AAS).....	42
4.3.7- Preparação do cloreto do ácido acétil salicílico.....	42
4.3.8- Preparação do dicloreto de tereftaloíla.....	43
4.3.9- Preparação do cloreto de (\pm)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carbonil.....	44
4.4.0- Preparação do cloreto de (\pm) tetrahidrofurano-2-carbonila.....	44
4.4.1- Preparação do cloreto de 5-nitro-2-furoíla.....	45
 4.5-Síntese dos cloridratos mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,3,4-tiadiazólio-2- fenilaminida.....	 45
4.5.1- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4-trifluormetil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-01-CL).....	46
4.5.2- Síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(2-acetil-fenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-02-CL).....	47
4.5.3- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-03-CL).....	48
4.5.4- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-(N-fenil-benzamida) (MI-04-CL).....	48
4.5.5- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4-trifluormetil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-(1,3-difenil-tiouréia) (MI-05-CL).....	49
4.5.6- Síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(4-(1,4-difenil-2-tiol-1,3,4-triazólio)fenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-06-CL).....	50
4.5.7- Síntese do cloridrato mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-07-CL).....	51

4.5.8- Tentativa de síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(2,2-dimetil-1,3-dioxalano)- 1,3,4-triazólio-2-tiol.....	51
4.5.9- Tentativa de síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(tetrahidrofurano)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-10-CL).....	52
4.6-Estudos biológicos	52
4.6.1-Atividade antifúngica.....	52
4.6.1-Substâncias testadas.....	53
4.6.1-Microrganismos testados.....	53
4.6.1-Ensaio de atividade antifúngica (metodologia).....	54

Capítulo 5 - Resultados e Discussão

5.1- Obtenção dos compostos intermediários	56
5.1.1 - Obtenção do (\pm)-tetrahidrofurano-2-carboxilato de potássio.....	56
5.1.2 - Obtenção do (+)- 2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carboxilato de potássio.....	58
5.1.3 - Síntese da 1,4-difeniltiosemicarbazida.....	61
5.1.4 - Obtenção do ácido tereftálico.....	63
5.1.5 - Obtenção do ácido acetilsalicílico.....	64
5.1.6 - Obtenção dos cloretos de ácidos.....	65
5.2-Metodologia Geral para a preparação dos derivados mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolato.....	68
5.3- Caracterização dos cloridratos mesoiônicos sintetizados por RMN de ^1H e ^{13}C e IV.....	73
5.3.1- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-01-CL.....	76
5.3.2- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-02-CL.....	79
5.3.3- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-03-CL.....	81
5.3.4- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-04-CL.....	82
5.3.5- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-05-CL.....	84
5.3.6- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-07-CL.....	87

5.4-Discussão dos estudos biológicos.....	88
5.4.1-Atividade antifúngica dos cloridratos mesoiônicos.....	89
5.4.2-Atividade antibacteriana dos cloridratos	
MI-02-CL e MI-03- CL.....	91
Capítulo 6 - Conclusões e Perspectivas	
6.1- Conclusões.....	95
6.2-Perspectivas.....	96
Capítulo 7 - Referências Bibliográficas	
7.0 – Referências Bibliográficas.....	98
Capítulo 8- Anexos	
8.0- Espectros.....	111

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1.0- Introdução

A introdução dos antibióticos na quimioterapia revolucionou o tratamento das infecções bacterianas ocasionando a redução da mortalidade causada por doenças microbianas. Por muitos anos os antibióticos apresentaram efeito no tratamento de muitas infecções causadas por patógenos, como *staphylococcus aureus*. Contudo, a resistência bacteriana a diversos antibióticos vem aumentando consideravelmente nos últimos anos.

O aparecimento da resistência aos antibióticos tem minado o valor terapêutico dos agentes antimicrobianos existentes, criando a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos com maiores capacidades de superar a resistências das bactérias às drogas utilizadas atualmente, sejam estas de origem natural, semi-sintética ou sintética. Os inibidores de resistência, também chamados de modificadores de atividade antibiótica ou adjuvantes de antibióticos, são considerados como a alternativa mais apropriada das novas terapias antibacterianas.

Desta forma, os compostos heterocíclicos são alvos sintéticos promissores no desenvolvimento de moléculas com bioatividade sob diversos sistemas biológicos. Sua importância está relacionada à possibilidade da introdução de heteroátomos no anel, o que lhes confere diferentes propriedades químicas e biológicas. Algumas das reações envolvendo compostos heterocíclicos referem-se àquelas fundamentais à manutenção da vida, como a provisão de energia, a transmissão de impulsos nervosos, metabolismo e transferência de informação hereditária (POZHARSKU et al, 1997).

Dentre os compostos heterocíclicos destacam-se por sua possível aplicação terapêutica os compostos mesoiônicos. O potencial valor dos compostos mesoiônicos como substâncias biologicamente ativas

é encontrado no seu caráter betaínico e planar, seu tamanho relativamente pequeno e a variação da densidade eletrônica positiva no anel e densidade de carga negativa que se estende a cadeia lateral exocíclica atribuindo-lhes propriedades anfifílicas (ATHAYDE-FILHO et al, 2000).

Embora as moléculas sejam carregadas internamente e possua alto momento dipolar, elas são globalmente neutras, o que lhes confere a capacidade de atravessar barreiras lipídicas e interagir com macromoléculas. Os compostos mesoiônicos apresentam um amplo espectro de atividades biológicas como, por exemplo: antibacteriana, antitumoral, antifúngica, antimalárica, analgésica, antiinflamatória e anticonvulsivante. (KIER e ROCHE, 1967). Portanto, os compostos mesoiônicos podem ser utilizados como adjuvantes de antibióticos, combatendo as infecções bacterianas resistentes a múltiplas drogas.

CAPÍTULO 2
OBJETIVOS

2.0 - Objetivos

2.1-Objetivo Geral

Os estudos desenvolvidos neste trabalho tiveram como finalidade a obtenção de novos compostos heterocíclicos mesoiônicos com possíveis potencialidades farmacológicas.

2.2-Objetivos específicos

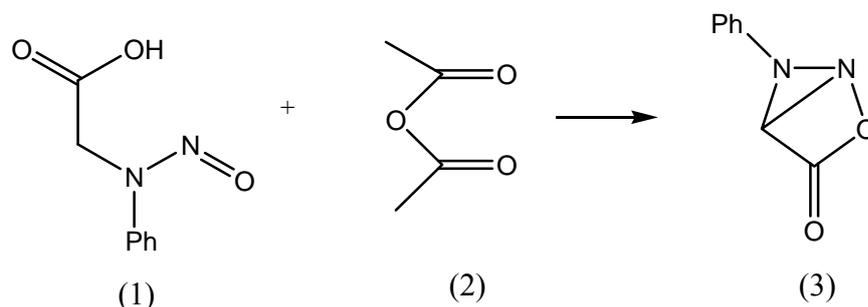
- Usar substratos de fácil obtenção e baixo custo como intermediários úteis para a síntese dos novos compostos mesoiônicos.
- Sintetizar novos compostos mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na forma de ácido conjugado.
- Modificar estruturalmente a cadeia lateral dos compostos mesoiônicos sintetizados.
- Caracterizar os compostos intermediários e produtos finais por meio de técnicas físicas usuais, espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C).
- Realizar um screening farmacológico para avaliar as potencialidades farmacológicas dos novos compostos mesoiônicos sintetizados.

CAPÍTULO 3
FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA

3.0- Fundamentação Teórica

3.1- Primeiros compostos heterocíclicos mesoiônicos

Earl e Mackney observaram que quando a N-nitroso-N-fenil-glicina (1) é dissolvida em anidrido acético (2) Esquema 3.1, ocorre eliminação de água com formação de um composto cristalino relativamente estável que pode ser decomposto com ácidos ou bases sobre aquecimento (EARL e MACKNEY, 1935). Com a determinação do peso molecular por meio de métodos crioscópicos puderam propor a estrutura (3) como sendo o produto provável da reação de ciclodesidratação e atribuíram-lhe o nome de Sidnona, por ter sido sintetizada na Universidade de Sydney, Austrália.



Esquema 3.1: Reação de ciclodesidratação de N-nitroso-N-fenil-glicina com anidrido acético.

3.2 - Definição de compostos mesoiônicos

A estrutura bicíclica (3) proposta inicialmente por Earl e Mackney, em 1935 foi tida como insatisfatória por (BAKER e OLLIS, 1949), uma vez que, β -lactonas são instáveis quando aquecidas e perdem prontamente dióxido de carbono, enquanto que as sidnonas não se decompõem tão facilmente. Uma característica relevante é que se a estrutura (3) fosse de fato a correta para esta classe de compostos, ela deveria existir em uma forma opticamente ativa, uma vez que na estrutura (3) tem-se um

carbono assimétrico o que não é verificado para a sidnona. Portanto, com essas evidências Baker e colaboradores propuseram que as sidnonas não poderiam ser representadas por nenhuma estrutura puramente covalente, logo a melhor maneira de representá-las seria por uma estrutura híbrida de ressonância constituída por diversas formas iônicas dipolares ou quadrupolares. Segundo a concepção de (BAKER et al, 1949) as formas canônicas que mais contribuem para o híbrido de ressonância são as formas representadas pelas as estruturas (4a – 4d) da Figura 3.1.

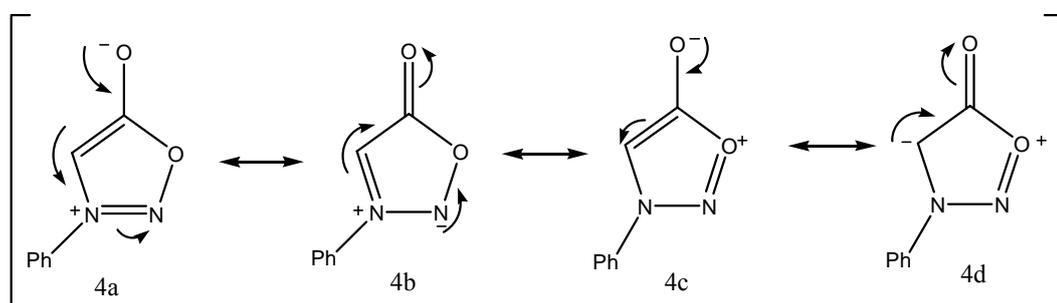


Figura 3.1: Formas canônicas do composto mesoiônico fenil-sidnona sugeridas por (Baker et al em 1949).

Desde a primeira síntese de um composto mesoiônico em 1882 por (FISCHER e BESTHORN, 1882) até a definição atual desta classe de compostos por (OLIVEIRA *et al*, 1996), muitos pesquisadores estudaram esta classe de compostos heterocíclicos com o mesmo objetivo, ou seja, elucidar sua estrutura química correta e suas propriedades químicas e físicas.

Baseando-se nos conhecimentos prévios sobre os compostos mesoiônicos, Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA *et al*, 1996) propuseram a definição atual para esta classe de compostos heterocíclicos como sendo:

- (a) Compostos mesoiônicos são betaínas heterocíclicas planas de cinco membros.
- (b) Que apresentam pelo menos uma cadeia lateral, cujo átomo α também está no mesmo plano do anel.

- (c) São compostos que devem ter momentos de dipolo da ordem de 5D.
- (d) Os elétrons do sistema heterocíclico estão deslocalizados sobre duas regiões separadas por duas ligações essencialmente simples. Uma região, a qual inclui o átomo α da cadeia lateral, está associada com o **HOMO** e uma carga π negativa, enquanto a outra está associada com o **LUMO** e uma carga π positiva. De acordo com esta definição podemos afirmar que compostos mesoiônicos não são aromáticos apesar de serem altamente estabilizados por deslocalização de elétrons e cargas.

3.3-Representação dos compostos mesoiônicos

Os compostos mesoiônicos podem ser representados por diversas maneiras distintas de acordo com a teoria de ressonância. As mais comumente utilizadas estão representadas na Figura 3.2, exemplificadas para o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (FERREIRA, 2006).

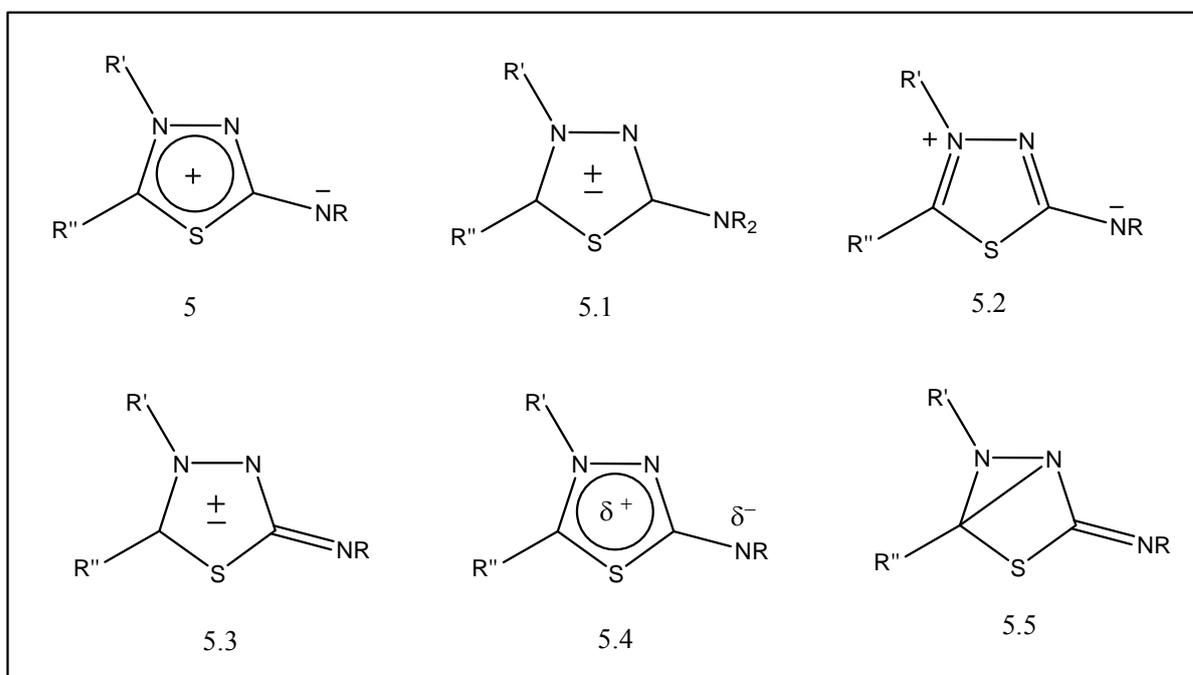


Figura 3.2: Formas de representação do composto mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

Dentre as diversas formas mostradas, a representação (5) foi a mais utilizada nos últimos anos, esta representação transmite-nos uma falsa idéia de que a carga positiva está deslocalizada sobre todos os átomos do anel heterocíclico. A representação (5.5) não é adequada por se tratar de uma molécula bicíclica totalmente covalente que está em contradição com a definição de compostos mesoiônicos. Enquanto que as representações (5.1), (5.3) e (5.4) não tiveram boa aceitação no meio acadêmico. Já a representação (5.2) parece ser adequada por está em concordância com a formação de uma espécie iônica 1,3-dipolar como proposto por (BAKER et al, 1949). Contudo, nenhuma das representações mostradas acima representa adequadamente um composto mesoiônico, uma vez que, elas não estão em concordância com a definição atual dada por (OLIVEIRA et al, 1996).

Estudos teóricos das estruturas eletrônicas de 36 mesoiônicos (6) Figura 3.3, possuindo apenas dois heteroátomos no anel foram feitos por (MOURA, 1996). As estruturas foram otimizadas pelo método semi-empírico AM1 codificado no programa MOPAC-93. Calculou-se que a ligação entre as regiões positiva e negativa correspondem às ligações simples, enquanto que as demais ligações no anel possuem ordem de ligação entre simples e dupla.

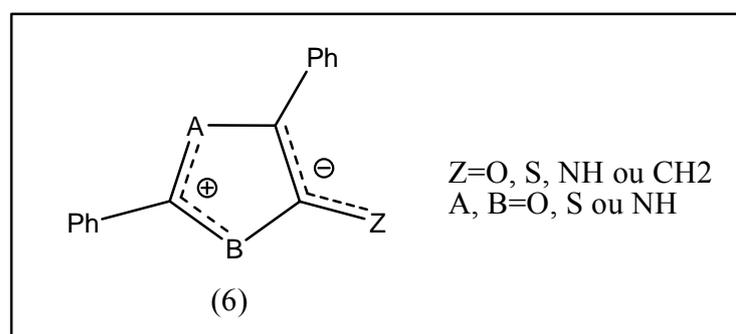


Figura 3.3: Estrutura mesoiônica estudada por Moura.

Em busca de mais informações sobre a estrutura dos compostos mesoiônicos, Cheung e colaboradores através de difração de raios-X e

cálculos teóricos, estudaram o 4-fenil-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (7) e seu cloridrato (8) Figura 3.4.

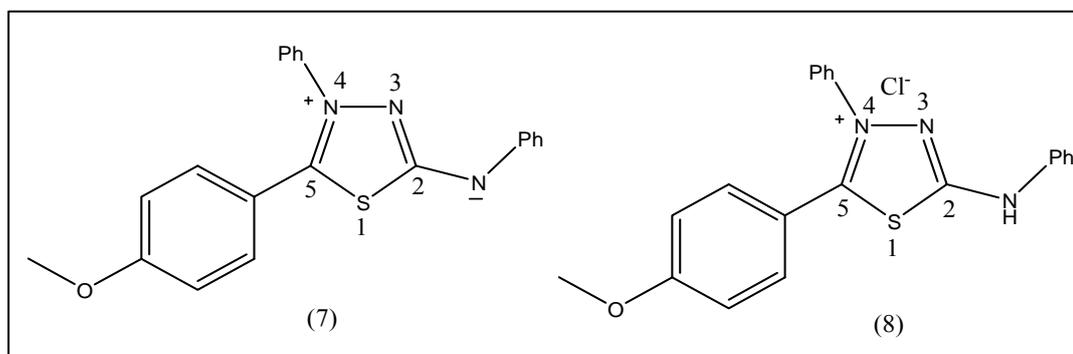


Figura 3.4: Estruturas dos derivados do sistema 1,3,4-tiadiazólio estudados por (CHEUNG *et al*, 1992).

Com os estudos realizados, Cheung e colaboradores concluíram que:

- (i) As ligações N-3/N-4 e S-1/C-2 possuem maior caráter de ligação simples, enquanto que a ligação S-1/C-5 apresenta maior caráter de ligação dupla;
- (ii) A ligação C-2/N-exocíclico têm um substancial caráter de ligação dupla, provavelmente maior na base livre (7), do que no cloridrato (8);
- (iii) As ligações C-5/N-4 e C-2/N-3 possuem caráter de dupla ligação;
- (iv) N-4 possui uma substancial carga positiva, enquanto N-3 tem uma negativa.

Estudos na região de infravermelho e cálculos quânticos realizados com o composto mesoiônico munchnona, pertencente ao sistema 1,3-oxazólio-5-olato, Figura 3.5, revelou que a ligação C–O exocíclico do sistema oxazólio possui um caráter considerável de ligação dupla. Os cálculos de distribuição de cargas formais mostram densidades altas de cargas positivas e negativas em C–2 e C–4, respectivamente, e pequena densidade de carga positiva em N–3.

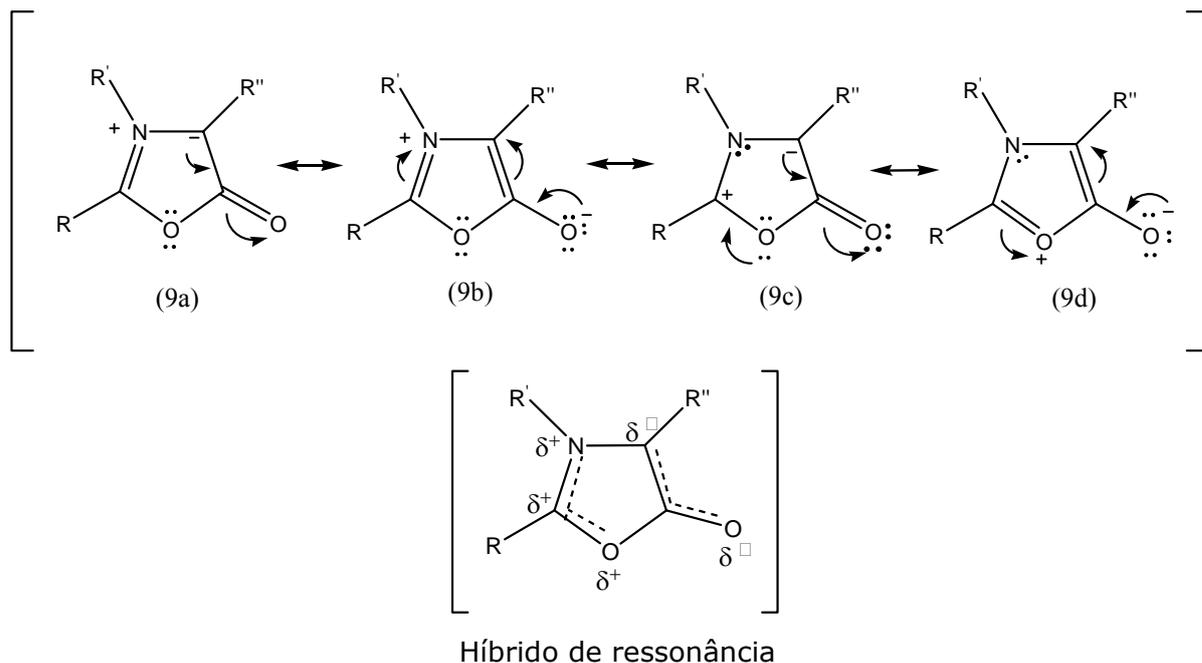


Figura 3.5: Algumas formas canônicas da estrutura da munchnona com seu híbrido de ressonância.

De acordo com essas informações, verifica-se que as estruturas dos anéis mesoiônicos possuem duas regiões com cargas distintas separadas por ligações simples, que no caso das münchnonas (9) são as ligações entre O–1 e C–5 e entre N–3 e C–4. Com isso fica claro que a melhor representação para os compostos mesoiônicos é a estrutura (10) Figura 3.6 que é característico das betaínas heterocíclicas, onde os elétrons deslocalizados estão separados em duas regiões distintas, onde o LUMO é o orbital molecular desocupado de energia mais baixa e o HOMO é o orbital molecular de energia mais alta (LIRA, 2004).

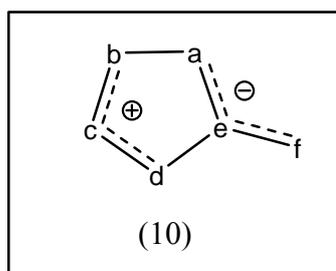


Figura 3.6. Representação genérica para compostos mesoiônicos.

Na Figura 3.7 está representada a estrutura química genérica de um composto mesoiônico onde **a**, **b**, **c**, **d**, **e** e **f** podem ser: carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre com seus respectivos substituintes. Nesta dissertação utilizaremos tanto a representação 10 como a representação 11.

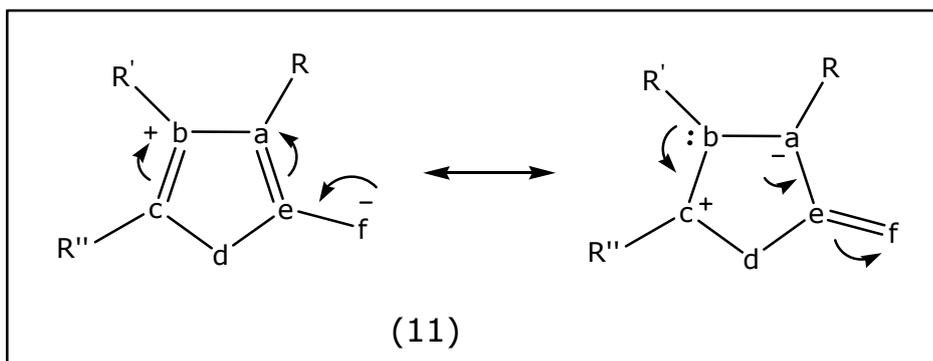


Figura 3.7: Representação genérica do anel mesoiônico na forma de dipolo.

3.4- Classificação dos compostos mesoiônicos.

Segundo o grupo de (NEWTON e RANSDEN, 1982) os compostos mesoiônicos estão classificados em dois grupos: tipo A e tipo B, que estão em conformidade com a proposta mais recente para a representação de compostos mesoiônicos, os quais são representados por:

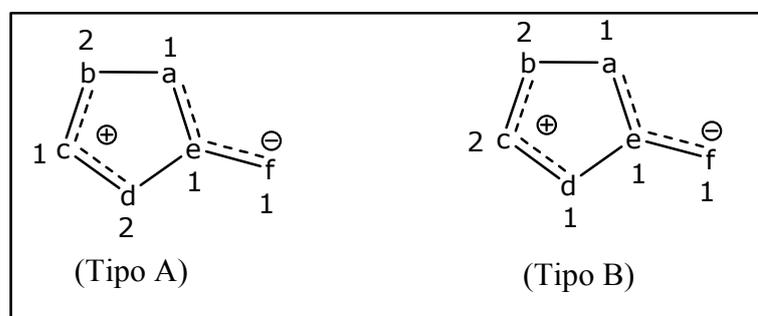


Figura 3.8: Representação genérica dos mesoiônicos dos tipos A e B.

Nestas representações, **a**, **b**, **c**, **d**, **e** e **f** podem ser átomos de **C**, **N**, **O**, **S** ou **Se**. 1, 2 representam o número de elétrons π ou p que cada átomo contribui, num total de 8 deslocalizados nas duas regiões do sistema. Na Figura 3.9, estão demonstradas as fórmulas genéricas e exemplos das duas classes (A e B).

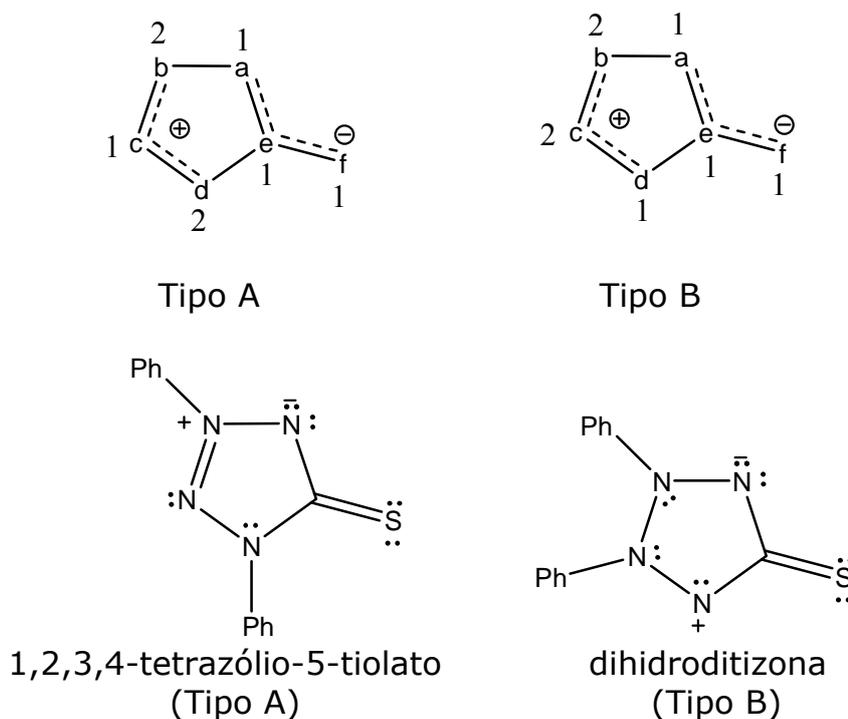


Figura 3.9: Representação e exemplos de compostos mesoiônicos dos tipos A e B.

3.5-Importância química dos compostos mesoiônicos

Mesmo os compostos mesoiônicos tendo regiões de carga positiva e negativas bem separadas, associadas com um sistema poliheteroatômico eles são totalmente neutros o que os possibilita a interagir com membranas biológicas (FERREIA *et al*, 2008).

Devido às suas características estruturais especiais os compostos mesoiônicos, nos últimos anos, têm sido alvo de inúmeros estudos em diversas áreas, podendo-se destacar as pesquisas na área de cristais líquidos, na confecção de materiais com propriedades óticas não-lineares,

na síntese de corantes e, sobretudo nas pesquisas em função de suas atividades biológicas bastante diversificadas (SENFF-RIBEIRO *et al*, 2004a, 2004b).

Estes compostos podem exibir grandes momentos de dipolo e susceptibilidades ópticas são muitos atrativos e de considerável interesse como sistemas não-lineares de segunda e terceira ordem. A manipulação sintética destes heteroaromáticos está invariavelmente associada com suas características dipolares nas reações de cicloadição que é um fato sucessivamente explorado na química de produtos naturais e na construção de outros anéis de cinco e seis membros (PADWA *et al*, 1982 e PILLA *et al*, 2006).

Com o exposto acima, pode-se dizer que a particularidade mais importante dos compostos mesoiônicos resulta do fato que eles podem ser usados como fonte de partida para a síntese de muitas moléculas de interesse biológico através de suas propriedades químicas (como a reação de cicloadição 1,3-dipolar) e físicas (como alto valor de momento de dipolo que apresentam) importantes.

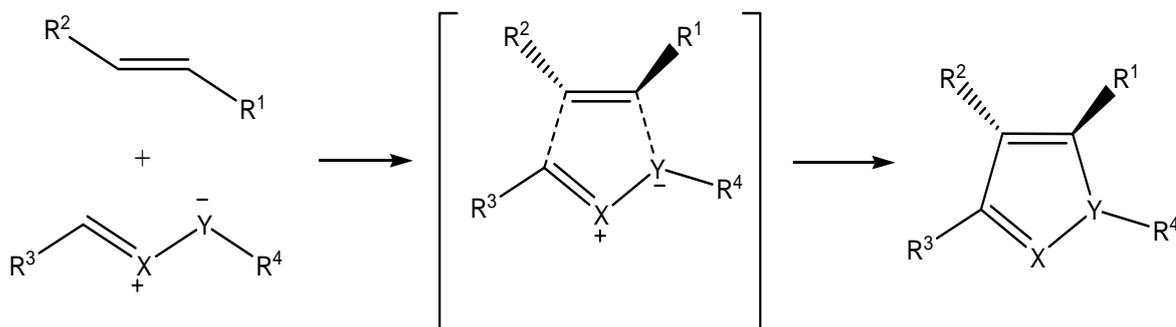
3.5.1- Reação de cicloadição 1,3-dipolar de compostos mesoiônicos

O campo das reações de cicloadição é uma área crescente e fértil na qual todos os químicos orgânicos parecem ter um interesse particular. Uma grande fração da revisão da literatura da química orgânica é, portanto, desenvolvida aos aspectos sintéticos e mecanísticos das reações de cicloadição.

Este tipo de reações 1,3-dipolar é usado para a preparação de moléculas de fundamental importância, tanto para a academia quanto para a indústria. Verifica-se que nos anos recentes a reação de cicloadição 1,3-dipolar tornou-se uma das ferramentas mais poderosas para a construção de heterocíclicos de cinco membros enantiomericamente

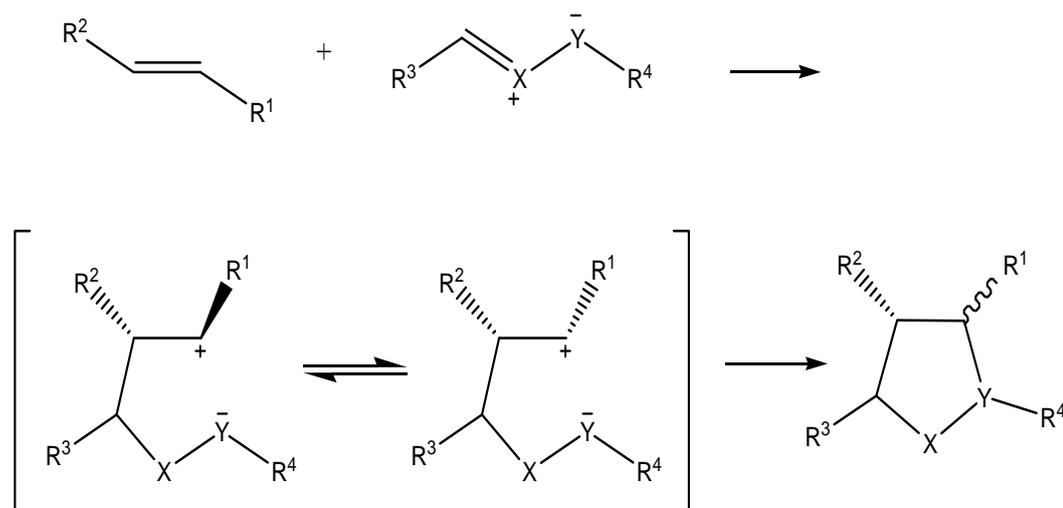
puras. A síntese de compostos quirais é uma importante e desafiante área da química orgânica sintética (PELLISSIER, 2007).

As reações de cicloadição consistem da reação de um dipolarófilo com um composto que tem a forma de 1,3-dipolo permitindo a formação de vários heterocíclicos de cinco membros. Esta reação representa um dos campos mais produtivos da química orgânica sintética (PELLISSIER, 2007). A maioria dos dipolarófilos são alquenos, alquinos e moléculas possuindo grupos funcionais heteroatômicos relacionados, tais como: carbonilas e nitrilas. Neste tipo de reação, dois elétrons π do dipolarófilo e quatro elétrons do composto dipolar participam em uma substituição pericíclica concertada. A adição é estereoconservativa (suprafacial), portanto, a reação é uma cicloadição do tipo ($2_s + 4_s$). Veja o Esquema 3.2.



Esquema 3.2: Reação de cicloadição 1,3-dipolar concertada.

Em alguns casos, quando o dipolo é estabilizado através de ressonância por um heteroátomo central adjacente (nitrogênio, oxigênio ou enxofre) pode também ocorrer uma reação não concertada como mostrado no Esquema 3.3 abaixo.



Esquema 3.3: Reação de cicloadição 1,3-dipolar não concertada.

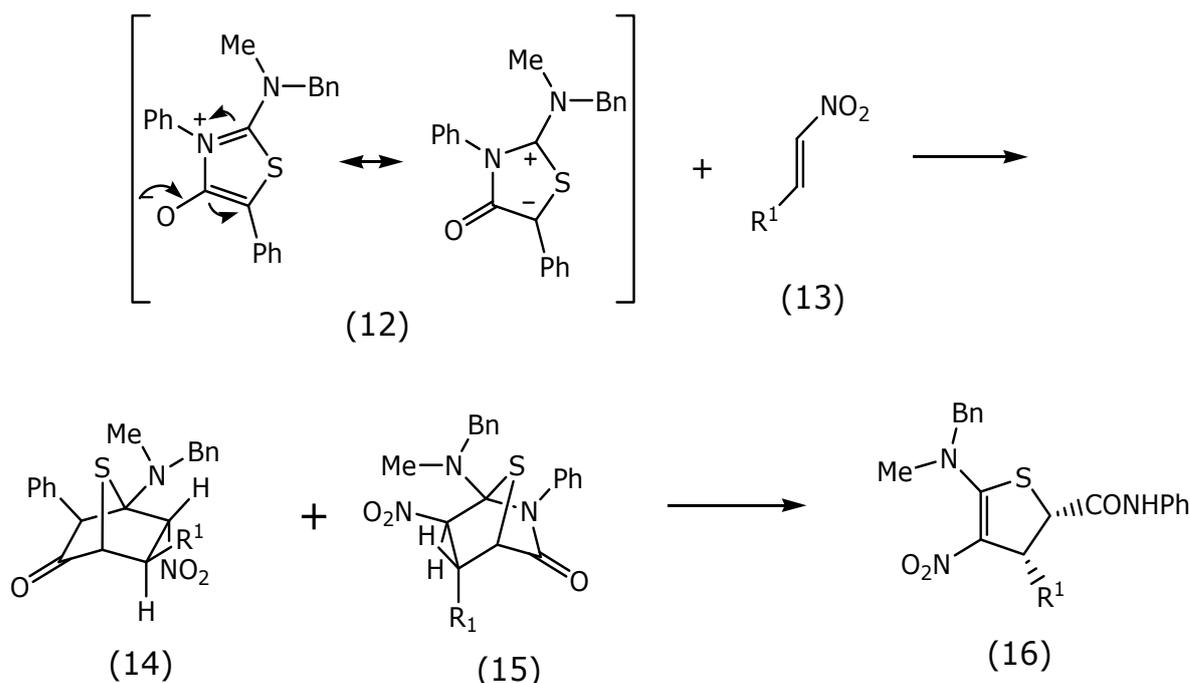
O estado de transição das reações de cicloadição 1,3-dipolar concertada é controlado pelos orbitais moleculares de fronteira dos substratos. As interações mais favoráveis são aquelas em que as interações entre os orbitais de fronteira do 1,3-dipolo e do dipolarófilo são mais intensas (tem um menor gap). Logo, a reação de dipolos com dipolarófilos envolve a interação do LUMO-dipolo/HOMO-dipolarófilo ou a interação HOMO-dipolo/LUMO-dipolarófilo dependendo da natureza do dipolo e do dipolarófilo (PELLISSIER, 2007). Contudo, a maioria das reações 1,3-DPCA envolve o orbital de mais baixa energia (LUMO) do dipolarófilo com o orbital de mais alta energia (HOMO) do 1,3-dipolo.

3.5.2 - Regioseletividade nas reações de cicloadição 1, 3-dipolar de compostos mesoiônicos.

As reações de cicloadição [3+2] envolvendo os compostos mesoiônicos ganharam importância na síntese de compostos heterocíclicos devido sua importância sintética e teórica. O grande desafio nos dias de hoje é o controle da régio, diastéreo e enantioseletividade destas reações (PADWA e PREIN, 1997). O controle da estereoquímica neste tipo de

reação é geralmente assegurado fazendo uso de dipolarófilos ou dipolos quirais.

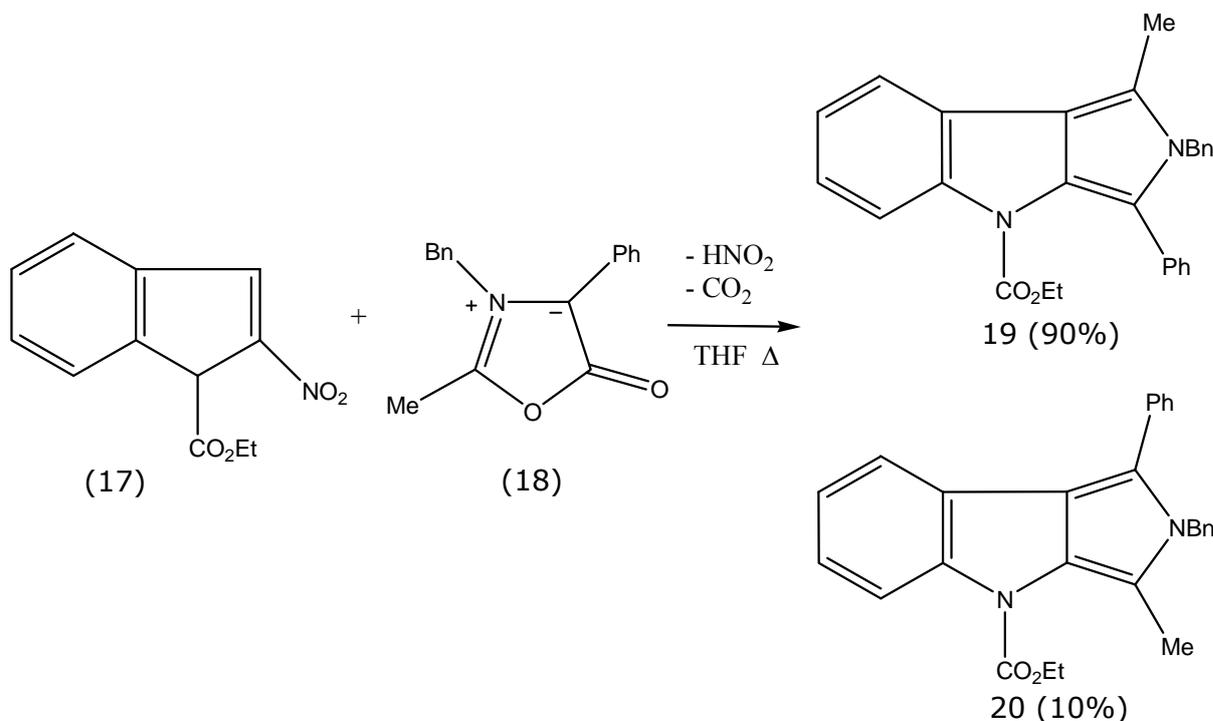
Na estrutura dos compostos mesoiônicos, observa-se um tipo especial de 1,3-dipolo "mascarado" (masked), capacitando-os a sofrer reações de cicloadição com uma variedade de dipolarófilos. (AVALOS *et al*, 2006 e ARECES *et al*, 1993) estudaram as reações de cicloadição 1,3-dipolar de compostos mesoiônicos tais como tioisomunchnona (12) com o nitro alqueno quiral (13), a reação procede em diclorometano a temperatura ambiente para fornecer somente dois produtos (14) e (15). Os produtos (14) e (15) são relativamente instáveis e sofrem rearranjo para fornecer o produto final (16), Esquema 3.4.



Esquema 3.4: Reações de cicloadição 1,3-dipolar de tioisomunchnona com dipolarófilos quirais.

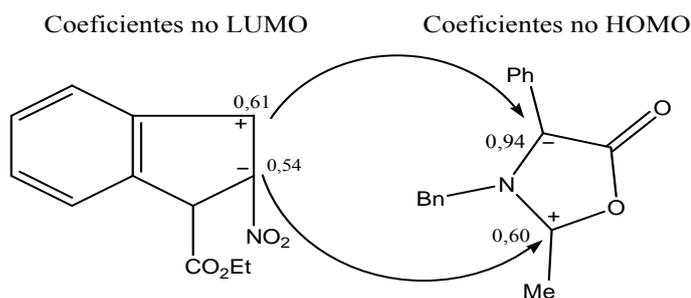
A análise da regioseletividade das reações 1,3-DPCA pela teoria do orbital molecular de fronteira (FMO) requer informações sobre a energia e os coeficientes atômicos dos orbitais de fronteira do 1,3-dipolo e do dipolarófilo. As reações de ciclo-adição 1,3-dipolar envolvendo compostos mesoiônicos podem ser altamente regioseletivas, (GRIBBLE *et al*, 2000)

realizaram diversas reações envolvendo 2-nitro-indol (17) com munchnonas não simétricas (18), as quais são altamente regioseletivas fornecendo pirrolindois (19) e (20) como sólidos cristalinos razoavelmente estáveis, respectivamente Esquema 3.5.



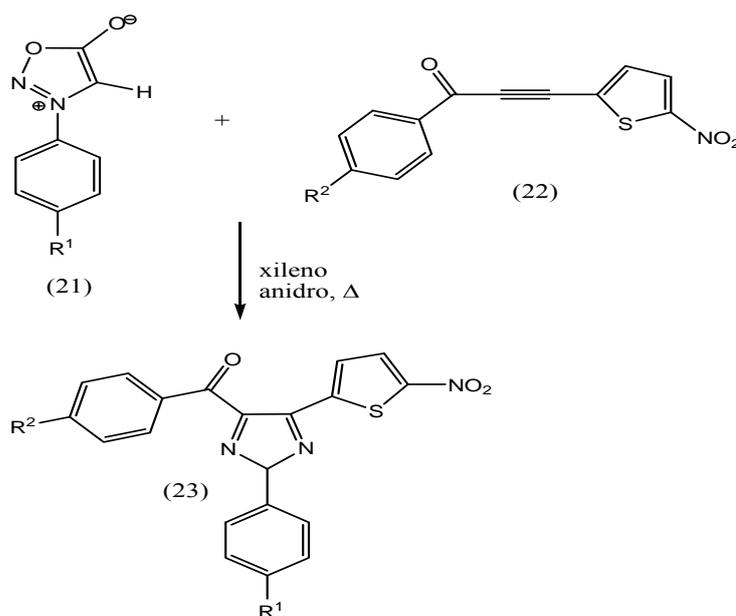
Esquema 3.5: Reação envolvendo 1-carboxietoxi-2-nitro-indol com 3-benzil-2-metil-4-fenil-1,3-oxazólio-5-olato.

Nas reações do Esquema 3.5 a regioseletividade esperada de acordo com a teoria orbital molecular de fronteira (FMO) não foi observada, de acordo com os cálculos semi-empíricos AM1(Spartan) realizados por (GRIBBLE *et al*, 2000), a melhor interação orbitalar entre os reagentes é a interação envolvendo o HOMO da munchnona (18) com o LUMO do nitroindol (17), ou seja, deveríamos esperar como produto majoritário o composto (20) colocando o grupo metil do mesmo lado do grupo carboxi-etóxi de acordo com a representação do Esquema 3.6. Uma possível explicação para este resultado anti-FMO é que os fatores que governam a regioquímica provavelmente refletem uma combinação de interações eletrônicas, estéricas e possivelmente interações dipolares.



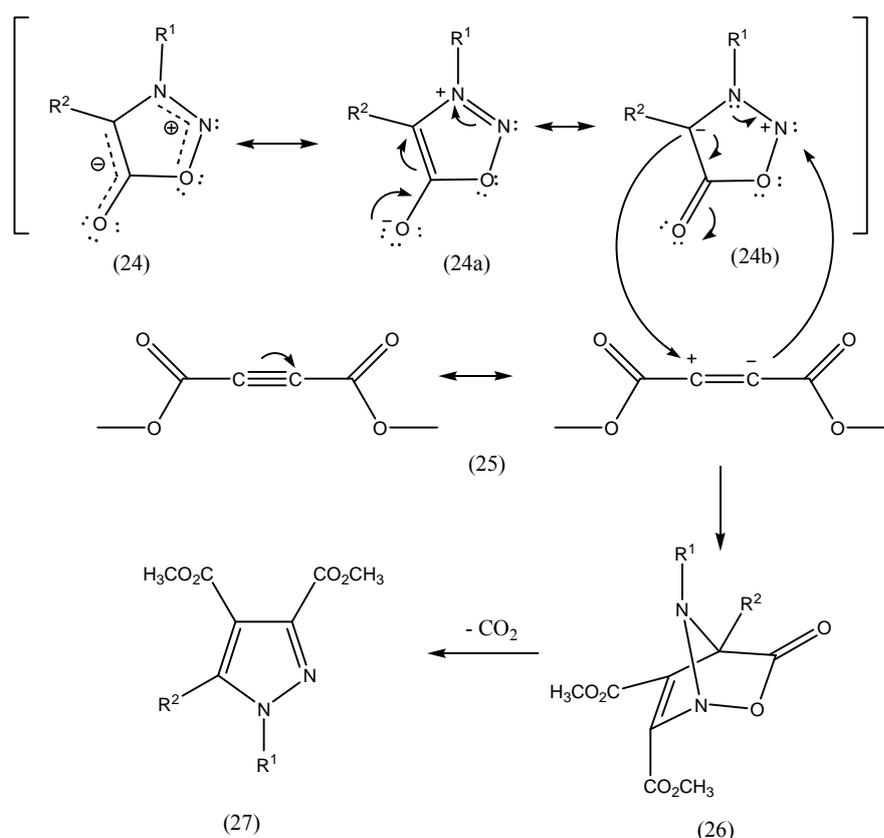
Esquema 3.6: Interação orbital entre o nitro-indol e a munchnona

Os compostos mesoiônicos do sistema 1,2,3-oxadiazol-5-olato (sidnonas) são compostos facilmente acessíveis e intermediários sintéticos versáteis que contem um dipolo do tipo azometina-imina mascarado. A reação de cicloadição 1,3-dipolar de sidnonas com vários dipolarífilos oferece uma rota sintética conveniente para a preparação de derivados de pirazóis. (SATHEESHA RAI *et al*, 2008), sintetizaram vários derivados de pirazóis nomeados de 1-aryl-3-(5-nitro-2-tienil)-4-aroil (23), os quais apresentaram excelentes atividades antimicrobiana apartir da reação de cicloadição 1,3-dipolar de 3-aryl-sidnona (21) com acetileno cetona (22), Esquema 3.7.



Esquema 3.7: Reação de cicloadição 1,3-dipolar de 3-aryl-sidnona (21) com acetileno cetona (22).

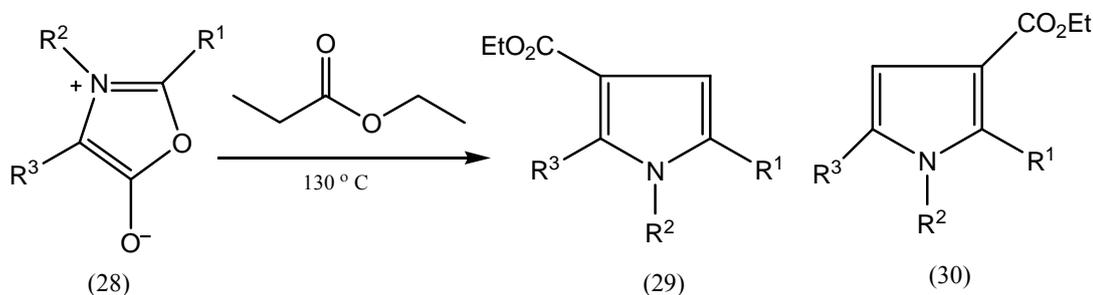
A principal característica dos compostos mesoiônicos do tipo A é a possibilidade deles participarem de reações de cicloadição e cicloneversão 1,3-dipolar. As sidnonas (24), por exemplo, sofrem cicloadição com acetilenos (25) para formar pirazolas (27) em alto rendimento Esquema 3.8. A reação envolve uma cicloadição 1,3-dipolar das sidnonas comportando-se como azometina-imina cíclica formando um intermediário bicíclico (26) que prontamente perde dióxido de carbono (PADWA *et al*, 1982).



Esquema 3.8: Reação das sidnonas (1,3-dipolo) com acetilenos (dipolarófilos).

O composto mesoiônico munchnona (28a) na presença de propanoato de etila a 130 °C, fornece uma mistura de 9:1 dos pirróis (29) e (30) respectivamente, enquanto que a reação da munchnona (28b) e (28c) com propanoato de etila não foi regioespecífica, fornecendo uma mistura de 1:1 dos compostos (29) e (30). Estes resultados mostram que a regioseletividade associada á reação de cicloadição das munchnonas é

marcadamente dependente da natureza dos grupos substituintes ligados ao anel heterocíclico, Esquema 3.9.



28a; R¹= Me, R²= Ph e R³= H 28b; R¹= R²= Me e R³= Ph 28c; R¹= R²= Me e R³= Bn

Esquema 3.9: Reação de cicloadição de munchnonas com propanoato de etila.

3.6-Importância farmacológica dos compostos mesoiônicos

Os compostos mesoiônicos do sistema 1,2,3-oxadiazólio-5-olato (sidnonas) foram os compostos mesoiônicos mais extensivamente estudados e caracterizados quimicamente e são mundialmente conhecidos em virtude de suas diversas atividades farmacológicas, tais como: antimicrobiana e antiinflamatória incluindo também propriedades analgésicas e antipiréticas. A atividade psicoestimulante e antidepressiva foi verificada pelo cloridrato do mesoiônico 3-(fenilisopropil)-1,2,3-oxadiazólio-5-imideto muito utilizado na prática psiquiátrica sob o nome sydnophen (31, Figura 3.10), enquanto que o mesoiônico 3-(fenilisopropil)-N(6)-fenilcarbamoil-1,2,3-oxadiazólio-5-imideto provou ser um fármaco de grande utilidade sob o nome de sydnocarb (32, Figura 3.10) no tratamento de várias doenças mentais, com muitas vantagens em relação aos produtos de ação similar.

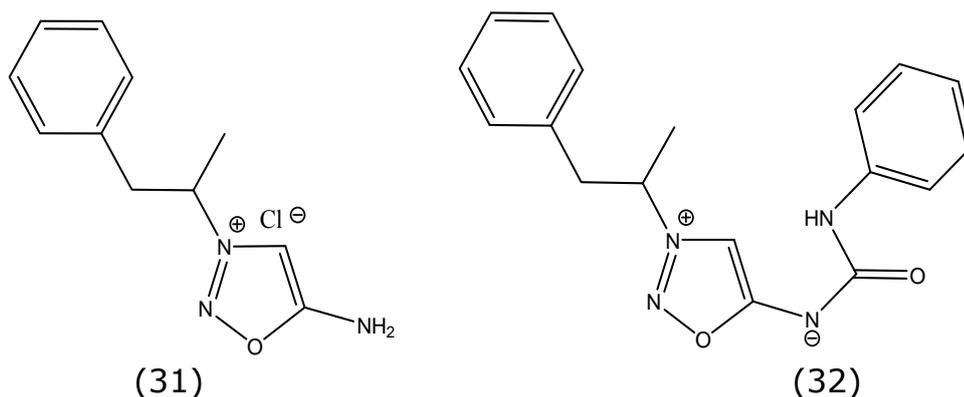
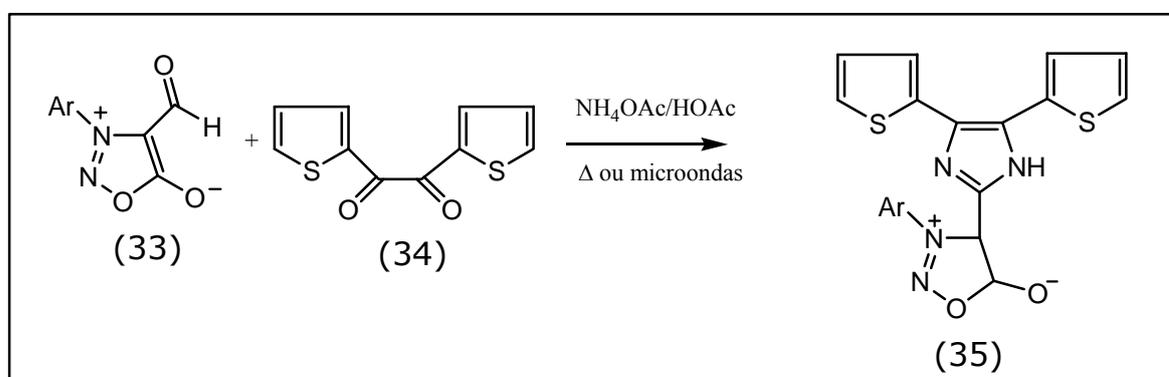


Figura 3.10: derivados da sidnona com importantes atividades biológicas.

As sidnonas também são importantes como precursoras de muitas moléculas bioativas, Shih e colaboradores mostraram que a partir das sidnonas, podem-se obter vários compostos imidazol-sidnonil substituídos, os compostos que apresentam o sistema imidazol são de grande interesse por causa de suas características químicas e bioquímicas (SHIH *et al*, 2007).

Estes compostos têm numerosas propriedades farmacológicas e tomam um papel importante nos processos biológicos. Os derivados imidazol-sidnonil (35) podem ser obtidos diretamente da reação envolvendo a sidnona (33) com 1,2-dicetonas (34) sobre aquecimento convencional ou sobre irradiação eletromagnética em microondas, conforme o Esquema 3.10.



Esquema 3.10: Síntese de derivados imidazol-sidnonil a partir da sidnona.

Os compostos mesoiônicos da classe 4-fenil-1,3,4-tiadiazólio-2-tiolato 5-substituídos (36, Figura 3.11), foram testados por (KIER e ROCHE, 1967) em *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*, sendo que os compostos com os substituintes metil, etil, isopropil e propila, mostraram-se mais ativos.

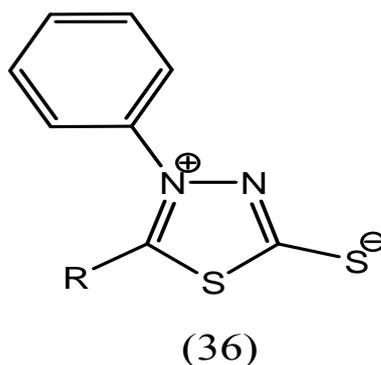


Figura 3.11: Fórmula estrutural do composto mesoiônico 3-fenil-1,3,4-tiadiazólio-5-R-2-tiolato.

Senff-Ribeiro e colaboradores, estudaram a atividade antimelanona de linhagem humana e a relação estrutura-atividade dos cloridratos dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio mostraram excelentes resultados para o derivado (37, Figura 3.12), (SEFFF-RIBEIRO *et al*, 2004a, 2004b)

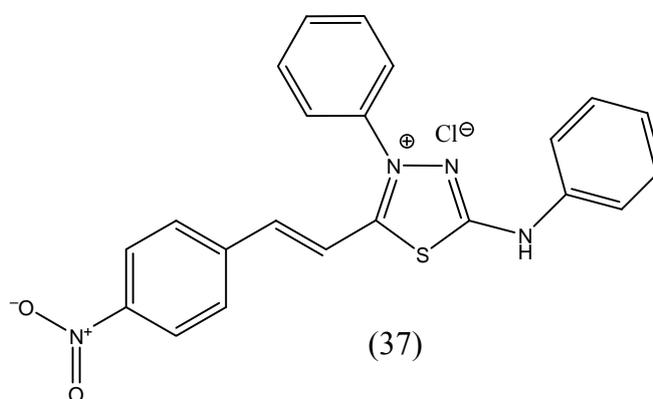


Figura 3.12: Cloridrato mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio com atividade antimelanona.

Rodrigues e colaboradores relataram os efeitos de quatorze sais de compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (38) Figura 3.13, sobre três espécies de *leishmania*, os quais exibiram atividades em relação ao medicamento padrão pentamidina tendo um ED₅₀ de 23,64, 64,18 e 27,50μM, respectivamente para a *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. chagasi* (RODRIGUES et al, 2007).

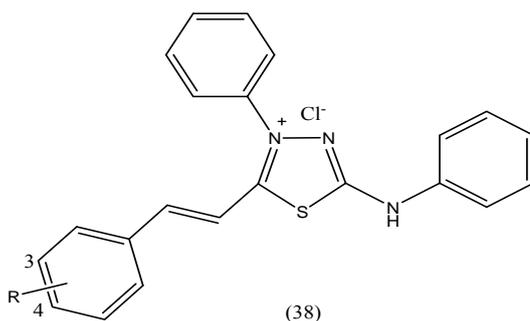


Figura 3.13: Estrutura química dos derivados mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

A atividade biológica foi diretamente influenciada pelo tipo de grupo ligado nas posições 3 e 4 do núcleo 5-cinamoil-1,3,4-tiadiazólio. Os compostos que apresentaram as melhores atividades foram os derivados 5, 6 e 13 (4-F, 4-Cl e 3-Cl). Os resultados estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Valores de ED₅₀ de compostos mesoiônicos sobre promastigotos de *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. chagasi* e macrófagos murina.

Compound	4-R	3-R	^a ED ₅₀ (μM)			TD ₅₀ (μM) toxicity
			<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. chagasi</i>	
1	H	H	0.46	49.61	22.76	3.06
2	CH ₃	H	0.98	20.74	31.11	4.94
3	OCH ₃	H	0.17	46.20	8.31	1.13
4	NO ₂	H	1.0	70.77	22.83	5.49
5	F	H	0.92	5.1	3.42	5.82
6	Cl	H	1.51	6.23	13.17	11.98
7	CN	H	27.8	28.12	15.96	441.26
8	Br	H	0.87	2.93	9.97	6.59
9	OCH ₂ CH ₃	H	1.49	12.96	33.33	9.73
10	OH	H	7.58	375.92	415.23	31.98
11	H	OCH ₃	0.04	30.64	4.75	0.61
12	H	NO ₂	1.58	221.46	23.6	5.54
13	H	Cl	0.48	1.72	5.17	6.23
14	H	Br	0.52	25.95	144.68	2.47
Pentamidine (Filaxis Lab.)	–	–	23.64	64.18	27.5	2.21
Pentamidine (May & Baker Lab.)	–	–	0.46	–	–	–

^a Data for ED₅₀ of *L. amazonensis* have been reported previously.

Fonte: (RODRIGUES et al, 2007).

Athayde-Filho relatou boas atividades antimicrobianas do cloridrato mesoiônico do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato (39, Figura 3.14) contra bactérias gram-positivas e álcool-ácido-resistentes; relativa atividade contra *C. albicans* e escassa atividade antifúngica. O mesoiônico (39) mostrou ser tão potente quanto a Sulfonamida e Nitrofurantiona, 3 vezes menos potente que Piperacilina e Ciprofloxacina, 30 vezes menos potente que Gentamicina, Norfloxacin e Tobramicina porém 300 vezes menos potente que Oxacilina (ATHAYDE-FILHO *et al*, 1996).

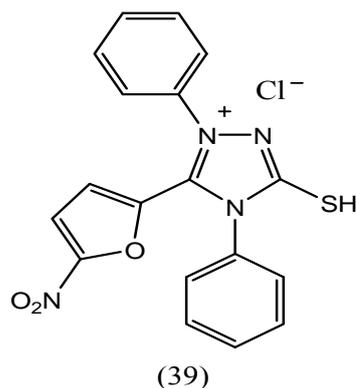


Figura 3.14: Fórmula estrutural do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(5-nitrofuranil)-1,3,4-triazólio-2-tiol.

Lira verificou a atividade cardiovascular do composto mesoiônico 2-(4-clorofenil)-3-metil-4-(4-metóxi-fenil)-1,3-tiazólio-5-tiolato (40, Figura 3.15), o qual induziu relaxamento dependente de concentração em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, que representa um modelo reconhecido de vasos de resistências, pré-contraídos com 10 μM de FEN, com endotélio intacto ($\text{CI}_{50} = 5,5 \pm 2,7 \times 10^9 \text{ M}$), indicando que o composto mesoiônico (40) é uma potente substância vasorelaxante (LIRA, 2004).

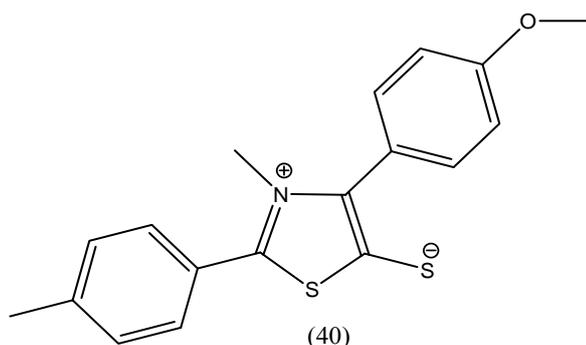
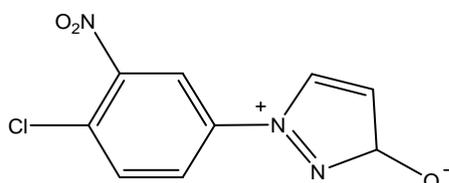


Figura 3.15: Fórmula estrutural do composto mesoiônico 2-(4-metil-fenil)-4-(4-metóxi-fenil)-1,3-tiazol-5-tiolato.

Grynberg e colaboradores relataram a atividade antitumoral da sidnona SYD-1 (41, Figura 3.16) em ratos portadores de carcinoma de Ehrlich e sarcoma 180 e foram capazes de promover o aumento da sobrevivência dos animais, impedindo o crescimento do tumor (GRYNBERG *et al*, 1997). A atividade antitumoral do SYD-1 pode estar relacionada com o

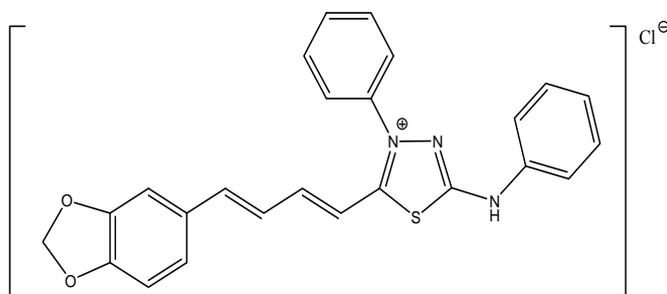
metabolismo energético em mitocôndrias, Halila e colaboradores verificaram que o SYD-1 reduz a eficiência da fosforilação oxidativa, (HALILA *et al*, 2007)



(41)

Figura 3.16: Estrutura química do 3-(4-cloro-3-nitro-fenil)-1,2,3-oxadiazólio-5-olato —SYD-1.

Ferreira e colaboradores sintetizaram e avaliaram a atividade tripanossomicida de nove derivados mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, em que o derivado (42, Figura 3.17) foi a molécula que apresentou melhor perfil de atividade nas avaliações *in vitro*, ou seja: elevado efeito antiparasitário e reduzida citotoxicidade frente aos macrófagos. Desta forma, o cloridrato mesoiônico (42) apresentou um perfil estrutural ótimo no conjunto de derivados preparados, colocando-se como um verdadeiro protótipo para o desenvolvimento de um novo agente quimioterápico, de elevada eficácia, aplicável ao tratamento da doença de Chagas (FERREIRA *et al*, 2008).



(42)

Figura 3.17: Estrutura química do mesoiônico do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida com atividade tripanocida.

3.7-Nomenclatura de Compostos Meso-iônicos

Diversos sistemas de nomenclatura têm sido empregados na literatura para denominar os compostos meso-iônicos. Alguns sistemas meso-iônicos possuem nomes usuais, como por exemplo, as sidnonas (43), sidnonas imideto (44) e as munchnonas (45). Figura 3.18.

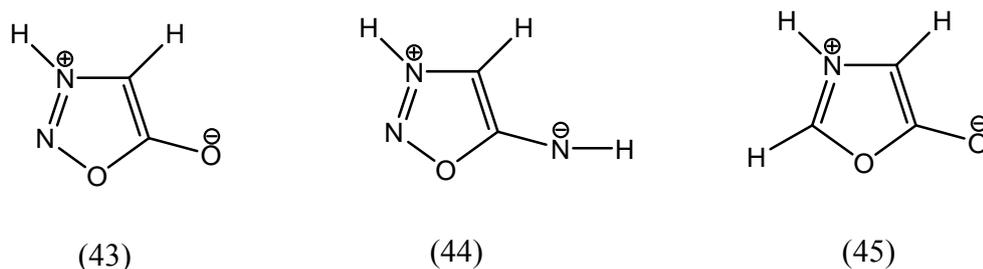


Figura 3.18: Estruturas químicas da sidnona, sidnona-imideto e munchnona.

O sistema de nomenclatura que será adotado nesta dissertação segue a nomenclatura recomendada para os compostos heterocíclicos meso-iônicos obedecendo às seguintes regras.

- Para a numeração dos átomos que compõem o anel meso-iônico obedece à seguinte sequência de prioridade: oxigênio, enxofre e nitrogênio. No caso em que há dois ou mais heteroátomos no anel, deve-se escolher a sequência da menor soma dos números atribuídos e que o átomo exocíclico receba o menor número.
- O sistema que apresenta átomos de oxigênio recebe o prefixo “oxa”, com átomos de nitrogênio “azo”, com átomos de enxofre “tia”, com selênio “selen”, o anel recebe o sufixo “lio” e o átomo exocíclico o sufixo “ato” e o átomo no qual o grupo exocíclico está ligado, pode receber, quando possível, o menor número e os derivados imidetos são denominados aminida.

Seguindo as recomendações citadas acima, vejamos as possíveis nomenclaturas para o composto mesoiônico (46) Figura 3.19.

- a) 1,4-difenil-5-(4-(trifluorometil)fenil)-1,2,4-triazol-3-tiolato
- b) 1,4-difenil-5-(4-(trifluorometil)fenil)-1,3,4-triazol-2-tiolato
- c) 2,4-difenil-3-(4-(trifluorometil)fenil)-1,2,4-triazol-5-tiolato
- d) 1,3-difenil-2-(4-(trifluorometil)fenil)-1,3,5-triazol-4-tiolato

As nomenclaturas (c) e (d) estão erradas, enquanto que (a) e (b) estão ambas corretas. No entanto, a nomenclatura (b) é a mais utilizada na literatura para este sistema de compostos mesoiônicos (46), embora a soma dos heteroátomos no anel mesoiônico não receba a menor soma.

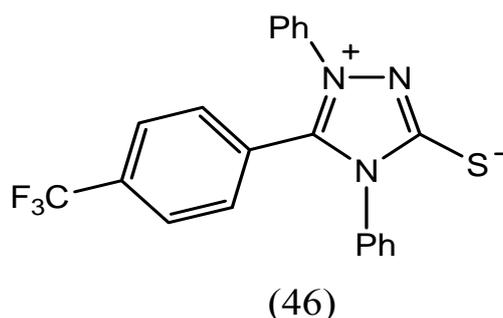


Figura 3.19: Fórmula estrutural do mesoiônico 1,4-difenil-5-(4-trifluorometilfenil)-1,3,4-triazólio-2-tiolato.

3.8-Definição de Química Medicinal

Química Medicinal em suas inúmeras atribuições engloba o planejamento racional de novas substâncias bioativas, envolvendo a síntese ou a modificação molecular de substâncias; o isolamento de princípios ativos naturais (plantas, animais, minerais); a identificação ou elucidação da estrutura; a descrição das moléculas desde a sua constituição atômica (passando por relações entre a estrutura e propriedades) até suas características estruturais quando da(s)

interação(ões) com os diferentes sistemas biofases/biológicos; a compreensão em nível molecular de processos bioquímicos/farmacológicos, toxicológicos e farmacocinéticos. E, finalmente, a proposição e validação de modelos matemáticos através dos estudos de relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica e/ ou toxicológica, permitindo então a proposição de novas entidades de interesse. Esta área de conhecimento, utilizando diferentes estratégias metodológicas complementares, é tradicional e reconhecidamente usada no planejamento de fármacos (MONTANARI e AMARAL, 2002).

3.8.1- Química Medicinal e a descoberta de Fármacos

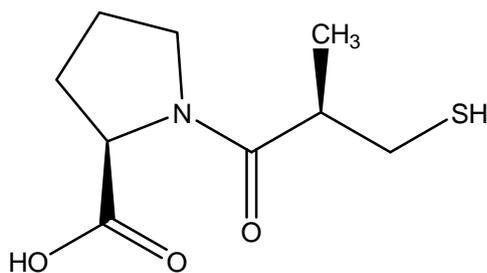
A Química Medicinal, de caráter multidisciplinar, engloba áreas como a farmacologia, a bioquímica, a química orgânica sintética e a química computacional, entre outras, na busca do desenvolvimento/ descoberta de novos fármacos. Um projeto de Química Medicinal compreende as etapas de descoberta, otimização e desenvolvimento de compostos biologicamente ativos (protótipos) (VERLI e BARREIRO, 2005 e LÍDIA, 2007)

Entende-se por descoberta a etapa destinada à eleição do alvo terapêutico, útil para o tratamento de uma determinada fisiopatologia, utilizando as estratégias de modificação molecular clássicas da Química Medicinal, tais como bioisosterismo, homologação, simplificação e hibridação molecular ou pelo emprego de técnicas computacionais como a modelagem molecular e o QSAR. A etapa de otimização compreende o melhoramento da estrutura do protótipo, através de modificações planejadas com auxílio de técnicas definidas – que podem identificar os diferentes níveis de contribuição farmacofórica, fornecerem informações sobre a conformação bioativa e antecipar o índice de reconhecimento molecular pelo alvo selecionado – visando o aumento da potência, seletividade, diminuição da toxicidade, adequação do perfil

farmacocinético e estabelecimento da relação-estrutura-atividade (SAR), a partir da síntese e avaliação farmacológica, *in vitro* e *in vivo*, de séries congêneres ao protótipo identificado originalmente.

A etapa de desenvolvimento do protótipo objetiva a otimização de suas propriedades ADMET (**A**bsorção, **D**istribuição, **M**etabolismo, **E**xcreção e **T**oxicidade,) e farmacêuticas (solubilidade, odor, sabor), de modo a viabilizar seu uso clínico, através da preparação eventual de pró-fármacos (WERMUTH, 2003).

O fortalecimento da farmacologia e a aplicação das estratégias de modificação molecular no desenho de novos protótipos criaram o ambiente favorável à descoberta do captopril (47, Figura 3.20), primeiro fármaco anti-hipertensivo atuando através da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), utilizando a estratégia denominada descoberta baseada na estrutura ("structure-base drug discovery"). Sua descoberta beneficiou-se dos estudos farmacológicos sobre os efeitos do veneno de serpente brasileira do gênero *Bothrops jararaca*, demonstrando sua ação vasodilatadora, dependente de sua capacidade em potencializar a atividade da bradicinina (LÍDIA, 2007).



(47)

Figura 3.20: Fórmula estrutural do captopril

Pode-se constatar que as descobertas de fármacos ocorreram em determinados momentos como fruto do acaso ou baseadas no uso de determinados produtos naturais, em geral de origem vegetal e foram, gradualmente, substituídas por estratégias racionais que se fundamentam

na estrutura do biorreceptor eleito como alvo-terapêutico (biomacromolécula) ou em modificações moleculares planejadas na estrutura do ligante natural (micromolécula) (BARREIRO e FRAGA, 2005).

A descoberta da penicilina (48, Figura 3.21), por Alexander Fleming em 1928, um médico escocês que trabalhava em microbiologia no Hospital St. Mary, em King Cross, Londres, constatou a inibição do crescimento de cepas de *Staphillococcus* em uma placa de cultura esquecida em seu laboratório, com posterior identificação de contaminação por fungos do gênero *Penicillium*. Esta descoberta causou um impacto fabuloso na qualidade de vida da humanidade (BARREIRO e FRAGA, 2005).

Se o acaso tem um exemplo histórico datando do início do século 20, décadas após, observa-se um segundo exemplo na Inglaterra. Desta feita, refere-se à descoberta do sildenafil (49, Figura 3.21), fármaco originalmente planejado por Campbell e colaboradores como anti-hipertensivo e antianginal que, em função da baixa eficácia terapêutica dos efeitos cardiovasculares observados, acaba desenvolvido para tratamento da disfunção erétil através de um novo mecanismo farmacológico, a partir da constatação de efeito colateral evidenciado na etapa inicial dos ensaios de triagem clínica (BARREIRO e FRAGA, 2008).

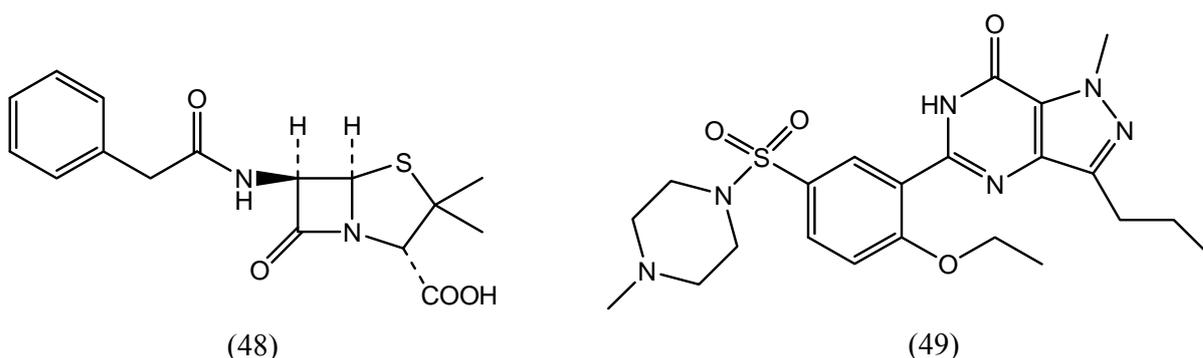


Figura 3.21: Exemplos de fármacos descobertos ao acaso, penicilina e sildinafril.

No final dos anos 80 e início da década de 90, o processo da descoberta de fármacos nas indústrias farmacêuticas observou uma

mudança significativa em seu *modus operandis*, estabelecendo-se um novo paradigma, beneficiado pelos avanços em tecnologias analíticas, sintéticas, de caracterização estrutural, da introdução da química combinatorial (QC), do "high-throughput screening (HTS)", biologia molecular, ciências genômicas e ultra-HTS (LOMBARDINO e LOWE, 2004).

Nos últimos anos, a composição das diversas quimiotecas combinatorias vem sendo influenciada pela regra de Chris Lipinski, denominada regra dos 5 ("rule Five") que estabelece alguns parâmetros estruturais relevantes para a predição teórica do perfil de biodisponibilidade oral. O uso da química combinatorial (QC) acoplada ao HTS passou a constituir o modelo primário adotado pelas indústrias farmacêuticas para o processo inicial de triagem e identificação de hits (ligantes), ativos *in vitro*, sobre um alvo molecular definido a priori, muitas vezes sem validação clínica comprovada (LÍDIA, 2007).

A descoberta de fármacos, pela indústria farmacêutica, é considerada por especialistas uma atividade complexa, multifatorial, cara, demorada, envolvendo a aplicação de técnicas e metodologias modernas, e cuja produtividade é questionada com base em dados que demonstram a relação inversamente proporcional entre os investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) e a descoberta de NCEs ("New Chemical Entities").

Entre os anos de 1990 a 2003, o Centro para Avaliação e Pesquisa de Fármacos ("Drug Evaluation and Research, CDER") da agência norte americana "Food and Drug Administration (FDA)" aprovou 1.171 novas aplicações de fármacos ("New Drug Applications, NDAs"), deste total apenas 34% correspondiam a novas entidades moleculares ("New Molecular Entities, NMEs"), definidas como princípios ativos originais, sem registro ou comercialização prévia nos EUA. Os demais 66%, em sua maioria, correspondiam a aplicações de novas formulações de fármacos previamente aprovados.

Na academia e na indústria farmacêutica o método de descoberta de fármacos baseado na modificação estrutural de fármacos conhecidos leva

a identificação de novos compostos-protótipos que atuam pelo mecanismo farmacológico do primeiro. Esta é uma metodologia bastante comum empregada no desenho de fármacos "me-too" que são estruturalmente muito similares a um fármaco conhecido, com pequenas diferenças farmacoterapêuticas.

Dentre os numerosíssimos exemplos de fármacos desenvolvidos como "me-too", pode-se mencionar a ranitidina (51), derivado furânico desenhado molecularmente através de modificações bioisotéricas do anel imidazólico e do grupamento funcional cianoguanidina do protótipo cimetidina (50). As modificações estruturais efetuadas na ranitidina (51), em relação à cimetidina (50), resultaram em aumento da potência e maior seletividade pelo subtipo 2 de receptores histaminérgicos, alvo-terapêutico de ambos os fármacos antiúlcera (Figura 3.22). Adicionalmente, pode-se mencionar o pindolol (53), estruturalmente planejado pela troca bioisotérica do anel naftaleno do protótipo propranolol (52), antagonista seletivo de receptores β -adrenérgicos, por um núcleo indólico contendo os mesmos 10 elétrons π (Figura 3.22) (BARREIRO e FRAGA, 2008).

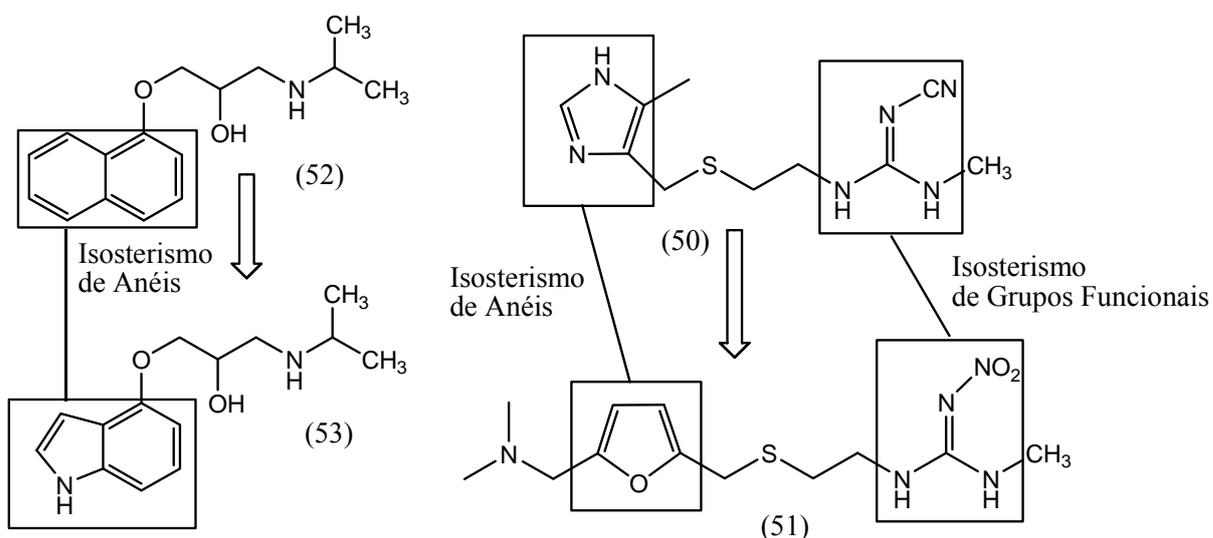


Figura 3.22: Exemplos de fármacos "me-too" descobertos através de modificações moleculares dos protótipos correspondentes.

CAPÍTULO 4
METODOLOGIA

4.0 - Metodologia

4.1- Instrumentos

As determinações dos pontos de fusão foram feitas em placa de aquecimento MQAPF-3 e não sofreram correções (LPBS-DQ/UFPB).

Os espectros de RMN de ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) unidimensional foram obtidos em espectrômetros de marca Varian, modelo Mercury (CA – UFPB). Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e o solvente: dimetilsulfóxido (DMSO-D6) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em unidade de parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros na região de Infravermelho (IV) foram obtidos nos espectrômetros Bomem Hartmann e Braun (LACOM-UFPB), utilizando-se pastilhas de KBr para as amostras sólidas.

4.2- Materiais

Os solventes e reagentes utilizados, de diversas procedências, continham grau PA ou espectrométrico, os que não apresentavam qualidades adequadas, quando necessário dependendo da finalidade do uso foram purificados e secos.

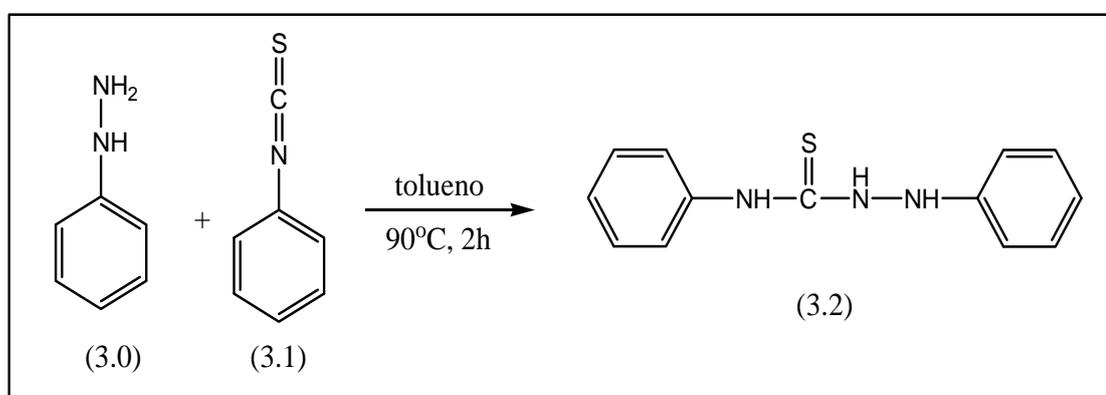
- **Solventes:** acetato de etila, clorofórmio, diclorometano, 1,4-dioxano, etanol, éter etílico, metanol, tolueno.

- **Reagentes:** acetona, ácido clorídrico concentrado, ácido salicílico, ácido sulfúrico concentrado, ácido p-tolueno-sulfônico, álcool amílico, cloreto de tionila, Glicerol, dimetilformamida, fenilhidrazina,

hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, isotiocianato de fenila, permanganato de potássio, piridina.

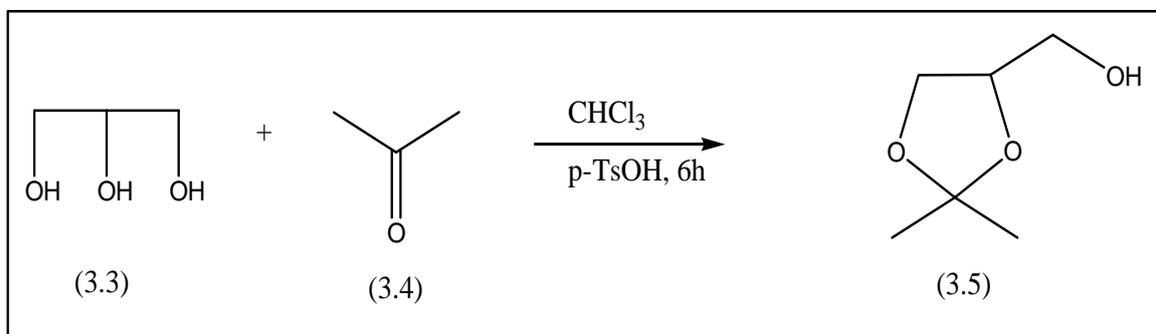
4.3-Síntese e caracterização dos compostos intermediários

4.3.1- Preparação do 1,4-difeniltiosemicarbazida



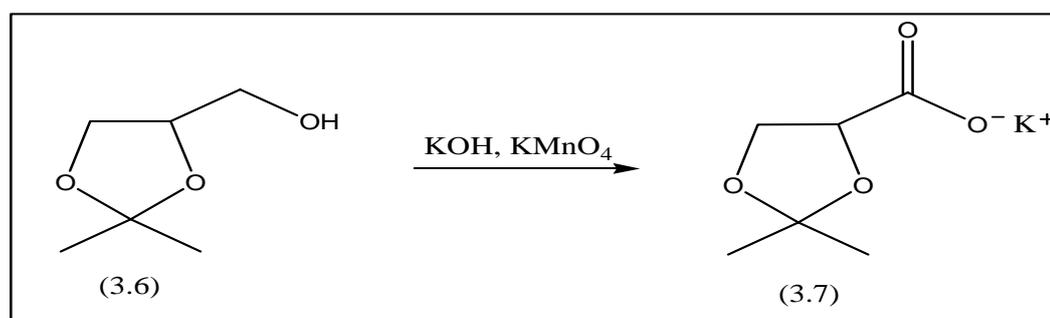
A 12g (0,11 mols) de fenilhidrazina (3.0) dissolvida em 50 ml de tolueno anidro sob agitação magnética adicionou-se lentamente uma solução de 15g (0,11 mols) de isotiocianato de fenila (3.1) dissolvida em 30 ml de tolueno anidro. A reação é bastante exotérmica e após 10 minutos de reação o produto precipitou do meio reacional dificultando o processo de agitação, motivo pelo qual, a mistura foi levada a refluxo sob agitação constante (PEREIRA, 1988). Após duas horas de refluxo, resfriou-se até a temperatura ambiente e filtrou-se a mistura reacional. Lavou-se o precipitado com 30 ml de tolueno anidro e em seguida com 20 ml de éter etílico anidro. Secou-se o precipitado em dessecador a pressão reduzida. Foram obtidos 24,8 g (91,9 %) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) na forma de cristais aciculares incolores e ponto de fusão 175-176 °C.

4.3.2- Preparação do (±)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-metanol



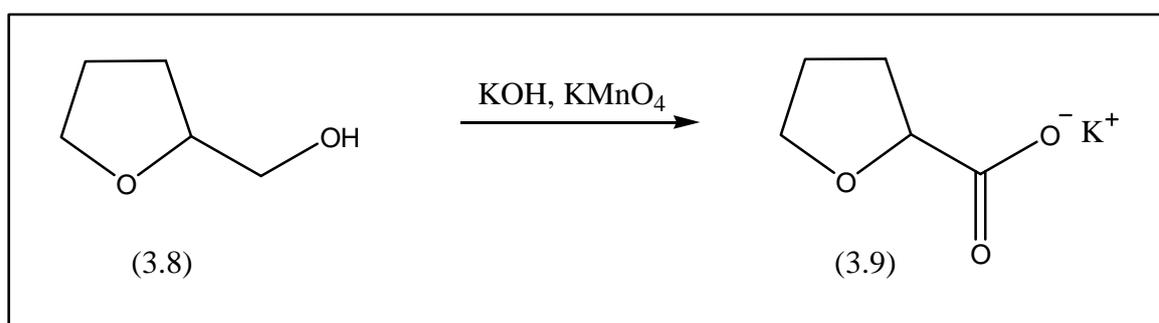
Uma mistura de acetona (36 g), CHCl_3 (156 g), glicerol (30 g) e ácido p-toluenosulfônico (1,2 g) foram refluxados por 6h. A água formada durante a reação foi removida continuamente por um aparelho Dean-Stark. Depois do resfriamento da mistura reacional, carbonato de sódio (1,3 g) foi adicionado e agitado por 30 min, após a mistura ser filtrada o filtrado foi evaporado e seco. O produto foi destilado á vácuo fornecendo (28 g, 65,7%) do (±)-2,3-O-isopropilideno glicerol (3.5) como um líquido incolor.

4.3.3- Preparação do (±)- 2,2-dimetil-1,3-dioxalano- 4-carboxilato de potássio



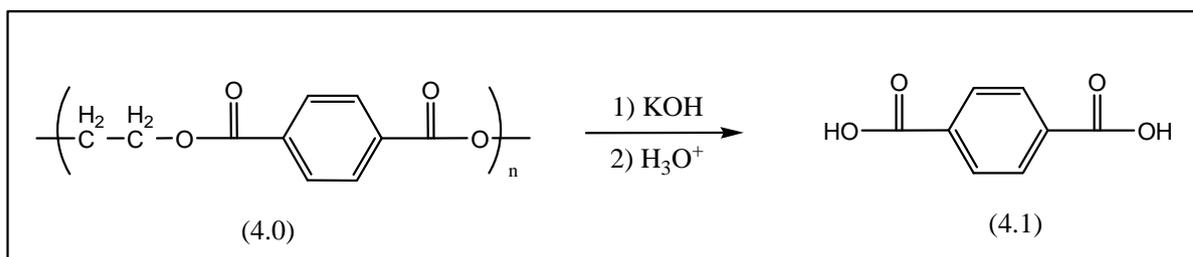
5,32g (0,04 mols) de solketal racêmico (3.6) dissolvidos em 50 ml de água destilada foram adicionados a uma solução aquosa (contendo KOH, 2,26g em 100 ml de água destilada). Após 15 minutos de agitação, uma solução aquosa de permanganato de potássio (0,5 M) foi adicionada á mistura reacional gota a gota durante 45 minutos mantendo a temperatura entre 0-10 °C. Após o término da adição a mistura reacional foi deixada por mais uma hora em agitação. O excesso de permanganato foi destruído pela adição gota a gota de metanol. Em seguida a mistura foi aquecida até ebulição do solvente e filtrada para separar o MnO₂ que se forma no meio reacional. O solvente foi evaporado e o resíduo suspenso em etanol absoluto (100 ml) filtrado e em seguida lavado com 50 ml de clorofórmio fornecendo 5,8g (78,4%) do carboxilato de potássio (3.7) na forma de sal, o qual foi usado sem purificação posterior.

4.3.4- Preparação do (±)-tetrahydrofurano-2-carboxilato de potássio



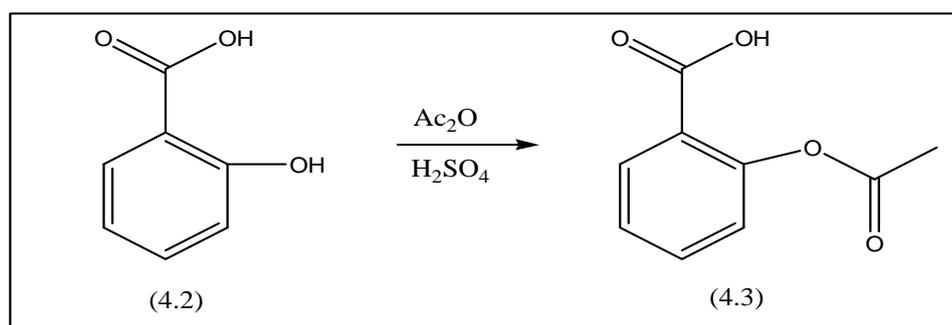
Conforme metodologia descrita no item 3.3.3, utilizando-se 10 g (98 mmoles) do álcool tetrahydrofurfurílico (3.8), uma solução aquosa (contendo KOH, 5,5 g em 100 ml de água destilada) e uma solução aquosa de permanganato de potássio (0,5 M), foram obtidos 9,2 g do tetrahydrofurano-2-carboxilato de potássio (3.9) na forma de sal com rendimento de (61%).

4.3.5- Obtenção do ácido tereftálico



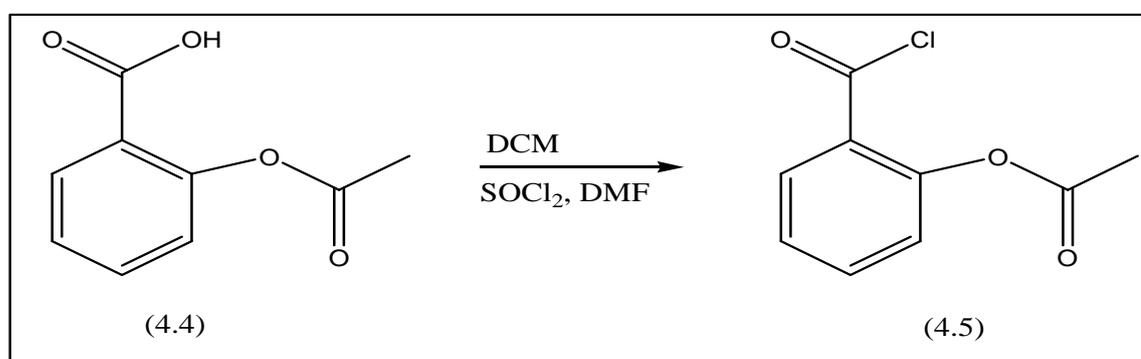
Em um balão de fundo redondo de 1000 ml, colocou-se 200 ml de álcool amílico, 5 g de KOH e 20 g de poli(tereftalato de etileno), PET (4.0), cortado em pequenos pedaços. A mistura reacional foi deixada em refluxo por 2 horas com agitação magnética constante. No início da reação o polímero não se dissolve, contudo, ao longo da reação forma-se um sólido branco em suspensão. Uma agitação eficiente e constante é crucial para o sucesso da reação, uma vez que o sólido que se forma dificulta o processo de agitação. Acabado o tempo de refluxo a mistura foi resfriada até a temperatura de 60 °C e em seguida adicionou-se 150 ml de água destilada ao balão para dissolver o sólido branco que se encontra em suspensão. A mistura foi filtrada para separar o pet que não reagiu e a fase aquosa foi separada da fase orgânica por decantação, a fase aquosa foi evaporada até quase a secura e filtrada para obter o tereftalato de potássio. Em seguida o tereftáto de potássio foi neutralizado com ácido clorídrico concentrado até a precipitação total do ácido tereftálico (4.1) fornecendo 11,3 g.

4.3.6- Preparação do ácido acetil salicílico (AAS)



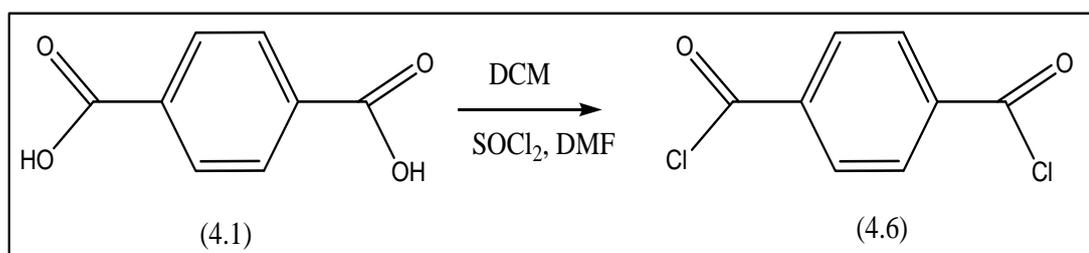
Em um balão de 200 ml, colocou-se 20 g (0,145 mols) de ácido salicílico (4.2), 28 ml de anidrido acético (AC_2O) e 6 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi refluxada em banho maria entre 50-60 °C por 30 min. Durante o aquecimento foi observado a formação de um sólido branco, após o resfriamento da mistura reacional foi adicionado 100 ml de água destilada gelada, a mistura foi filtrada em funil de buchner e o precipitado foi lavado com pequenas porções de água gelada. O produto foi recristalizado em etanol, fornecendo 20,35 g (78%) de ácido acetil salicílico (4.3) na forma de cristais brancos e ponto de fusão 133-135 °C.

4.3.7- Preparação do cloreto do ácido acetilsalicílico



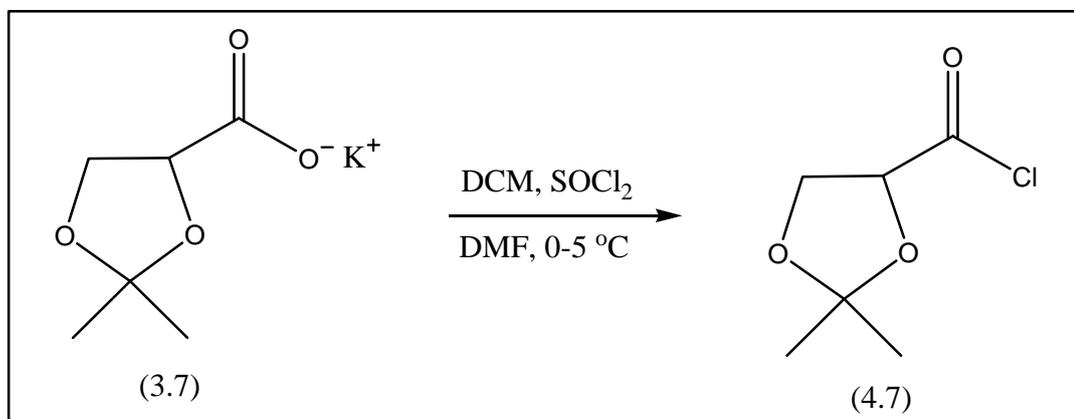
2,0 g (11 mmols) de ácido acetilsalicílico foi dissolvido em 50 ml de diclorometano anidro (DCM) e tratado com 1,0 ml (14 mmols) de SOCl_2 e duas gotas de DMF. A mistura reacional foi agitada magneticamente por 8 horas e filtrada para remover o AC-Sal-OH que não reagiu. Em seguida o filtrado foi evaporado fornecendo um líquido amarelado (1,44 g, 65%). O cloreto de ácido foi usado imediatamente sem purificação posterior por ser um composto altamente reativo.

4.3.8 - Preparação do dicloreto de tereftaloíla



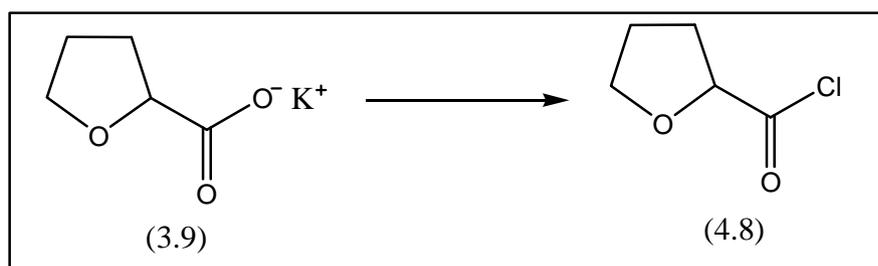
1,0 g (6,0 mmols) de ácido tereftálico (4.1) foi dissolvido em 40 ml de diclorometano anidro e tratado com SOCl_2 em excesso (3,0 ml, 41 mmols) e duas gotas de DMF. A mistura reacional foi agitada magneticamente a temperatura ambiente por 6,0 horas e filtrada para remover o ácido tereftálico que não reagiu. Em seguida o filtrado foi evaporado a 70 °C para eliminar o excesso de SOCl_2 , fornecendo o dicloreto de tereftaloíla (4.6) como um líquido amarelado (1,14 g, 92,7%) que após resfriamento cristalizou-se como um sólido amarelado. O cloreto de ácido foi usado imediatamente sem purificação posterior por ser um composto altamente reativo.

4.3.9- Preparação do cloreto de (±)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carbonil



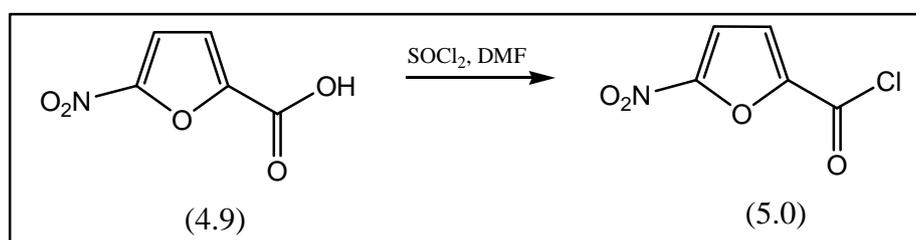
A uma mistura de 50 ml de diclorometano anidro e 0,8 ml de SOCl₂ resfriados a 0-5°C foi adicionado 1,0 g (5,4 mmoles) do (±)- 2,2-dimetil-1,3-dioxalano- 4-carboxilato de potássio (3.7) em pequenas porções por cerca de 10 minutos. Quando o sistema reacional atingiu a temperatura ambiente foi deixado em agitação magnética por 14 horas, em seguida a mistura reacional foi filtrada para remover o cloreto de potássio formado junto com o carboxilato de potássio que não reagiu, em seguida lavou-se com diclorometano anidro e em seguida com éter etílico anidro. O filtrado foi rota evaporado a uma temperatura de 30-40 °C para fornecer (0,68 g, 76,4 %) de cloreto de (±)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carbonil (4.7) como um líquido avermelhado.

4.4.0- Preparação do cloreto de (±) tetrahidrofurano-2-carbonila



Conforme metodologia descrita no item 3.3.9, utilizando-se 1,0 g (6,5 mmoles) do (\pm) tetrahidrofurano-2-carboxilato de potássio (3.9) e 0,8 ml de SOCl_2 , foram obtidos (0,24 g, 27,6 %) do cloreto de (\pm) tetrahidrofurano-2-carbonila (4.8) na forma de um líquido avermelhado.

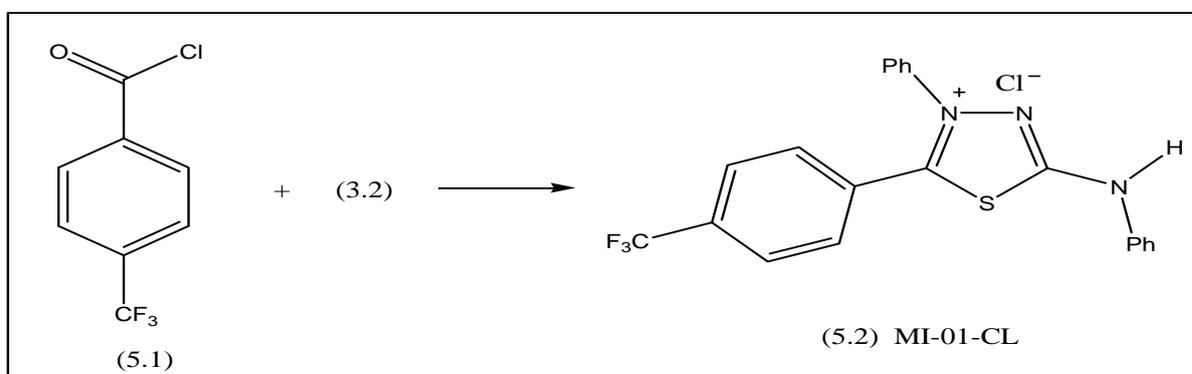
4.4.1- Preparação do cloreto de 5-nitro-2-furoíla



Em um balão de 50 ml acoplado com um trap com cloreto de cálcio, adicionou-se rapidamente 0,5 ml de cloreto de tionila a 0,5g (3,2 mmoles) de ácido 5-nitro-2-furóico (4.9) e duas gotas de DMF. A mistura foi aquecida a 60 °C por 3 horas. Em seguida removeu-se o excesso de cloreto de tionila em rotaevaporador, obtendo-se 0,41g (73,3%) do cloreto de 5-nitro-2-furoíla (5.0) na forma de um líquido amarelado. O cloreto de ácido foi usado imediatamente na próxima etapa da síntese do composto mesoiônico por ser muito reativo.

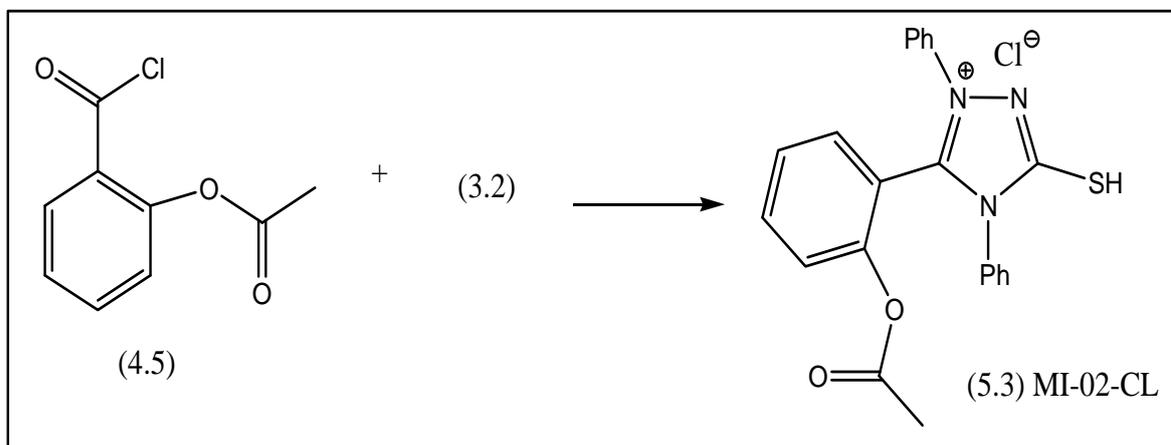
4.5-Síntese dos cloridratos mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida

4.5.1-Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4-trifluorometil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-01-CL).



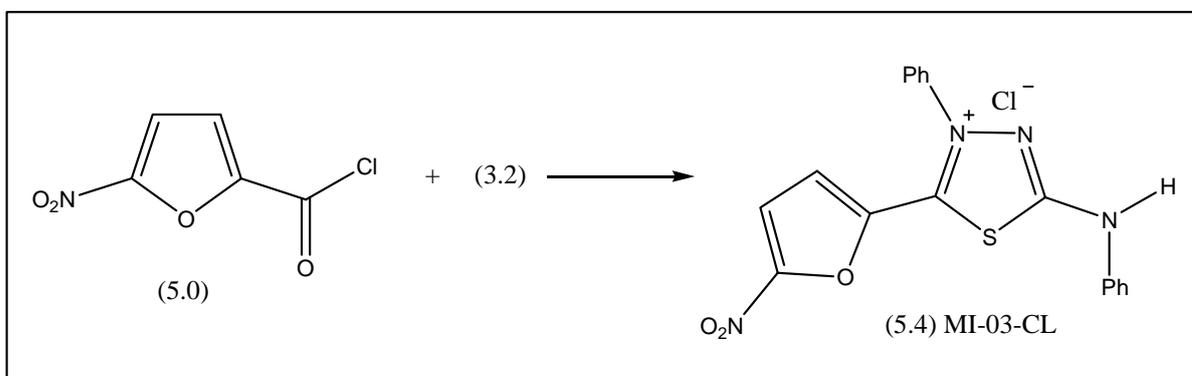
A uma solução de 1,17g (4,81 mmols) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) em 10 ml de dioxano anidro foram adicionados lentamente 1,0 g (4,8 mmols) de cloreto de 4-trifluorometil-benzoíla (5.1) solubilizado em 5 ml de dioxano anidro. Após a adição do cloreto de ácido, observa-se a formação de uma solução vermelho-amarelada sem se notar aquecimento ou desprendimento de gases e após um período de 24 horas de agitação em sistema fechado ocorreu a formação de um precipitado de coloração amarela bem intensa. A mistura reacional foi deixada em repouso por 24 horas e em seguida foi filtrada a pressão reduzida. O filtrado foi lavado com 10 ml de dioxano anidro e 5 ml de éter etílico anidro gelado, após o qual foi seco a vácuo durante 3 horas para fornecer (2,90 g, 96%) do composto mesoiônico (5.2). Após recristalização em clorofórmio/éter etílico anidro o composto apresentou ponto de fusão de 273-275 °C.

4.5.2-Síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(2-acetoxifenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-O2-CL).



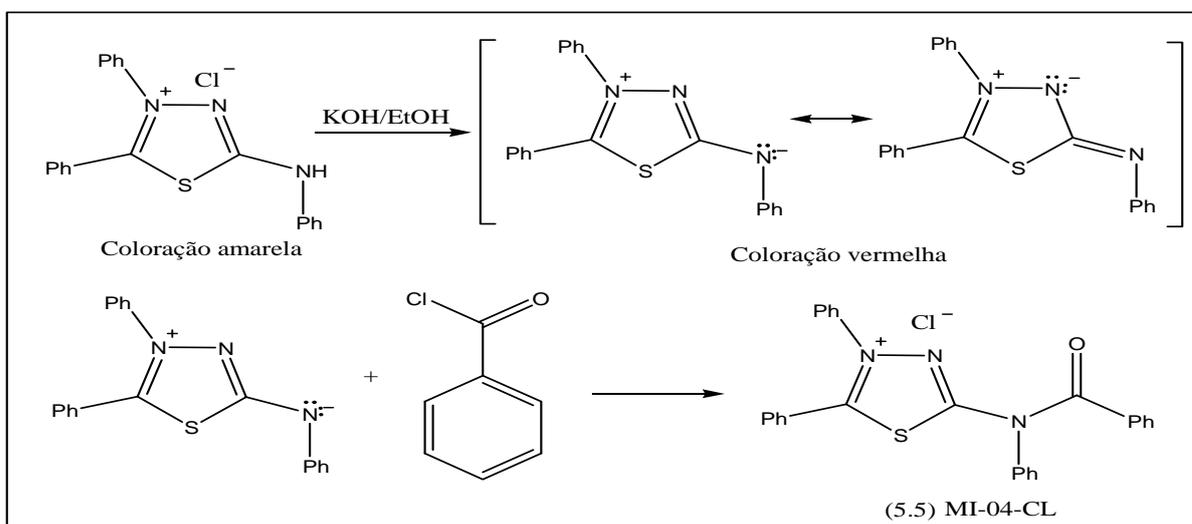
A uma solução de 1,76g (7,24 mmols) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) em 10 ml de dioxano anidro foram adicionados lentamente 1,44 g (7,2 mmols) do cloreto do ácido acetil salicílico em 5 ml de dioxano anidro juntamente com 0,57 g (7,2 mmols) de piridina. Após a adição observa-se a formação de uma solução amarelada e depois de um período de 24 horas de agitação ocorreu a formação de um precipitado amarelado. A mistura reacional foi deixada em repouso por mais 24 horas no freezer e em seguida foi filtrada a pressão reduzida. O filtrado foi lavado com 10 ml de dioxano anidro e 5 ml de éter etílico anidro gelado, em seguida foi seco em pistola por 3 horas para fornecer (1,81 g, 59%) do composto mesoiônico (5.3). Após recristalização em etanol/éter etílico o composto apresentou ponto de fusão 172-174 °C.

4.5.3-Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-03-CL).



Conforme metodologia descrita no item 4.5.1, utilizando-se 0,57g (2,3 mmoles) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) e 0,41g (2,3 mmoles) do cloreto de 5-nitro-2-furoila (5.0), foram obtidos (0,6 g, 66,7 %) do cloridrato mesoiônico (5.4) na forma de cristais avermelhados com ponto de fusão 261-262 °C.

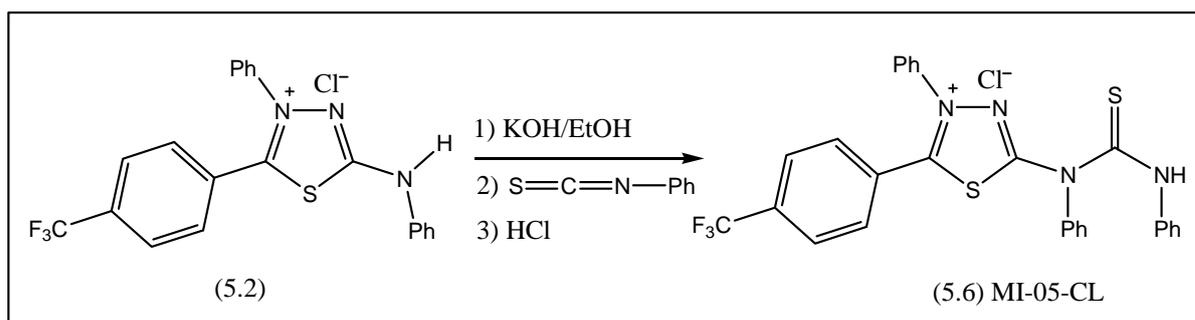
4.5.4- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-(N-fenil-benzamida) (MI-04-CL).



Em um balão de 500 ml, 0,5 g (1,37 mmoles) do composto mesoiônico (5.8) foi dissolvido em 200 ml de etanol e a esta solução foi adicionado uma solução etanólica 0,03N (0,07 g/50 ml) de hidróxido de potássio. Após a adição da solução de KOH, observa-se uma mudança brusca de coloração indicando o forte caráter ácido da ligação tiol. A mistura reacional foi rotaevaporada deixando no balão cerca de 30 ml de solvente que em seguida foi filtrada a pressão reduzida para eliminar o cloreto de potássio precipitado e novamente evaporada completamente. O sólido vermelho obtido foi dissolvido em 10 ml de dioxano anidro e a esta solução foi adicionado lentamente por cerca de um minuto 0,17 g (1,37mmols) de cloreto de benzoíla previamente diluído em 5 ml de dioxano anidro, logo após a adição das primeiras gotas de cloreto de benzoíla, observa-se novamente uma mudança de coloração de vermelho para amarelo indicando a formação do cloridrato mesoiônico.

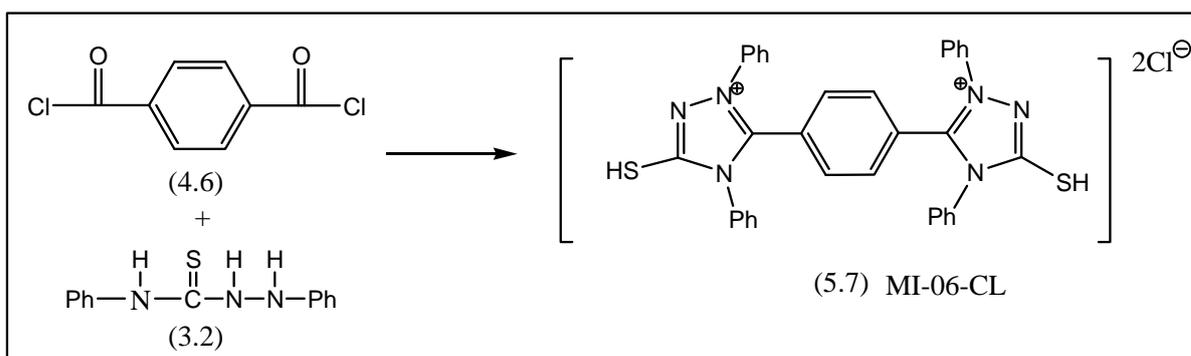
A mistura resultante foi agitada magneticamente por um período de 8 horas a temperatura ambiente, após este tempo foi deixada em repouso por 24 horas para que ocorresse a precipitação do cloridrato mesoiônico. Após o repouso a mistura foi filtrada a pressão reduzida e o precipitado foi lavado com 5 ml de dioxano anidro e em seguida com 5 ml de éter etílico. Foram obtidos 0,41g de cloridrato mesoiônico (5.5) na forma de cristais amarelados com rendimento de (64%) com ponto de fusão 276-278 °C.

4.5.5- Síntese do cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4- trifluorometil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-(1,3-difenil-tiouréia) (MI-05-CL)



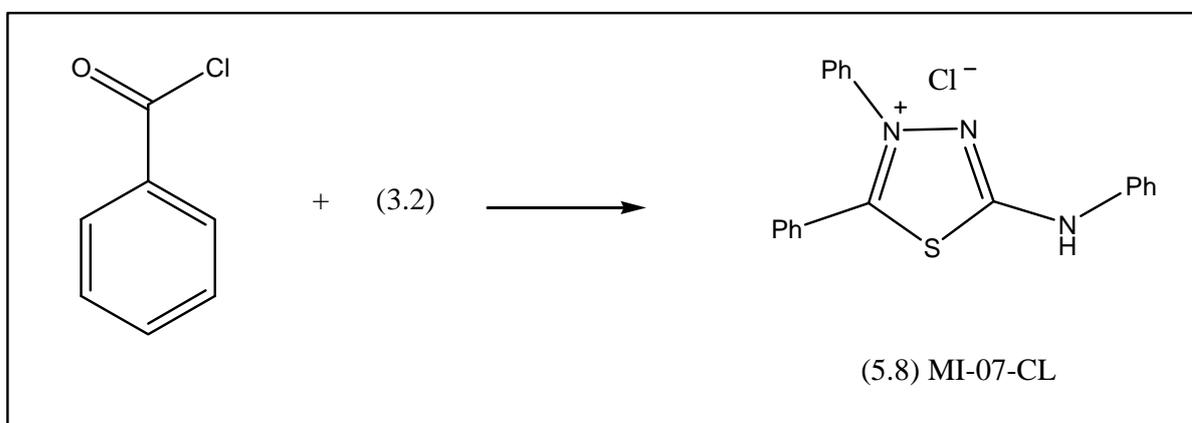
Conforme metodologia descrita no item 4.5.4, utilizando-se 0,25g (0,57 mmoles) do composto mesoiônico (5.2), hidróxido de potássio (0,04g/30 ml de EtOH) e 0,08 g (0,6 mmoles) feniltioisocianato, foram obtidos 0,24 g do cloridrato mesoiônico (5.6) na forma de cristais amarelados intensos com rendimento de (73,3 %) e ponto de fusão 253-254 °C.

4.5.6- Síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(4-(1,4-difenil-2-tiol-1,3,4-triazólio)fenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-06-CL).



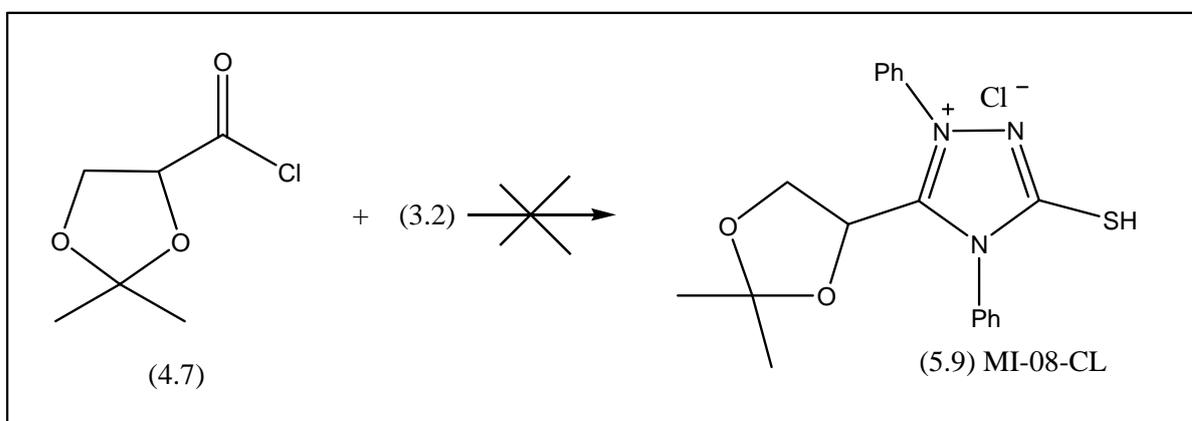
Conforme a metodologia descrita no item 4.5.2, utilizando-se 2,72 g (11,2 mmoles) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) e 1,14 g (5,6 mmoles) de dicloreto de tereftaloíla (4.6), foram obtidos (2,85 g, 88,4 %) do cloridrato mesoiônico (5.7) na forma de cristais amarelados com ponto de fusão 305-307 °C.

4.5.7- Síntese do cloridrato mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MI-07-CL).



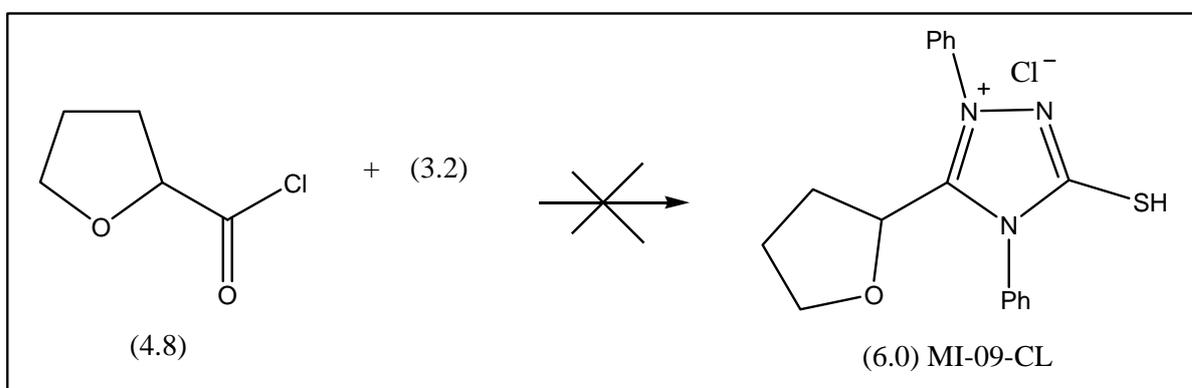
Conforme a metodologia do item 4.5.1, utilizando-se 2,0 g (8,2 mmoles) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) e 1,2 g (8,5 mmoles) de cloreto de benzoíla, foram obtidos (2,8 g, 93,3%) do cloridrato mesoiônico (5.8) na forma de cristais amarelados com ponto de fusão 351-353 °C.

4.5.8- Tentativa de síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(2,2-dimetil-1,3-dioxalano)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-08-CL)



Conforme metodologia descrita no item 4.5.2, utilizando-se 1,0 g (4,1 mmoles) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2) e 0,68 g (4,1 mmoles) do cloreto de (\pm)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carbonil (4.7) em 5 ml de dioxano anidro. Não foi possível sintetizar o novo derivado mesoiônico (5.9).

4.5.9- Tentativa de síntese do cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(tetrahydrofurano)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-09-CL).



Conforme metodologia descrita no item 4.5.2, utilizando-se 0,43 g (1,8 mmoles) de 1,4-difeniltiosemicarbazida (3,2) e 0,24 g (1,8 mmoles) do cloreto de (\pm) tetrahydrofurano-2-carbonila (4.8) em 5 ml de dioxano anidro. Não foi possível sintetizar o novo derivado mesoiônico.

4.6.0-Estudos biológicos

4.6.1-Atividade antifúngica

Os ensaios de atividade antifúngica desenvolvidos nesta dissertação foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas (Centro de Ciências da Saúde), Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Edeltrudes de O. Lima.

4.6.2-Substâncias testadas

Os compostos heterocíclicos mesoiônicos testados foram os seguintes:

MI-01-CL: Cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4-triflurometil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.

MI-02-CL: Cloridrato mesoiônico 1,4-difenil-5-(2-acetoxi-fenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol.

MI-03-CL: Cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(5-nitro-2-furanil)-2-fenilaminida.

MI-04-CL: Cloridrato mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-(N-fenil-benzamida).

MI-05-CL: Cloridrato mesoiônico 4-fenil-5-(4-triflurometil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-(1,3-difenil-tioureia).

4.6.3-Microrganismos testados

Foram utilizadas espécies fúngicas adquiridas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e da Universidade Federal da Paraíba.

A suspensão dos microrganismos foi preparada conforme o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, a 10^6 UFC/mL (CLEELAND e SQUIRES, 1991 e BAWER et al, 1996).

- **Espécies fúngicas:** *Candida albicans* (ATCC 6258, ATCC 13803, ATCC 90028, ATCC 76615), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida*

guilliermondii (LM 011), *Candida tropicalis* (LM 37, LM 759, LM 37), *Trichosporon inkin* (LM 063, LM 067).

➤ **Antimicrobianos sintéticos**

Para o controle de atividade antifúngica, foram usados discos de cetoconazol (50 µg/mL) adquiridas do Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos LTDA (CECON / SP).

4.6.4-Ensaio de atividade antifúngica (metodologia)

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados pelo método de difusão em meio sólido. Em placas de Petri (90 x 15 mm) descartáveis e esterilizadas, foi transferido 1 mL da suspensão de cada microrganismo devidamente padronizado pela Escala de Mc Farland. Em seguida, foram adicionados 20 mL dos meios de culturas ágar Sabourand Dextrose, fundidos e resfriados a 45-50° C, para os referidos testes com as espécies fúngicas. Após solidificação dos meios de culturas, foram depositados os discos de papel de filtro (CECON /SP) embebidos com 20 µL de cada composto mesoiônico. Foram feitos os controles com cetoconazol (50 µg/mL) e com os microrganismos em meio de cultura isento de antimicrobiano.

Todo o sistema de ensaio foi inoculado a 37° C / 24-72 horas para as leveduras. Após o período de incubação, foi feito a leitura dos resultados. Foi considerado positivo, o produto que inibiu o crescimento dos microrganismos produzindo halos de inibição igual ou superior a 10 mm de diâmetro (WOUNG-LEUNG, 1988). Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição.

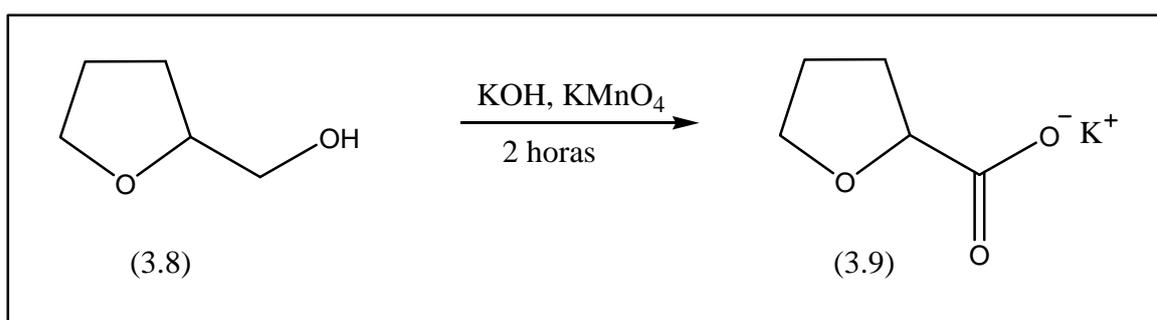
CAPÍTULO 5
RESULTADOS E
DISCUSSÃO

5.0- Resultados e Discussão

A seguir serão apresentados os progressos realizados em cada uma das etapas sintéticas desenvolvidas neste trabalho. A apresentação da discussão e dos resultados obtidos será feita em três etapas distintas: preparação dos compostos intermediários, caracterização dos compostos mesoiônicos e ensaios farmacológicos, respectivamente.

5.1-Obtenção dos compostos intermediários

5.1.1- Obtenção do (\pm)-tetrahydrofurano-2-carboxilato de potássio



A preparação do (\pm)-tetrahydrofurano-2-carboxilato de potássio intermediário para a obtenção do cloreto de ácido foi obtido pela oxidação do álcool primário tetrahydrofurfurílico usando como agente oxidante o permanganato de potássio em meio básico (BELKADI e OTHMAN, 2006). Foram feitos três experimentos com o intuito de melhorar o rendimento da reação variando as quantidades de reagentes (KOH, KMnO₄) e do tempo reacional. A quantidade de álcool utilizado foi mantida constante nos três experimentos. Os resultados estão ilustrados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Oxidação do álcool tetrahidrofurfurílico com permanganato de potássio.

Experimento	Concentração de KOH (mol/L)	Concentração de KMnO ₄ (mol/L)	Rendimento (%)	Tempo (h)
1	1,96	0,25	58	3
2	0,98	0,5	61	2
3	1,46	0,15	28	4

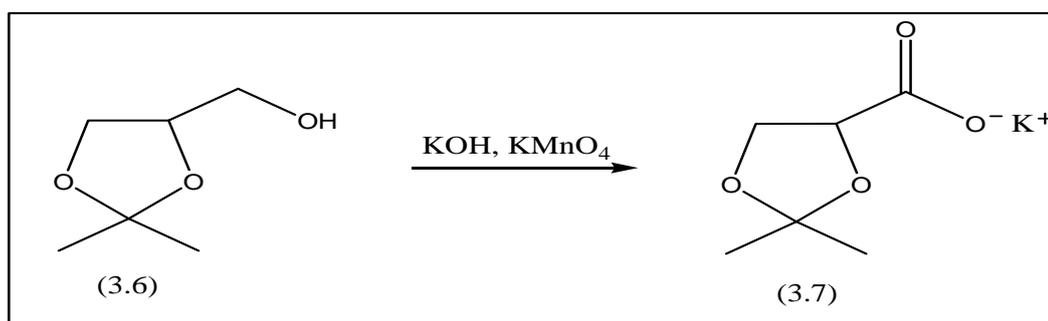
O melhor resultado obtido (experimento 2) foi aquele em que utilizamos quantidades estequiométricas entre os reagentes.

No espectro na região de infravermelho do composto (3.9), observaram-se duas bandas características para o ânion carboxilato, uma em 1599 cm⁻¹ é bastante intensa e provém da deformação axial assimétrica. A outra, mais fraca, é observada em torno de 1411 cm⁻¹ e provém da deformação axial simétrica. No espectro de RMN ¹³C (DMSO-d₆, 50 MHz), observam-se cinco sinais, dos quais três são de carbonos secundários, um de carbono primário e o outro de carbono quaternário de acordo com a estrutura do carboxilato de potássio representada na Tabela 5.2. O espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz), revelou dois multipletos na região de alifático, um na faixa de 3,9-3,4 ppm para os prótons (H-5) e (H-2) e o outro na faixa de 2,0 -1,6 ppm para os prótons (H-4) e (H-3).

5.2: Dados do espectro de RMN ¹³C (50 MHz) em (DMSO-d₆) do composto (3.9).

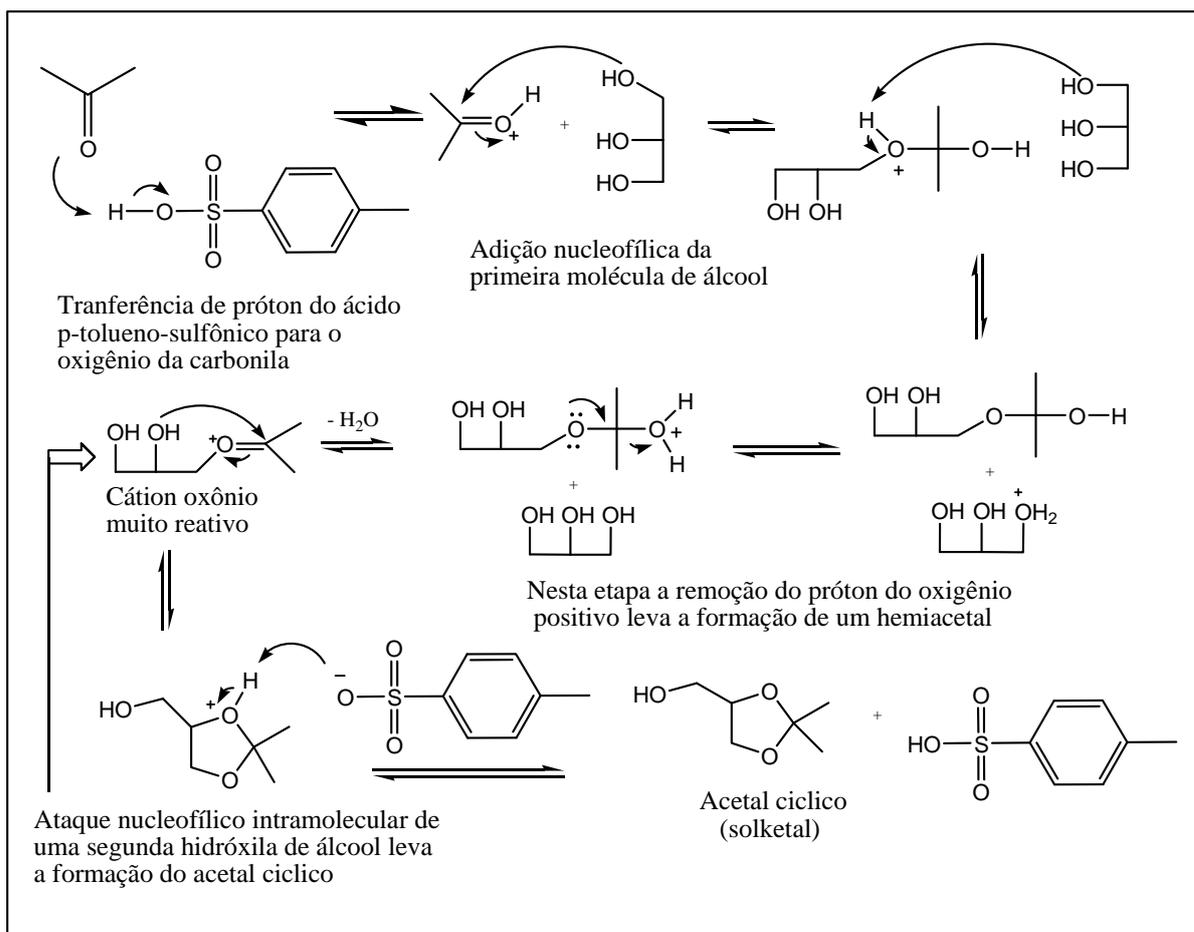
	Carbono	δ ¹³ C (ppm)
<p>(3.9)</p>	1	176,0
	2	79,5
	3	30
	4	25
	5	67

5.1.2-Obtenção do (+)-2,2-dimetil-1,3-dioxalano- 4-carboxilato de potássio

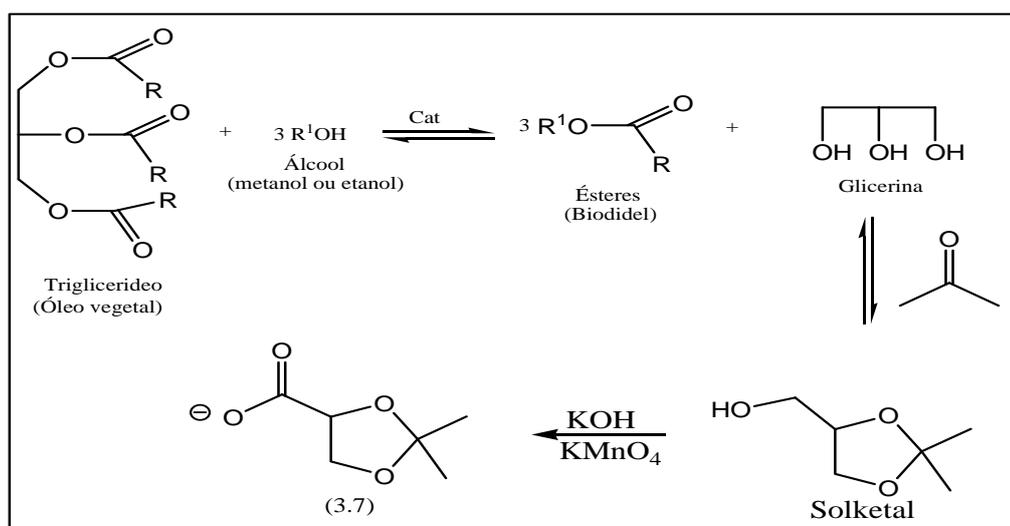


A preparação do carboxilato de potássio (3.7) foi conseguida com rendimento de (78,4%) a partir da oxidação do solketal racêmico (3.6), utilizando permanganato de potássio como agente oxidante em meio básico de acordo com a metodologia descrita por (BELKADI e OTHAN, 2006). O solketal racêmico por sua vez, foi obtido a partir da reação entre a glicerina e cetona tendo o ácido p-toluenosulfônico como catalizador e clorofórmio como solvente (YU *et al*, 2003). A única dificuldade desta reação é a remoção contínua de água que se forma no meio reacional, para tanto, utiliza-se um aparelho Dean-Stark. Isto se faz necessário, uma vez que, a reação de formação de acetais é reversível, ou seja, na presença de água o acetal sofre hidrólise regenerando o álcool e a cetona. Abaixo no Esquema (5.1) segue um esboço mecanístico de formação do acetal catalizada por ácido.

A glicerina utilizada na síntese do solketal é uma substância extremamente barata, para se ter uma idéia em 1995 o valor era de US \$1,55/kg e atualmente está entre US \$ 0,5 a 1,0/ kg. Ela pode ser obtida a partir da reação de transesterificação de triacilglicerídeos (óleos vegetais) com metanol ou etanol. No Esquema (5.2) é esboçada uma rota estratégica para a produção do carboxilato de potássio (3.7) tendo como matéria prima triacilglicerídeos (óleos vegetais).



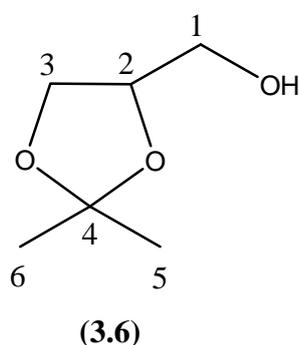
Esquema 5.1: Mecanismo proposto para a formação de acetal catalizada por ácido.



Esquema 5.2: Rota sintética para a obtenção do 2,2-dimetil-1,3 dioxalano-4-carboxilato de potássio a partir de triglicerídeos (óleos vegetais).

No espectro de RMN ^{13}C do composto 3.6 (DMSO- d_6 , 50 MHz), observou-se seis sinais, dos quais dois são de carbonos trihidrogenados alifáticos do tipo sp^3 (C-6 e C-5), um é do carbono quaternário (C-4) que aparece em campo mais baixo. Dois são de carbonos dihidrogenados (C-3 e C-1) e o outro é de carbono monohidrogenado (C-2) de acordo com a estrutura do solketal representada na Tabela 5.3. No espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz), foi observado um tripleto com integral para 2H (H-1) em 4,8 ppm, um duplo duplete com integral para 2H (H-3) em 3,6 ppm, um multiplete com integral para 1H (H-2) em 4,0 ppm e dois singletos intensos com integral para 3H cada (H-6 e H-5) em δ 1,29 e 1,24 ppm respectivamente.

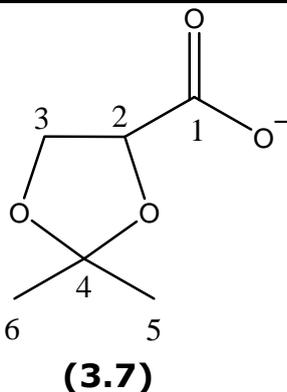
Tabela 5.3: Dados do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) do composto **(3.6)**.



Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	62,1
2	76,2
3	66,0
4	108,1
5	26,7
6	25,4

No espectro de RMN ^{13}C do composto 3.7 (DMSO- d_6 , 50 MHz), observou-se seis sinais, dos quais dois são de carbonos trihidrogenados alifáticos do tipo sp^3 (C-6 e C-5), um é de carbono não hidrogenado (C-4), um de carbono dihidrogenado (C-3) e o outro é do carbono monohidrogenado (C-2) de acordo com a estrutura do carboxilato representada na Tabela 5.4. O espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz), revelou dois singletos intensos com integral para 3H cada (H-6 e H-5) em δ 1,38 e 1,29 ppm respectivamente.

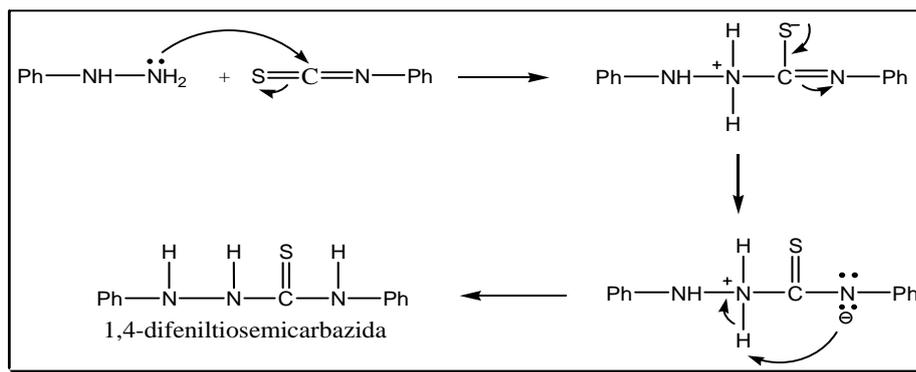
Tabela 5.4: Dados do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) em (D_2O) do composto **(3.7)**.

	Carbono	δ ^{13}C (ppm)
 <p style="text-align: center;">(3.7)</p>	1	172,5
	2	86,6
	3	66,8
	4	111,6
	5	26,4
	6	25,1

5.1.3- Obtenção da 1,4-difeniltiosemicarbazida (3.2)

A utilização de derivados de hidrazinas 1,4-dissubstituídas é um método importante e o mais utilizado quando se quer preparar anéis heterocíclicos do sistema 1,2,4-triazol, bem como de compostos mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolato. Suas sínteses são bastantes práticas e rápidas de serem executadas. A maneira mais fácil de prepará-los é por meio da reação entre fenil-hidrazina e isotiocianato de fenila como mostra o Esquema (5.3).

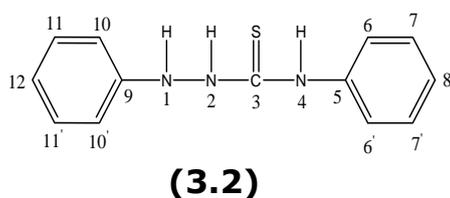
No nosso caso, logo após a adição da fenil-hidrazina ao isotiocianato de fenila ambos diluídos em tolueno anidro, houve um leve aquecimento no balão reacional e em poucos minutos observou-se a formação de precipitado dificultando o processo de agitação, motivo pelo qual, o refluxo a 90 °C durante duas horas foi necessário para solubilizar melhor a mistura reacional. Usando esta metodologia o produto obtido na forma de cristais e com rendimento de (91,9 %) e ponto de fusão 174-175 °C, mostrou-se bastante estável e não foi preciso recrystalizá-lo posteriormente.



Esquema 5.3: Mecanismo da reação entre fenil-hidrazina e isotiocianato de fenila.

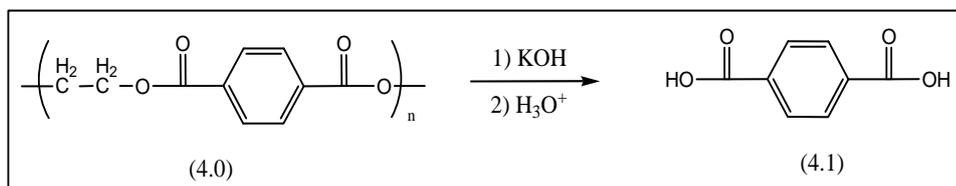
No espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz), observam-se nove sinais, dos quais três são de carbonos não hydrogenados e seis são de carbono sp^2 , as atribuições estão representadas na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Dados do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) do composto (3.2).



Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	-----
2	-----
3	181,0
4	-----
5	139,0
6, 6'	125,1
7, 7'	127,8
8	124,9
9	148,0
10, 10'	113,0
11, 11'	129,0
12	119,8

5.1.4- Obtenção do ácido tereftálico



A obtenção do ácido tereftálico a partir de resíduos de poli(tereftalato de etileno) constitui uma abordagem de reciclagem promissora no âmbito da pesquisa, uma vez que o crescente aumento destes resíduos nos últimos anos nas grandes metrópoles tem incentivado as pesquisas com o intuito de diminuir os resíduos no meio ambiente. No Brasil, os termoplásticos sintéticos representam 90 % do consumo e classificam-se como: polipropileno; poli(tereftalato de etileno); polietileno e poli(cloreto de vinila). Há várias tecnologias de reciclagem destes resíduos, mas todas têm limitações e são, portanto, paliativas (SPINACER e PAOLI, 2005). O tratamento de resíduos poliméricos via degradação térmica ou termocatalítica convertem esses resíduos em frações líquidas que podem ser utilizadas como combustível ou destinadas ao setor petroquímico como produtos de elevado valor agregado.

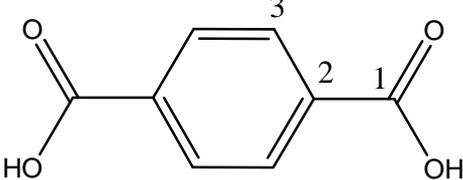
Para a obtenção do ácido tereftálico utilizou-se como metodologia a despolimerização por hidrólise, que consiste na reação com excesso de água na presença de um catalizador (NaOH) e aquecimento, resultando na recuperação dos monômeros de partida. Em vez de utilizarmos hidróxido de sódio e água, preferiu-se usar hidróxido de potássio e o álcool amílico como solvente de acordo com a metodologia descrita no item 3.3.5 (capítulo III) (KAUFMAN *et al*, 1999). A reação foi bem sucedida e obtivemos o produto desejado como um sólido branco, levemente solúvel em água.

No espectro na região de infravermelho observou-se uma banda intensa em 1686 cm^{-1} proveniente da deformação axial de carbonila (C=O) o que é consistente com o grupo carboxila conjugado com o anel

aromático, fazendo com que a absorção de carbonila apareça em frequência um pouco mais baixa. A deformação axial de C-O foi observada em 1291 cm^{-1} , enquanto que a deformação axial de OH foi observada em 3400 cm^{-1} .

No espectro de RMN ^{13}C do composto 4.1 (DMSO- d_6 , 50 MHz) representada na Tabela 5.6, observam-se apenas três sinais devido a simetria da molécula.

Tabela 5.6: Dados do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) em (D_2O) do composto (4.1).

	Carbono	$\delta\ ^{13}\text{C}$ (ppm)
 <p data-bbox="454 952 534 987">(4.1)</p>	1	171,2
	2	136,2
	3	130,8

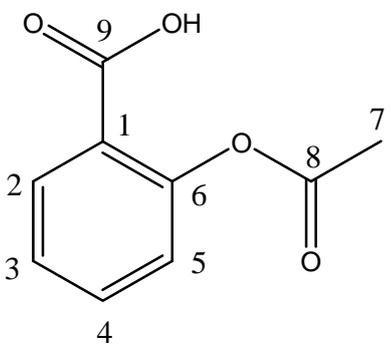
5.1.5-Obtenção do ácido acetilsalicílico

O processo de obtenção do ácido acetilsalicílico consistiu em tratar o ácido salicílico com anidrido acético, em presença de ácido sulfúrico como catalisador. Utilizando esta metodologia obteve-se o ácido acetilsalicílico com (78%) de rendimento na forma de cristais brancos e ponto de fusão $133\text{-}135\text{ }^\circ\text{C}$.

No espectro na região de infravermelho foram observadas duas bandas de carbonila, uma em 1730 cm^{-1} corresponde a absorção de C=O do ácido carboxílico e a outra em 1769 cm^{-1} corresponde a absorção de C=O do éster.

No espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz), observou-se nove sinais, dos quais quatro são de carbonos não hidrogenados (C-1, C-6, C-8 e C-9), quatro são de carbono sp^2 aromático (C-2, C-3, C-4 e C-5) e um de CH_3 , Tabela 5.7. O espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) revelou um sinal com integral para 3H em $\delta\ 2,05\text{ ppm}$ e um multipeto na região de aromático na faixa de $8,0\text{-}7,2\text{ ppm}$ com integral para 4H.

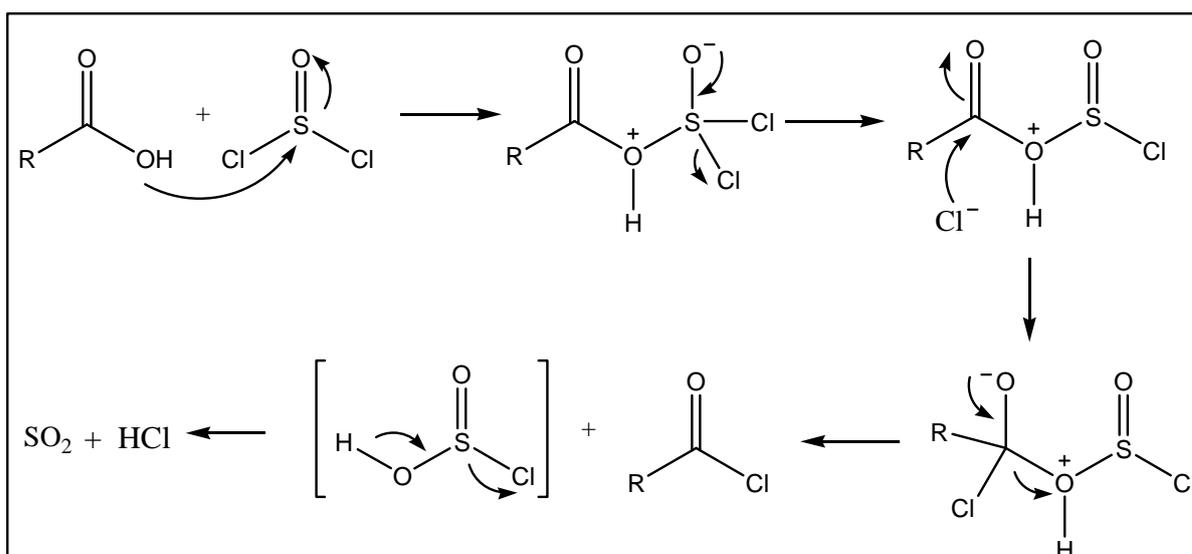
Tabela 5.7: Dados do espectro de RMN ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) do composto (4.3).

	Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
 <p>(4.3)</p>	1	124,15
	2	126,16
	3	131,51
	4	133,88
	5	123,87
	6	150,32
	7	20,88
	8	165,77
	9	169,34

5.1.6-Obtenção dos cloretos de ácidos

A preparação dos cloretos de ácidos para a etapa de ciclização dos derivados mesoiônicos constituiu uma etapa de fundamental importância para o desenvolvimento subsequente do projeto. Estes derivados de ácidos carboxílicos foram preparados seguindo os procedimentos usuais encontrados na literatura (KENAR e KNOTHEK, 2008). Os agentes halogenantes mais utilizados para preparar os cloretos de ácidos são o cloreto de tionila, o dicloreto oxálico, o tricloreto de fósforo, o pentacloreto de fósforo e a trifetilfosfina em tetracloreto de carbono. Embora o cloreto de tionila (p.e. 79 °C) seja o menos reativo dos reagentes citados e é, por isso, utilizado sempre em excesso, escolheu-se este reagente como agente halogenante por se tratar de um reagente barato e, além disso, os subprodutos da reação são gases, facilitando desta maneira a purificação dos cloretos de ácidos quando necessário.

A reatividade do cloreto de tionila é aumentada pela adição de quantidades catalíticas de dimetilformamida (DMF). Abaixo no Esquema (5.4) segue um esboço mecanístico da reação de preparação de cloreto de acila utilizando cloreto de tionila.



Esquema 5.4: Mecanismo da reação de um ácido com cloreto de tionila.

Os cloretos de ácidos preparados com seus respectivos rendimentos estão representados na Figura 5.1.

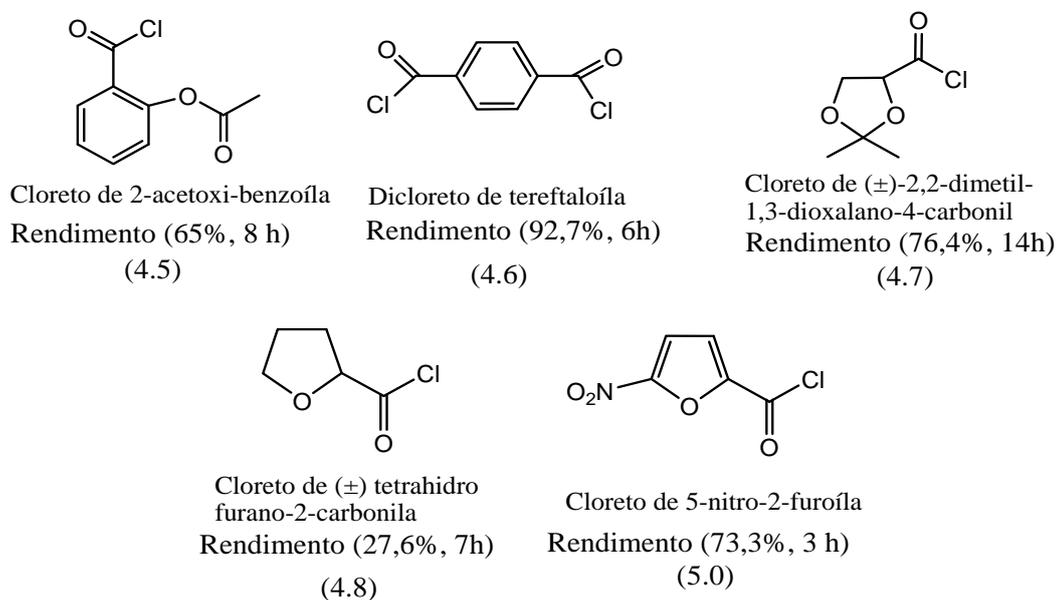


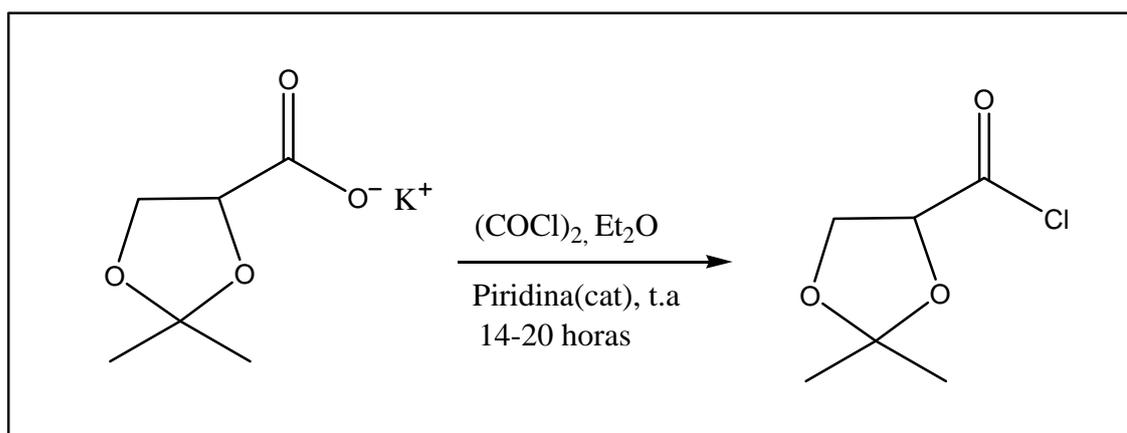
Figura 5.1: Cloretos de ácidos sintetizados para a etapa de ciclização dos derivados mesoiônicos.

A preparação do cloreto de ácido (5.0) foi feita de acordo com o procedimento usual (BERGER *et al*, 1997), adicionando-se o cloreto de tionila em excesso ao correspondente ácido juntamente com duas gotas

de dimetilformamida para aumentar a reatividade do cloreto de tionila. Aqueceu-se a mistura reacional a uma temperatura não superior a 70 °C e não foi preciso um sistema de agitação, visto que , trabalhamos com pequenas quantidades. Este experimento foi realizado em capela devido a liberação de gases (HCl e SO₂) utilizando aparelhagem seca e com proteção contra umidade, foi obtido rendimento satisfatório como pode ser visto na Figura 5.1.

Para a obtenção dos cloretos de ácidos (4.5), (4.6), (4.7) e (4.8) o mesmo procedimento foi seguido, mas utilizamos um solvente inerte tal como diclometano (DCM) para solubilizar o ácido e facilitar o processo de agitação. O cloreto de ácido (4.5) também pode ser obtido utilizando clorofórmio anidro como solvente e uma pequena quantidade catalítica de cloreto de alumínio como descrito por (KHIALIKOV et al, 2006). Devido ao fato de alguns ácidos carboxílicos serem sensíveis a ácidos inorgânicos, tais como: ácido 2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carboxílico e ácido tetrahydrofurano-4-carboxílico (Figura 5.2), os seus respectivos cloretos de ácidos (4.7) e (4.8) não foram obtidos diretamente dos ácidos correspondentes, mas sim de seus sais de potássio. Na literatura, encontram-se vários trabalhos em que se preparam cloretos de ácidos diretamente de seus carboxilatos de potássio.

(EARLE et al, 1996) e (GOUBERT et al, 2007), relataram a síntese do cloreto de ácido (4.7) em bons rendimentos utilizando a metodologia representada no Esquema (5.5). Em nosso trabalho, substituímos o cloreto de oxálila que é muito mais reativo, mas é também muito mais caro, pelo cloreto de tionila. O éter foi substituído pelo DCM e a piridina pelo DMF, assim obtivemos um rendimento satisfatório (76,4 %) para o composto (4.7) e um rendimento baixo (27,6 %) para o composto (4.8). Essa diferença exorbitante pode ser explicada pelo tempo em que cada reação foi deixada em agitação magnética 14h para o primeiro e apenas 7 horas para o segundo.



Esquema 5.5: Metodologia para a obtenção de cloretos de ácidos.

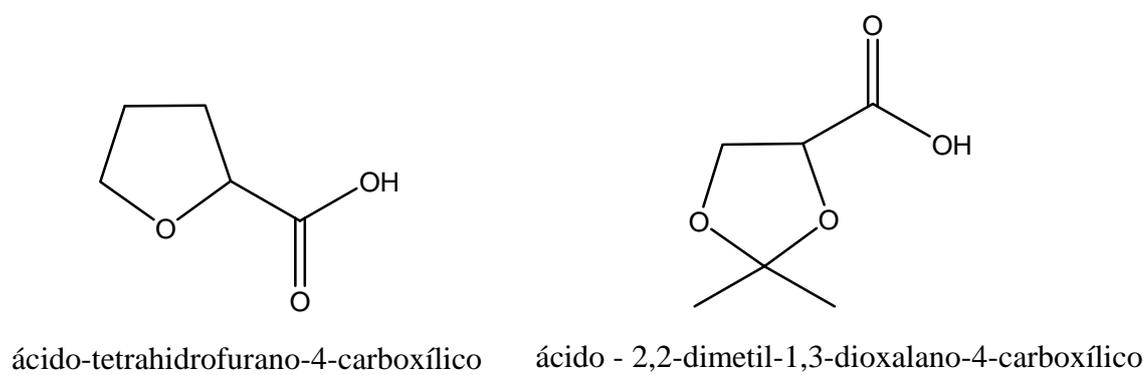
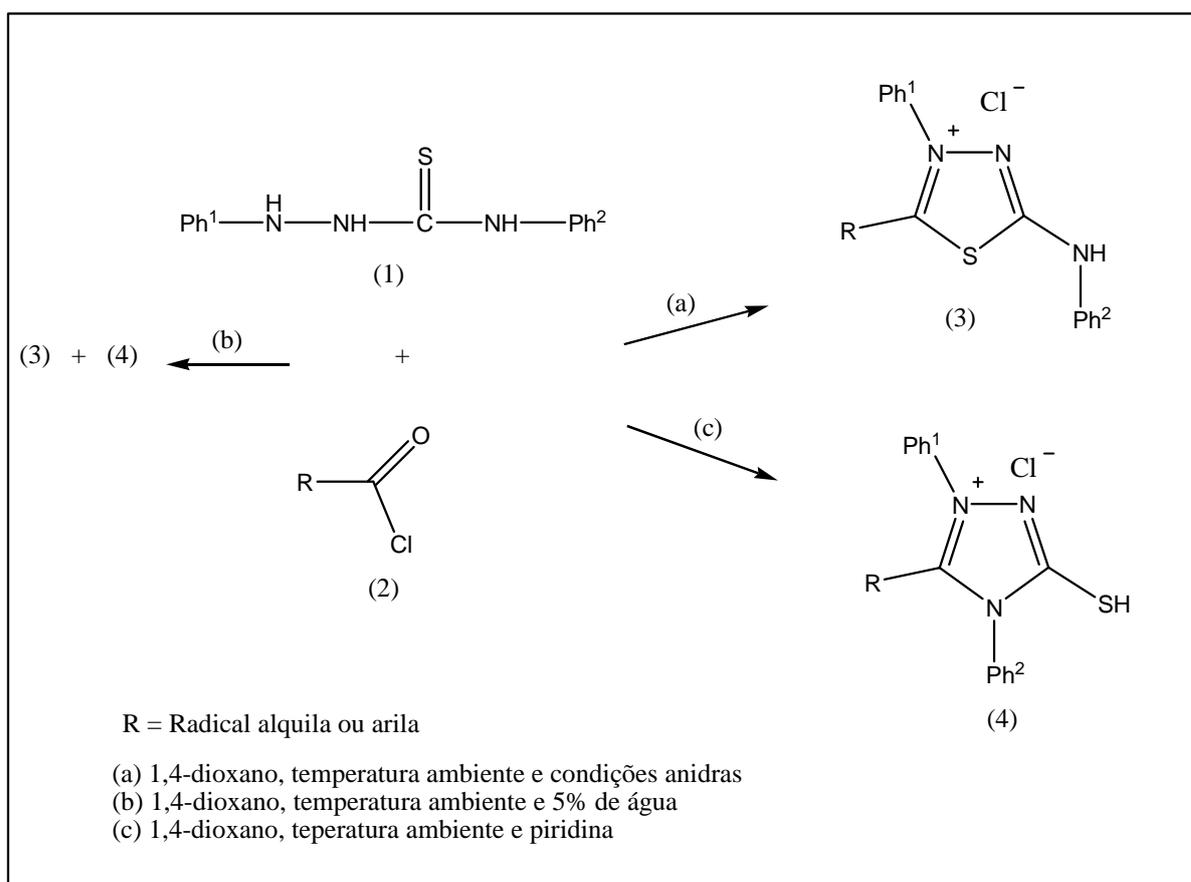


Figura 5.2: Fórmulas estruturais dos ácidos 2,2-dimetil-1,3-dioxalano-4-carboxílico e tetrahidrofurano-4-carboxílico.

5.2-Metodologia Geral para a preparação dos derivados mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolato

De acordo com nossa linha de pesquisa, ou seja, síntese de compostos mesoiônicos com bioatividade, idealizamos a síntese de novos compostos heterocíclicos mesoiônicos dos sistemas 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida ambos na forma de ácidos conjugados utilizando como intermediários substratos de fácil obtenção e baixo custo. Para tanto, fizemos uso da reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida com cloretos de ácidos, Esquema (5.6).

Esta metodologia é exaustivamente utilizada entre os pesquisadores que trabalham com esta classe de compostos, sendo os produtos formados dependentes das condições reacionais. A vantagem de utilizar este caminho sintético é que o rendimento da reação geralmente é quantitativo e pelo fato dos reagentes serem disponíveis e de baixo custo. Portanto, trata-se de uma metodologia bastante eficaz e simples de executar.



Esquema 5.6: Reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida com cloretos de ácidos.

No Esquema (5.6), ilustra-se a reação entre 1,4-difeniltiosemicarbazida (1) e cloretos de ácidos (2) em diferentes condições reacionais, sendo a reação de anidroacilação mais favorecida quando se usa cloretos de arilas do que cloretos de alquilas. O composto mesoiônico pertencente ao sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (3), tanto

pode ser obtido em condições anidras, reação (a), como em condições úmidas, reação (b). Sendo, portanto, o produto cinético da reação. Enquanto que o mesoiônico pertencente ao sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato (4) é o produto termodinâmico da reação, sendo obtido quando se faz uso de condições anidras e na presença de piridina, reação (c), uma vez que nestas condições, o mesoiônico 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida inicialmente formado, isomeriza-se ao correspondente mesoiônico 1,3,4-triazólio-2-tiolato (MACIEL et al, 1998). Em condições úmidas, obtem-se uma mistura dos dois isômeros. Para a obtenção dos novos derivados mesoiônicos sintetizados neste trabalho obtidos com sucesso e bons rendimentos (Tabela 5.8) utilizamos a metodologia descrita no Esquema (5.6).

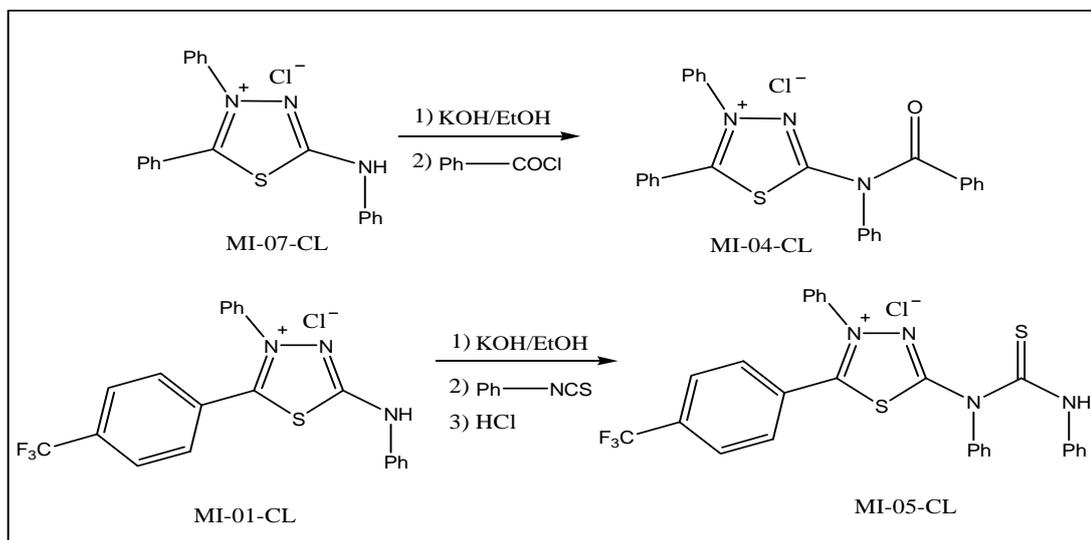
Tabela 5.8: Compostos mesoiônicos obtidos por meio da reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida.

Compostos mesoiônicos	PF (°C)	Rendimento (%)
MI-01-CL	273-275	96
MI-02-CL	172-74	59
MI-03-CL	261-262	66,7
MI-04-CL	276-278	64
MI-05-CL	253-254	73,3
MI-06-CL	305-307	88,4
MI-07-CL*	351-353	93,3

* Já é conhecido na literatura (ECHEVARRIA *et al*, 1995).

Foram sintetizados sete compostos mesoiônicos, dos quais seis são compostos inéditos (MI-01-CL, MI-02-CL, MI-03-CL, MI-04-CL, MI-05-CL e MI-06-CL) e um já é conhecido na literatura (MI-07-CL). Embora tenhamos convicção no sucesso da síntese do composto (MI-06-CL), não foi possível neste momento elucidar sua estrutura em virtude do mesmo ser insolúvel em boa parte dos solventes deuterados, impossibilitando desta maneira a obtenção de seus espectros de RMN. Obteve-se apenas um composto pertencente ao sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato quando fizemos uso da reação (c) do Esquema 5.6, enquanto todos os outros compostos foram obtidos pertencendo ao sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-

aminida quando utilizamos a reação (a) do Esquema (5.6). Os compostos (MI-04-CL e MI-05-CL) foram obtidos pela modificação estrutural na cadeia lateral dos compostos (MI-07-CL e MI-01-CL) respectivamente de acordo com o Esquema 5.7.

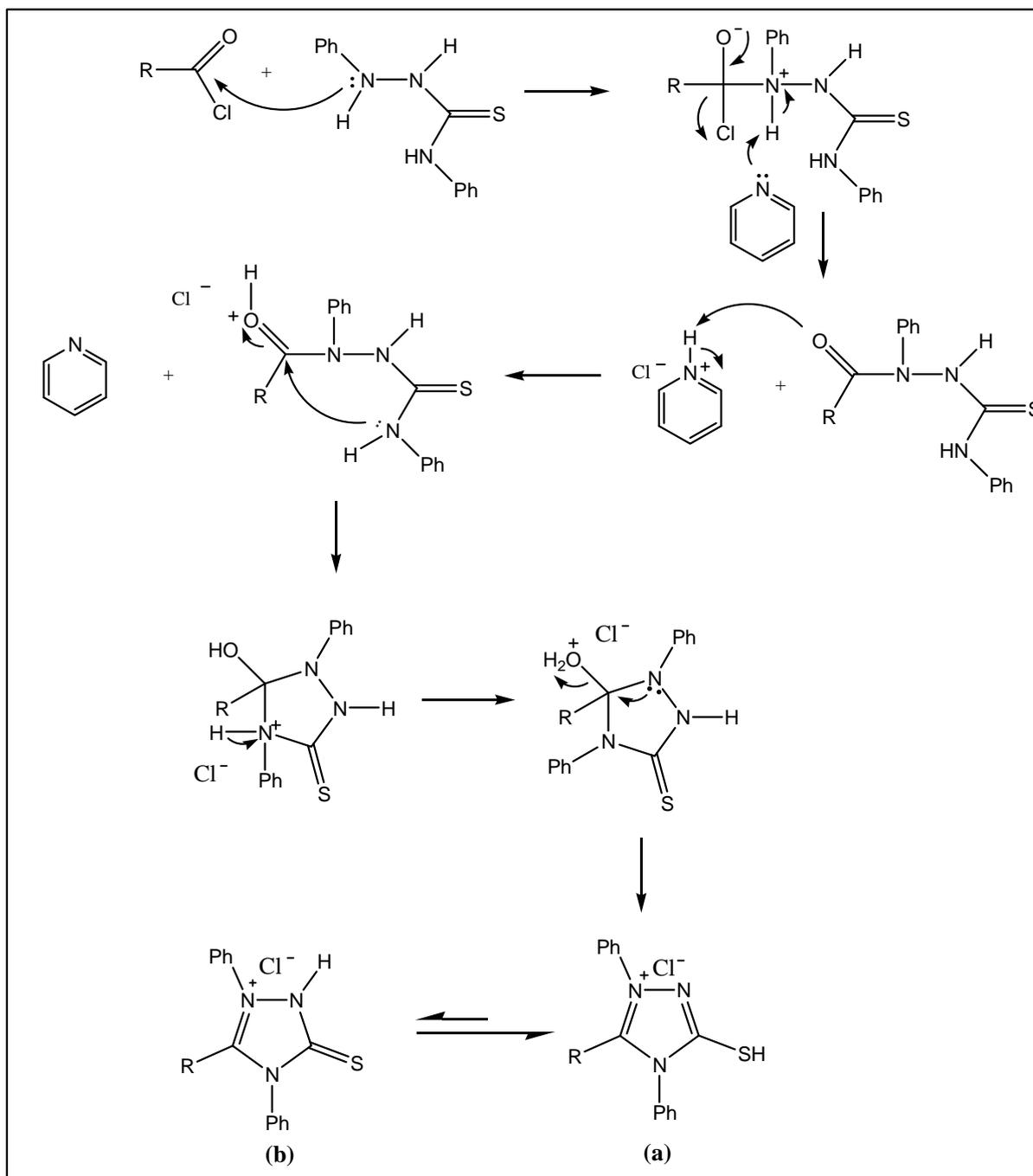


Esquema 5.7: Modificação estrutural dos compostos mesoiônicos MI-01-CL e MI-07-CL.

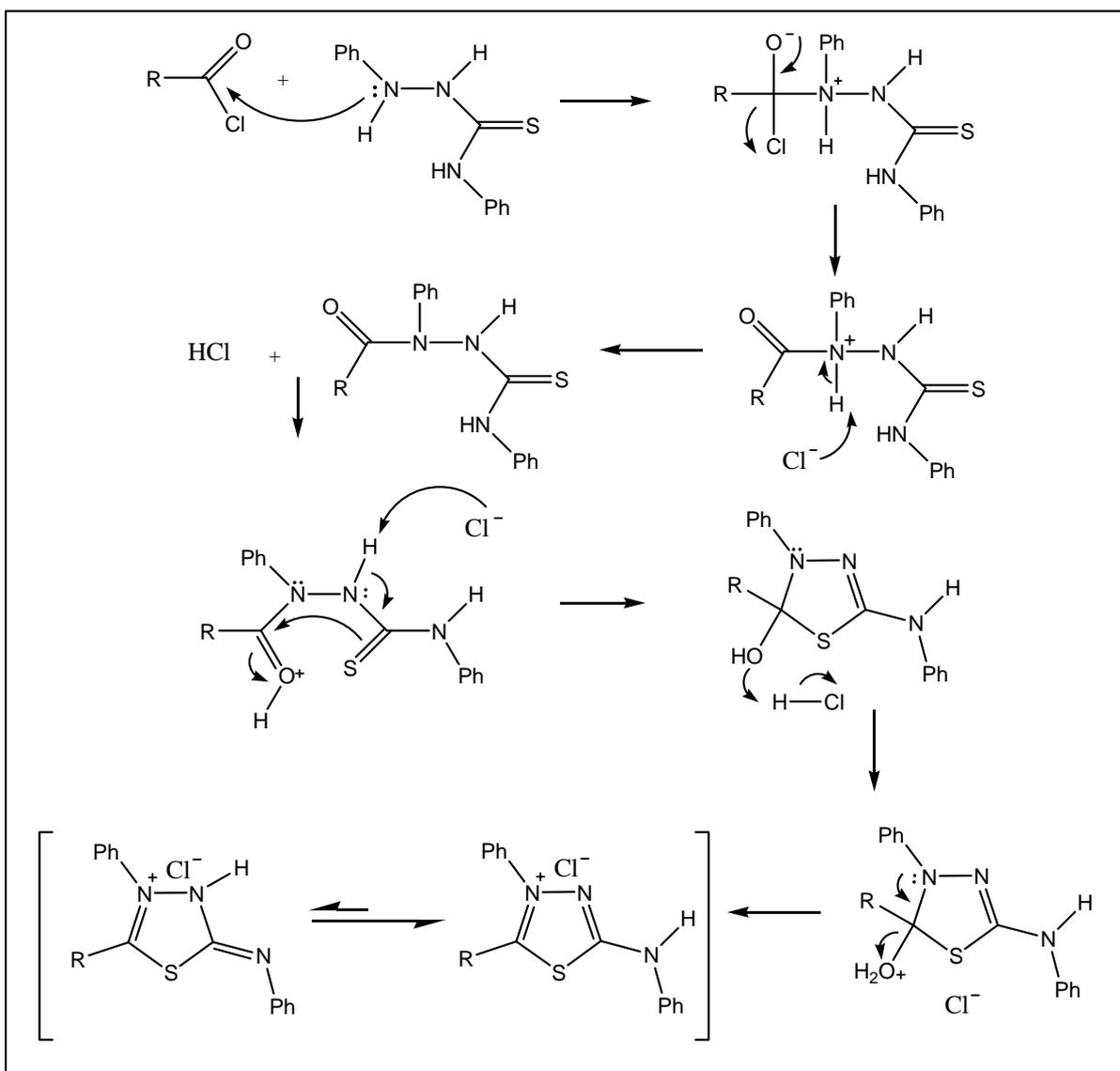
Ainda foi feita duas tentativas de síntese dos compostos (MI-08-CL e MI-09-CL, páginas 51 e 52) usando ambas as condições reacionais descritas pelas reações (a) e (c) do Esquema 5.6, as quais não foram bem sucedidas, estes resultados indicam que a reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiosemicarbazida é preferencial quando se faz uso de cloretos de arilas. A formação destes sistemas heterocíclicos é condizente com os mecanismos propostos nos esquemas (5.8) e (5.9).

Embora tenhamos proposto a formação de um equilíbrio entre as estruturas tautoméricas (a) e (b) no Esquema (5.8) como produtos finais, ainda não há evidências espectroscópicas convincentes que confirmem suas existências. Apesar de que, este equilíbrio seja bastante comum para anéis heterocíclicos 1,2,4-triazol como demonstrado por (TARRAGO *et al*, 1990). Acredita-se, contudo, que a estrutura tautomerica (a) seja o tautômero predominante, uma vez que, se a estrutura tautomérica (b) existisse em equilíbrio com o tautômero (a) deveria-se esperar mudanças

significativas nos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos carbonos do anel heterocíclico. Nos nossos estudos de caracterização dos novos compostos mesoiônicos não foi verificada nenhuma mudança que nos levasse a acreditar na existência de tal equilíbrio, contudo não descartamos tal idéia.



Esquema 5.8: Mecanismo proposto para a obtenção de cloridratos mesoiônicos 1,3,4-triazólio-2-tiol.



Esquema 5.9: Mecanismo proposto para a obtenção de cloridratos mesoiônicos de 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.

5.3- Caracterização dos cloridratos mesoiônicos sintetizados por RMN de ^1H e ^{13}C e IV

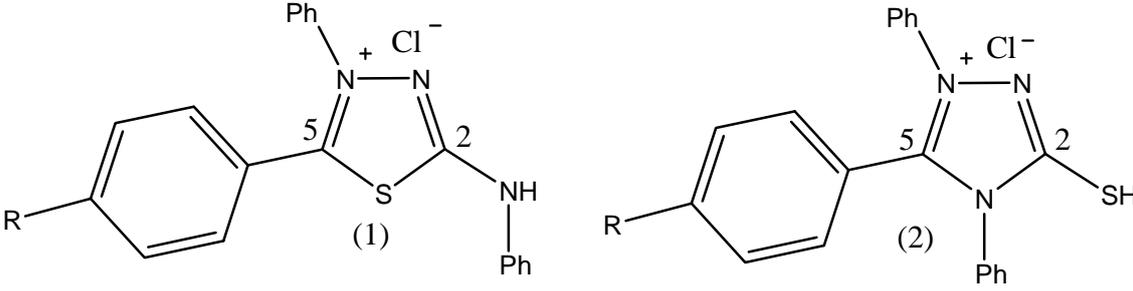
Na literatura atual sobre compostos mesoiônicos, encontram-se vários trabalhos que tratam de suas propriedades espectroscópicas (RMN ^1H e ^{13}C), Contudo, a maioria destes trabalhos está em revistas do Leste Europeu, cujo acesso é normalmente muito difícil. Tratando-se dos compostos mesoiônicos pertencentes ao sistema 1,3,4-triazólio e 1,3,4-

tiadiazólio, 1,3-tiazólio e 1,3-diazólio seus estudos de RMN de ^1H e ^{13}C são bastante difundidos no meio acadêmico, e são, portanto de fácil acesso, contando com uma grande contribuição de pesquisadores brasileiros que tem de maneira significativa contribuído para a elucidação estrutural desta classe de compostos com excelentes publicações em revistas de alto fator de impacto.

As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos novos derivados mesoiônicos MI-01-CL, MI-02-CL, MI-03-CL, MI-04-CL, MI-05-CL, puderam ser confirmados através de comparação com estruturas já conhecidas na literatura do mesmo sistema heterocíclico mesoiônico, tanto do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato bem com do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. Para tanto, utilizamos como padrão comparativo os compostos representados nas Tabelas 5.9, 5.10 e 5.11.

(ECHEVARRIA *et al*, 1995) sintetizou e caracterizou seis derivados mesoiônicos, dos quais três pertencem ao sistema 1,3,4-tiaziazólio-2-aminida e três ao sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato. Os deslocamentos químicos de RMN ^{13}C estão sumarizados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9: Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) de alguns compostos mesoiônicos para os carbonos do anel heterocíclico*.



Composto	1a	1b	1c	2a	2b	2c
R	H	OCH ₃	NO ₂	H	OCH ₃	NO ₂
C(2)	160,7	162,9	162,2	169,8	169,9	170,4
C(5)	164,7	164,1	162,1	148,2	149,6	146,9

* Os deslocamentos químicos estão em ppm.

Na tabela 5.10, encontra-se os deslocamentos químicos do cloreto de 1,4-difenil-5-(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (4.1) sintetizado e caracterizado por Athayde-Filho e colaboradores, isômero do composto mesoiônico MI-03-CL sintetizado neste trabalho (ATHAYDE-FILHO et al, 1996).

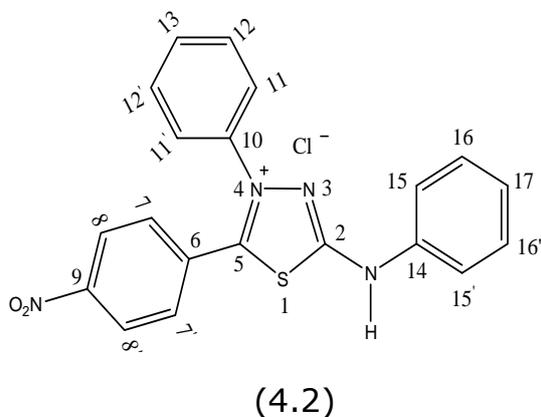
Tabela 5.10: Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (DMSO- d_6) do cloreto de 1,4-difenil-5-(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-triazólio-2-tiol.

	Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<p>(4.1)</p>	2	167,8
	5	146,5
	6	141,8
	7	108,7
	8	114,5
	9	152,7
	10	133,8
	11, 11'	125,7
	12, 12'	130,6
	13	127,7
	14	136,6
	15, 15'	132,3
	16, 16'	130,6
	17	127,7

Estudos de RMN ^{13}C , realizados por (MACIEL *et al*, 1991) com o cloridrato mesoiônico 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (4.2), apresentou deslocamento químico de C-2 em torno de 162,2 e para C-5 em torno de 163,1 ppm, Tabela 5.11.

Tabela 5.11: Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C (DMSO- d_6) do cloreto de 4-fenil-5-(4-nitrofenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.

Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
2	162,2
5	163,1
6	133,5
7, 7'	128,8
8, 8'	124,9
9	155,9
10	138,4
11, 11'	123,8
12, 12'	131,4
13	126,0
14	138,6
15, 15'	117,9
16, 16'	128,8
17	125,4



5.3.1- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-01-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

No espectro de infravermelho observou-se uma banda média larga em 3425 cm^{-1} , devido ao estiramento da fenilamina exocíclica. A deformação axial da ligação C-N exocíclica foi observada em 1330 cm^{-1} , a absorção em 3059 cm^{-1} corresponde a deformação axial da ligação C-H de aromático. Enquanto que a deformações axiais das ligações C=C dos anéis benzênicos ocorrem em 1610 e 1566 cm^{-1} sobrepondo as deformações axiais do anel heterocíclico. (Espectro 8.1, página 111).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

A informação mais importante que podemos ter de um espectro de ^{13}C de compostos mesoiônicos é a presença dos carbonos do anel heterocíclico. A estrutura do composto MI-01-CL pode ser elucidada

comparando os dados obtidos com os da literatura já existentes (ATHAYDE-FILHO et al, 1996, ECHEVARRIA *et al*, 1995 e MACIEL *et al*, 1991).

No espectro de RMN ^{13}C APT (Espectro 8.2, página 111) de MI-01-CL, observou-se 15 sinais, dos quais oito são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 , seis de carbonos não hidrogenados do tipo sp^2 e um correspondendo ao grupo CF_3 . Estudos realizados por Lira mostrou que o sinal do carbono do grupo CF_3 aparece como três quartetos distintos devido ao acoplamento ^{13}C - ^{19}F (LIRA, 2004). A expansão do espectro (Espectro 8.3, página 112) permitiu reconhecer os sinais de quartetos correspondentes aos acoplamentos de ^{13}C - ^{19}F , cujas constantes de acoplamento a uma ligação $^1\text{J}_{\text{CF}} = 336,8$ Hz, duas ligações $^2\text{J}_{\text{CF}} = 32,25$ Hz e três ligações $^3\text{J}_{\text{CF}} = 3,45$ Hz foram atribuídas ao acoplamento de (C-F) em δ 123,96, (C-9) em δ 132,22 e (C-8, 8') em 126,04 ppm respectivamente. Os dois sinais de carbonos mais desblindados em 162,48 e 161,18 ppm foram atribuídos aos carbonos do anel heterocíclico (C-5) e (C-2) respectivamente. Assim, comparando os dados obtidos com os dados das Tabelas (5.9) e (5.11) pode-se propor para o composto MI-01-CL o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.

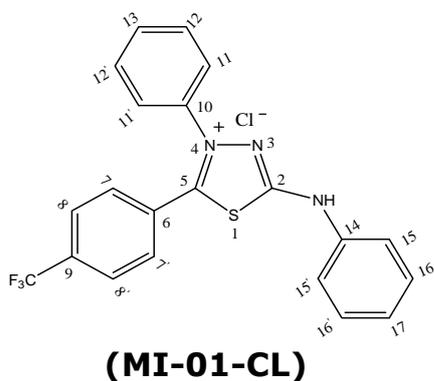
Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

Os espectros de RMN ^1H de compostos mesoiônicos que não tem hidrogênios ligados ao anel heterocíclico não contribui muito para a elucidação estrutural desta classe de compostos. Contudo, os compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato na forma de ácido conjugado apresentam uma absorção de pequena intensidade em torno de 4,0-3,5 ppm atribuída a ligação S-H exocíclica, enquanto que os compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida apresentam uma absorção em torno de 12 ppm atribuída a ligação N-H exocíclica. No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-01-CL (Espectro 8.4, página 112), apresentou um multiplete na região de

aromáticos de 8,0-7,1 ppm com integral para 14H e um singlete de pouca intensidade em 12,69 ppm com integral para 1H característico do grupo exocíclico NH. A absorção bastante intensa em torno de 3,5 ppm atribuímos ser da água presente em todos os compostos mesoiônicos como água de absorção, o sinal do (DMSO-d₆) ocorre em 2,5 ppm. Na tabela 5.12 está sumarizado as atribuições feitas para cada carbono e hidrogênio.

5.12: Dados dos espectros de RMN ¹H (200 MHz) e ¹³C (50 MHz) em (DMSO-d₆) de **MI-01-CL**. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

	Carbono δ(ppm)	δ(¹³C)	δ(¹H)
	2	161,18	-
	5	162,48	-
	6	131,23	-
	7, 7'	131,66	7,77 d(2H) 8,8 Hz
	8, 8'	126,04 q ³ J _{CF} =3,45 Hz	8,0 d(2H) 8,8 Hz
	9	132,22 q ² J _{CF} =32,25 Hz	-
	10	137,32	-
	11, 11'	124,11	7,69 dd(2H) 8 Hz
	12, 12'	131,55	7,61 t(2H) 9,6 Hz
	13	129,88	7,16 t(1H) 7,3 Hz
	14	138,32	-
	15, 15'	118,36	no
	16, 16'	131,32	7,44 t(2H) 5,8 Hz
	17	129,50	7,68 t(1H) 2,6 Hz
	CF ₃	123,96 q ¹ J _{CF} =336,8 Hz	-
	NH	-	3,57 s(1H)



5.3.2- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-02-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

A absorção da ligação S-H exocíclica é bem característica para os compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiol e ocorre em torno de 2770 cm^{-1} . O espectro de infravermelho do composto mesoiônico MI-02-CL apresentou uma absorção de deformação axial da ligação S-H em 2763 cm^{-1} . A absorção da deformação axial da ligação C-H aromático foi observada em 3062 cm^{-1} e as absorções em 1589 e 1529 cm^{-1} para as absorções de estiramento de C=C aromático. A absorção de carbonila de éster foi observada em 1741 cm^{-1} , enquanto que a deformação axial da ligação C-O ocorreu em 1205 cm^{-1} (Espectro 8.6, página 113).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

No espectro de RMN ^{13}C a 50 MHz (Espectro 8.7, página 114) de MI-02-CL, observou-se 18 sinais, dos quais dez são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 e um de carbono trihidrogenado do tipo sp^3 , seis são de carbonos não hidrogenados do tipo sp^2 e um correspondendo ao grupo C=O. A determinação da estrutura do composto MI-02-CL como pertencendo ao sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato foi verificada pela presença dos dois sinais do anel heterocíclico em 165,54 e 147,70 ppm atribuídos aos carbonos (C-2) e (C-5) respectivamente que está em boa concordância com os dados da literatura mostrados nas tabelas (5.9) e (5.10).

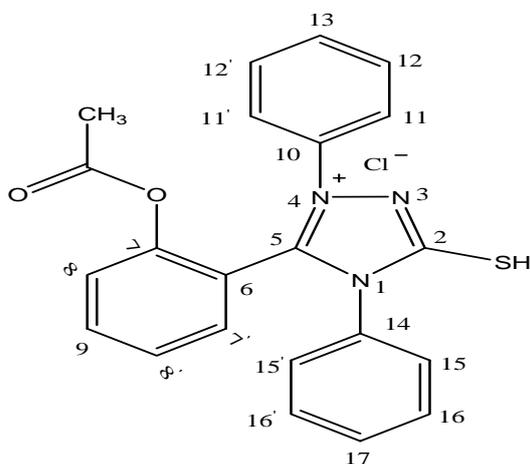
Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-02-CL (Espectro 8.10, página 115), apresentou um multiplete na região de aromáticos de

7,9-7,1 ppm com integral para 14H e dois singletos, um em 3,57 ppm com integral para 1H refere-se ao grupo SH exocíclico e o outro em 2,24 ppm com integral para 3H corresponde ao grupo metila do éster. A tabela 5.13 sumariza as atribuições feitas para cada carbono e hidrogênio.

Tabela 5.13: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) **MI-02-CL**.

	Carbono δ (ppm)	δ (^{13}C)	δ (^1H)
	2	165,54	-
	5	147,70	-
	6	124,00	-
	7	150,10	-
	7'	122,91	7,95 d(1H) 1,6 Hz
	8	119,12	7,91 d(1H) 1,4 Hz
	8'	117,00	7,46 t(2H) 8,6 Hz
	9	133,76	7,64 dd(1H) 0,6 Hz
	10	138,51	-
	11, 11'	123,72	7,69 dd(2H) 8 Hz
	12, 12'	131,31	6,92 t(1H) 8,4 Hz
	13	128,41	no
	14	138,59	-
	15, 15'	125,15	7,68 d(1H) 2,4 Hz
	16, 16'	130,67	no
	17	126,03	7,33 t(1H) 5 Hz
	CH ₃	20,78	2,24 s(3H)
	C=O	168,75	-
	SH	-	3,57 s(1H)



(MI-02-CL)

5.3.3- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-03-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

O espectro de infravermelho do composto mesoiônico MI-03-CL apresentou uma absorção em 3444 cm^{-1} da ligação N-H exocíclica, as absorções em 3147 e 3053 cm^{-1} , referem-se à deformação axial da ligação C-H aromática e C-H do anel furânico respectivamente. As absorções em 1574 e 1537 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento de C=C aromático, enquanto que a banda de absorção em 1620 cm^{-1} é atribuída a deformação da ligação C=N do anel heterocíclico. As absorções em 812 e 754 cm^{-1} referem-se às deformações angulares fora do plano da ligação C-H de aromático (Espectro 8.12, página 116).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

No espectro de RMN ^{13}C APT (Espectro 8.13, página 117) de MI-03-CL, observou-se 14 sinais, dos quais oito são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 e seis são de carbonos não hidrogenados do tipo sp^2 (Tabela 5.14). A estrutura correta do composto MI-03-CL pode ser determinada comparando os dados obtidos com os dados da literatura mostrados nas Tabelas 5.9 e 5.11. Os dois sinais do anel heterocíclico em 165,96 e 160,47 ppm atribuídos aos carbonos (C-5) e (C-2) respectivamente são condizentes com o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-03-CL (Espectro 8.16, página 118), apresentou um multiplete na região de aromáticos de

7,93-6,67 ppm com integral para 12H e um singlete em 13,18 ppm com integral para 1H referente ao grupo NH exocíclico.

Tabela 5.14: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de **MI-03-CL**.

	Carbono δ (ppm)	δ (^{13}C)	δ (^1H)
<p>(MI-03-CL)</p>	2	160,47	-
	5	165,96	-
	6	139,26	-
	7	106,31	6,73 d(1H) 2,8 Hz
	8	120,69	7,44 d(1H) 2,8 Hz
	9	150,69	-
	10	137,56	-
	11, 11'	124,43	7,57 d(1H) 8,4 Hz
	12, 12'	132,54	7,12 t(2H) 7,6 Hz
	13	130,49	7,74 t (1H) 2,7 Hz
	14	138,10	-
	15, 15'	118,50	6,66 d(2H) 3,0 Hz
	16, 16'	129,49	no
	17	125,68	6,73 t(1H) 6,8 Hz
	NH	-	13,2 s(1H)

5.3.4- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-04-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

O espectro de infravermelho do composto mesoiônico MI-04-CL apresentou como característica uma absorção de intensidade média em 1668 cm^{-1} (banda de amida I). A deformação axial da ligação C-H aromática em 3061 cm^{-1} e a deformação axial da ligação C=C do anel

benzênico em 1570-1495 cm^{-1} . Deformação angular fora do plano da ligação C-H ocorre em 754 e 605 cm^{-1} . A absorção forte em 1328 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação C-N (Espectro 8.18, página 119).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

No espectro de RMN ^{13}C APT (Espectro 8.19, página 120) de MI-04-CL, observou-se 19 sinais, dos quais doze são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 , seis são de carbonos não hidrogenados do tipo sp^2 e um refere-se ao sinal da carbonila da amida. Os dois sinais do anel heterocíclico em 164,41 e 160,02 ppm atribuídos aos carbonos (C-5) e (C-2) respectivamente, são condizentes com o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, o sinal em 169,77 ppm foi atribuído a carbonila de amida.

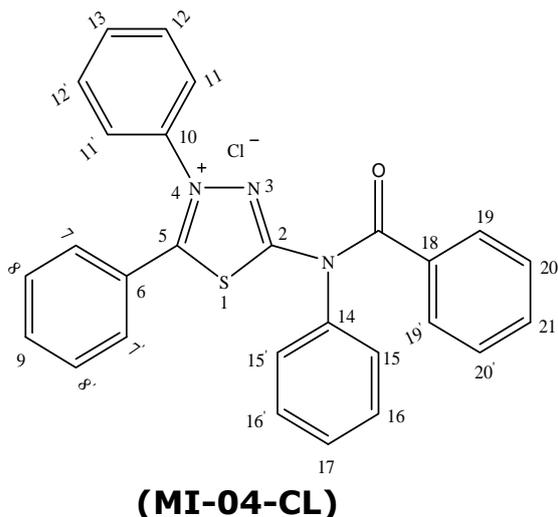
Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-04-CL (Espectro 8.22, página 121), apresentou apenas um multipeto na região de aromáticos de 7,7-7,1 ppm com integral para 20H, Tabela 5.15.

A atribuição correta de todos os sinais do espectro de ^{13}C do composto MI-04-CL pode ser feita comparando os dados obtidos com os dados das Tabelas 5.9 e 5.11.

Tabela 5.15: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de **MI-04-CL**.

	Carbono $\delta(\text{ppm})$	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$
	2	160,41	-
	5	164,02	-
	6	123,00	-
	7, 7'	129,44	7,42 d(2H) 7,4 Hz
	8, 8'	131,40	no
	9	129,40	no
	10	137,67	-
	11, 11'	123,92	7,63 d(2H) 2,2 Hz
	12, 12'	130,10	7,55 m(2H)
	13	127,41	7,54 sl (1H)
	14	138,48	-
	15, 15'	118,27	7,68 d(2H) 2,8 Hz
	16, 16'	131,36	7,61t(2H) 1,1 Hz
	17	129,25	7,16 t(1H) 7,4 Hz
	18	141,28	-
	19,19'	130,08	7,71 d(2H) 1,8 Hz
	20,20'	128,45	no
	21	128,14	7,51 t(2H) 4,4 Hz
	C=O	169,77	-



5.3.5- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-05-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

O espectro de infravermelho do composto mesoiônico MI-05-CL apresentou como característica uma banda de absorção larga em 3454 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação NH exocíclica e uma banda em 1611 cm^{-1} (banda de amida II). A deformação axial da ligação C-H aromática ocorre em 3060 cm^{-1} , enquanto que a deformação axial de C=C

dos anéis benzênicos ocorrem em 1569 e 1517 cm^{-1} . Na região de 896-696 apresentam bandas de absorção de deformação angular da ligação C-H fora do plano dos anéis aromáticos. As duas bandas de absorção fortes em 762 e 696 cm^{-1} são típicas de anel aromático monosubstituído, enquanto que a banda de absorção forte em 846 cm^{-1} é típica de anel aromático p-dissubstituído. A deformação axial de C-N ocorre em 1325 cm^{-1} . A identificação da absorção de deformação da ligação do grupo tiocarbonila (C=S) é frequentemente difícil e incerta, (Espectro 8.24, página 122).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

No espectro de RMN ^{13}C APT (Espectro 8.25, página 123) de MI-05-CL, observou-se 20 sinais, dos quais onze são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 e nove são de carbonos não hidrogenados, sendo oito sinais de carbono não hidrogenado do tipo sp^2 e um de carbono do tipo sp^3 . Os dois sinais do anel heterocíclico em 162,50 e 161,22 ppm atribuídos aos carbonos (C-5) e (C-2) respectivamente, são condizentes com o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, o sinal em 170,04 ppm foi atribuído a carbonila de tioamida. Foram observados acoplamentos de ^{13}C - ^{19}F como sinais de quartetos pertencentes ao grupo p-trifluormetil. A expansão do espectro (Espectro 8.28, página 124) permitiu reconhecer os sinais de quartetos correspondentes aos acoplamentos de ^{13}C - ^{19}F . As constantes de acoplamento a uma ligação $^1J_{\text{CF}} = 291,6$ Hz, duas ligações $^2J_{\text{CF}} = 32,2$ Hz e três ligações $^3J_{\text{CF}} = 3,43$ Hz foram atribuídas ao acoplamento de (C-F) em δ 123,5, (C-9) em δ 132,22 e (C-8, 8') em 126,02 ppm respectivamente estão em concordância com os da literatura (LIRA, 2004).

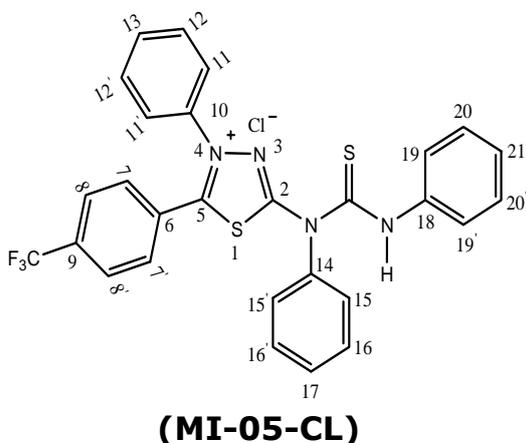
Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-05-CL (Espectro 8.29, página 125), apresentou um multiplete na faixa de 8,0-7,1 ppm com integral para 19H e um singlete em 3,56 ppm com integral para 1H que atribuímos ser da ligação N-H da tioamida, Tabela 5.16.

A atribuição correta de todos os sinais do espectro de ^{13}C do composto MI-05-CL pode ser feita comparando os dados obtidos com aqueles das Tabelas 5.9 e 5.11.

Tabela 5.16: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de **MI-05-CL**.

	Carbono $\delta(\text{ppm})$	$\delta(^{13}\text{C})$	$\delta(^1\text{H})$
	2	162,22	-
	5	162,50	-
	6	129,94	-
	7, 7'	129,87	7,4 d(2H) 11 Hz
	8, 8'	126,08 q $^3J = 3,43 \text{ Hz}$	7,9 d(2H) 8,4 Hz
	9	132,22 q $^2J = 32,2 \text{ Hz}$	-
	10	137,30	-
	11, 11'	124,10	7,77 d(2H) 8Hz
	12, 12'	131,58	7,61m(2H)
	13	129,20	7,48 sl(2H)
	14	138,31	-
	15, 15'	118,37	no
	16, 16'	128,90	7,44 t(2H) 5,8Hz
	17	125,54	7,68 t(1H) 2,6Hz
	18	135,62	-
	19, 19'	125,10	7,7 d(2H) 6 Hz
	20, 20'	131,30	7,16 t(2H) 7,6Hz
	21	129,40	7,42 sl(1H)
	C=S	170,04	-
	CF ₃	123,50 q $^1J = 291,6 \text{ Hz}$	-
	NH	-	3,56 s(1H)



5.3.6- Caracterização do cloridrato mesoiônico MI-07-CL

Espectro na região de Infravermelho (KBr, cm^{-1})

O espectro de infravermelho do composto mesoiônico MI-07-CL apresentou como característica uma banda de absorção larga em 3418 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação N-H exocíclica e uma banda em 1612 cm^{-1} de deformação axial do anel heterocíclico. A deformação axial da ligação C-H aromática ocorre em 3055 cm^{-1} , enquanto que a deformação axial de C=C aromática ocorre em 1561 e 1489 cm^{-1} . Na região de 719 e 598 apresenta bandas de absorção do estiramento angular da ligação C-H fora do plano, características de anéis benzênicos monosubstituídos, (Espectro 8.31, página 1126).

Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 50 MHz)

No espectro de RMN ^{13}C a 50 MHz (Espectro 8.32, página 126) de MI-07-CL, observou-se 14 sinais, dos quais nove são de carbonos monohidrogenados de aromáticos do tipo sp^2 e cinco são de carbonos não hidrogenados do tipo sp^2 . Os dois sinais do anel heterocíclico em $164,18$ e $160,61$ ppm atribuídos aos carbonos (C-5) e (C-2) respectivamente são condizentes com o sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminado.

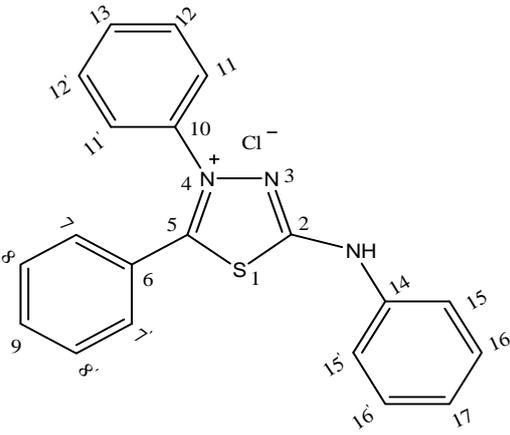
Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz)

No espectro de RMN ^1H do composto mesoiônico MI-07-CL (Espectro 8.34, página 127), foi observado um multipeto na região de aromáticos

de 7,8-7,1 ppm com integral para 15H e um singleto em 12,57 ppm com integral para 1H que atribuímos ser da ligação N-H exocíclica, Tabela 5.17.

A atribuição correta de todos os sinais do espectro de ^{13}C do composto MI-07-CL pode ser feita comparando os dados obtidos com os dados das Tabelas 4.9 e 4.11.

Tabela 5.17: Dados dos espectros de RMN ^1H (200 MHz) e ^{13}C (50 MHz) em (DMSO- d_6) de **MI-07-CL**.

	Carbono δ (ppm)	δ (^{13}C)	δ (^1H)
 <p>(MI-07-CL)</p>	2	160,61	-
	5	164,18	-
	6	123,10	-
	7, 7'	129,49	7,42 d(2H) 7,4 Hz
	8, 8'	126,08	no
	9	129,84	no
	10	137,63	-
	11, 11'	124,00	7,63 d(2H) 2,2 Hz
	12, 12'	133,12	7,55 m(2H)
	13	130,10	no
	14	138,38	-
	15, 15'	118,33	7,68 d(2H) 2,8 Hz
	16, 16'	131,38	7,61t(2H) 1,1 Hz
	17	129,23	7,16 t(1H) 7,4 Hz
	NH	-	12,5 s(1H)

5.4-Discussão dos estudos biológicos

Considerando que os compostos mesoiônicos são mundialmente conhecidos por suas excelentes atividades biológicas (item 3.6, página 22) e devido a grande possibilidade dos novos compostos mesoiônicos

sintetizados neste trabalho, pertencentes aos sistemas 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida todos na forma de cloridratos apresentarem atividade, resolvemos disponibilizar os novos compostos heterocíclicos mesoiônicos sintetizados para alguns grupos de pesquisa na área farmacológica, com o intuito de se descobrir novas atividades para estes compostos.

5.4.1-Atividade antifúngica dos cloridratos mesoiônicos

No estudo (item 4.6.1, pág 52) foram utilizados cinco compostos mesoiônicos para os testes de atividade antifúngica, (MI-01-CL), (MI-02-CL), (MI-03-CL), (MI-04-CL) e (MI-05-CL), Figura 5.3, todos na forma de cloridratos obtidos a partir das sínteses descritas no item 4.5 página 45.

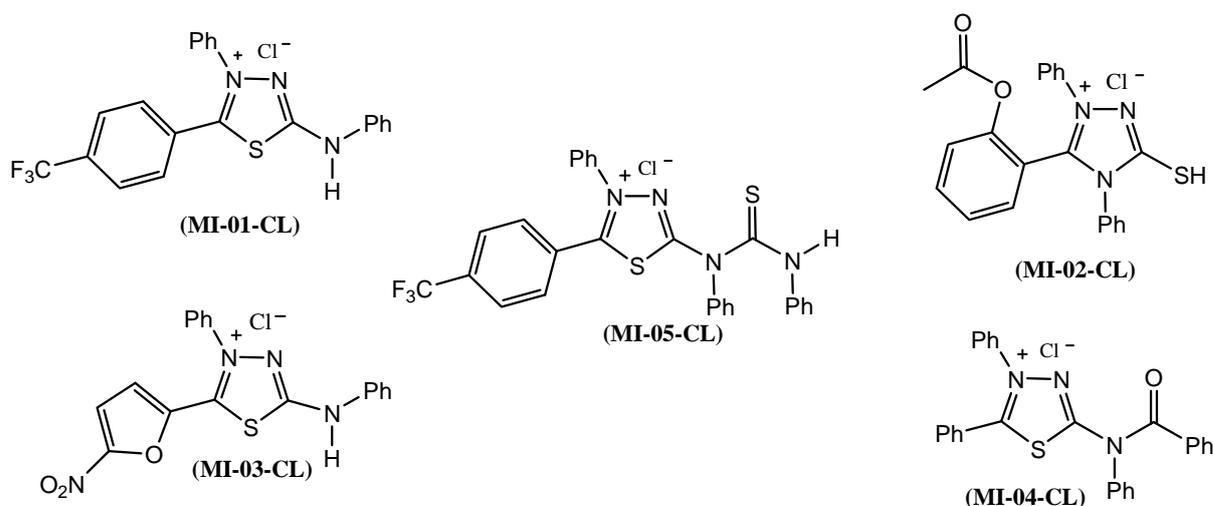


Figura 5.3: Estruturas dos cloridratos mesoiônicos testados na avaliação de atividade antifúngica.

A atividade antifúngica destes compostos foi verificada pelo método de difusão em meio sólido e os resultados obtidos frente às onze espécies fúngicas, estão representados na Tabela 5.18. As suspensões das amostras testadas foram preparadas em DMSO, ficando cada amostra com uma concentração de 1,0 mg/ml.

Os halos de inibição (HI) foram medidos após um tempo de incubação para os microrganismos. Foi considerado positivo, o produto que inibiu o crescimento dos microrganismos produzindo halos de inibição (HI) igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

Tabela 5.18: Resultados da avaliação da atividade antifúngica (em mm) de compostos mesoiônicos contra leveduras, em meio sólido.

Compostos (MI)	Microrganismos*										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
MI-01-CL	8	0	10	0	0	8	0	0	7	0	0
MI-02-CL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MI-03-CL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MI-04-CL	12	10	12	0	0	0	0	0	8	0	0
MI-05-CL	12	14	14	0	0	0	0	0	12	0	0
Controle do Microrganismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle com Cetoconazol	18	18	17	20	0	0	0	10	12	12	14

* (1=*C. albicans* (ATCC 6258); 2=*C. albicans* (ATCC 13803); 3=*C. albicans* (ATCC 90028); 4=*C. albicans* (ATCC 76615); 5=*Candida Krusei* (ATCC 6258); 6=*Candida guilliermondii* (LM 011); 7=*Candida tropicalis* (LM 32); 8=*Candida tropicalis* (LM 37); 9=*Candida tropicalis* (LM 759); 10=*Trichosporon inkin* (LM 063); 11=*Trichosporon inkin* (LM 067).

Na avaliação da atividade antifúngica dos compostos mesoiônicos, os resultados obtidos mostram que os mesoiônicos (MI-02-CL) e (MI-03-CL), não foram eficientes para inibirem o desenvolvimento dos microrganismos testados. Mas, partes das espécies de leveduras mostraram sensibilidade frente a alguns compostos (Tabela 5.18). Assim, os compostos (MI-01-CL), (MI-04-CL) e (MI-05-CL), inibiram o crescimento de *C. albicans*, onde a média dos halos de inibição foi entre 10 a 14 mm de diâmetro. O composto (MI-05-CL) foi o mais ativo dos compostos avaliados, inibindo quatro dos onze microrganismos testados. O composto MI-05-CL com halo de inibição de 14 mm frente a *C. albicans* (ATCC 13803 e ATCC 90028) foi apenas 22,2% menos potente do que o padrão cetoconazol. A cepa *C. tropicalis* (LM 759) mostrou-se sensível ao composto (MI-05-CL), o qual

foi tão potente quanto o cetoconazol produzindo halo de inibição de 12 mm. As espécies *C. guilliermondii*, *C. krusi* e *T. inkin* apresentaram-se resistentes aos compostos estudados.

Analisado os resultados obtidos no presente estudo e comparando os compostos (MI-01-CL), (MI-04-CL) e (MI-05-CL), o composto mesoiônico (MI-01-CL) foi o menos eficaz dos compostos analisados, inibindo apenas o crescimento de *C. albicans* (ATCC 90028) com halo de inibição de 10 mm, sendo, portanto, 41,2% menos potente do que o padrão cetoconazol que apresentou halo de inibição de 17 mm.

5.4.2-Atividade antibacteriana dos cloridratos MI-02-CL e MI-03-CL

Ensaio Bacteriológico

Para os ensaios de atividade antibacteriana foram utilizadas três linhagens de bactérias, AS-1199B que superexpressa o gene *norA* codificador da proteína NorA de efluxo do norfloxacinol e outras drogas (KAATZ *et al*, 1993) e (KAATZ e SEO, 1995), RN4220 a qual possui o plasmídeo que carrega o gene codificador da proteína de efluxo para macrolídeos e IS-58 a qual possui a proteína de efluxo TetK tetraciclina.

Bomba de efluxo são proteínas integrantes da membrana plasmática bacteriana e que tem sido responsabilizada por diversos casos de resistências a drogas, as quais são expelidas para fora da célula (PIDDOCK, 2006). Modificadores da atividade antibiótica é um termo usado para substâncias que modulam ou mesmo reverte a resistência bacteriana a certos antibióticos. Logo, disponibilizamos os compostos mesoiônicos 1,4-difenil-5-(2-acetil-fenil)-1,3,4-triazólio-2-tiol (MI-02-CL) e 4-fenil-5(5-nitro-2-furanil)-1,3,4-tiadiazólio-fenilaminida (MI-03-CL) ao professor José P. Siqueira-Júnior coordenador do Laboratório de Genética de Microrganismos do Departamento de Biologia Molecular (UFPB) para se

avaliar efeito modulador da resistência a drogas usando uma linhagem de *Staphylococcus aureus* portadora de bomba de efluxo.

Inicialmente foi verificada a atividade anti-estafilocócica dos compostos mesoiônicos em que a concentração mínima inibitória (CIM) foi definida como a menor concentração que inibia completamente o crescimento bacteriano. Foi observado que somente o composto MI-03-CL apresentou atividade anti-estafilocócica relevante (Tabela 5.19) apresentando CIM de 64 µg/ml para as três linhagens utilizadas.

Tabela 5.19: Atividade antimicrobiana dos cloridratos mesoiônicos

Linhagens	Compostos Mesoiônicos-CIM (µg/ml)	
	MI-02-CL	MI-03-CL
IS-58 (TetK)	≥512µg/ml	64 µg/ml
RN-4220 (MrsA)	≥512µg/ml	64 µg/ml
SA-1199B (NorA)	≥512µg/ml	64 µg/ml

Para a avaliação do composto mesoiônico MI-03-CL como modulador da resistência, a CIM de (Tetraciclina, Eritromicina e Norfloxacina) foram determinadas na presença do composto mesoiônico numa concentração subinibitória (Tabela 5.20).

Tabela 5.20: Atividade Moduladora do cloridrato mesoiônico MI-03-CL.

Linhagens/Antibiótico	Composto Mesoiônico-CIM(µg/ml)	
	- MI-03-CL	+ MI-03-CL (16µg/ml)*
IS-58 (TetK)/ Tetraciclina	32	1(32)**
RN-4220 (MrsA)/ Eritromicina	256	64(4)
SA-1199B (NorA)/ Norfloxacina	64	64

* três experimentos realizados

** entre parênteses, os fatores de redução da (CIM)

(-) na ausência do composto mesoiônico

(+) na presença do composto mesoiônico

Na Tabela 5.20, verifica-se que na ausência do composto mesoiônico no meio de cultura, a CIM de Tetraciclina, Eritromicina e Norfloxacina

foram 32, 256 e 64 µg/ml respectivamente, na presença do composto mesoiônico a CIM da tetraciclina observada foi de 1µg/ml (redução de 32X) e a CIM da Eritromicina foi observada de 64µg/ml (redução de 4X), enquanto que a Norfloxacinina não teve nenhuma redução observada.

Os resultados observados mostram a relevância da avaliação do composto mesoiônico MI-03-CL como inibidor putativo de bomba de efluxo, ou seja, potencial adjuvante de antibióticos.

CAPÍTULO 6
CONCLUSÕES E
PESPECTIVAS

6.0-Conclusões e Perspectivas

6.1-Conclusões

- A metodologia de síntese utilizada mostrou-se bastante eficaz à preparação dos cloridratos mesoiônicos.
- Foram sintetizados e caracterizados cinco heterocíclicos inéditos pertencentes à classe dos compostos mesoiônicos, sendo quatro do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e um do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato.
- Os novos compostos heterocíclicos mesoiônicos foram obtidos com rendimentos entre 59 a 96 %.
- As estruturas químicas dos novos compostos heterocíclicos mesoiônicos foram elucidadas por meio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C uni (1D) e infravermelho.
- Estudos microbiológicos mostraram que os compostos MI-01-CL, MI-04-CL e MI-05-CL apresentaram atividade contra algumas espécies de leveduras. Sendo o composto MI-01-CL o mais ativo, inibindo 4 das 11 espécies de leveduras testadas. Contra a *C. tropicalis* (LM 759) foi tão potente quanto o cetoconazol.
- O ensaio antibacteriano mostrou que o composto MI-03-CL apresentou atividade anti-estafilocócica relevante e uma substância moduladora de bomba de efluxo, apresentando potencialidade como um adjuvante de antibióticos.

6.2-Perspectivas

- Realizar um screening farmacológico para avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos heterocíclicos mesoiônicos sintetizados.

- Realizar estudos de RMN em estado sólido para melhor caracterizar o composto MI-06-CL.

- Realizar estudos da Relação Estrutura Atividade (SAR) dos novos derivados mesoiônicos.

- Avaliar a reatividade química do composto MI-01-CL como nucleófilo nas reações de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) e adição nucleofílica-eliminação com alguns substratos, tais como: haletos de alquila e cloretos de ácidos.

- Realizar estudos termoanalíticos e cinéticos dos compostos heterocíclicos mesoiônicos.

CAPÍTULO 7
REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

7.0-Referências Bibliográficas

- ARECES, P.; AVALOS, M.; BABIANO, R.; GONZALEZ, L.; JIMINEZ, J. L.; MENDEZ, M. M.; PALACIOS, J. C, diastereoselective synthesis of chiral thiiranes by 1,3-dipolar cycloaddition of imidazo[2,1-b]thiazolium-4-olate systems with aromatic aldehydes, *Tetrahedron Lett.*, **34**: 2999, 1993.
- ASHTON, W. H.; CHANG, L. L.; FLANAGAN, K. L.; HUTCHINS, S. M.; NAYLOR, E. M.; CHAKRAVARTY, P. K. Triazolinone biphenylsulfonamide derivatives as orally active angiotensin II antagonists with potent AT1 receptor affinity and enhanced AT2 affinity, *J. Med. Chem.* **37**: 2808, 1994.
- ASHTON, W. T.; CANTONE, C. L.; CHANG, L. L.; HUTCHINS, S. M.; STRELITZ, R. A.; MACCOSS, M.; CHANG, R. S.; LOTTI, V. J.; FAUST, K. A.; CHEN, T. B, Nonpeptide angiotensin II antagonists derived from 4H-1,2,4-triazoles and 3H-imidazo[1,2-b][1,2,4]triazoles. *J. Med. Chem.*, **36**: 591, 1993.
- ATHAYDE-FILHO, P. F.; SIMAS, A. M.; MILLER, J.; CHIAPETA, K. X. Synthesis and Characterization and Evaluation of the Activity of Ten Mesoionic Compounds Against Microorganism, *Acta, Farmacéutica Bonaerense*, **18(1)**: 1999.
- ATHAYDE-FILHO, P. F.; MILLER, J.; THOMAS, G.; ARAÚJO, C. C. Synthesis and Spasmolytic Activity of Mesoionic 1,4-diphenyl-5-(5-nitro-2-furanyl)-13,4-triazolium-2-thiolate Hydrochloride; *Heterocyclic Communication*, **2(6)**: 1996.

- ATHAYDE-FILHO, P. F.; SIMAS, A. M.; MILLER, J. Mesoionic compounds: Amphiphilic heterocyclic betaines. *Synthesis, Journal of Synthetic Organic Chemistry*, **2000(11): 1565-1568, 2000.**
- AVALOS, M.; BABIANO, R.; CINTAS, P.; DÍAZ, J.; JIMÉNEZ, J.; L.; LÓPEZ, I.; PALACIOS, J. C. On the reactivity of 2-alkyl-1,3-thiazolium-4-olates toward electrophiles, *Tetrahedron*, **62:11979-11986, 2006.**
- AVALOS, M.; BABIANO, R.; CABANILLAS, A.; CINTAS, P.; DIANEZ, M. J.; ESTRADA, M. D.; JIMENEZ, J. L. A novel highly diastereoselective synthesis of chiral dihydrothiophenes from mesoionic compounds, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2213, 1995.**
- BAKER, W.; OLLIS, W. D.; POOLE, V. D. *Cyclic mesoionic compounds. Part I. the structure of the sydnones and related compounds*, *J. Chem. Soc.* **307, 1949.**
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (PRONFAR), *Quim. Nova*, **28: S56-S63, 2005.**
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; *Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos*, **2ª ed., Ed. Artmed: Porto Alegre, 2008.**
- BAWER, A. W. M. M.; KIRBY, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45: 493-496, 1996.**
- BELKADI, M.; OTHMAN, A. A., A common route to the synthesis of 1,3,4-oxatriazole-2-thione and 1,2,4-triazole-3-thiols derivatives of trioses

and pentoses as models for acyclic C-nucleosides. *ARKIVOK*, **2006**
(xi) 183-195.

BERGER, W.; SCHWETLICK, K.; SEILER, E. *Organikum: Química Orgânica Experimental*, 2^{ed}, 1997.

BROWN, E. J.; NUNN, E. E.; POLYA, J. B. 2-Oxazolin-4-ones and their conversion into 3-hydroxymethyl-1,2,4-triazoles, *J. Chem. Soc. (C)*, **1515, 1970.**

BUSCH, M, *Ber. dt. Chem. Ges.* **28: 2635, 1895.**

BUTLER, R. N.; COYNE, A. G.; MCARDLE, P.; SIBLEY, L. M.; BURKE, L. A. Uncharacteristic thione behavior in a Huisgen cycloaddition reaction: a kinetic and theoretical study, *Tetrahedron Letters*. **48: 6684-6687, 2007.**

CADWELL, G. W. The new pre-preclinical paradigm: compound optimization in early and late phase drug discovery, *Curr. Top. Med. Chem.* **1: 353, 2001.**

CANTILLO, D.; AVALOS, M.; BABIANO, R.; CINTAS, P.; JIMÉNEZ, J. L.; LIGHT, M. E.; PALACIOS, J. C. Stepwise cycloadditions of mesoionic systems: thionation of thioisomunchnones by isothiocyanates, *Organic Letters*, **10(6): 1079-1082, 2008.**

CARLOS, A.C.; MACIEL, G. S.; RAKOV, N.; ARAÚJO, C. B.; ACIOLI, L. H.; SIMAS, A. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; MILLER, J., Probing the nuclear susceptibility of mesoionic compounds using two-beam coupling with chirp-controlled pulses. *Chemical Physics Letters*, **449:101-106, 2007.**

- CHEN, S.; KAO, Y. C.; LAUGHTON, C. A. Binding characteristics of aromatase inhibitors and phytoestrogens to human aromatase, *J. Steroid Biochem.* **61: 107, 1997.**
- CHEUNG, K. K.; ECHEVARRIA, A.; GALEMBECK, S. E.; MACIEL, M. A. M.; MILLER, J. Mesoionic compounds .3. Structure of the hydrochloride of 5-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine. *Acta. Cryst.* 48: 1471-1474, 1992.
- CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials "*in vitro*" and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, Williams & Wilkins, **739-788, 1991.**
- CUSHMAN, D. W.; CHEUNG, H. S.; SABO, E. F.; ONDETTI, M. A. Development and design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme, *The American Journal of Cardiology*, **49: 1390, 1982.**
- EARL, J. C.; MACKNEY, A. W. The Action of Acetic Anhydride on N-Nitrosophenylglycine and Some of its Derivatives, *J. Chem. Soc.* **899, 1935.**
- EARLE, J. M.; ABDUR-RASHID, A.; PRIESTLEY, D. N, Large Scale Synthesis of Cyclodiphospho-D-glycerate, *J. Org. chem.* **61: 5697-5700, 1996.**
- ECHEVARRIA, A.; GALEMBECK, S. E.; MACIEL, M. A. M.; MILLER, J.; MONTANARI, C. A.; RUMJANEK, V. M. SIMAS, A. M.; SANDALL, J. B. P. Reaction of Aroyl Chlorides with 1,4-diphenyl-Thiosemicarbazide: Formation of Both 1,3,4-thiadiazolium-2-aminides and 1,3,4-triazolium-2-thiolate, *Heterocyclic Communication*, **1(2-3): 1995.**

- FERREIRA, W. S., *Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminidas*, Soropédica, Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, UFRRJ, Dissertação de Mestrado, 2006.
- FERREIRA, W. S.; LIMA, L. F.; SARAIVA, V. B.; SILVA, F. A.; PREVIATO, L. M.; PREVIATO, J. O.; ECHEVARRIA, A.; LIMA, M. E. F. Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: Chemical and biological studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**: 2984–2991, 2008.
- FISCHER, E.; BESTHORN, E., *Annalen*, **212**: 316, 1882.
- FONSECA, T.L.; OLIVEIRA, H.C.B.; CASTRO, M.A. theoretical study of the lowest electronic transition of sulfur-bearing mesoionic compounds in gas-phase and in dimethyl sulfoxide, *Chemical Physics Letters*, **457**: 119–123 2008.
- FOROUGHIFAR, N.; MOBINIKHALEDI, A.; EBRAHIMI, S.; MOGHANIAN, H, Synthesis of a new class of azathia crown macrocycles containing two 1,2,4-triazole or two 1,3,4-thiadiazole rings as subunits, *Tetrahedron Letters*, **50**: 836-839, 2009.
- GANELLIN, C. R.; *Drug Discovery Today*, **9**: 158, 2004.
- GOUBERT, M.; TOUPET, L.; SINIBALDI, M.; CANET, I. Synthetic studies towards 4,10-diaza-1,7-dioxaspiro[5,5]-undecanes: access to 3-aza-6,8-dioxabicyclo[3,2,1]octan-2-one and 2H-1,4-oxazin-3(4H)-one frameworks, *Tetrahedron*, **63**: 8255-8266, 2007.
- GRIBBLE, W. G.; PELKEY, E. T.; SIMON, W. M.; TRUJILLO, H. A. Regioslective 1,3-dipolar cycloaddition reaction of unsymmetrical nitriles (1,3-oxazolium-5-olates) with 2- and 3-nitroindoles. A

new synthesis of pyrrolo[3,4-b]indoles, *Tetrahedron*, **56: 10133-10140, 2000.**

GRYNBERG, N.; SANTOS, A. C.; ECHEVARRIA, A., Synthesis and in vivo antitumor activity of new heterocyclic derivatives of the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminida class. *Anticancer*. **8(1): 88-91, 1997.**

GUSTAVO, L.; Moura, C.; SIMAS, A. M., Two-Photon Absorption Cross-Sections from Electronic Structure Methods: Mesoionic Compounds, *Chem. Mater*, **20: 4142–4155, 2008.**

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. *Phytochemical Analyses*, **11: 137-147, 2000.**

HALILA, C.G.; OLIVEIRA, M. B. M.; ECHEVARRIA, A.; BELÉM, A. C.; ROCHA, M. E. M.; CARNIERI, E. G. S.; MARTINEZ, G. R.; NOLETO, G. R.; CADENA, S. M. S. C. Effect of sydnone SYD-1, a mesoionic compound, on energy-linked functions of rat liver mitochondria, *Chemico-Biological Interactions*, **169:160-170, 2007.**

HUANG, H. C.; REITZ, D. B.; OLINS, G. M.; CORPUS, V. M.; MCMAHON, E. G, Synthesis and structure-activity relationships of nonpeptide, potent triazolone-based angiotensin II receptor antagonists, *J. Med. Chem.* **36: 2172, 1993.**

KAATZ, GW.; SEO, SM.; RUBLE, CA. Efflux-mediated fluroquinolone resistance in *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents. Chemother* **37: 1086-1094, 1993.**

KAATZ, GW; SEO, GM., Inducible NorA-mediated multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agentts Chemother*, **39: 2650-2655, 1995.**

- KAPPE, C. O.; STADLER, A. Microwave-Assisted Combinatorial Chemistry, in *Microwaves in Organic Synthesis*, A. Loupy, (ed.), Wiley-VCH, 2002, p. 405.
- KAUFMAN, D.; WRIGTH, G.; KROEMER, R.; ENGEL, J. New" compounds from old plastics: recycling PET plastics via depolymerization. An activity for the undergraduate organic lab, *J. Chem. Educ.* **76**: 1525-1526, 1999.
- KENAR, A. J.; KNOTHEK, G. 1,2-Isopropylidene Glycerol Carbonate: preparation, Characterization, and Hydrolyses. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **85**: 365-372, 2008.
- KHIALIKOV, SH. KH.; KODIROV, M.; ALIEVA, V. S, Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Acetylsalicylamino Acids and Peptides, *Chemistry of Natural compounds*, **42**: 2, 2006.
- KIER, L. B.; ROCHE, E. B.; Medicinal chemistry of the mesoionic compounds, *Washington DC*, **56**: 2, 149-168, 1967.
- LÍDIA, M. L. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. *Quim. Nova*, **30(6)**: 1456-1468, 2007.
- LIDSTROM, P.; TIERNEY, J.; WATHEY, B.; WESTMAN, J, Microwave assisted organic synthesis: a review *Tetrahedron*, **57**: 9225, 2001.
- LIRA, B.F, *Síntese e caracterização de novos derivados mesoiônicos para aplicação de óptica não-linear e atividade biológica*, Recife, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPE, 2004, Tese de Doutorado, 224p.

LIRA, B. F.; MILLER, J.; SIMAS, A. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; DIAS, A. F.; SILVA, R. O.; OLIVEIRA, V. C. Synthesis and complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR spectra of mesoionic 2-(p-trifluormethylphenyl)-3-methyl-4-(p-tolyl)-1,3-thiazolium-5-thiolate and 2-(p-chlorophenyl)-3-methyl-4-(p-isopropylphenyl)-1,3-thiazolium-5-thiolate, *Arkivoc (VI)* **12-21**, 2004.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE III, J. A., guide to drug discovery: The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now *Nat. Rev. Drug Discovery*, **3**: 853, 2004.

MACIEL, M. A. M.; ECHEVARRIA, A.; RUMJANEK, V. M, Isolamento e Caracterização de Acil-Tiosemicarbazidas Como Intermediários na Síntese de Compostos Mesoiónicos, *Química Nova*, **21(5)**: 569-572, 1998.

MACIEL, M. A. M.; ECHEVARRIA, A.; RUMJANEK, V.M, *Quím. Nova*, **21**: 569-572, 1991.

MAGGON, K.; *Drug Discovery Today*, **10**: 739, 2005.

MONTANARI, A. C.; SANDALL, J. P. B.; MIYATA, Y.; MILLER, J. Structural Studies on some 1,3,4-thiadiazolium-2-aminides and their Rearrangement Isomers using ^{15}N and ^{13}C NMR Spectroscopy, *J. Chem. Soc. Perkin 2*, 2571-2575, 1994.

MONTANARI, C. A.; A química medicinal na próxima década. *Quim. Nova*, **23(1)**: 134-137, 1999.

MONTANARI, C. A.; AMARAL, A. T. Química medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. *Quim. Nova*. **25**: Supl. 1, 39-44, 2002.

MOURA, G. L. C.; Dissertação de Mestrado, DQF-UFPE (1996).

NAQVI, S. H.; KILIAN, M. S. Y.; VOHORA, S. B. Anti-bacterial, antifungal and antihelminthic investigations on Indian medicinal plants. *Fitoterapia*, **62(3): 221-228, 1991.**

NATTINAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: **NCCLS, 2000.**

NEWTON, C. G.; RAMSDEN, C. A. Meso-ionic heterocycles. *Tetrahedron*, **38: 20, 2965-3011, 1982.**

OLIVEIRA, M. B.; MILLER, J.; PEREIRA, A. B.; GALEMBECK, S. E.; MOURA, G. L. C.; SIMAS, A. M. *Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements*, **108: 75, 1996.**

OLIVEIRA, R.B.; FAGUNDES, E. M. S.; SOARES, R. P. P.; ANDRADE, A. A.; KRETTLI, A. U.; ZANI, C. L. Synthesis and antimalarial activity of semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives, *European Journal Medicinal Chemistry*, **43: 1983-1988, 2008.**

OLLIS, W. D.; RAMSDEN, C. A., Meso-ionic compounds. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, **19(1): 1-121, 1976.**

PADWA, A.; EDWARD, B. M.; GINGRICH, H. L.; ROUSH, D. M, On the problem of regioselectivity in the 1,3-dipolar cycloaddition reaction of nitriloxides and sydnone with acetylenic dipolarophiles, *J. Org. Chem.* **47: 786-791, 1982.**

PADWA, A.; PREIN, M. Facial Diastereoselection in [3+2]-Cycloadditions of Isomeric Nitriloxone Dipoles, *J. Org. Chem.*, **62: 6842-6854, 1997.**

- PELLISSIER, H., Asymmetric 1,3-dipolar cycloadditions. *Tetrahedron*, **63**: 3235-3285, 2007.
- PEREIRA, B. A, *Betaínas heterocíclicas: aspectos sintéticos e estruturais de alguns derivados mesoiônicos*, São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Química, USP, 1988, Tese de Doutorado, 85p.
- PERREAUX, L.; LOUPY, A., A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations *Tetrahedron*. **57**: 9199, 2001.
- PIDDOCK, L.J.V. Clinically relevant chromosomally emcoded multidrug resistance efflux pumps im bacterial. *Clin. Microbiol Rev*, **19**: 382-402, 2006.
- PILLA, V.; ARAÚJO, C. B.; LIRA, B. F.; SIMAS, A. M.; MILLER, J.; ATHAYDE-FILHO, P. F. Nonlinear absorption of new mesoionic compounds. *Optics Communications* **264**: 225–228, 2006.
- POLYA, J. B., *Comp. Heterocycl. Chem.* **5**: 733, 1984.
- POZHARSKÜ, A. F.; SOLDATENKOV, A. T.; KATRITZKY, A. R., In *Heterocyclics in life and society*. Chichester: *John Wiley & Sons*, 1997. 301p.
- RODRIGUES, R. F.; SILVA, E. F.; ECHEVARRIA, A.; BONIN, R. F.; AMARAL, V. F.; LEON, L. L.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M. A comparitive study of mesoionic compounds im leishmania sp and toxicity evaluation. *European Journal of Chemistry*, **42**: 1039-1043, 2007.

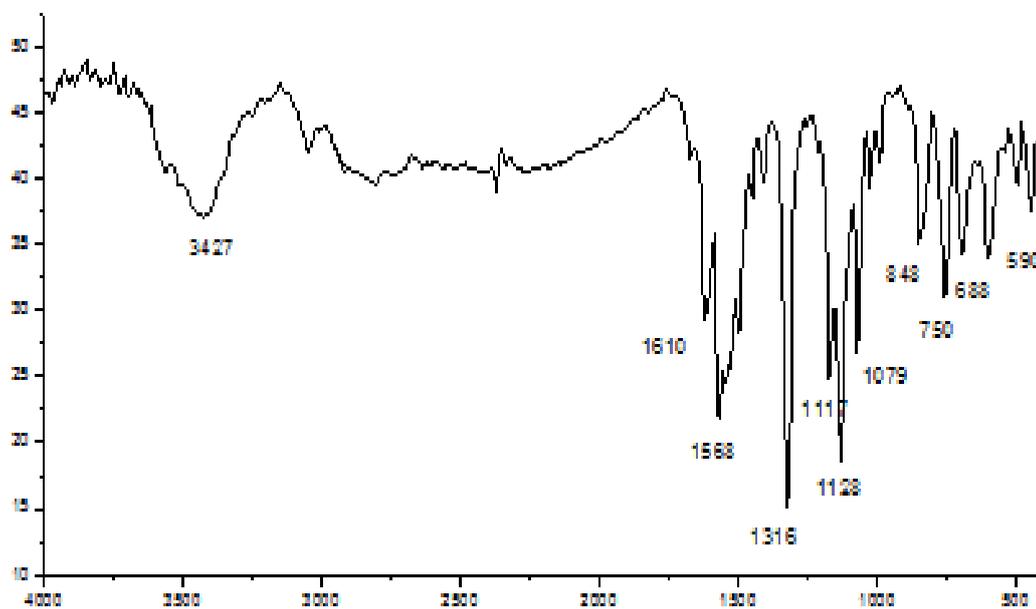
- SATHEESHA RAI, N.; KALLURAYA, B.; LINGAPPA, B.; SHENOY, S.; PURANIC, V. G, Convenient access to 1,3,4-trisubstituted pyrazoles carrying 5-nitrothiophene moiety via 1,3-dipolar cycloaddition of sydnones with acetylenic ketones and their antimicrobial evaluation, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **43:1715-1720, 2008**.
- SENF-FRIBEIRO, A.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F., Antimelanoma activity of 1,3,4- thiadiazolium mesoionic: a estrutura-activity relationship study. *Anti-cancer Drugs* **15 (3): 269-275, 2004a**.
- SENF-FRIBEIRO, A.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F., Cytotoxic effect of a new 1,3,4-thiadiazolium mesoionic compound (MI-D) on cell lines of human melanoma. *British J. Cancer* **91(2): 297-304, 2004b**.
- SHAKER, R. M., The chemistry of mercapto-and thione-substituted 1,2,4-triazoles and their utility in heterocyclic synthesis, *Arkivoc* (ix), **59-112, 2006**.
- SHAKER, R. M.; MAHMOUND, A. F.; ABDEL-LATIF, F. F, Synthesis and biological activities of novel 1,4-bridged bis-1,2,4-triazoles, bis-1,3,4-thiadiazoles and bis-1,3,4-oxadiazoles *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **180: 397, 2005**.
- SHEN, G. Y.; ROBINS, R. K.; RAVANKER, G. R., *Nucleosides, Nucleotides*. **10: 1707, 1991**.
- SHIH, M. H.; TSAI, C. H.; WANG, Y, Microwave-assisted synthesis of sydnonyl-substituted imidazoles. *Tetrahedron*, **63: 2990–2999, 2007**.
- SILVA, E. F.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; BRAZ, V. R.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; LEON, L. L.; ECHEVARRIA, A. Synthesis, and biological evaluation of new 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine

- derivatives against leishmania amazonensis promastigotes and amastigotes, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **37**: 979-984, **2002**.
- SMITH, R. A.; KIRKPATRICK, W., A Broad Spectrum Antiviral Agent, *Acad. Press*, New York, **1985**, p. **49**.
- SPINACÉ, M. A. S.; DE PAOLI, M. A. A. Tecnologia da Reciclagem de Polímeros. *Quim. Nova*. **28**: 65-72, **2005**.
- STEWART, T. G.; KIER, L. B., Synthesis of several mesoionic 1,3,4-thiadiazoles. *J. Pharm. Sci.* **54 (5)**: 731-734, **1965**.
- TARRAGO, G.; MAEZIN, C.; NAJIMI, O.; PELLEGRIN, V, New tetraheterocyclic macrocycles containing triazole, pyrazole, pyridine, and/or furan subunits. Synthesis and cation-binding properties, *J. Org. Chem.* **55**: 420, **1990**.
- TIBONI, G. M, Second branchial arch anomalies induced by fluconazole, a bis-triazole antifungal agent, in cultured mouse embryos *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol*, **79**: 381, **1993**.
- VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: A flexibilidade dos ligantes e receptores. *Quim. Nova*, **28(1)**: 95-102, **2005**.
- WERMUTH, C. G. The Practice of Medicinal Chemistry, 2nd ed., Academic Press: London, **2003**, p. **29**.
- WOUNG-LEUNG, Y. L. Antimicrobial activities of some Hon-Kong plants used in chinese medicine. *Fitoterapia*, **69(1)**: 11-16, **1988**.
- YU, C. C.; LEE, Y.; CHEON, B. S.; LEE, S. H. Synthesis of Glycerol Monostearate with High purity, *Bull. Korean Chem. Soc.* **24(8)**: 1229-1231, **2003**.

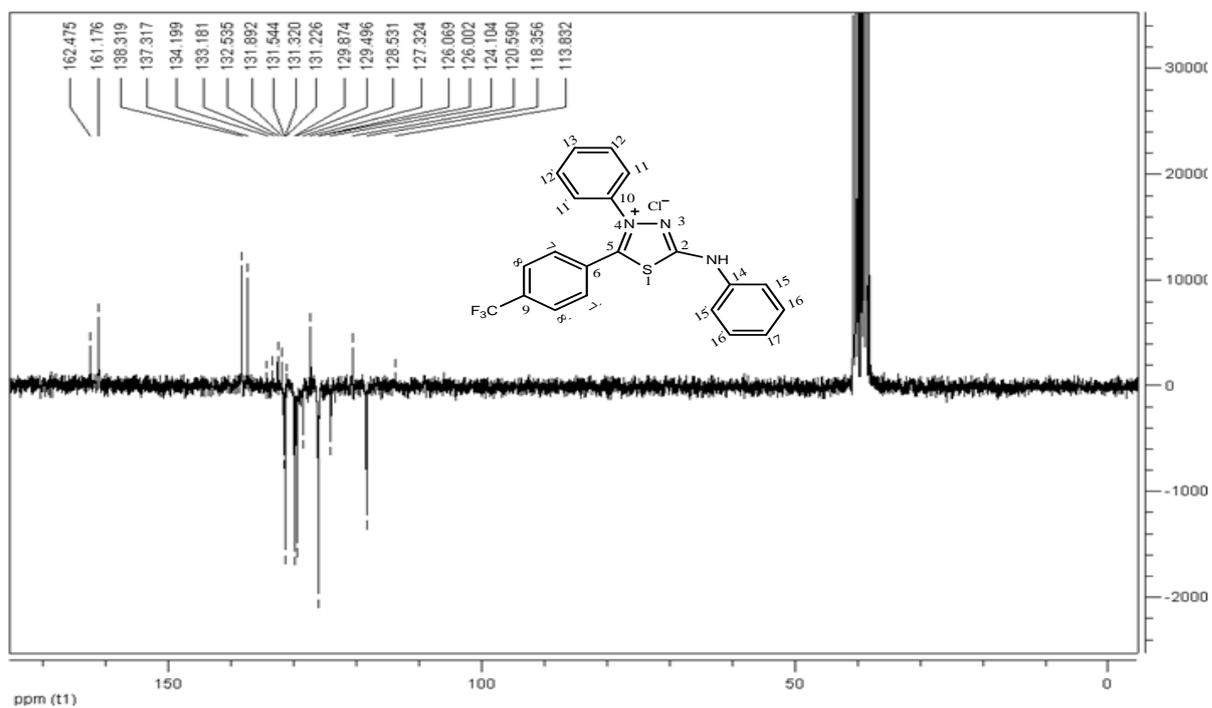
CAPÍTULO 8

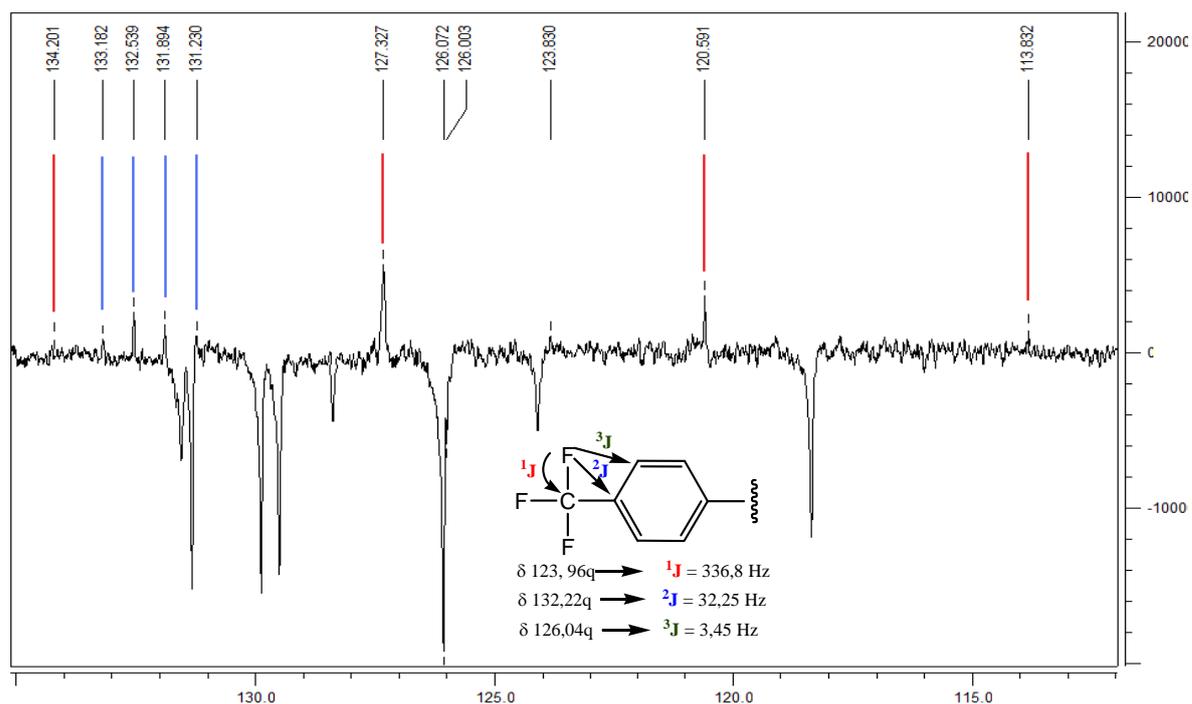
ANEXOS

8.0-Espectros

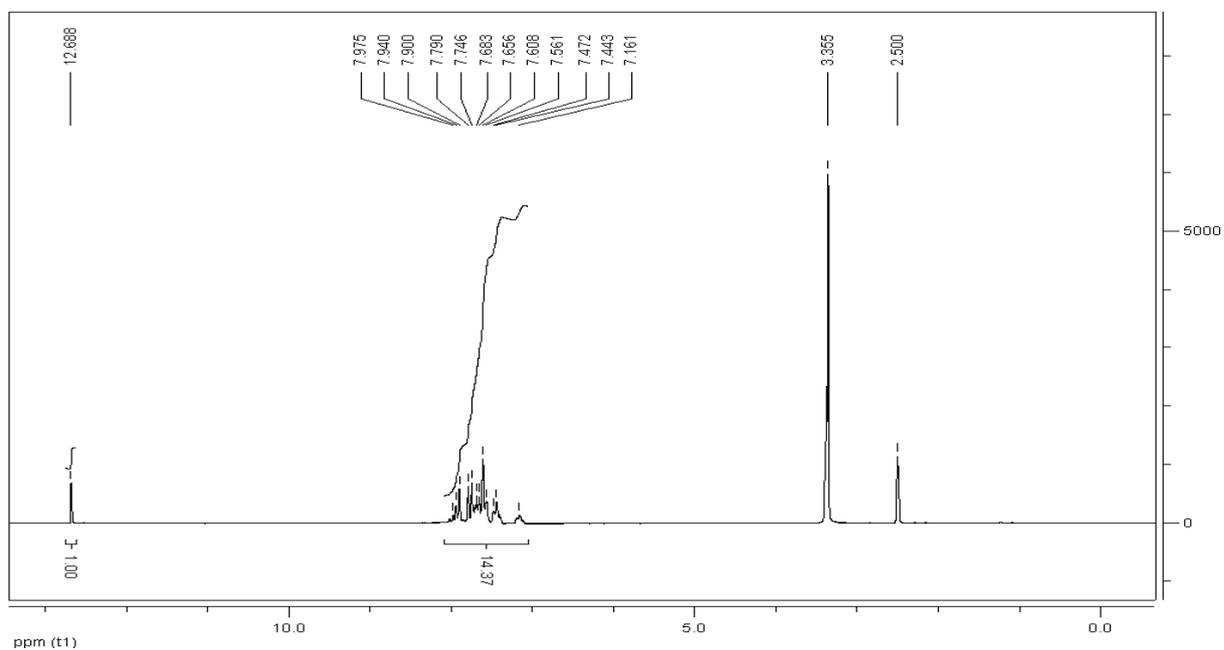


Espectro 8.1: Espectro de IV de MI-01-CL em KBr.

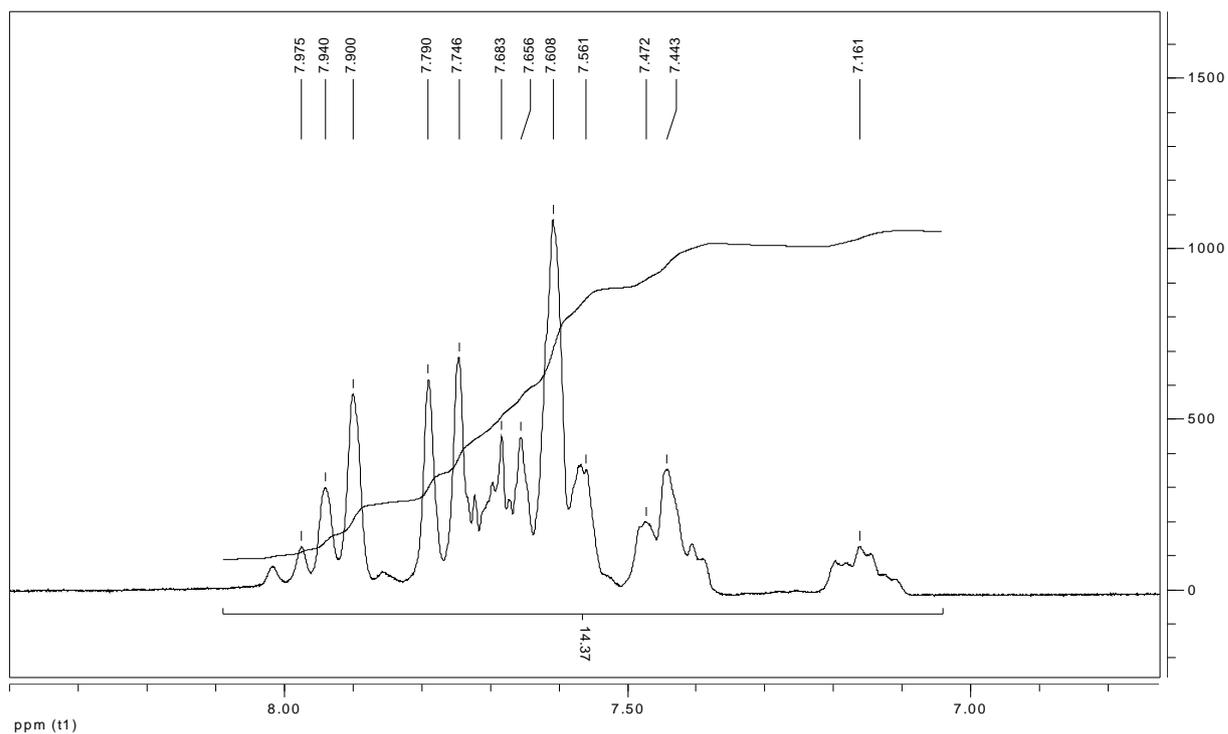
Espectro 8.2: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-01-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



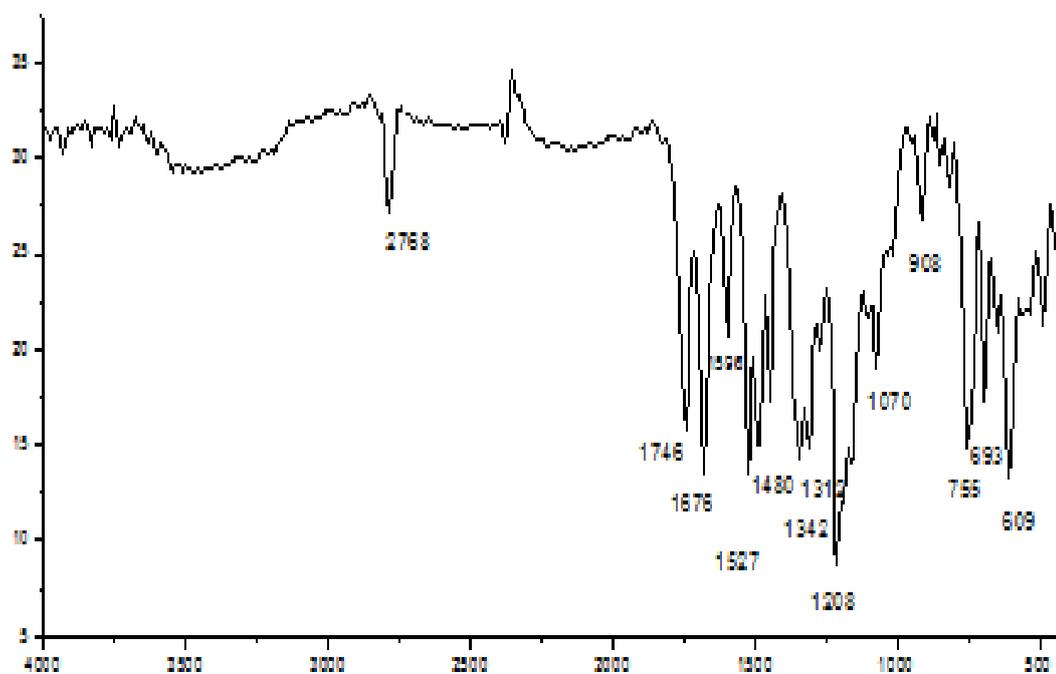
Espectro 8.3: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-01-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 135 a 112 ppm.



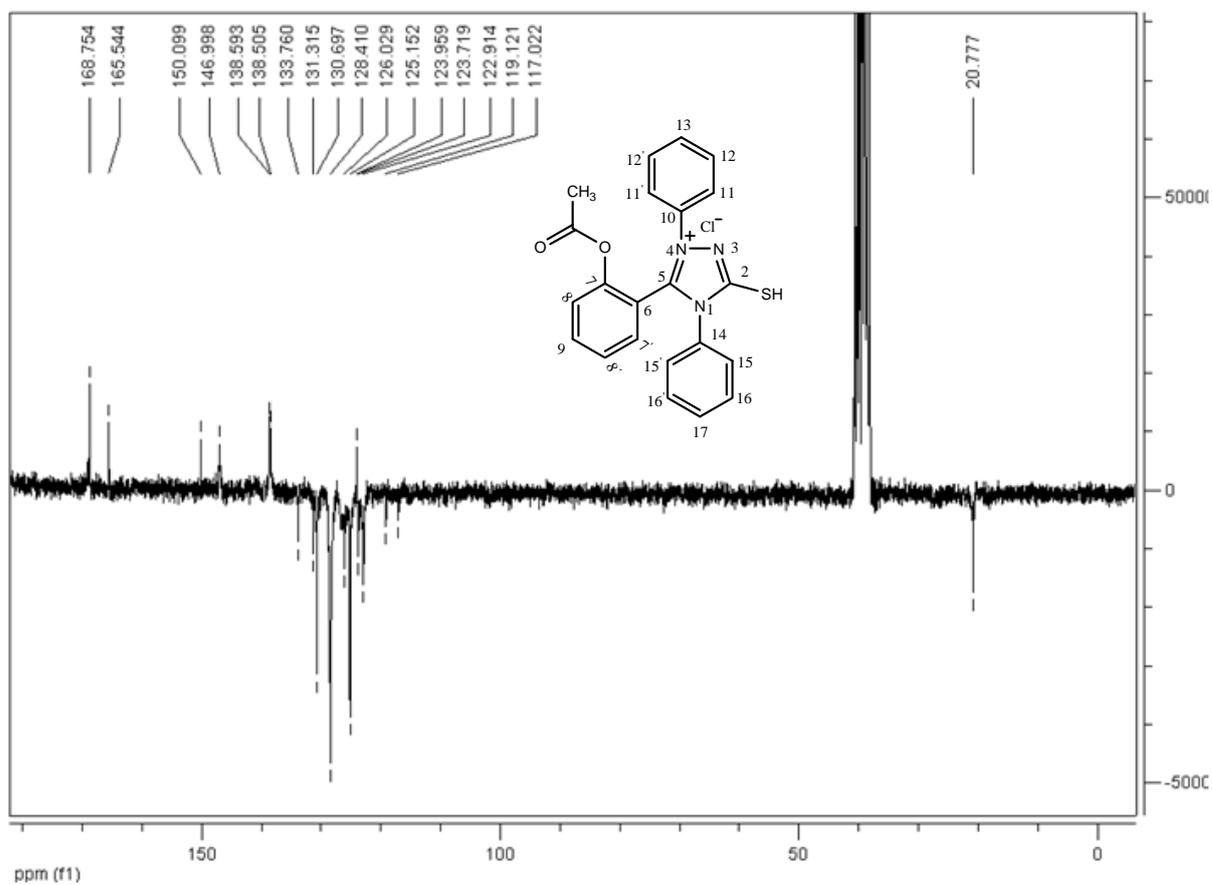
Espectro 8.4: Espectro de RMN ^1H de MI-01-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



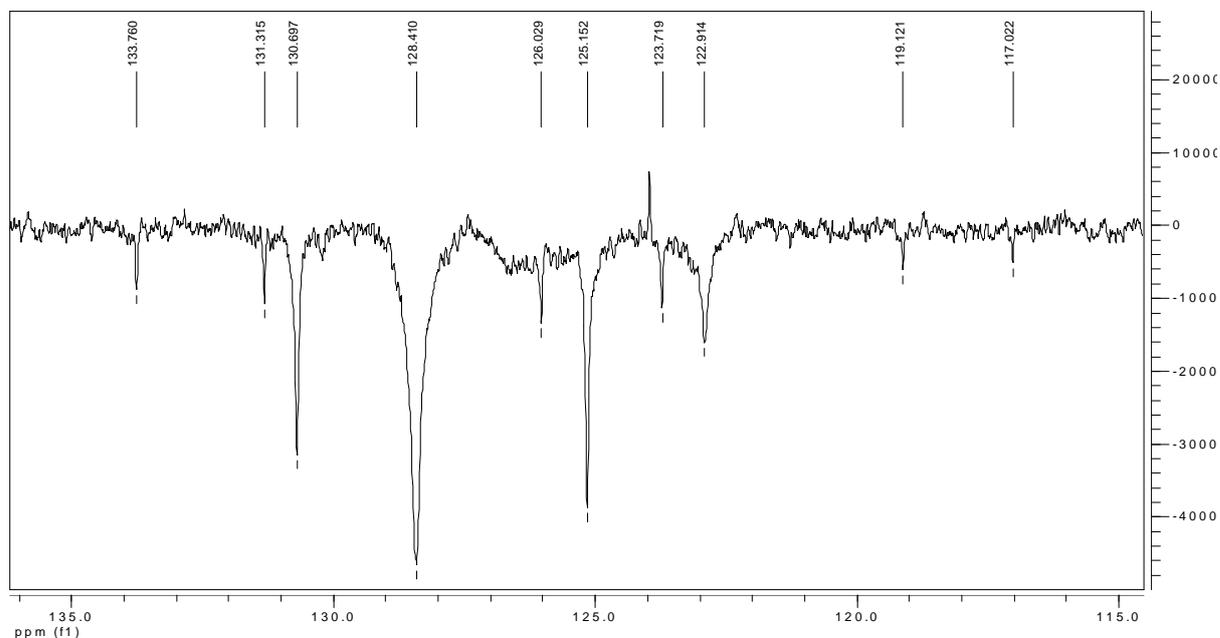
Espectro 8.5: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-01-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



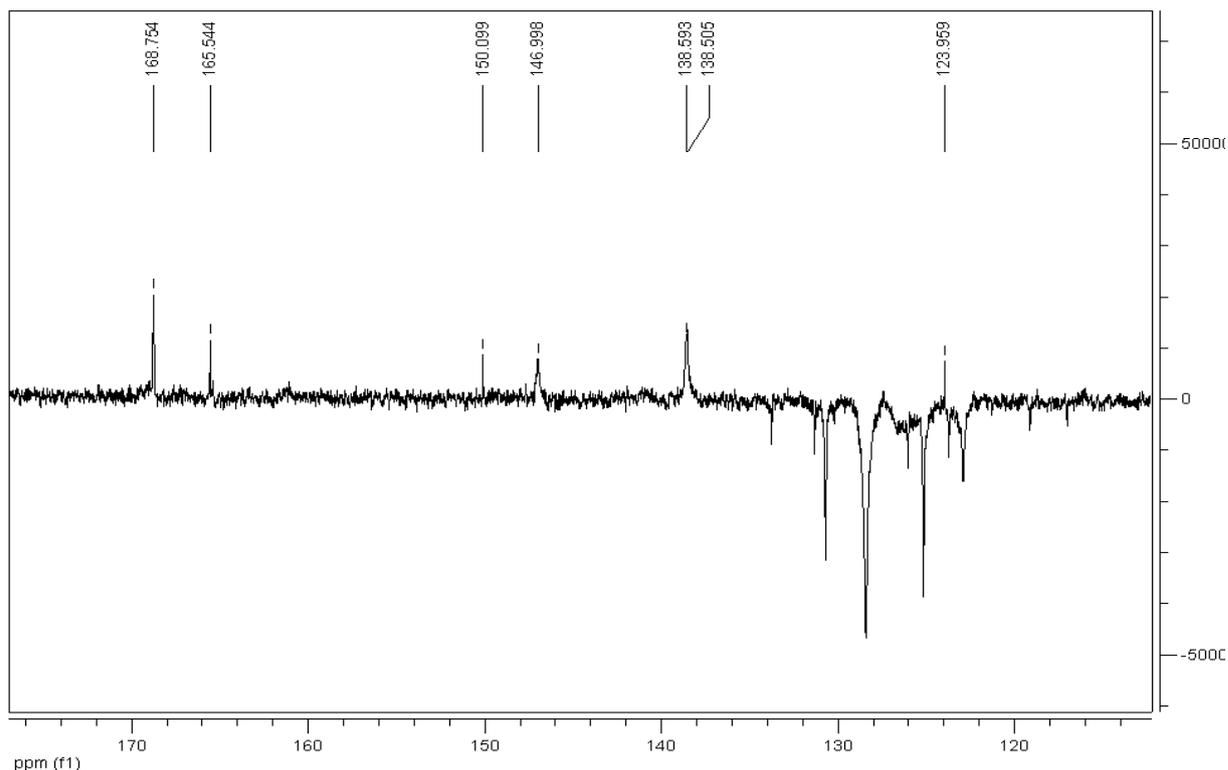
Espectro 8.6: Espectro de IV de MI-02-CL em KBr.



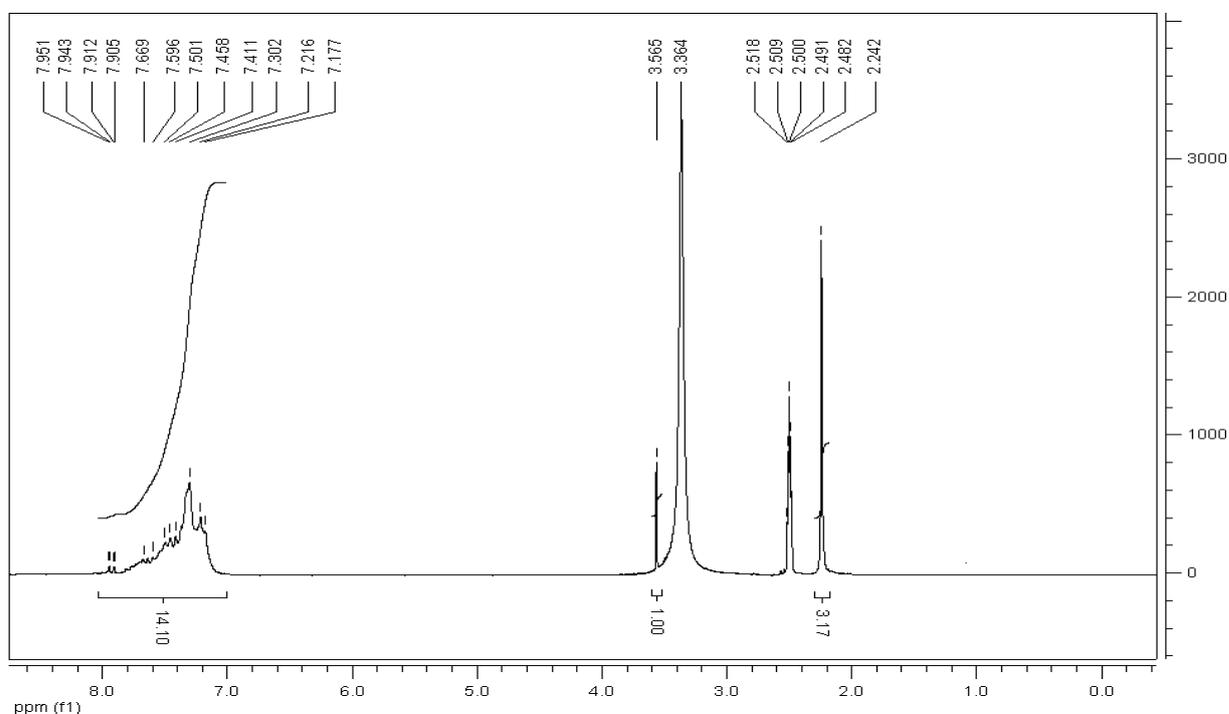
Espectro 8.7: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-O2-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



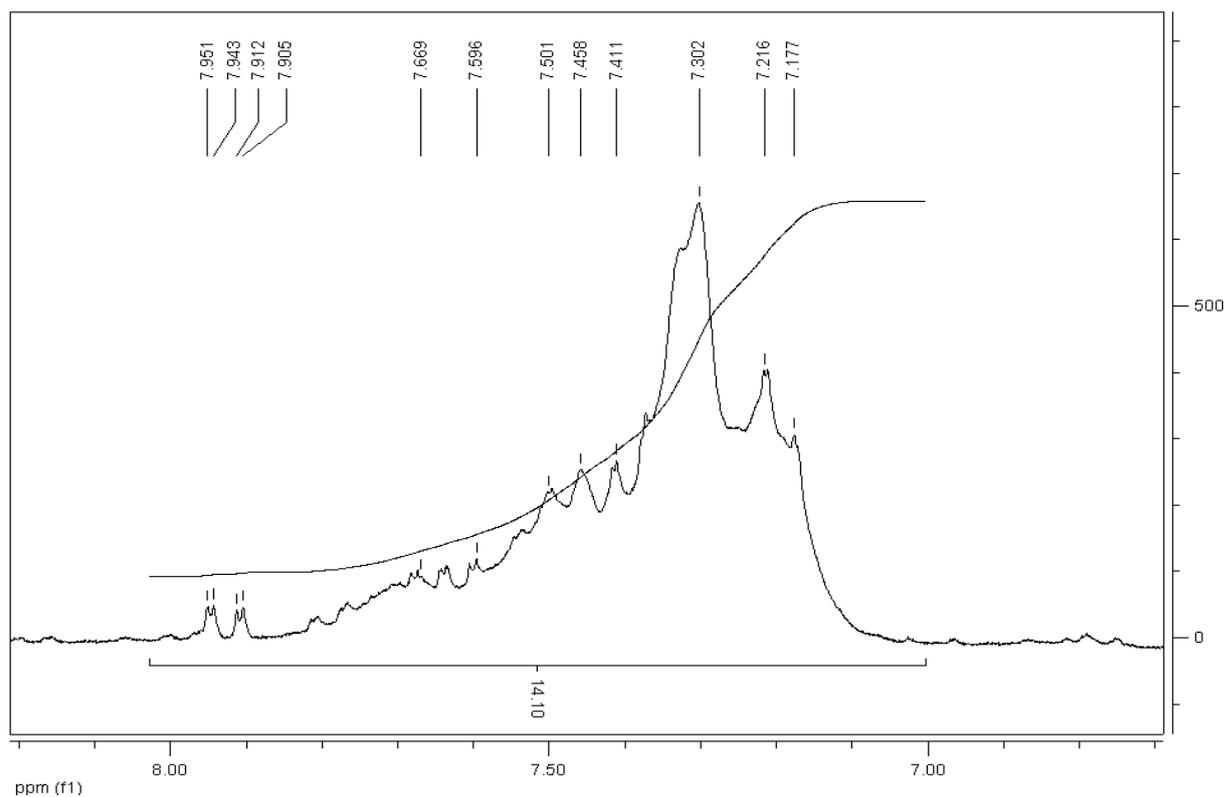
Espectro 8.8: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-O2-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 136 a 114 ppm.



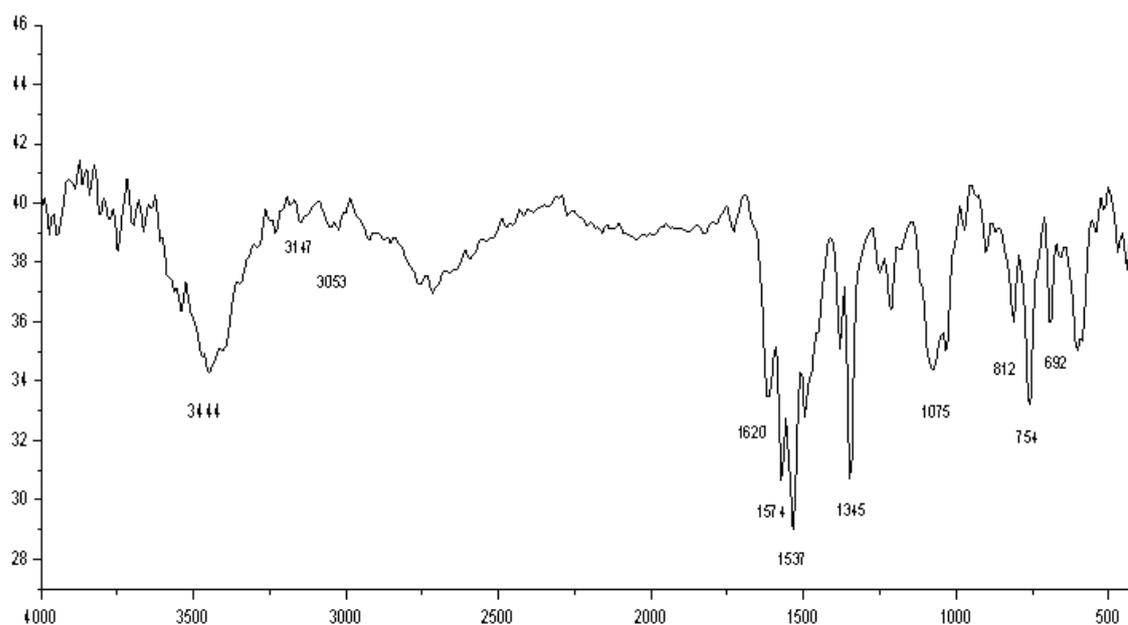
Espectro 8.9: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-02-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 173 a 116 ppm.



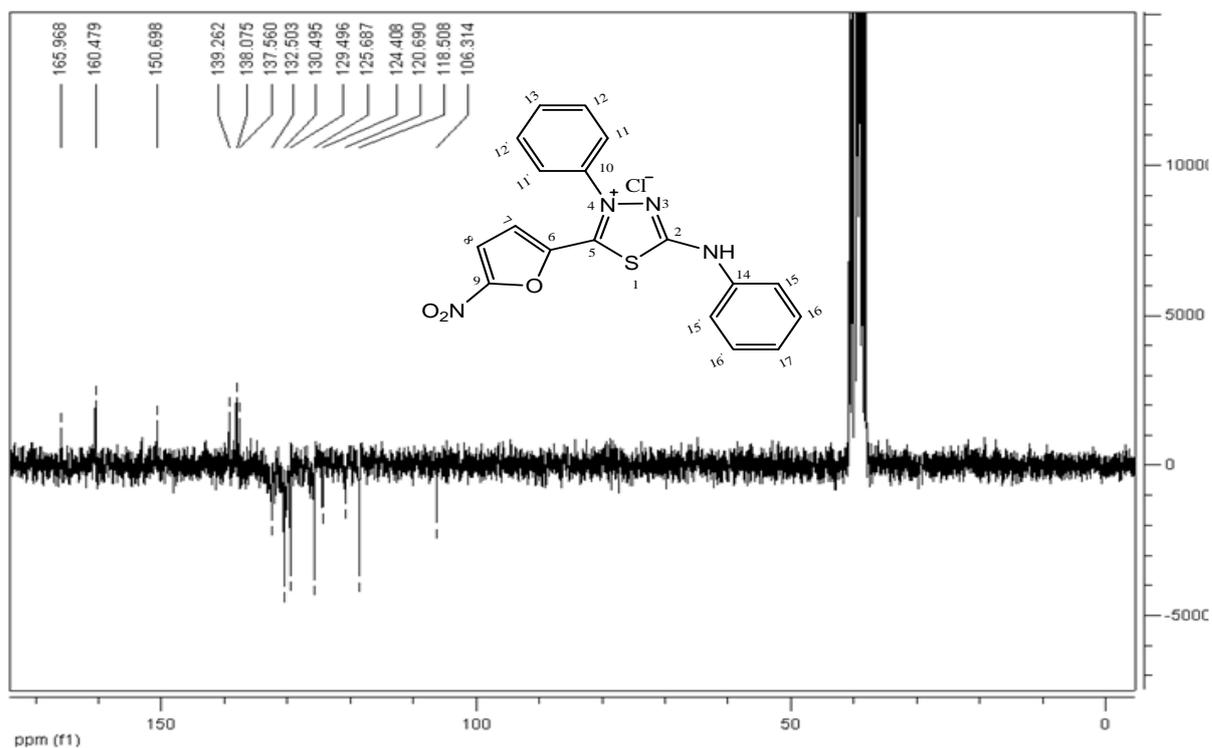
Espectro 8.10: Espectro de RMN ^1H de MI-02-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



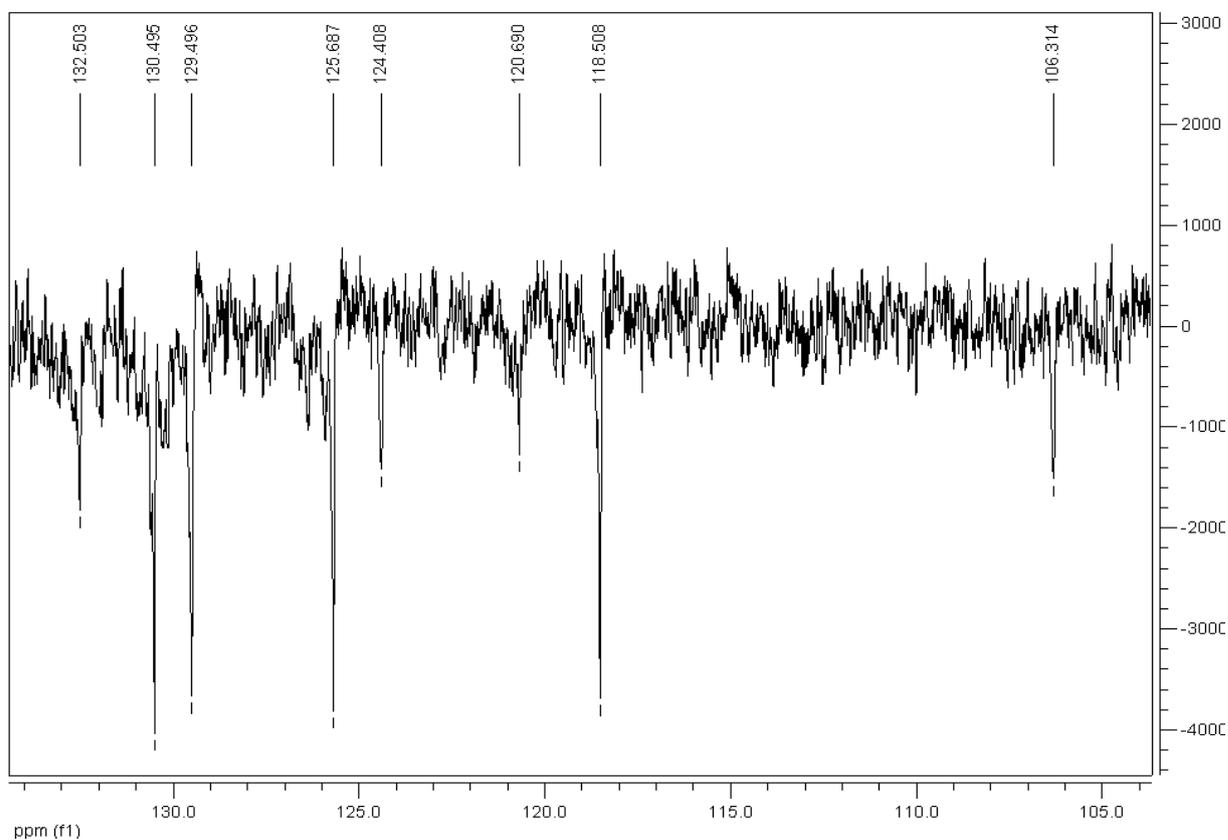
Espectro 8.11: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-02-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz) na região de 8,2 a 6,7 ppm.



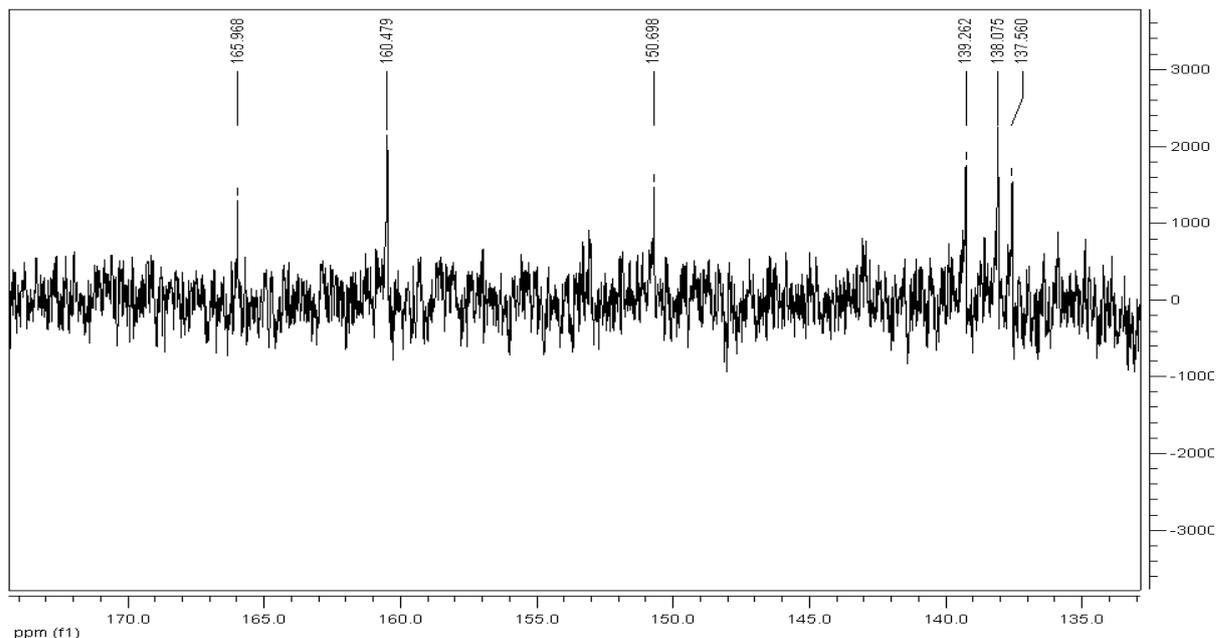
Espectro 8.12: Espectro de IV de MI-03-CL em KBr.



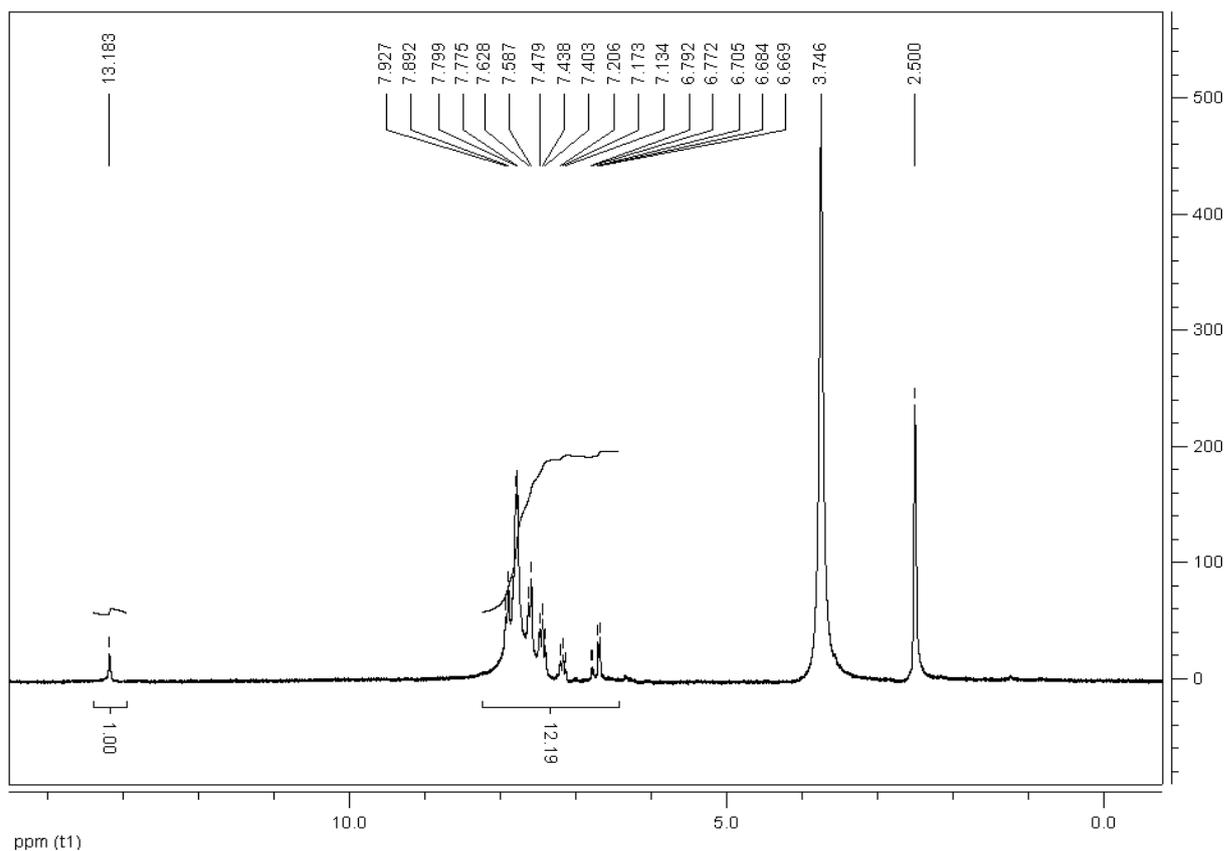
Espectro 8.13: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-03-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



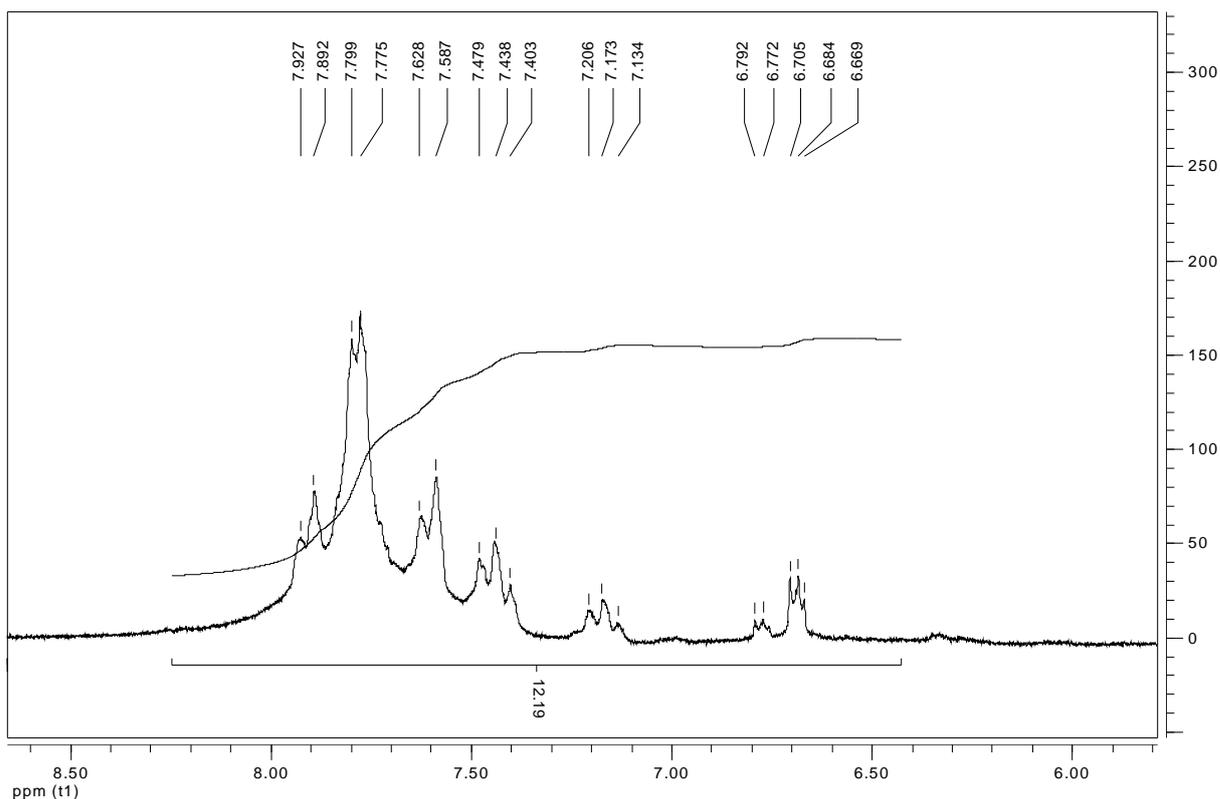
Espectro 8.14: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-03-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 134 a 104 ppm.



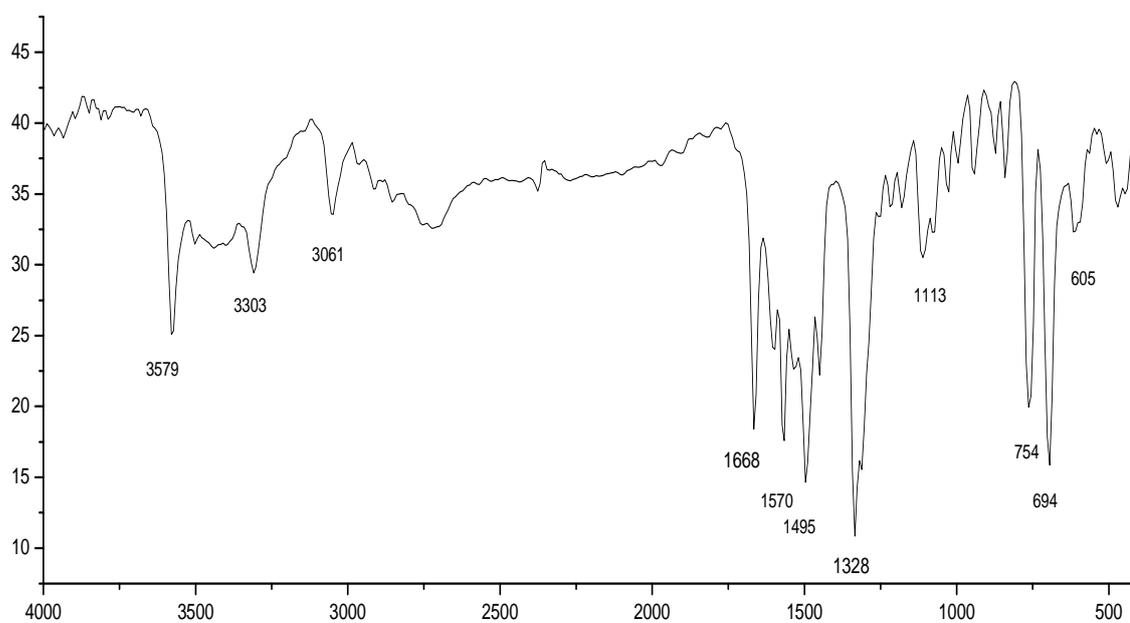
Espectro 8.15: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de MI-03-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 174 a 133 ppm.



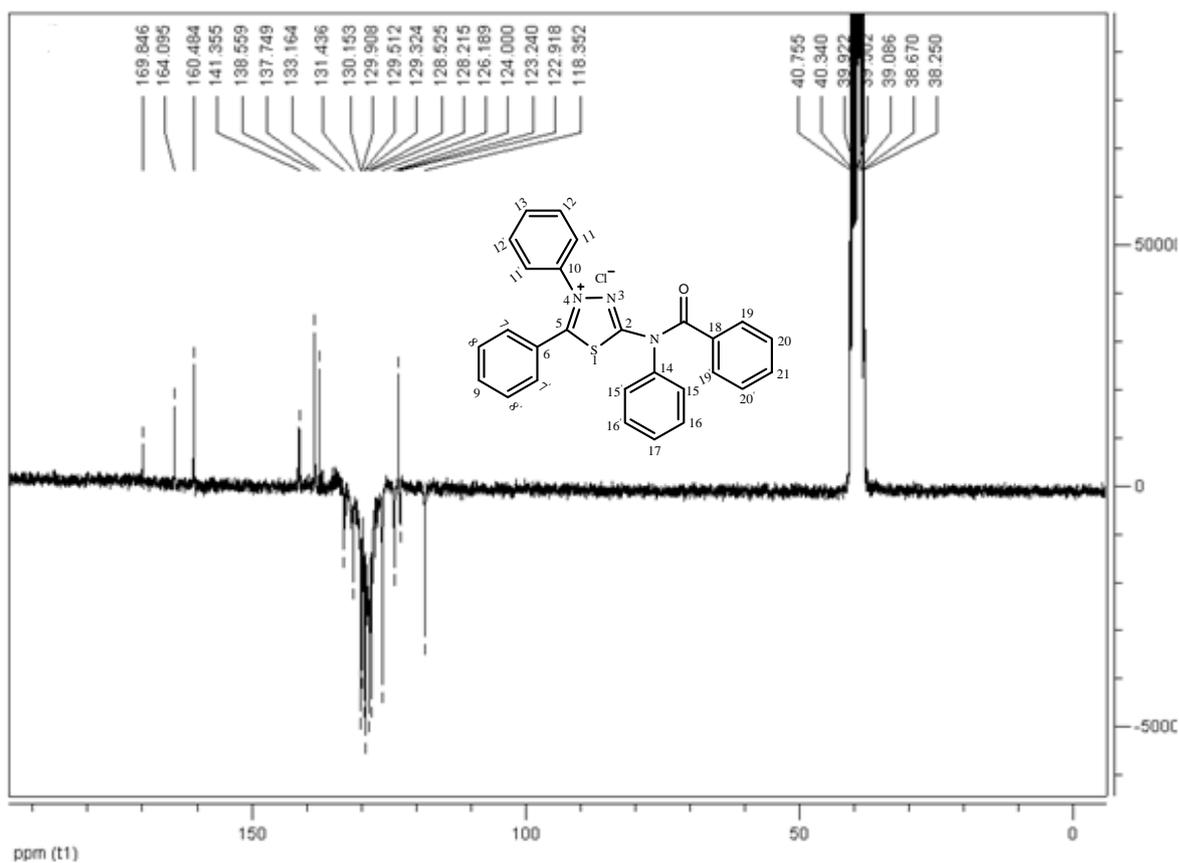
Espectro 8.16: Espectro de RMN ^1H de MI-03-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



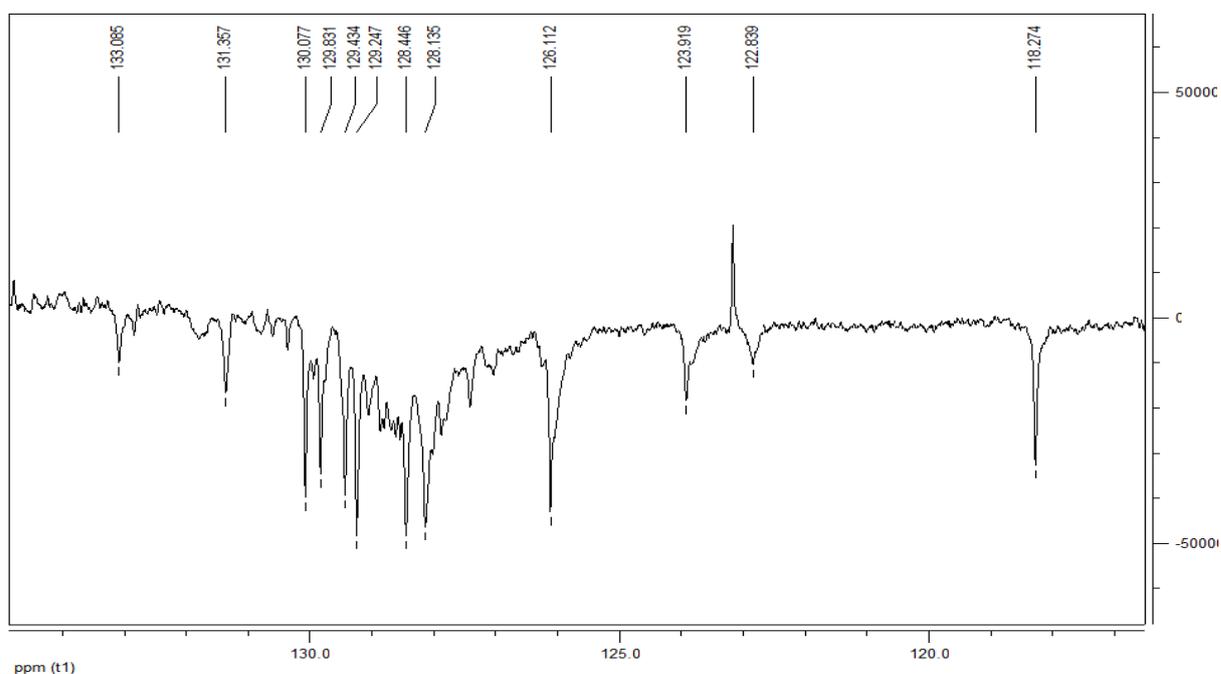
Espectro 8.17: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-03-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz) na região de 8,1 a 5,8 ppm.



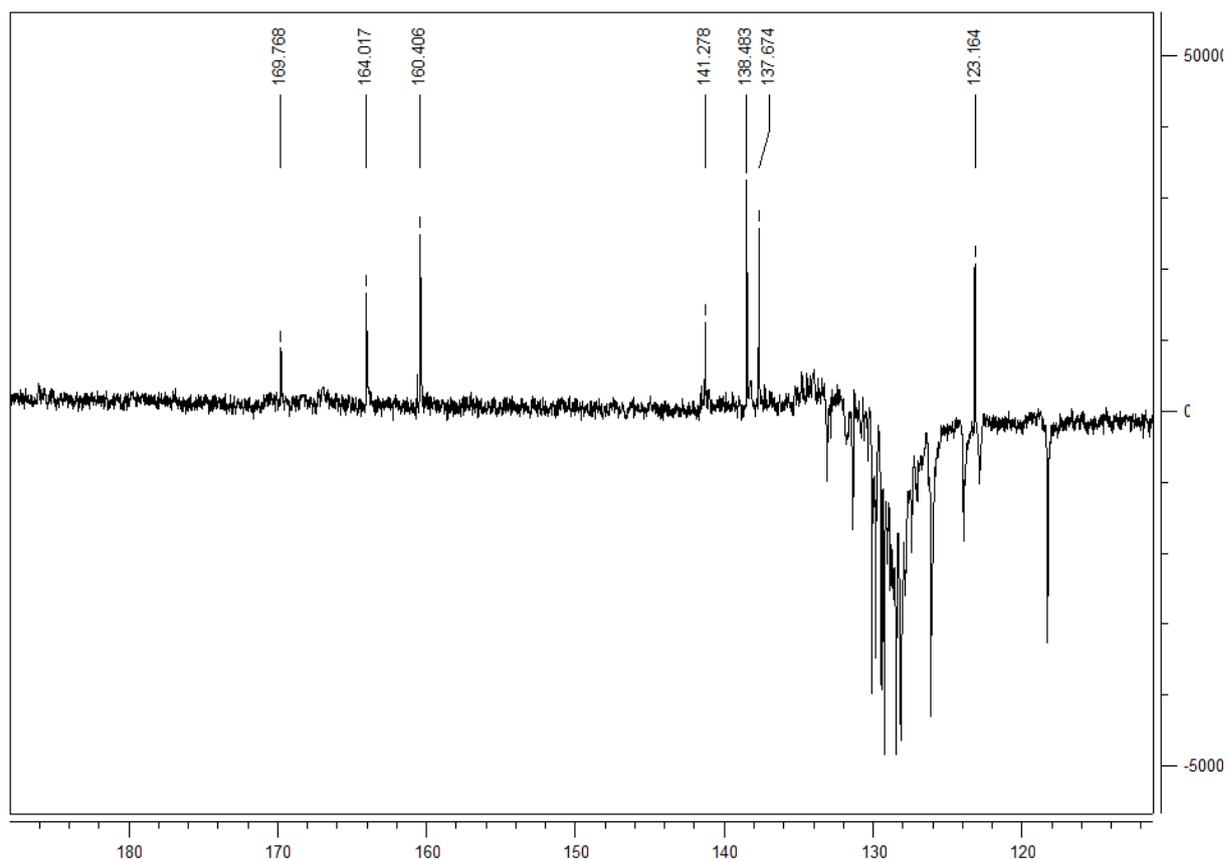
Espectro 8.18: Espectro de IV de MI-04-CL em KBr.



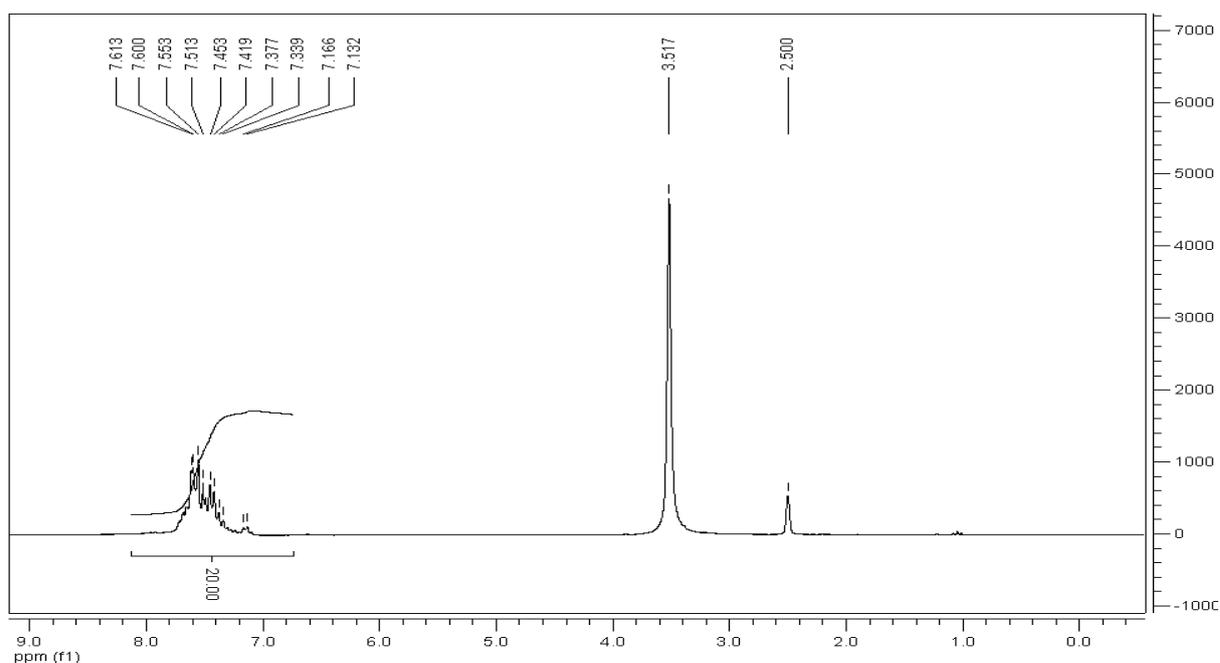
Espectro 8.19: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-04-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



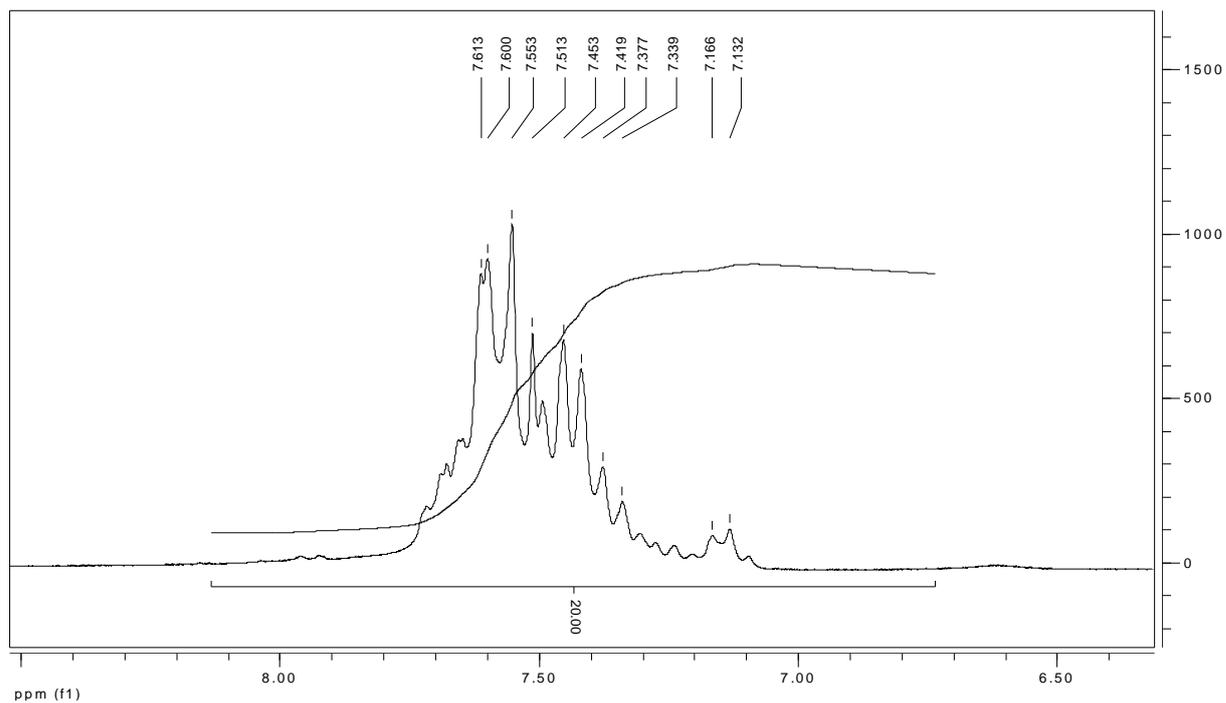
Espectro 8.20: Expansão do espectro de RMN ^{13}C de MI-04-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 135 a 117 ppm



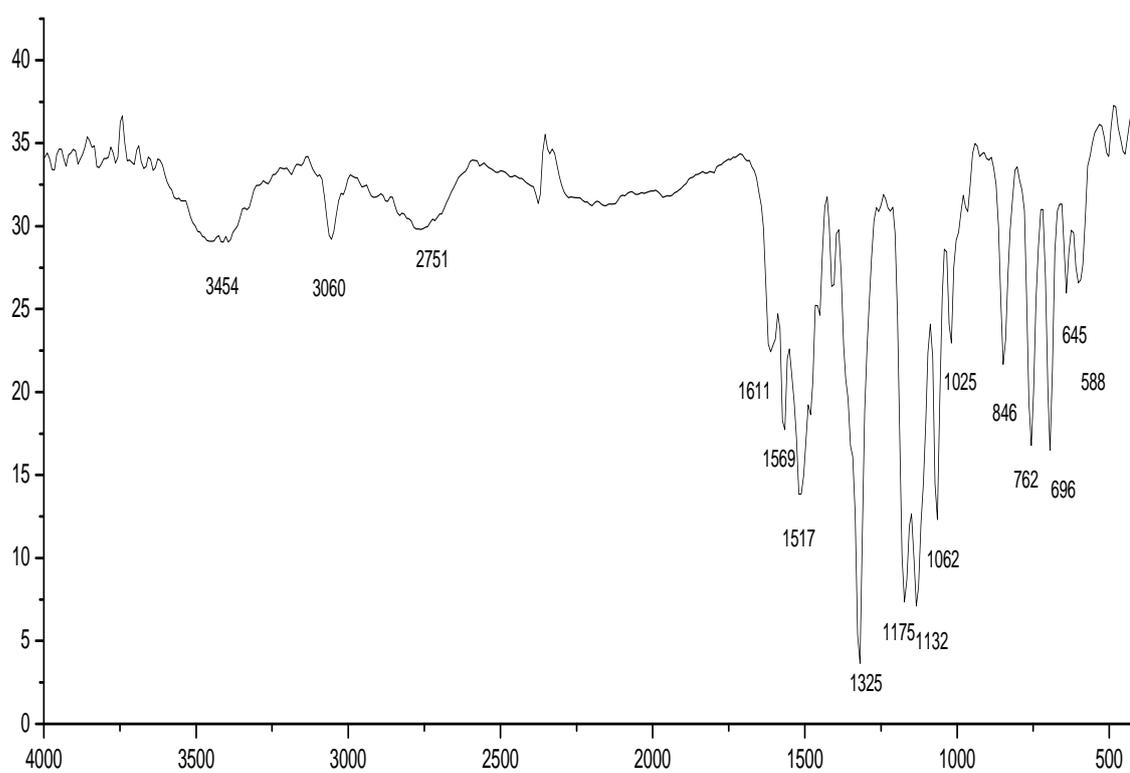
Espectro 8.21: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-04-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 184 a 116 ppm.



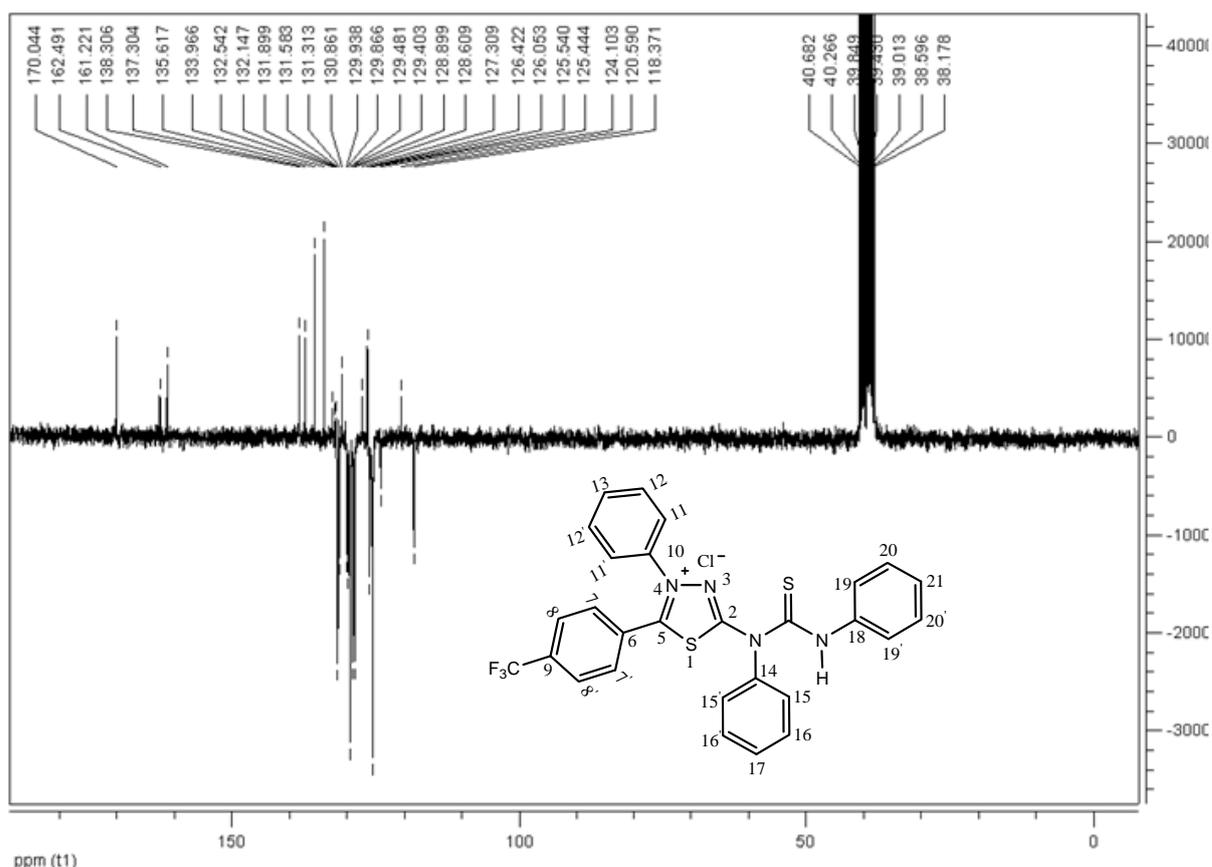
Espectro 8.22: Espectro de RMN ^1H de MI-04-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



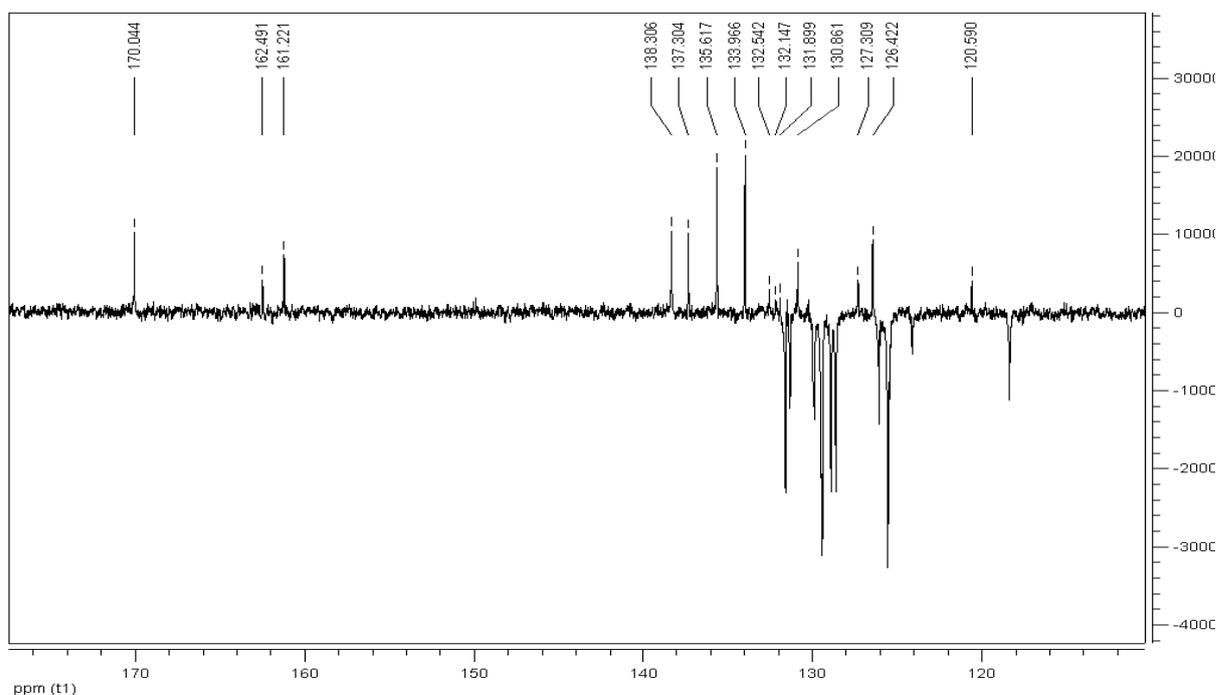
Espectro 8.23: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-04-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz) na região de 8,5 a 6,3 ppm.



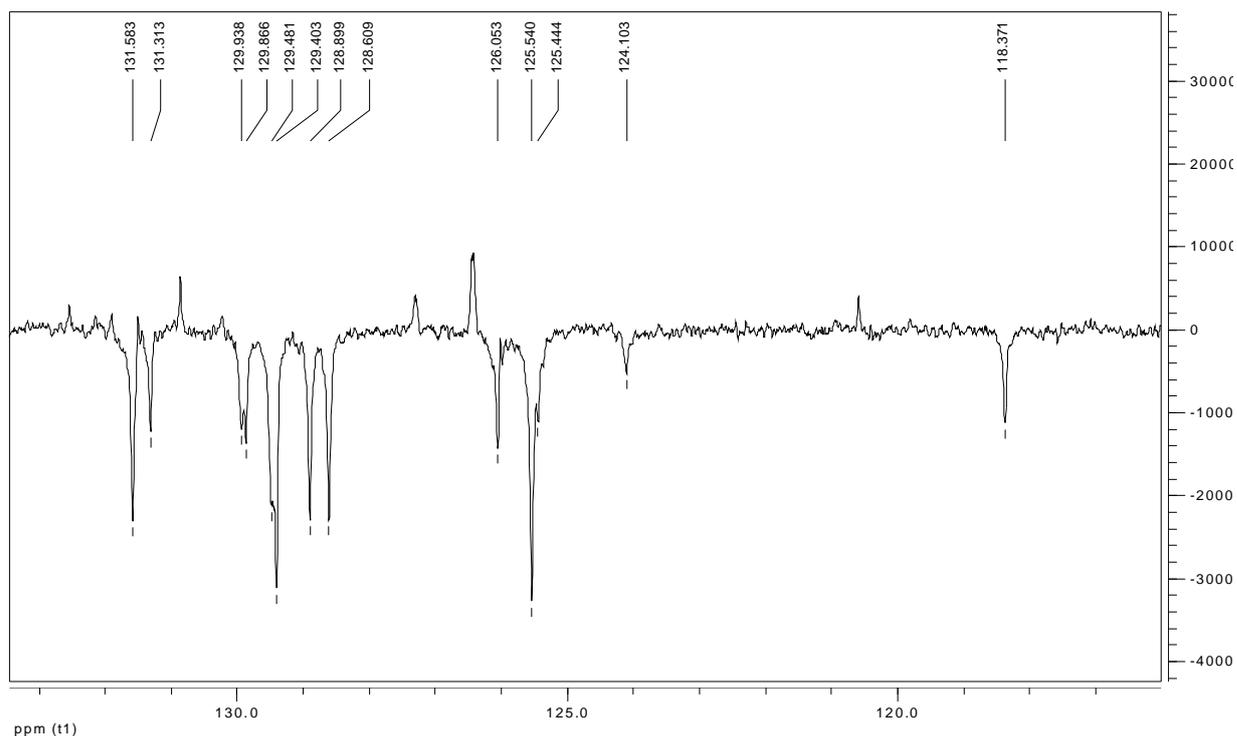
Espectro 8.24: Espectro de IV de MI-05-CL em KBr.



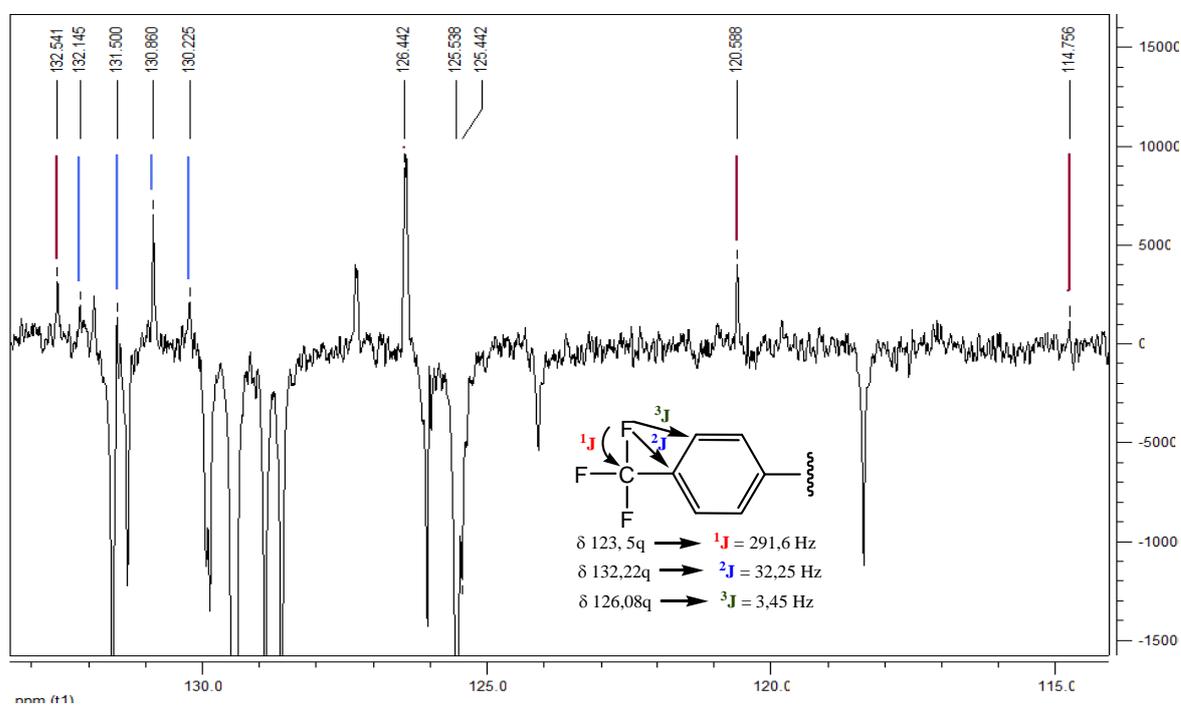
Espectro 8.25: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



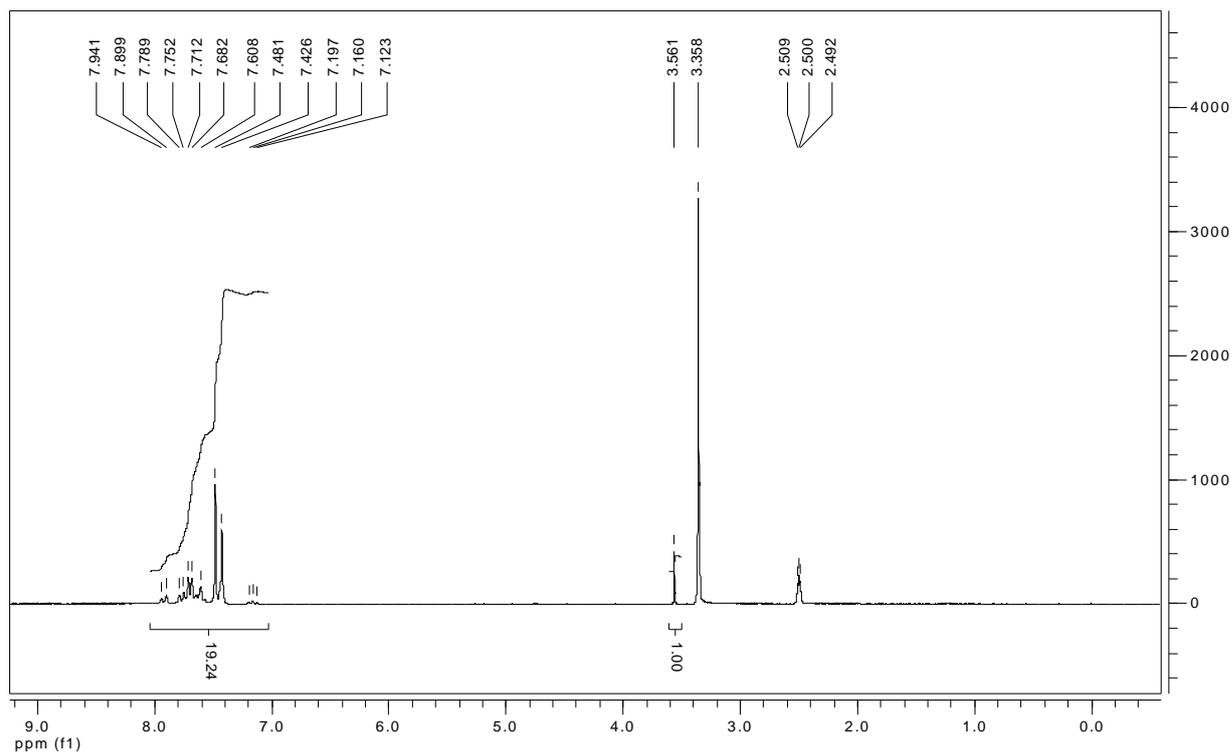
Espectro 8.26: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 174 a 115 ppm.



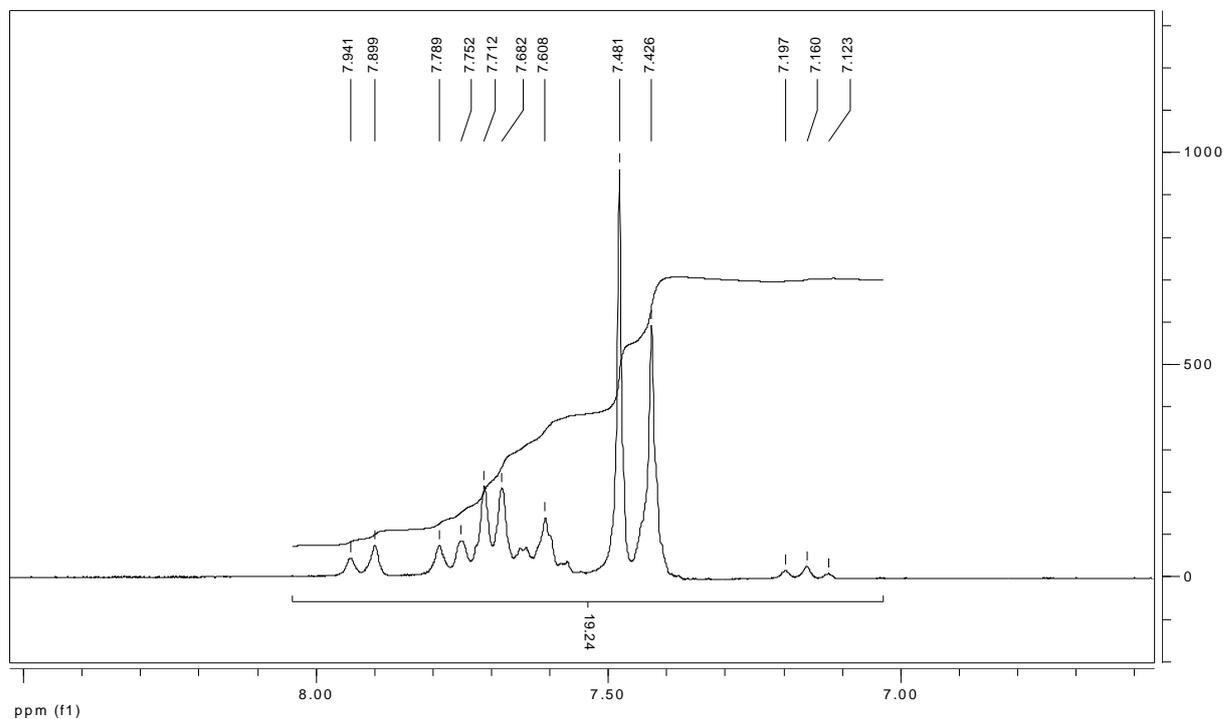
Espectro 8.27: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 133 a 116 ppm.



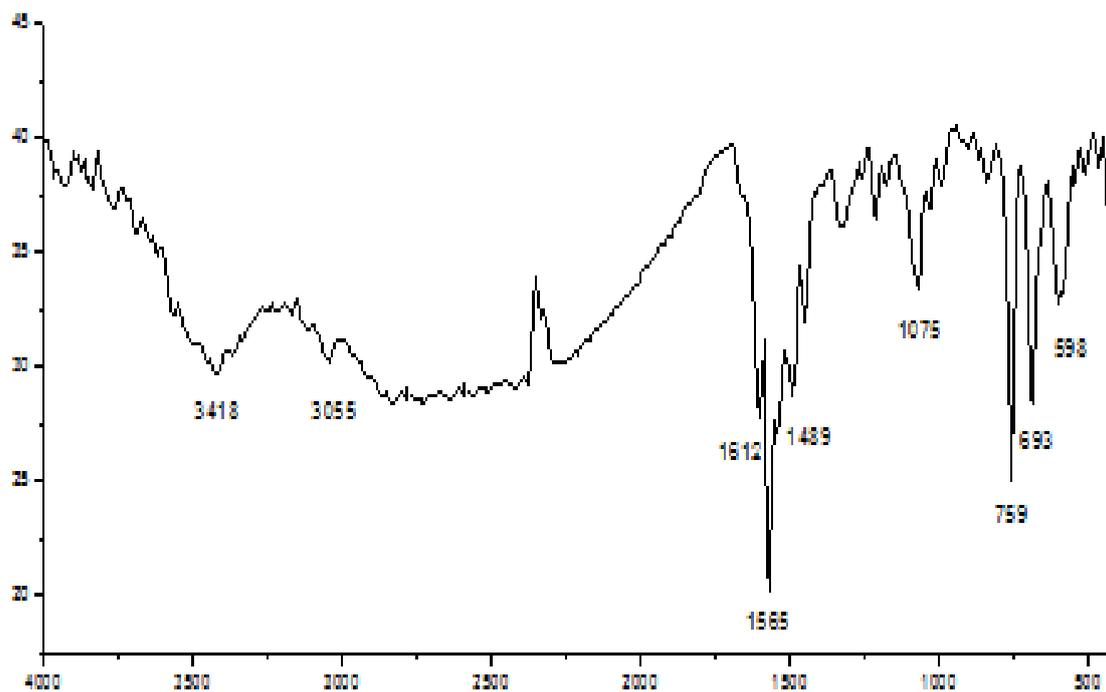
Espectro 8.28: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 133 a 114 ppm.



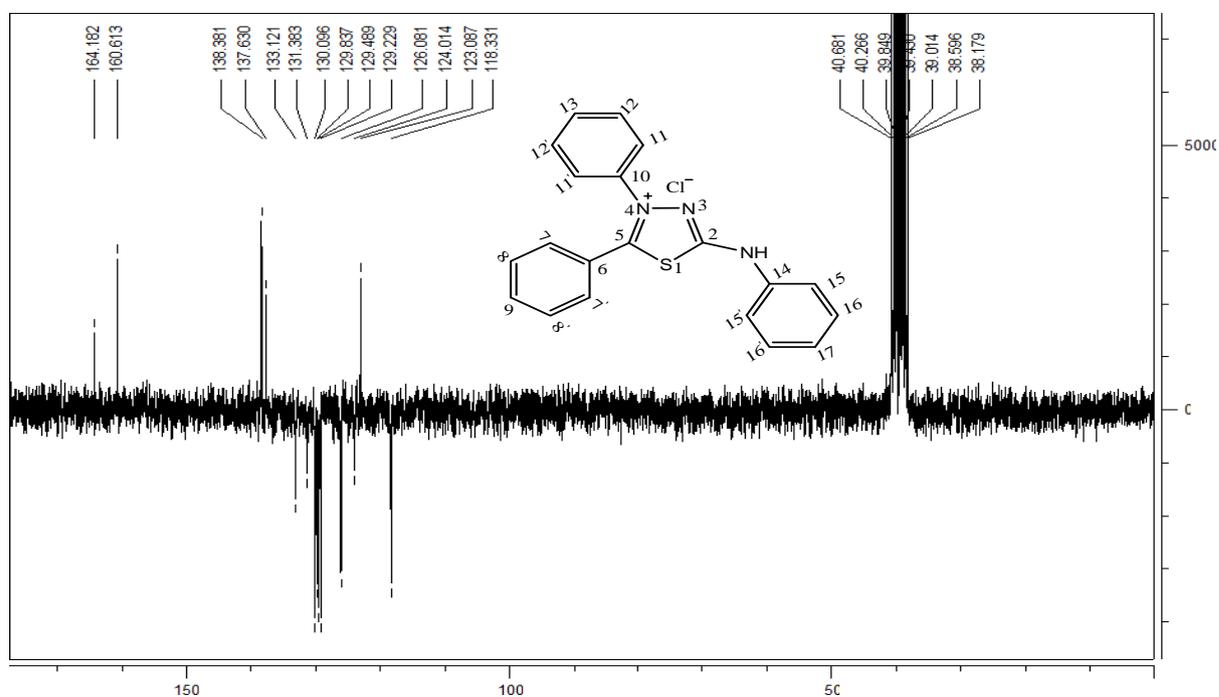
Espectro 8.29: Espectro de RMN ^1H de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



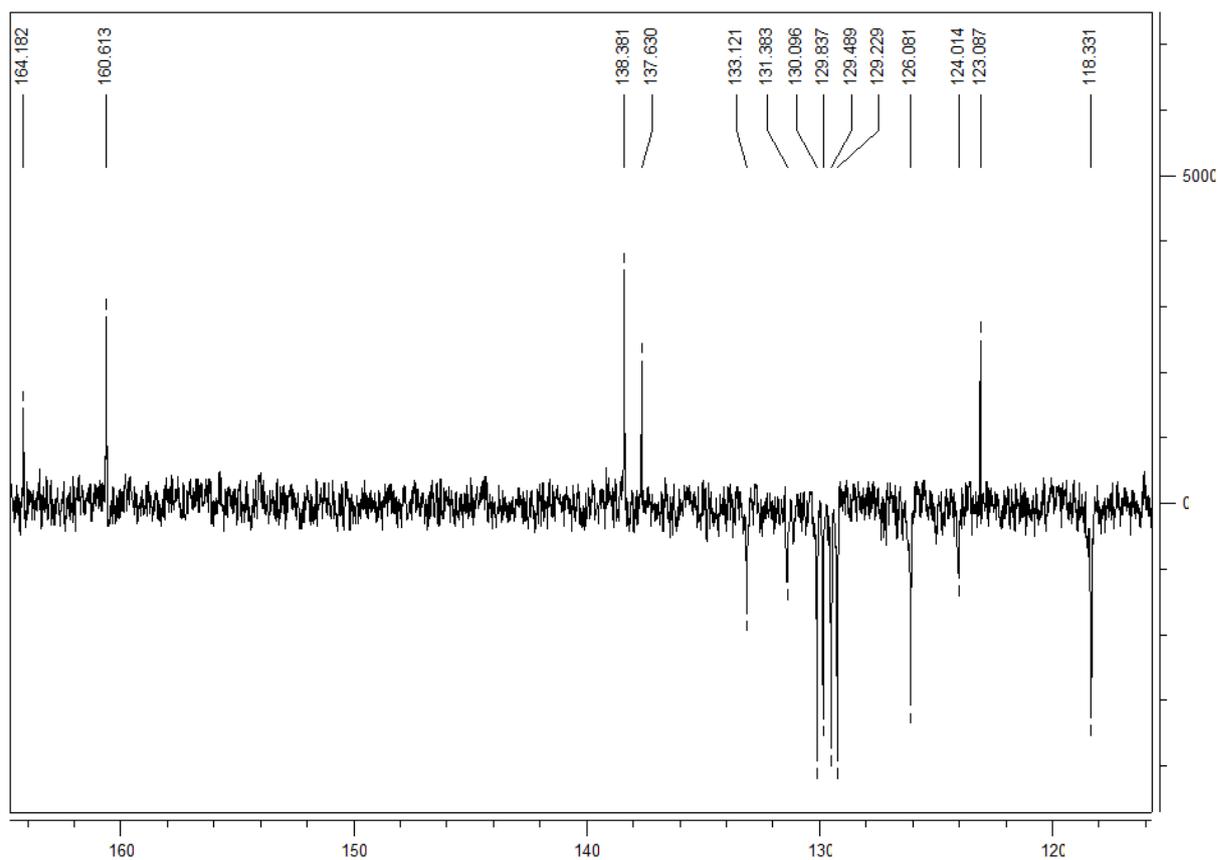
Espectro 8.30: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-05-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz) na região de 8,5 a 6,6 ppm.



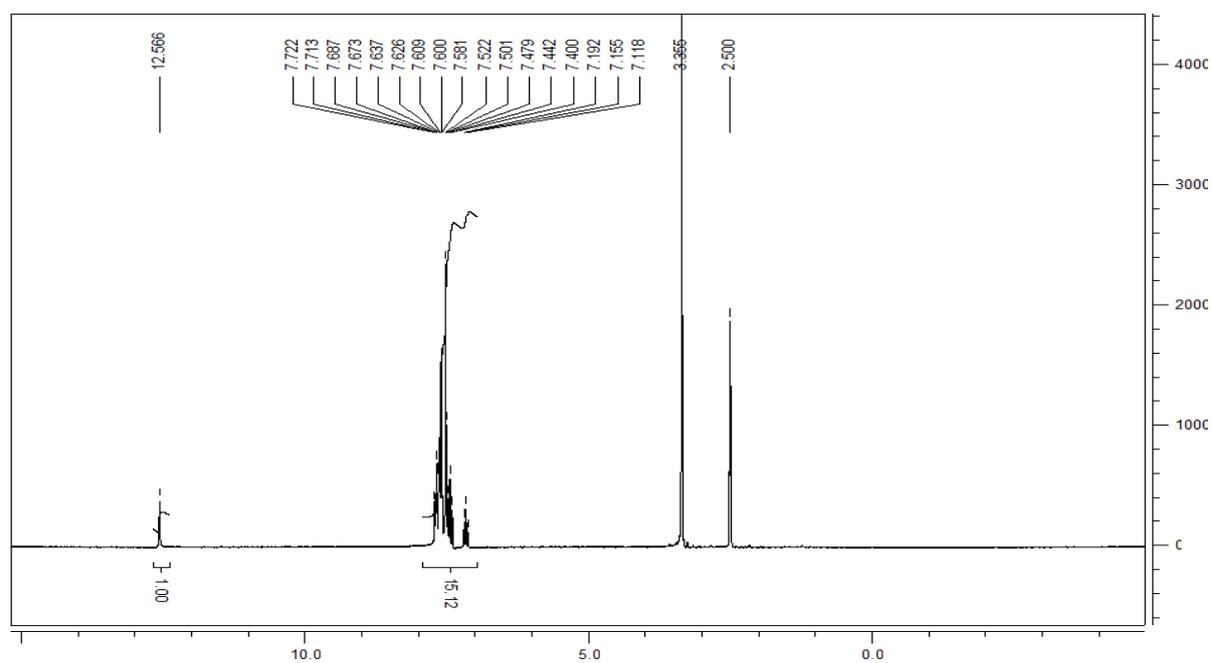
Espectro 8.31: Espectro de IV de MI-07-CL em KBr.



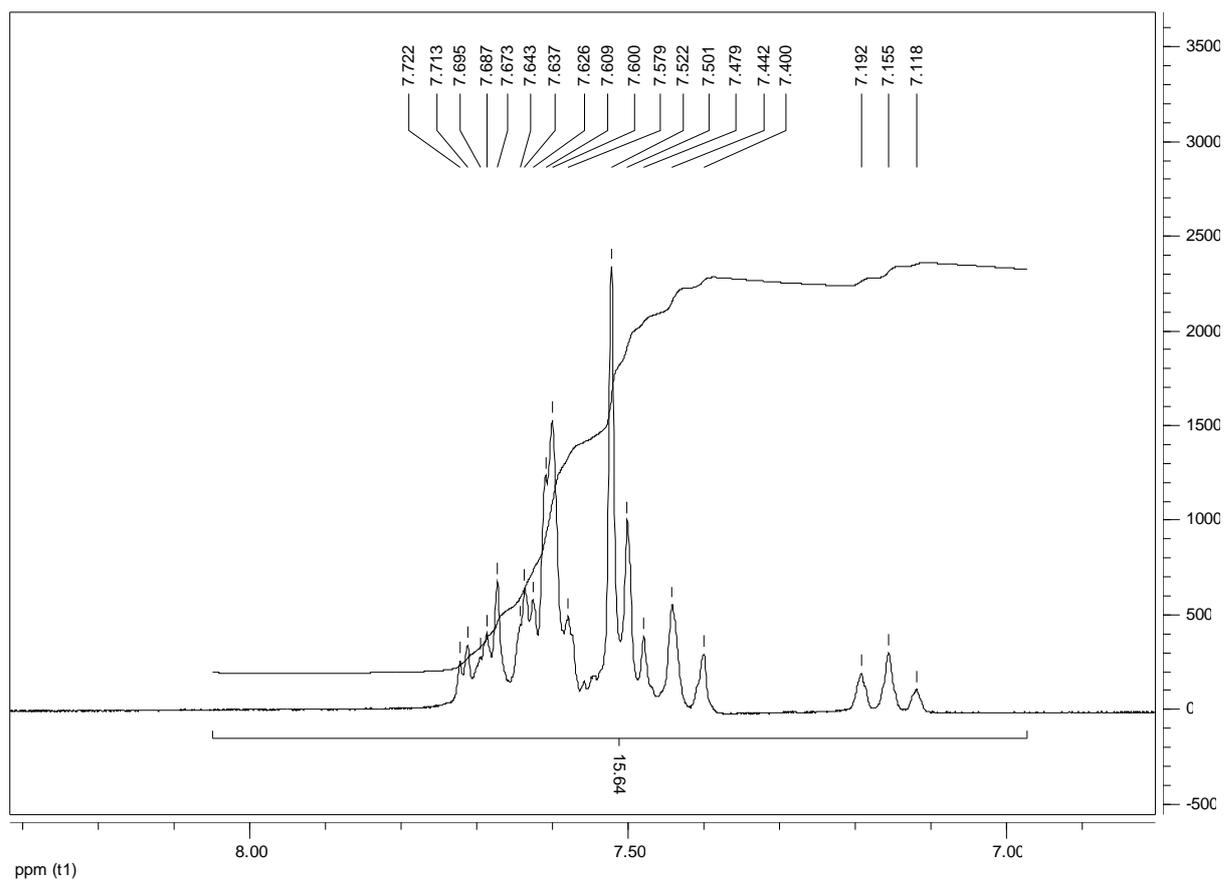
Espectro 8.32: Espectro de RMN ^{13}C APT de MI-07-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz).



Espectro 8.33: Expansão do espectro de RMN ^{13}C APT de MI-07-CL (DMSO- d_6 , 50 MHz) na região de 162 a 118 ppm.



Espectro 8.34: Espectro de RMN ^1H de MI-07-CL (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 8.35: Expansão do espectro de RMN ^1H de MI-07-CL (DMSO-d_6 , 200 MHz) na região de 8,3 a 6,8 ppm.