

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E ESTUDO PRELIMINAR DAS
ATIVIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA DE DERIVADOS ARIL-
TIOUREIDO-CICLOALQUIL[b]TIOFENOS E 2[(4-TIAZOLIDINONA)-
AMINO]-CICLOALQUIL[b]TIOFENOS**

WILLAMS LEAL SILVA

RECIFE – 2012

WILLAMS LEAL SILVA

**SÍNTESE, COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL E ESTUDO PRELIMINAR DAS
ATIVIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA DE DERIVADOS ARIL-
TIOUREIDO-CICLOALQUIL[b]TIOFENOS E 2[(4-TIAZOLIDINONA)-
AMINO]-CICLOALQUIL[b]TIOFENOS**

Dissertação de Mestrado apresentada a Banca de
Dissertação do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para
a obtenção do título de Mestre em Ciências
Farmacêuticas área de concentração Síntese e
Planejamento de Fármacos

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Tiago Mendonça de Aquino

RECIFE – 2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Giseani Bezerra, CRB4-1738

- S586s Silva, Williams Leal.
Síntese, comprovação estrutural e estudo preliminar das atividades antifúngica e antibacteriana de derivados aril-tioureido-cicloalquil[b]tifenos e 2[(4-tiazolidinona)-amino]-cicloalquil[b]tifenos / Williams Leal Silva. – Recife: O autor, 2012.
95 folhas : il. ; 30 cm.
- Orientador: Maria do Carmo Alves de Lima.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.
Inclui bibliografia e anexos.
1. 2-aminotiofeno. 2. 4-tiazolidinona. 3. Hibridação molecular. 4. Antibacterianos. 5. Antifúngicos. I. Lima, Maria do Carmo Alves de (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2012-092)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRO-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 29 fevereiro de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado de Willams Leal Silva, defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 29 de fevereiro de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores doutores:

PRESIDENTE E PRIMEIRA EXAMINADORA INTERNA: Maria do Carmo Alves de Lima do Depto. de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque do Depto. de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Assinatura: _____

PRIMEIRA EXAMINADORA EXTERNA: Janaína de Albuquerque Couto do Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE.

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR:

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR:

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO:

Prof. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE:

Prof. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE:

Prof. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof. Dalci José Brondanni

SUB-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof^a. Nereide Stela Santos Magalhães

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS:

Prof^a. Ana Cristina Lima Leite

Que darei eu ao SENHOR, por todos os benefícios que me tem feito? *Salmos*
116.12

DEDICATÓRIA

A Deus por me dar força, coragem e iluminar meus passos todos os dias para que eu possa alcançar meus objetivos de cabeça erguida com dignidade.

A minha mãe, Josefa Maria, a minha avó Maria e minha tia Josefa pela compreensão nos momentos de estresse e também por me incentivarem durante todo esse tempo a que me dediquei na conclusão deste trabalho, e sobretudo, por terem me ensinado o valor de ser e ter uma família.

A minha namorada, Jully Vieira e família, pelo carinho e incentivo durante todo o tempo.

Aos amigos e irmãos da Igreja Evangélica Assembléia de Deus em Orobó PE pelo apoio nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Ao programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas e ao laboratório de planejamento e síntese de fármacos.

À CAPES pelo suporte financeiro.

À minha orientadora e exemplar professora Dr^a Maria do Carmo Alves de Lima pela oportunidade concedida e pelos momentos de descontração e de aprendizado durante os quatro anos que estive ao meu lado.

Ao professor Dr. Francisco Jaime Bezerra Júnior pelo seu empenho em me guiar e pela sua atenção para com todos do laboratório.

Ao professor Dr. Ivan da Rocha Pitta e a professora Dr^a Suely Galdino pela total disponibilidade para a efetiva execução deste projeto.

À professora Dr^a Edeltrudes de O. Lima pela atenção e cooperação na realização dos testes antifúngicos.

Ao aluno de Pós-doutorado, Cleiton Diniz Barros pelo seu empenho e pela sua atenção para com todos do laboratório.

Ao Co-orientador Dr. Thiago Mendonça de Aquino, pelo seu empenho, humildade e pela sua atenção para com todos do laboratório.

A minha mãe e família, por tudo o que me proporcionaram como família e por todo o amor que me deram sem nada pedir em troca.

Aos amigos e colegas de Laboratório de planejamento e Síntese de Fármacos.

À Central Analítica do DQF, em especial a Técnica Abene Ribeiro.

SUMÁRIO

Lista de figuras	XIII
Lista de tabelas	XIV
Lista de esquemas	XV
Lista de siglas e abreviaturas	XV
Resumo	XVI
Abstract	XVII
1. Introdução	17
2. Objetivos	21
2.1 Objetivos Gerais:	21
2.2 Objetivos Específicos:	21
3. Revisão da literatura	23
3.1 Planejamento de Fármacos	23
3.2 Tiofeno	24
3.2.1 Síntese de 2-aminotiofenos	25
3.2.2 Reatividade do Tiofeno e Síntese de Tioureidos	27
3.2.4 Acilação do Tiofeno	29
3.2.5 Oxidação no anel tiofeno	30
3.2.6 Substituição nucleofílica no anel tiofênico	30
3.2.7 Fármacos Contendo o Anel tiofeno	31
3.2.8 Atividade Biológica do Tiofeno	31
3.3 Tiazolidinonas	33
3.3.1 Síntese de 4-Tiazolidinonas	33
I. Meios de Obtenção de 4-tiazolidinonas com função tioamida	34
II. Obtenção do anel 4-tiazolidonona a partir de reações envolvendo ácido α -mercaptoacético	34
3.3.2. Possíveis reações com o anel 4-tiazolidona	35
I. Reação de Oxidação	36
II. Reação de N-Alquilação	36
III. Reação de Mannich	37
IV. Reação de Condensação na posição 5 da 4-tiazolinona	37
V. Reação de Tionação	38
3.4 Relevância biológica das 4-tiazolidinonas	39
3.4.1 Atividade antimicrobiana	39
3.4.2 Atividade Antiviral	40
3.4.3 Atividade Antiinflamatória	40
3.3.4 Atividade antitumoral	41
4. Síntese, caracterização e comprovação estrutural	44
4.1 Material e Métodos	44
4.1.1 Síntese dos Derivados Cicloalquiltiofenos	44

4.1.2	Procedimentos experimentais	48
I.	Síntese dos derivados 2-amino-tiofeno:	48
II.	Síntese dos derivados 2(3-fenil-tioureido)-cicloalquiltiofeno-3- ácido carboxílico éster etílico.	49
III.	Síntese dos derivados 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-indeno-ácido carboxílico éster etílico.	49
4.2	Resultados e Discussão	50
4.2.1	2-Amino-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofeno-3-carbonitrila (LPSF/ZA-01);	51
4.2.2	Ácido 2-Amino-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-02);	52
4.2.3	Ácido 2-Amino-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-04);	53
4.2.4	Ácido 2-Amino-5,6,7,8-tetrahydro-4H-ciclohepta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico(LPSF/ZA03);	54
4.2.5	Ácido 2-(fenil-tioureido)-5,6,7,8-tetrahydro-4H-ciclohepta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-09);	55
4.2.6	Ácido 2-(fenil-tioureido)-4,5,6,7-tetrahydro-4H-benzo[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-05);	55
4.2.7	Ácido 2-(3-fenil-tioureido)-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-06);	56
4.2.8	Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-13);	57
4.2.9	Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7,8-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-11);	58
4.2.9	Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3-etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-14);	59
4.2.10	Ácido 2-[3-(4-Cloro-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- etil éster carboxílico (LPSF/ZA-20);	60
4.2.11	Ácido 2-[3-(4-Cloro-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-21);	61
4.2.12	Ácido 2-[3-(4-Bromo-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- Etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-27);	62
4.2.13	Ácido 2-[3-(4-Bromo-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7,8-tetrahydro benzo[b]-tiofeno-3- Etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-26);	62
5.	Avaliação da Atividade Antifúngica e Antibacteriana	65
5.1	Material e Métodos	65
6.	Conclusões	71
7.	Perspectivas	72
8.	Referências	75
9.	Anexo	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Hibridação molecular, núcleos adamantano, tiazol e 4-tiazolidinona	8
Figura 2: Tiofeno numerado e derivados do tiofeno	9
Figura 3: Principais reações do anel tiofeno	12
Figura 4: Complexo do tiofeno com molibdênio	14
Figura 5: Alguns Fármacos comerciais que possuem o anel tiofeno, Olamzapina, Dorzolamida, Duloxetina e Sertaconazol	16
Figura 6: Anel 4-tiazolidinona e seu bioisótero tiazolidin-2,4-diona	18
Figura 7: Principais reações do anel 4-tiazolidinona	21
Figura 8: Compostos 4-tiazolidinona com atividade antibacteriana	25
Figura 9: Derivados 4-tiazolidinona avaliados anti HIV	26
Figura 10: 4-tiazolidinonas com atividade anti-inflamatória promissora	27
Figura 11: Derivados 4-tiazolidinonas avaliados para atividade antitumoral	28
Figura 12: Espectro de RMN ^1H do composto LPSF/ZA-02	39
Figura 13: Espectro de RMN ^1H do composto LPSF/ZA-06	43
Figura 14: Espectro de RMN ^1H do composto LPSF/ZA-14	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Avaliação do crescimento fúngico expresso pela concentração inibitória mínima (CIM) em $\mu\text{g/mL}$, onde 50-100 $\mu\text{g/mL}$ considerada atividade ótima, 500-1000 $\mu\text{g/mL}$ e maior que 1000 $\mu\text{g/mL}$ considerado inativo 55

Tabela 2: Avaliação do crescimento bacteriano expresso pela concentração inibitória mínima (CIM), em $\mu\text{g/mL}$, onde 50-100 $\mu\text{g/mL}$ considerada atividade ótima, 500-1000 $\mu\text{g/mL}$ e maior que 1000 $\mu\text{g/mL}$ considerado inativo 56

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Hibridação molecular, utilização de unidade chave do entambutol e tiofeno.	9
Esquema 2: Primeira versão de síntese do 2-aminotiofeno	11
Esquema 3: Segunda versão de obtenção de derivados 2-aminotiofenos	11
Esquema 4: Terceira versão de obtenção de derivados 2-aminotiofenos	11
Esquema 5: Quarta versão de obtenção do 2-aminotiofeno	12
Esquema 6: Síntese de tioureido a partir de cicloalquiltiofeno e isocianato em etanol sob refluxo	13
Esquema 7: Acilação Friedel-Crafts do tiofeno utilizando cloreto ácido e cloreto de alumínio catalítico	14
Esquema 8: Acilação de Friedel-Crafts utilizando iminas	15
Esquema 9: Reação de oxidação do tiofeno	15
Esquema 10: Substituição no anel tiofeno	16
Esquema 11: Análise retrosintética do anel 4-tiazolidinona	19
Esquema 12: Síntese do anel 4-tiazolidinona partindo da função tioamida com anidrido maléico em ácido acético sob refluxo	19
Esquema 13: Síntese de 4-tiazolidinonas 2,3-disubstituídas partindo de tiosemicarbazonas e ácido tioglicólico	20
Esquema 14: Síntese de 4-tiazolidinonas utilizando reações de condensação de três componentes	20
Esquema 15: Reação de Oxidação no anel 4-tiazolidinona	22

Esquema 16: Reação de N-Alquilação, formação do alquil Ester na posição 3 do anel	22
Esquema 17: Reação de Mannich	23
Esquema 18: Comdensação da 4-tiazolidinona com aldeído e trietilamina catalítica	24
Esquema 19: Rota sintética para obtenção de derivados cicloalquil tiofenos por reação de gewald	31
Esquema 20: Mecanismo da reação de Gewald	32
Esquema 21: Mecanismo da síntese de tioureido	33
Esquema 22: Mecanismo de formação do anel 4-tiazolidinona	34
Esquema 23: Equilíbrio químico de derivados cicloalquiltiofenos e possíveis produtos formados	37
Esquema 24: Ressonância de derivados LPSF/ZA impossibilitando condensação de Knoevenagel	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINE – Antiinflamatórios não-esteróides

CIM – Concentração inibitória mínima

COX – Cicloxigenase

d- duplete

dd – Duplo duplete

Hz – Hertz

J – Constante de acoplamento

LPSF – Laboratório de planejamento e síntese de fármacos

m – Multiplete

PGHS – Prostagladina endoperóxido sintase

PPAR γ – Receptor ativador da proliferação de peroxissomos

R_f – Razão de frente

RMN ^{13}C – Ressonância magnética nuclear de ^{13}C

RMN ^1H – Ressonância magnética nuclear de ^1H

s – Simpleto

SAR – Relação estrutura-atividade

t – Tripleto

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de novos derivados aril-tioureido-cicloalquil[b]tiofenos e 2[(4-tiazolidinona)-amino]-cicloalquil[b]tiofenos (LPSF/ZA), por estratégia de hibridação molecular afim de reunir características estruturais em uma única estrutura para alcançar um novo composto com propriedades farmacológicas mista, dual ou dupla. A síntese consiste na reação de Gewald para obtenção de 2-aminotiofeno, seguida de reações comarilisotiocinatos fornecendo os derivados aril-tioureido-cicloalquil[b]tiofenos que por ciclização com ácido monocloroacético forneceu os derivados híbridos 4-tiazolidina-2-amino-cicloalquil[b]tiofenos. Todos os compostos tiveram suas estruturas comprovadas por RMN¹H, RMN ¹³C e IV. Os compostos foram testados frente aos seus potenciais antimicrobianos em testes de sensibilidade antifúngica frente a 6 cepas fúngicas, *Candida albicans* (ATCC – 76485 e LM – V42), *Candida tropicalis* (ATCC – 13803 e LM – 14), e *Cryptococcus neoformans* (ICB – 59 e LM – 0310). Para os testes antifúngicos os resultados obtidos não apresentaram grande relevância biológicas ficando as CIM (concentração inibitória mínima) estabelecidas entre 256 e 1048 µg/ mL, comparado miconazol a 50 µg/mL como controle antifúngico. Diante dos resultados obtidos os derivados foram classificados como inativos e a maioria das cepas bacterianas apresentaram resistência. Com os resultados obtidos foi possível verificar que a associação cicloalquitiofeno e 4-tiazolidinona não apresentaram resultados satisfatórios para atividade antimicrobiana, no entanto, a literatura indica a possibilidade de resultados promissores em testes antiinflamatórios e antitumorais.

Palavras-chave: 2-aminotiofeno, 4-tiazolidinona, hibridação molecular, antibacteriano e antifúngico.

ABSTRACT

This study aimed to obtain new derivatives aryl-thioureido-cicloalquil[b]thiofeno e 2[(4-thiazolidinone)-amino]-cicloalquil[b]thiofeno (LPSF/ZA), by molecular hybridization strategy order to meet the structural features in a single structure to achieve a new compound with mixed dual or double pharmacological properties. The synthesis is the Gewald reaction to obtain 2-aminothiofeno, followed by reaction with aryl isothiocyanates providing derivatives with aryl thiourea-cycloalkyl [b] thiophenes by cyclization to monochloroacetic acid derivatives provided the hybrid 4-thiazolidine-2-aminocycloalkyl [b] thiophenes. All compounds had their structures confirmed by NMR ^1H , NMR ^{13}C and IR. The compounds were tested against their potential antimicrobial and antifungal susceptibility testing of the six strains fúngicas, *Candida albicans* (ATCC – 76485 and LM – V42), *Candida tropicalis* (ATCC – 13803 and LM – 14), and *Cryptococcus neoformans* (ICB – 59 and LM – 0310) for the antifungal tests the results did not show high biological importance being established between the CIM between 256 and 1048 mg / mL, miconazole compared to 50 mg / mL as antifungal control. Results obtained derivatives were classified as inactive and most of the bacterial strains were resistant. With the results we can see that the association cicloalquitiofeno and 4-thiazolidinona did not show satisfactory results for biological antimicrobial activity, however, the literature also indicates the possibility of promising results in testing anti-inflammatory and antitumor.

Keywords: 2-aminothiofeno, 4-thiazolidinone, molecular hybridization, antifungal and antibacterial.

INTRODUÇÃO

1.INTRODUÇÃO

O núcleo 2[(4-tiazolidinona)-amino]-cicloalquil[b]tiofeno consiste em um derivado cicloalquiltiofeno condensado ao anel 4-tiazolidinona, os mesmos vem sendo investigados em razão do espectro de atividade biológica com ênfase a atividade antifúngica e antibacteriana.

Os fungos são responsáveis por uma variedade de infecções denominadas micoses, as quais podem ser superficiais como dermatofitoses, regiões mais profundas candidíases e aspergiloses. Atualmente os mais suscetíveis a infecções oportunistas são pessoas imunocomprometidas submetidas à quimioterapia ou até mesmo expostas a algum tipo de estresse (VICENTE et al., 2003).

A terapêutica de infecções microbianas atual é realizada de forma empírica, em razão de dificuldades relacionadas, principalmente, a testes de suscetibilidade. Com relação aos fármacos adotados na terapêutica são de número restrito quando comparados ao arsenal terapêutico antimicrobiano (HORSCH, et al., 1997; PAGANO L. et al. 2010).

Apesar de extremamente úteis no tratamento de micoses, alguns efeitos colaterais dos fármacos antifúngicos são graves, como a lesão renal irreversível que pode ser causada pela anfotericina B e os distúrbios hormonais causados pelo cetoconazol, que, além disso, apresenta efeitos teratogênicos em cobaias. Para melhorar o perfil farmacológico da anfotericina B, reduzindo os efeitos tóxicos indesejáveis, têm sido desenvolvidas técnicas em que a anfotericina B é utilizada em formulações ricas em lipídios tais como lipossomas (Ambisome ®), lipídios complexos (Abelcet), e dispersões coloidais (Amphocil/Amphotech) (RUIZ-HERRERA et al., 2003; DEBONO et al., 1994; PFALLER, 2012) . Entretanto, tais formas farmacêuticas têm sua utilidade limitada devido ao elevado custo (DISMUKES, 2000).

Além disso, podemos enfatizar a ascensão da resistência microbiana, tanto patogênica como comensais, em razão de uso irracional de antibióticos e erros de diagnostico principalmente. Isso leva a uma perspectiva de risco nas futuras

populações (MENZIES-GOW 2011). Podemos exemplificar essa resistência com o surgimento do *Staphylococcus aureus* com resistência total ou intermediária a glicopeptídeos, aumentando a necessidade de se estabelecer medidas terapêuticas eficazes por que as alternativas são reduzidas. Além disso, Resistência aos antibióticos de bactérias é um dos maiores ameaças globais à saúde pública. Para impedir a seleção e disseminação da resistência, o uso de antibióticos tradicionais deve ser limitado e terapias alternativas eficazes devem ser buscadas (BUDIC et al, 2011).

Em vista a necessidade de planejar compostos protótipos e candidatos a fármacos tomando com estratégia a hibridação molecular a fim de reunir farmacóforos em uma única molécula e obter sinergismos de atividade, o presente trabalho está voltado à síntese de compostos tiofenos e 4-tiazolidiona. Em adição, foi realizada uma atividade preliminar antifúngica e antibacteriana dos compostos sintetizados.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais:

Planejar a síntese de novas moléculas das séries: Aril-tioureido-cicloalquil[b]tiofenos e 2[(4-tiazolidinona)-amino]-cicloalquil[b]tiofenos (LPSF/ZA) e avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana visando a obtenção de possíveis candidatos a fármacos.

2.2 Objetivos Específicos:

- Sintetizar novas moléculas das Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7,8-tetrahidro [b]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA) ;
- Caracterizar e comprovar estruturalmente as duas séries de compostos utilizando diferentes técnicas espectroscópicas e espectrométricas através de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono, infravermelho e massas;
- Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* dos derivados tiofênicos LPSF/ZA através de ensaios de sensibilidade, frente a diferentes isolados clínicos de *Candida* e *Cryptococcus* de forma a determinar as concentrações inibitórias mínimas fungicidas.
- Avaliar a atividade *in vitro* dos derivados tiofênicos LPSF/ZA através de ensaios de sensibilidade, frente *S. aureus* e *E. coli* e determinar a CIM.

REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Planejamento de Fármacos

Em linhas gerais, os fármacos disponíveis na terapêutica contemporânea são em sua maioria de origem sintética alcançando um percentual em torno de 85% do arsenal terapêutico. Este emergiu com a ascensão da química orgânica e técnicas analíticas. Com o objetivo de incrementar novas moléculas com potencial atividade, biodisponibilidade favorável, baixo custo e efeitos adversos mínimos, se fazem necessário a utilização de técnicas analíticas, métodos computacionais, conhecimento de possíveis alvos terapêuticos e mecanismos de ação (BARREIRO, 2002).

A hibridação molecular é uma ferramenta capaz de reunir características de vários núcleos farmacofóricos distintos em uma mesma estrutura. Assim a hibridação molecular propicia uma maior perspectiva para a terapêutica de fisiopatologias com características duais ou mistas, além de favorecer em alguns casos a ocorrência de sinergismo na resposta farmacológica (EL-DEEB et al., 2010). Com base na estratégia aqui apresentada Omar et al. 2010, sintetizam moléculas contendo o núcleo 4-tiazolidinona conhecido por seu amplo espectro de atividade e a adamantano (Figura 1) com ação antiviral contra influenza A e HIV (OMAR et al., 2010).

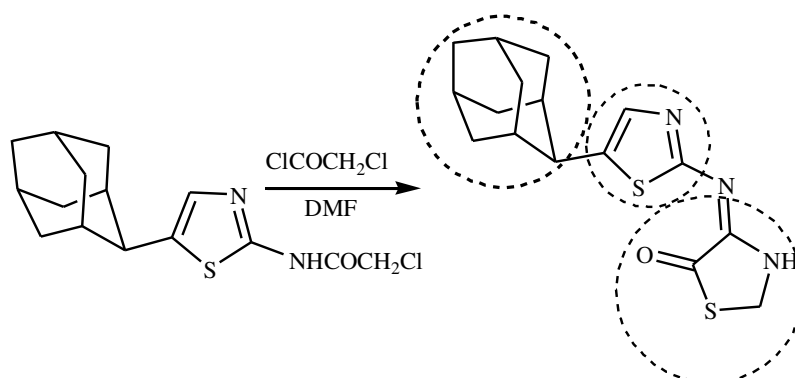
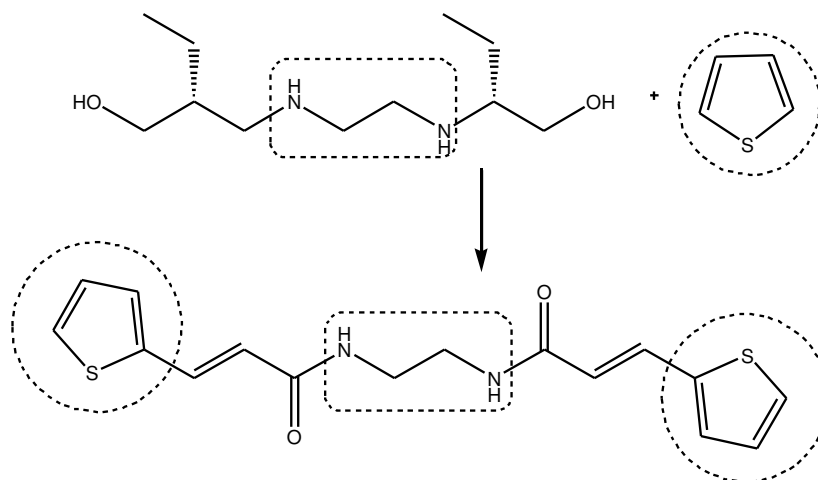


Figura 1: Hibridação molecular, núcleos adamantano, tiazol e 4-tiazolidinona

Utilizando a hibridação molecular Kakwani et al. 2011, desenvolvem compostos (Esquema 1) utilizando unidade chave do entambutol com núcleo tiofeno (KAKWANI M. D. 2011).



Esquema 1: Hibridação molecular, utilização de unidade chave do entambutol e tiofeno.

3.2 Tiofeno

O anel tiofeno possui a estrutura elucidada e relatada na literatura, a mesma consiste em uma estrutura pentamérica com a presença de um átomo de enxofre na posição um. A literatura destaca a descoberta e caracterização de propriedades físico-químicas dos tiofenos (Figura 3) na década de 1880 e foi atribuída a Victor Meyer (HELLIWELL, et al., 2011).

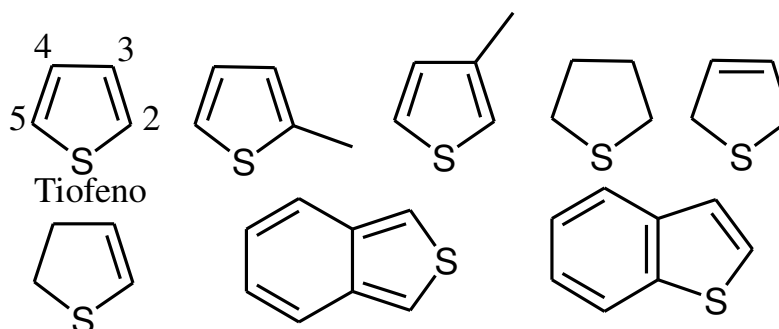


Figura 2: Tiofeno numerado e derivados do tiofeno.

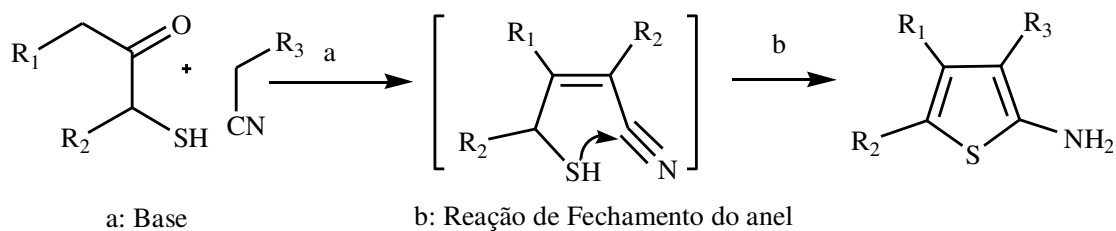
3.2.1 Síntese de 2-aminotiofenos

Em vista ao vasto número de reações para síntese do anel tiofênico descrito e padronizado pela literatura é possível destacar algumas metodologias de obtenção do anel. A reação de Gewald, cujos relatos literários datam da década de 1960 (GEWALD, 1965) consiste na obtenção do anel 2-aminotiofeno com possibilidade de substituição nas posições 2, 3, 4 e 5, embora, Benary em 1910 relata uma síntese do anel 2-aminotiofeno em múltiplas etapas.

A versatilidade da reação de Gewald torna um meio viável na obtenção de 2-aminotiofenos, além de apresentar rendimentos satisfatórios e uma variedade de metodologias. A reação de Gewald consiste na condensação de um composto carbonilado, sendo o mesmo um aldeído ou cetona na presença de base, esta podendo ser orgânica (triethylamina, piridina, morfolina, *L*-prolina, dentre outras) ou inorgânica (bicarbonato de potássio, hidróxido de sódio, dentre outras), com um composto que contenha um metileno ativo, a exemplo a malonitrila, cianoacetato de etila, entre outros (GOMPPER, 1962).

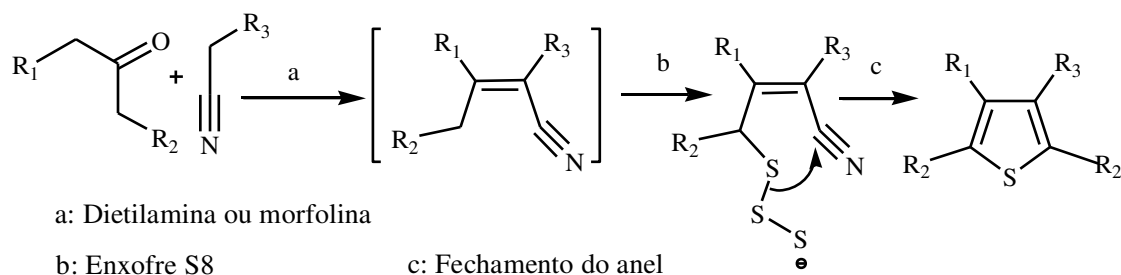
Tratando de forma mais enfática para obtenção de 2-aminotiofenos há varias versões da reação de Gewald. Segundo Puterová há várias versões que conduzem ao anel 2-aminotiofeno, todas apresentam em comum a ocorrência de reação de condensação Knoevenagel catalisada por base e fechamento do anel via reação intramolecular (PUTEROVÁ, et al., 2010).

Segundo Puterová a primeira versão da reação de Gewald (Esquema 2) consiste na utilização de α -sulfanilaldeídos ou α -sulfanilcetonas tratadas com acetonitrila ativada na presença de base orgânica. É possível diferentes substituições na posição dois, três e cinco do anel (MILART, et al., 1998; PUTEROVÁ, et al., 2010).



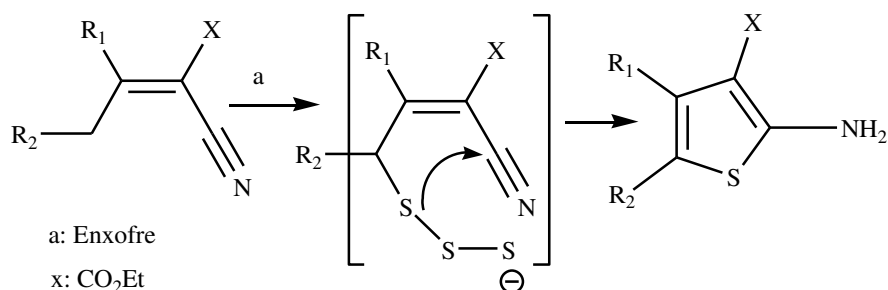
Esquema 2: Primeira versão de síntese do 2-aminotiofeno

A segunda versão caracteriza-se pela utilização de um composto α-metileno carbonilado, acetonitrila ativada e enxofre (Esquema 3). Segundo relatos a margem de rendimento varia de 45% a 95% sendo possível obter diferentes derivados 2-aminotiofeno (GEWALD, et al., 1966).



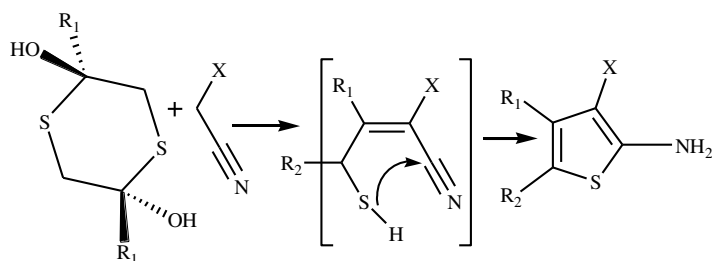
Esquema 3: Segunda versão de obtenção de derivados 2-aminotiofenos

A terceira versão (Esquema 4) diferencia das demais por permitir a obtenção do anel utilizando nitrilas α-β insaturadas na presença de enxofre por meio de uma condensação Knoevenagel-Cope (NAUMANN, et al., 1996).



Esquema 4: Terceira versão de obtenção de derivados 2-aminotiofenos

E por fim a quarta versão (Esquema 5) que permite a síntese do anel utilizando compostos acetonitrilas e ditiane dióis na presença de base orgânica, a metodologia dispensa a utilização de enxofre elementar (HALLAS, et al, 1999).



Esquema 5: Quarta versão de obtenção do 2-aminotiofeno

Além da reação de Gewald Várias outras reações conduzem de formação do anel tiofeno, dentre elas se encontram a Síntese de Paal-Knorr a mesma é de grande relevância para síntese de pirróis, furanos e tiofenos. A síntese de Paal consiste em formar o anel tiofênico substituído partindo de uma dicetona na presença de reagente de Lawesson's. Segundo a literatura a reação pode levar de quatro a cinco horas (RYZHKOV 2011).

3.2.2 Reatividade do Tiofeno e Síntese de Tioureidos

O anel 2-aminotiofeno pode ser submetido a uma variedade de reações, tais como oxidação, substituição, adição, acilação, complexação dentre outras (Figura 4). A amina livre permite na posição dois do anel permite realização com aril isotiocianatos e acilação, em razão da nucleofília da mesma.

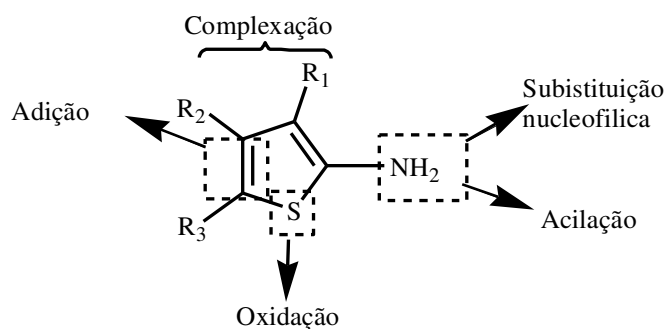
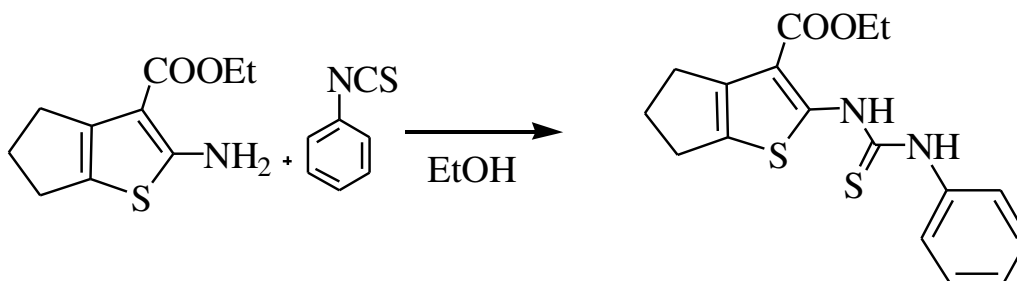


Figura 3: Principais reações do anel tiofeno

Partindo do núcleo 2-aminotiofeno há possibilidade de reação com derivados isotiocianatos, haja vista a nucleofilia do grupamento 2-amino tiofeno 3-carboxil éster. Os efeitos de ressonância nos compostos 2-amino tiofeno 3-carboxil ésteres podem comprometer a nucleofilia da amina livre, mas nada impede que a reação aconteça. Segundo a literatura há várias possibilidades viáveis para realização do acoplamento mencionado, a primeira é a reação em meio etanólico sob refluxo apresentando rendimentos favoráveis e procedimento simplificado (LEISTNER, et al., 1987; MODICAL et al., 2000; WANG, et al., 2007).

Dentre as metodologias a literatura apresenta a obtenção do derivado tioureido partindo do anel 2-aminotiofeno, isotiocianato utilizando clorofórmio como solvente e diisometilpiridina como catalisador. Segundo o autor a necessidade de um catalisador facilita o ataque ao carbono ligado ao enxofre do derivado isocianato (ARHIN et al., 2006). Além das referidas metodologias Santagati et al., 2007, relata sobre síntese de tioureidos (Esquema 6) afirma que a reação ocorre tanto em etanol como em tolueno sob refluxo apresentando rendimentos favoráveis (SANTAGATI et al., 2007).



Esquema 6: Síntese de tioureido a partir de cicloalquiltiofeno e isotiocianato em etanol sob refluxo.

3.2.3 Formação de complexos com anel tiofênico

O anel tiofeno em razão das propriedades químicas permite a formação de complexos com metais como molibdênio (figura 5). Uma das aplicações na indústria destes complexos é a retirada de impurezas do petróleo (JANAK, et al., 2002).

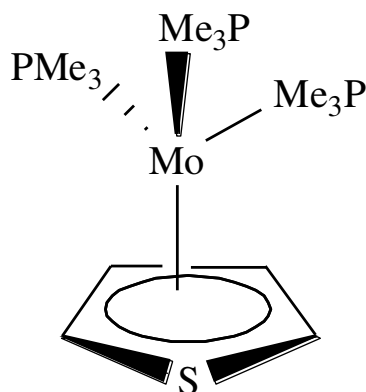
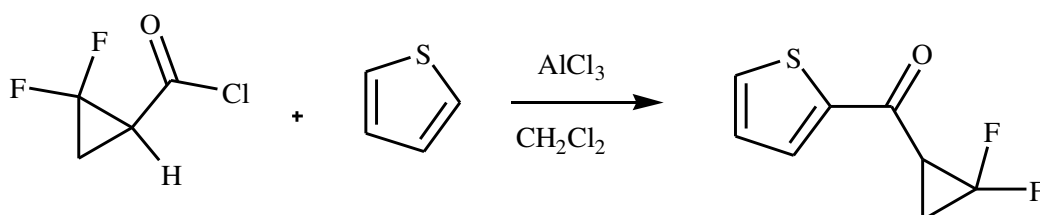


Figura 4: Complexo do tiofeno com molibdênio

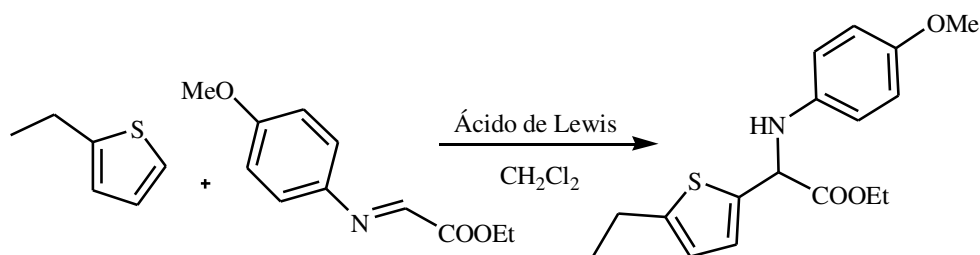
3.2.4 Acilação do Tiofeno

Derivados tiofeno 2-acilados podem ser obtidos por acilação de Friedel-Crafts em reação envolvendo um éster na presença de cloreto de estanho em diclorometano (RAPOSO 2001). Recentemente Dolbier et al. 2011, obtiveram, satisfatoriamente, derivados (2,2-Difluorociclopropil)(tiofen-2-il)metanona utilizando tiofeno, 1.2 equivalentes de cloreto de alumínio atuando como ácido de Lewis e cloreto de 2,2-difluorociclopropanocarbonil previamente preparado alcançando um rendimento de 86% (Esquema 7) (DOLBIERT, et al., 2011). Para Kaya 2011 a utilização de ácido de Lewis na reação é essencial, fazendo com que a reação aconteça em 4 horas e propicie rendimentos satisfatórios (KAYA 2011).



Esquema 7: Acilação Friedel-Crafts do tiofeno utilizando cloreto ácido e cloreto de alumínio catalítico.

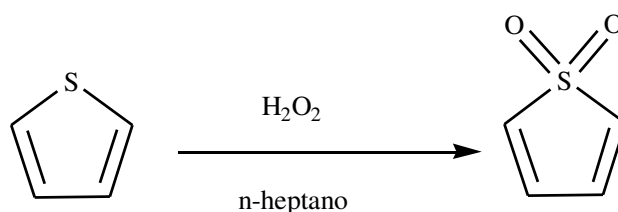
Em outro trabalho Huang et al. 2011, obtiveram derivados 2-alkilados por meio de reação de Friedel-Crafts (Esquema 8) a partir de iminas aromáticas, tiofenos na presença de ácido de Lewis (HUANG, et al., 2011).



Esquema 8: Acilação de Friedel-Crafts utilizando iminas

3.2.5 Oxidação no anel tiofeno

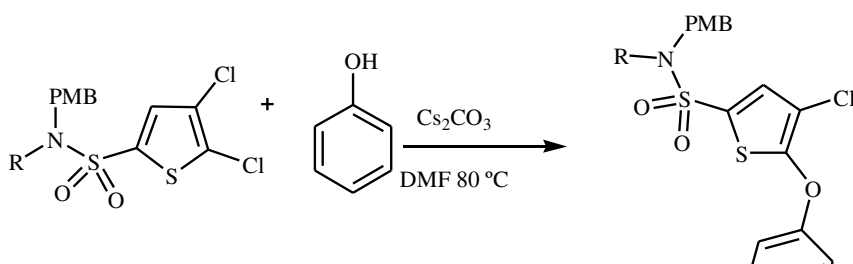
A conversão do enxofre do tiofeno a grupo sulfona em compostos orgânicos depende da quantidade de agente oxidante (Esquema 9), geralmente a reação se processa de forma satisfatória na presença de peróxido de hidrogênio ou tert-butilhidroperóxido, mas comumente é usado peróxido de hidrogênio. (MAURYA, et al., 2010).



Esquema 9: Reação de oxidação do tiofeno

3.2.6 Substituição nucleofílica no anel tiofênico

Substituição nucleofílica pode ser obtida nas posições 2,3, 4 ou 5 (Esquema 10) do anel tiofênico por ataque de nucleófilo geralmente em meio básico (WILLIAMS,. et al., 2010).



Esquema 10: Substituição no anel tiofeno

3.2.7 Fármacos Contendo o Anel tiofeno

Em particular, no final do século XIX, a busca por medicamentos menos tóxicos resultou na introdução de substâncias sintéticas na terapêutica e seu uso foi amplamente disseminado no século XX. Na área de química medicinal em 2001 cerca de 85% dos fármacos disponíveis na terapêutica moderna são de origem sintética, isto sem considerar aqueles oriundos de processos de semi-síntese. A importância dos compostos heterocíclicos é incontestável, particularmente no que se refere ao fato de inúmeros usos como medicamentos (Figura 6).. Neste contexto, diversas substâncias sintéticas são obtidas a partir de derivações de anéis heterocíclicos, dentre as quais, destaca-se o tiofeno devido à sua potencialidade como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos (ANDES D.; PASCUAL A.; MARCHETTI O. 2009)

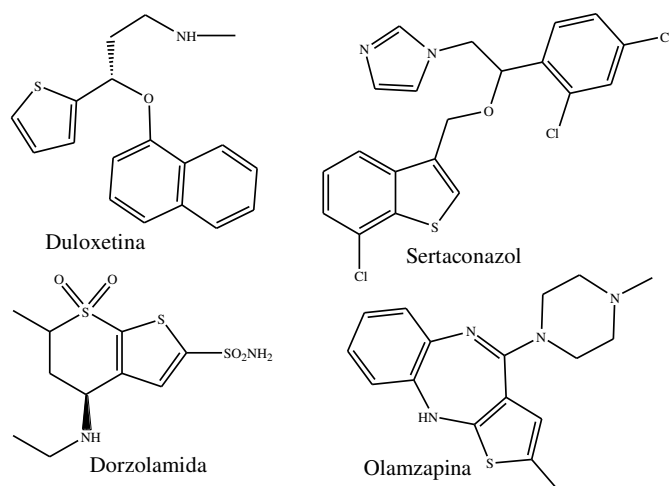


Figura 5: Alguns Fármacos comerciais que possuem o anel tiofeno, Olanzapina, Dorzolamida, Duloxetina e Sertaconazol.

3.2.8 Atividade Biológica do Tiofeno

Há uma variedade de compostos heterocíclicos que apresentam atividade biológica, entre estes os derivados contendo o núcleo tiofeno exibem atividades biológicas relevantes para a terapêutica, tal como anti-inflamatória, anestésica, antitumoral, antifúngica, antidepressiva, dentre outras, devido às várias possibilidades de reações químicas (AL-OBAID, et al., 1998).

Várias pesquisas têm mostrado interesse nessas atividades como exemplo a potente ação antiinflamatória do núcleo já mencionado (GANS et al., 1990; MOORE et al., 1996; PANAGOULIS et al., 2007). Dentre os mecanismos de ação propostos relativo à ação do núcleo é enfatizada a atuação em nível de ciclooxigenases (COX)(BALSAMO, et al., 2003).

Além disso, o núcleo exibe atividade antitumoral por atuar no processo de angiogênese atuando, possivelmente, em mecanismos de transdução de sinais tais como quinases, fosfolipase A2, metabolismo do ácido aracdônico, receptores de fosforilação (EGF) e Ca^{++} -ATPase (ANDERSON; JONES, 1984; CHAN et al., 2004; ALQASOUMI, et al., 2009).

Ainda levando em consideração o amplo espectro de ação do núcleo tiofeno destaca-se a atividade antimicrobiana, exaustivamente, relatada pela literatura (BONDOCK, et al., 2010; ASIRI & KHAN, 2011). Em um trabalho desenvolvido por Rodriguez-Arguelles 2007, há comprovação de inibição de crescimento bacteriano testando derivados tiofênicos frente a cepas gram positivas e negativas (RODRIGUEZ-ARGUELLES 2007). É possível destacar também o trabalho realizado por Flipo M. 2011, onde o mesmo avalia tiofen-2-il-1,2,4-oxadiazol em ensaio fenotípico com macrófagos infectados por *M. tuberculosis* confirmando a atividade *in vitro* (FLIPO M. 2011).

Considerando a atividade antifúngica de derivados tiofênicos, trabalhos realizados mostram considerada atividade contra cepas resistentes quando comparados a anfotericina B (CHOHAN, et al., 2006; WARDAKHANA, et al., 2007; PINTO et al., 2008). Tanguamani A. 2010, avalia a atividade antifúngica *in vitro* frente a cepas de *Cryptococcus neoformans* (ATCC-3312), *Cândida albicans* (ATCC-3122), *Rhizopus sp.* (ATCC-2915), *Aspergillus niger* (ATCC-598) e *Aspergillus flavus* (ATCC-485) obtendo concentrações inibitórias abaixo de 200 mg/mL pelo método de microdiluição (THANGAMANI A, 2010).

3.3 Tiazolidinonas

Em geral a estrutura da tiazolidina consiste em um heterociclo pentamérico contendo dois heteroátomos, enxofre na posição um e nitrogênio na posição três e o grupo carbonila na posição quatro, podendo diferenciar os grupos nas posições dois, três e cinco. As 4-tiazolidinonas são bioisósteros (Figura 7) das tiazolidin-2,4-dionas, imidazolidin-2,4-dionas, tioxotiazolidinonas e outras (ANDRES, et al., 2000; ALTINTAS, et al., 2005; DANDIA, et al., 2006).

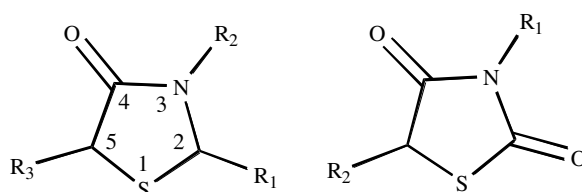
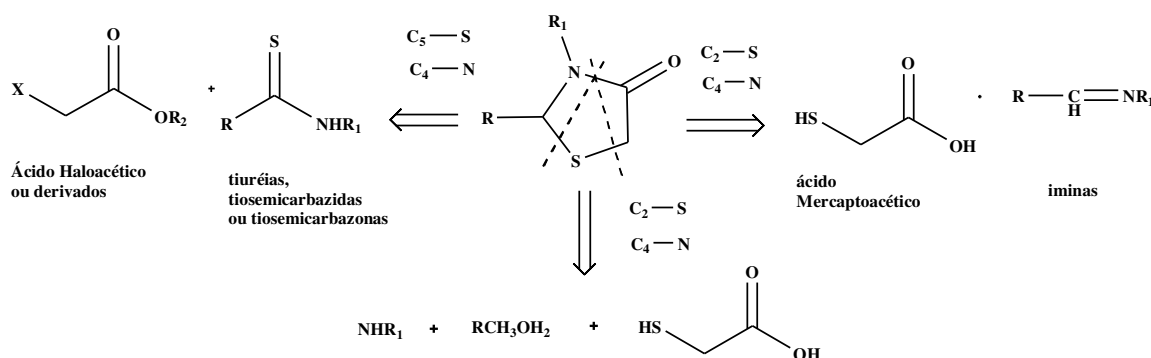


Figura 6: Anel 4-tiazolidinona e seu bioisótero tiazolidin-2,4-diona.

3.3.1 Síntese de 4-Tiazolidinonas

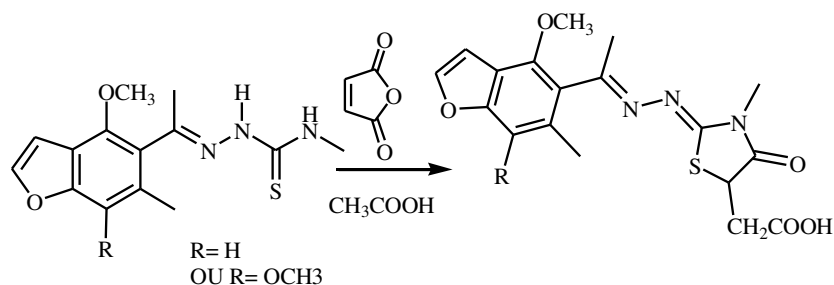
Dentre as metodologias para síntese do anel 4-tiazolidinona destacam-se duas possibilidades, a primeira é possível a partir de reações envolvendo compostos α -ceto-halogenados levando a formação de C_5-S e C_4-N . Já a segunda metodologia leva a formação de C_2-S e C_4-N por meio de reações entre iminas substituídas e ácido α -mercaptoacético, ainda é possível obtenção através de reações entre aminas, aldeídos e ácido α -mercaptoacético. Nesta, primeiro o aldeído reage com a amina e posteriormente há formação do anel 4-tiazolidinona (Esquema 11).



Esquema 11: Análise retrosintética do anel 4-tiazolidinona

I. Meios de Obtenção de 4-tiazolidinonas com função tioamida

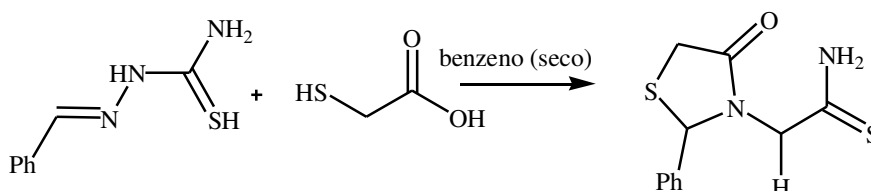
Um meio viável para obtenção de tiazolidinonas é a partir de tiosemicarbazonas com compostos carbonilados α,β -insaturados, como acetilenodicarboxilato de metila (BERSENEVA et al., 1998) ou com anidrido maleico em catálise básica (AQUINO, et al., 2008). Recentemente Ragab et al. 2010, obtiveram novos derivados, possuindo o grupo ácido acético em posição 5 do anel 4-tiazolidinona, a partir da reação entre derivado o tiosemicarbazona e anidrido maleico em ácido acético glacial por 16 horas em refluxo (Esquema 12) (RAGAB, et al., 2010).



Esquema 12: Síntese do anel 4-tiazolidinona partindo da função tioamida com anidrido maleico em ácido acético sob refluxo.

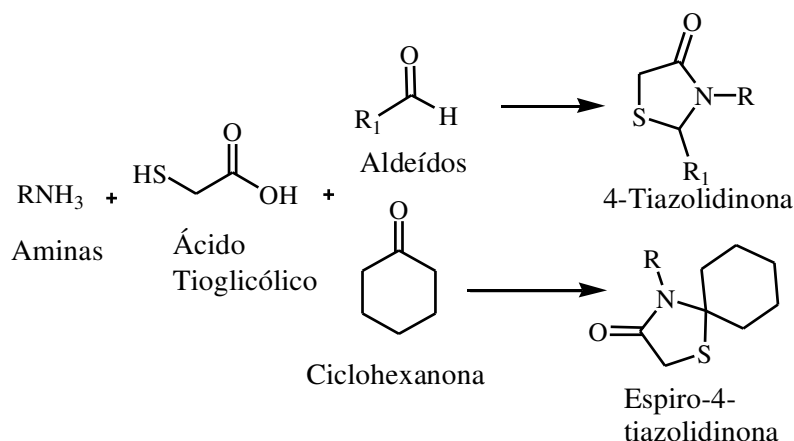
II. Obtenção do anel 4-tiazolidinona a partir de reações envolvendo ácido α -mercaptoacético

A literatura descreve, exhaustivamente, a obtenção de tiazolidinonas 2,3-disubstituídas por meio de reações utilizando ácido α -mercaptoacético. Há várias possibilidades para condicionar ao produto desejado, podemos destacar a reação com tiosemicarbazonas e ácido α -mercaptoacético (Esquema 13).



Esquema 13: Síntese de 4-tiazolidinonas 2,3-disubstituídas partindo de tiosemicarbazonas e ácido tioglicólico

Além disso, podemos ressaltar a síntese de 4-tiazolidinonas utilizando aminas e aldeídos em reações que envolvem três reagentes. Estas reações em que os três reagentes reagem em um único balão são denominadas reações “one-pot”, dentre as vantagens é válido destacar a facilidade de purificação e isolamento de compostos (Esquema 14).



Esquema 14: Síntese de 4-tiazolidinonas utilizando reações de condensação de três componentes.

3.3.2. Possíveis reações com o anel 4-tiazolidona

O anel 4-tiazolidinona possui considerável reatividade em razão da diferença de eletronegatividade que leva a deslocamento de nuvem eletrônica no anel. Entre as reações possíveis há possibilidade de oxidação na posição um (JOHNSON et al., 1983). Além disso, há possibilidade de N-alquilação na posição três geralmente utilizando haletos de benzila, reações de Manich, tionação da carbonila utilizando reagente de Lawesson e condensação/adição de Michael na posição 5 do anel com aldeídos, cetonas, ésteres de Cope ou sais de diazônio (Figura 8) (SINGH, et al., 1981).

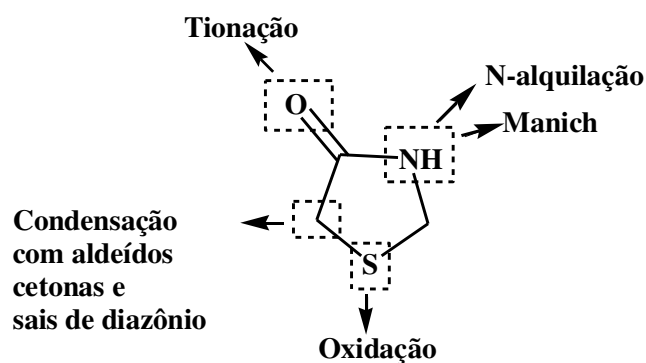
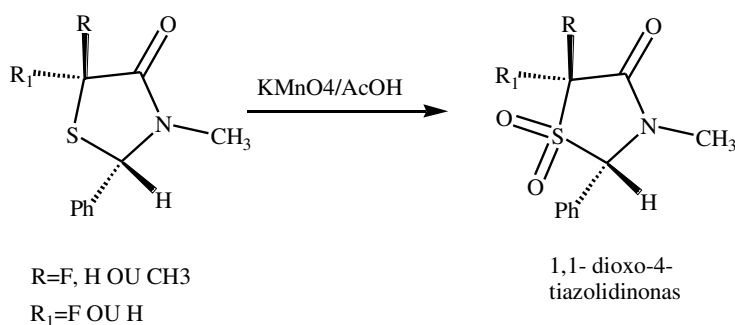


Figura 7: Principais reações do anel 4-tiazolidinona

I. Reação de Oxidação

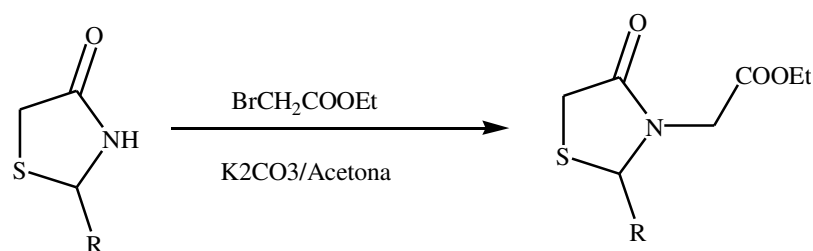
A oxidação na posição um do anel 4-tiazolidinona é viável com a utilização de permanganato de potássio (KMnO_4) em ácido acético a 5°C (Johnson et al., 1983). A formação de 1,1-dioxo-4-tiazolidinona também é possível utilizando ácido m-cloropercbenzóico (Esquema 15).



Esquema 15: Reação de Oxidação no anel 4-tiazolidinona

II.Reação de N-Alquilação

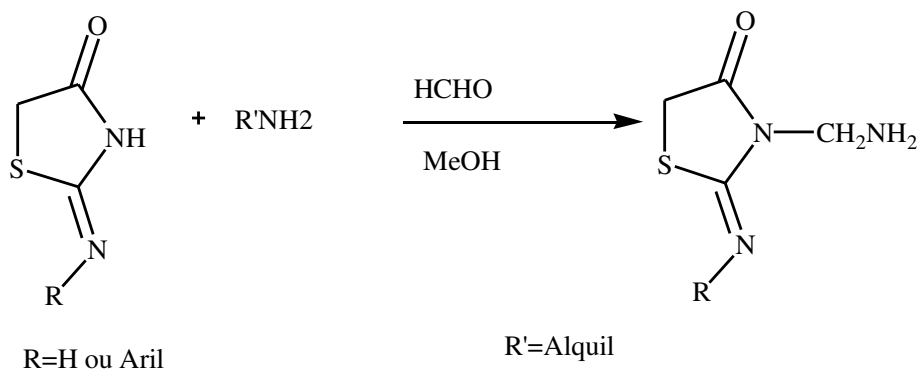
Trabalhos publicados demonstraram que a obtenção de derivados N-alquilados com grupos alquil ou alquilalcóxi são obtidos com sucesso (Esquema 16). A síntese consiste utilização de base para abstração do hidrogênio do NH da posição três formando um íon amideto. Este em solvente preferencialmente aprótico é apto a atuar como nucleófilo (LEITE, et al., 2007).



Esquema 16: Reação de N-Alquilação, formação do alquil Ester na posição 3 do anel

III.Reação de Mannich

A literatura discute, exaustivamente, reações do tipo Mannich. As mesmas ocorrem geralmente entre 2-imino-4-tiazolidinonas e aminas primárias ou secundárias, em presença de formaldeído (HCHO) ou paraformaldeído [(HCHO)_n], em metanol, levando à formação de 2-imino-3-(aminometil substituído)-4-tiazolidinona (Esquema 17) (BOMBARDIERI; TAURINS, 1955; CAMPAIGNE, et al., 1965; ALTINTAS, et al., 2005).



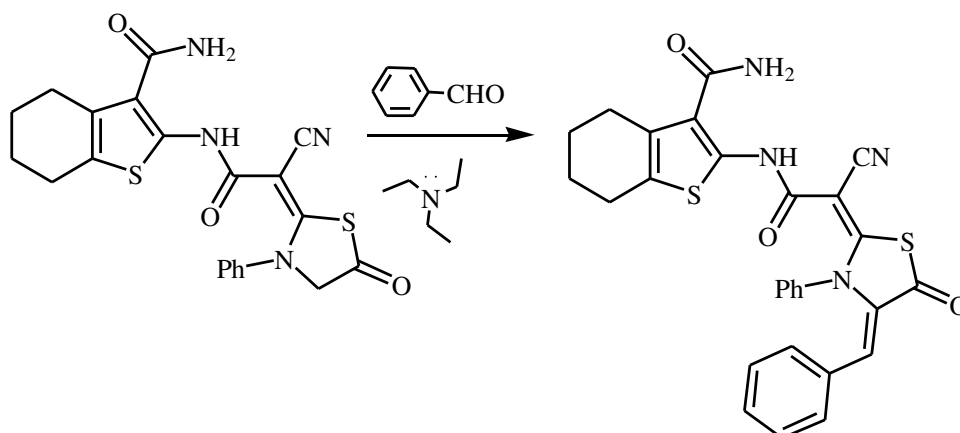
Esquema 17: Reação de Mannich

IV.Reação de Condensação na posição 5 da 4-tiazolinona

A substituição na posição 5 é viável devido a presença de um metileno ativo quando na presença de base, podendo condensar na presença de aldeídos, cetonas ou ésteres de Cope (GHOGARE et al., 2010). Nesta reação há formação de um enolato intermediário estabilizado, que é dependente do efeito elétron-atraente

da carbonila, adjacente ao grupo metileno, e da presença de grupos elétrons-atraentes na posição 2 do anel 4-tiazolidinona (Esquema 18).

Quando por meio de reação de Knoevenagel pode ser utilização meio tamponado ácido acético/acetato de sódio (METWALLY et al., 2010). Outras metodologias para condensação na posição 5 também são viáveis a exemplo utilizando etanol com piperidina catalítica (OTTANA, et al., 2009).



Esquema 18: Condensação da 4-tiazolidinona com aldeído e trietilamina catalítica.

A formação 5-arlidenos-4-tiazolidinonas, obtidos pela condensação de 4-tiazolidinonas com benzaldeídos substituídos, conduz, teoricamente, à duas configurações diastereoisoméricas E e Z. A configuração na qual os dois substituintes prioritários (enxofre e fenil) se encontram do mesmo lado é denominada Z; quando estes substituintes estão localizados em lados opostos é denominada E. A determinação da configuração dos diastereoisômeros pode ser feita através de análises espectroscópicas (RMN ^{13}C , RMN ^1H) e através de cristalografia por raios X (GOUVEIA, et al., 2009).

V. Reação de Tionação

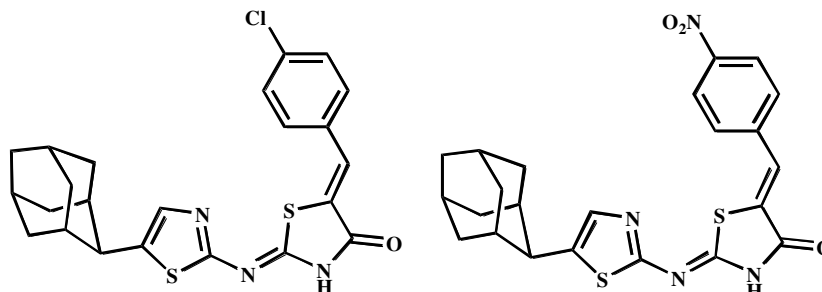
A tionação da carbonila do anel 4-tiazolidinona pode ser sintetizado via reagente de Lawesson 1,3-ditio-2,4-difosfatano-2,4-dissulfeto-2,4-bis(4 metóxfenil), para síntese de 4-tioxo-tiazolidin-2-ona. O mecanismo reacional envolve um intermediário de quatro membros semelhante à oxafosfetana, observada na reação de Wittig, para formação de alquenos a partir de aldeídos e cetonas.

3.4 Relevância biológica das 4-tiazolidinonas

O anel 4-tiazolidinona quando presente em moléculas avaliadas com fins biológicos tem mostrado um amplo espectro de atividade biológica (ANDRES et al., 2000; METWALLY et al., 2010). Este amplo espectro de atividade acontece em razão do núcleo 4-tiazolidinona alcançar vários alvos farmacológicos já estabelecidos. Com base nisso é possível afirmar que 4-tiazolidinonas possui atividade antibacteriana (VICINI et al., 2006; PETRIKAITE et al., 2007; VICINI et al., 2008), antifúngica (OMAR, et al., 2010), antitumoral, antiprotozoária, antiviral, antiinflamatória (GOEL, et al., 1999), analgésica e antipsicótica (Mutlib, et al., 1996).

3.4.1 Atividade antimicrobiana

Metwally et al. 2010, realizaram avaliação biológica de derivados Bis-tiazolidinona usando duas espécies *Aspergillus flavus* e *Candida Albicans*, também contra *Escherichia coli* (EC) e *Staphylococcus aureus* (AS) onde foi possível verificar considerável atividade contra EC e AS (METWALLY, ABDALLA et al., 2010). Recentemente, Omar et al. 2012, realizaram uma avaliação antimicrobiana de derivados do 4-[(adamantan-1-il)1,3-(tiazol-2-ilimino)] tiazolidin-4-one frente a bactérias Gram positiva e negativas e uma variedade de espécies de fungos (Figura 8). Os resultados mostram a atividade dos derivados contra todas as espécies de bactérias e caráter fungicida e o trabalho considera a inclusão de arilídeos na posição 5 do anel enriquece a atividade antibacteriana (BOZDAG-DUENDAR et al., 2007; OMAR, et al., 2010).



3.4.2 Atividade Antiviral

A enzima transcriptase reversa é considerada uma enzima chave na replicação viral do vírus da síndrome da imunodeficiência (HIV). Recentemente tem sido buscado moléculas que atuem efetivamente na replicação com concentração nanomolar e baixa citotoxicidade (BARRECA, et al., 2001).

Kawal et al. 2007, avaliaram a atividade de compostos anti-HIV por meio de inibição da replicação viral por atuar a nível da enzima transcriptase reversa. Os resultados evidenciaram compostos altamente potentes contra o HIV, dentre estes um arilsubstituído, 3H-tiazole-[3,4-a]benzimidazol, provavelmente por ocorrência de mudanças conformacionais. O mecanismo de ação relatado foi atribuído ao HIV RT (RAWAL K. R. et al. 2007).

Em outro trabalho Balzarini et al., 2007, relatam a avaliação do potencial anti HIV de derivados 4-tiazolidinonas contendo adamantano e 2,3-diaril-1,3-tiazolidin-4-ona, os resultados mostraram atividade contra HIV-1 (III_B) e HIV-2 (ROD) em culturas de células, nenhum dos compostos foram ativos contra HIV-2 compostos contendo substituintes na posição 3 do anel tiazolidinona, N-substituídos, mas sem adamantano mostraram-se desprovidos de atividade anti viral (Figura 9) (BALZARINI, et al., 2007).

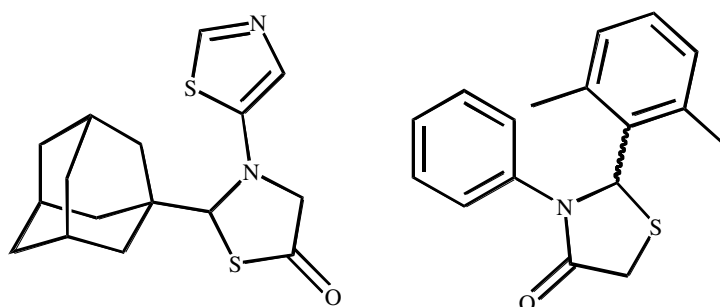


Figura 9: Derivados 4-tiazolidinona avaliados anti HIV.

3.4.3 Atividade Antiinflamatória

Antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) são uma heterogênea família de compostos farmacologicamente ativos utilizado no tratamento de inflamação aguda

e crônica, para analgesia e hipertermia. O processo inflamatório é caracterizado por vários mediadores, com interleucinas, e atuação de enzimas chave como as ciclooxigenases responsáveis pela conversão do ácido aracdônico em prostaglandinas.

Ottanà et al. 2009, relatam a atividade anti-inflamatória da 5-arilideno-2-imino-4-tiazolidinonas. Todos os compostos exibiram atividade em modelos de inflamação aguda induzida por carragenina em edema de pata de ratos. O 5-(4-Metoxifenilideno)-2-fenilimino-3-propil-4-tiazolidinona foi o composto que despertou maior interesse com base nos experimentos sendo submetido ao docking no sitio ativo de COX 2 (OTTANÀ et al. 2009).

Em outro trabalho Kumar e Rajput 2009, avaliaram a atividade anti-inflamatória em inflamação aguda de derivados quinazolin-4-ona contendo o núcleo 4-tiazolidinona. Os resultados mostraram que as moléculas contendo o núcleo 4-tiazolidinona se mostraram superior a derivados contendo azetidionas (KUMAR; RAJPUT, 2009).

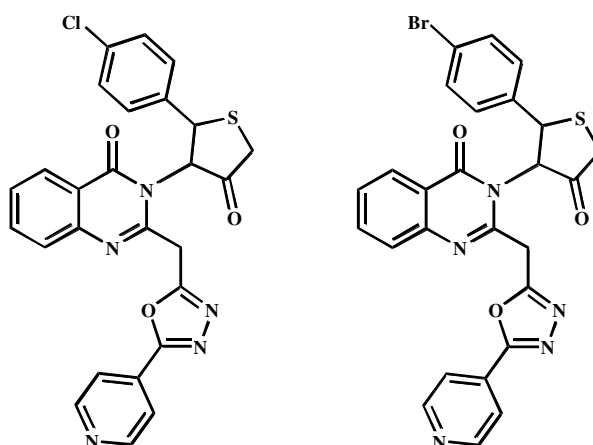


Figura 10: 4-tiazolidinonas com atividade antiinflamatória promissora

3.3.4 Atividade antitumoral

Uma nova série de derivados 5-benzilideno-4-tiazolidinona contendo indol-2-ona, dentre outros, foram sintetizados para avaliação de atividade citotóxica (Figura 10). Em vista os diferentes alvos e mecanismos que derivados 4-tiazolidinonas

podem agir, a exemplo a atuação em nível de fosfatases, quinases, dentre outros. Os derivados sintetizados foram testados em várias linhagens de células (HT-29, H460, MDA-MB-231 e SMMC-772) tumorais humanas (WANG, et al., 2011). Foi possível verificar que derivados 4-tiazolidinona contendo indol-2-ona exibiram de moderada e excelente atividade citotóxica contra as várias linhagens já apresentadas.

Foi possível verificar que derivados 4-tiazolidinona contendo indol-2-ona exibiram de moderada e excelente atividade citotóxica contra as várias linhagens já apresentadas (WANG, et al., 2011).

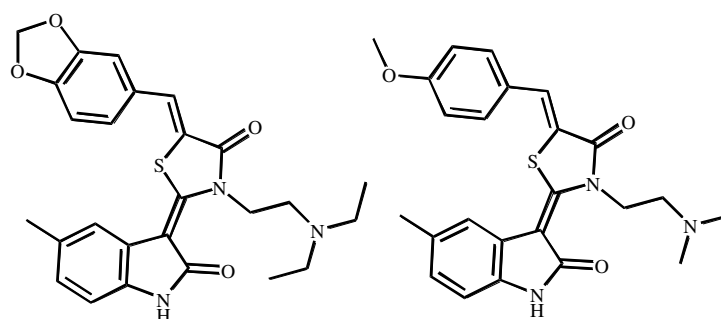


Figura 11: Derivados 4-tiazolidinonas avaliados para atividade antitumoral

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL

4. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL

4.1 Material e Métodos

Os reagentes utilizados foram: Ciclopentanona, Ciclohexanona, Cicloheptanona, enxofre, etanol absoluto, malonitrila e cianoacetato de etila; *fenilisotiocianato*, *p*-Cloro-*fenilisotiocianato*, *p*-Bromo-*fenilisotiocianato*, benzeno, clorofórmio, trietilamina; cloroacetato de Etila, acetato de sódio fundido . Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos e para suas análises pertencem às marcas Sigma, Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis.

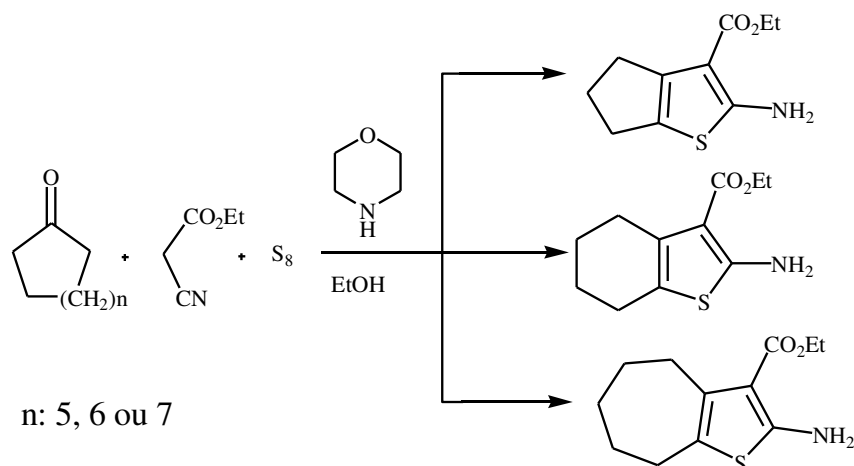
Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm) ou através de vapores de iodo.

A caracterização estrutural foi realizada através da espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV), em espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) e de carbono (RMN ¹³C) foram efetuados em espectrofotômetros Varian Modelo Plus de 300 MHz e de 400MHz. Para determinação dos pontos de fusão será utilizado aparelho Quimis Modelo 340.27.

Nos espectros de ressonância magnética nuclear, os deslocamentos químicos estão expressos em ppm. A multiplicidade dos sinais está representada por: simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), tripleto (t) e multiplete (m) e as constantes de acoplamento (J) estão expressas em Hz (Hertz).

4.1.1 Síntese dos Derivados Cicloalquiltiofenos

O esquema apresenta o diagrama de síntese dos derivados tiofeno (Esquema19) com anéis cíclicos laterais de cinco, seis e sete membros (LPSF/ZA).

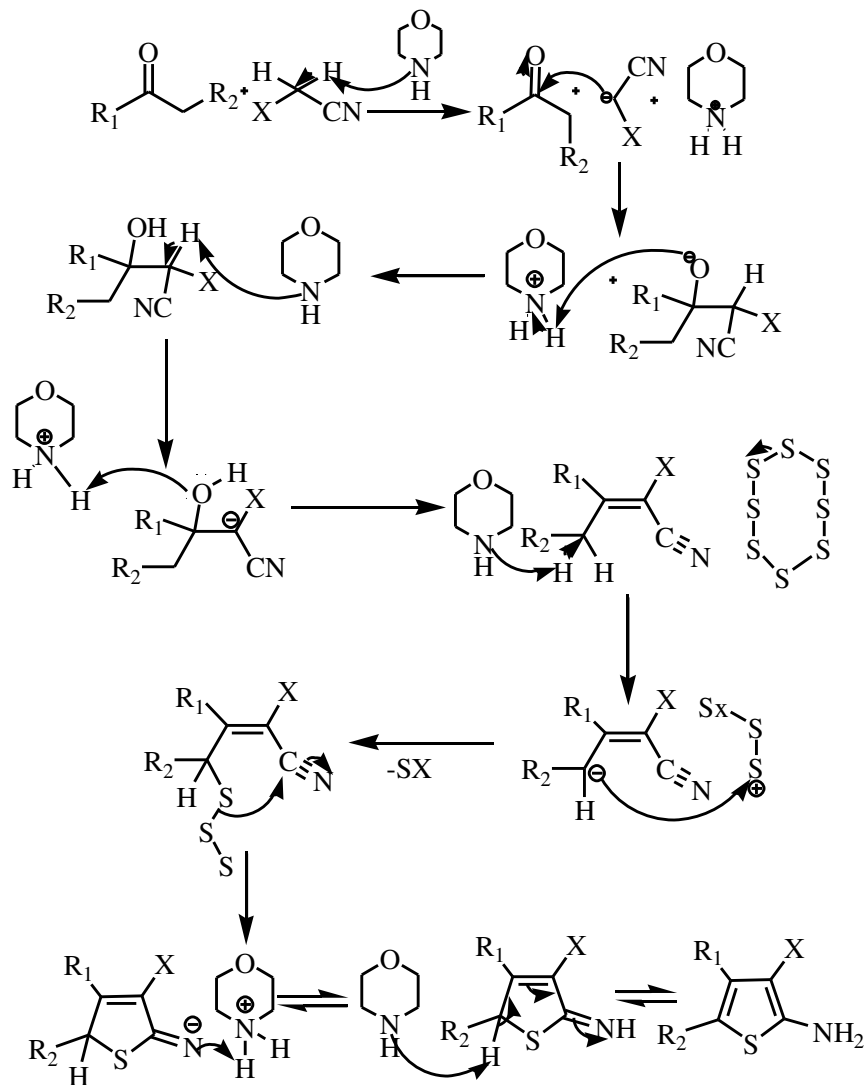


Esquema 19: Rota sintética para obtenção de derivados cicloalquil tiofenos por reação de Gewald.

O referido esquema mostra a reação de Gewald essencial para síntese da primeira etapa da síntese dos derivados (LPSF/ZA). Esta reação orgânica caracteriza-se por envolver a condensação de uma cetona ou de um aldeído com um composto metileno ativo (nesse caso um α -cianoéster) na presença de enxofre elementar e de uma base orgânica. Inicialmente a base retira um próton da acetonitrila que se torna um nucleófilo e ataca a função carbonila. Ocorre, no caso, uma deslocalização dos elétrons para o oxigênio, com isso, o oxigênio capta o próton ao desprotonar a base. Em seguida, ocorre a formação de água e sua posterior saída a partir do momento da formação de uma ligação dupla, ou seja, chega-se ao final da primeira etapa. O produto final gerado é um éster 2-amino-tiofeno. Segundo Puterová a primeira etapa desta síntese é a condensação de Knoevenagel entre uma cetona ou um aldeído e o composto metileno ativo no propósito de produzir o éster de Cope.

A segunda etapa tem o mecanismo ainda não totalmente elucidado (Esquema 20), mas caracteriza-se pela adição do enxofre elementar ao intermediário, formando após ciclização e tautomerização o tiofeno desejado. O provável mecanismo reacional dessa reação inicia com o ataque da base ao hidrogênio α da dupla ligação formada (antes da 1ª reação – o carbono α à carbonila). O nucleófilo

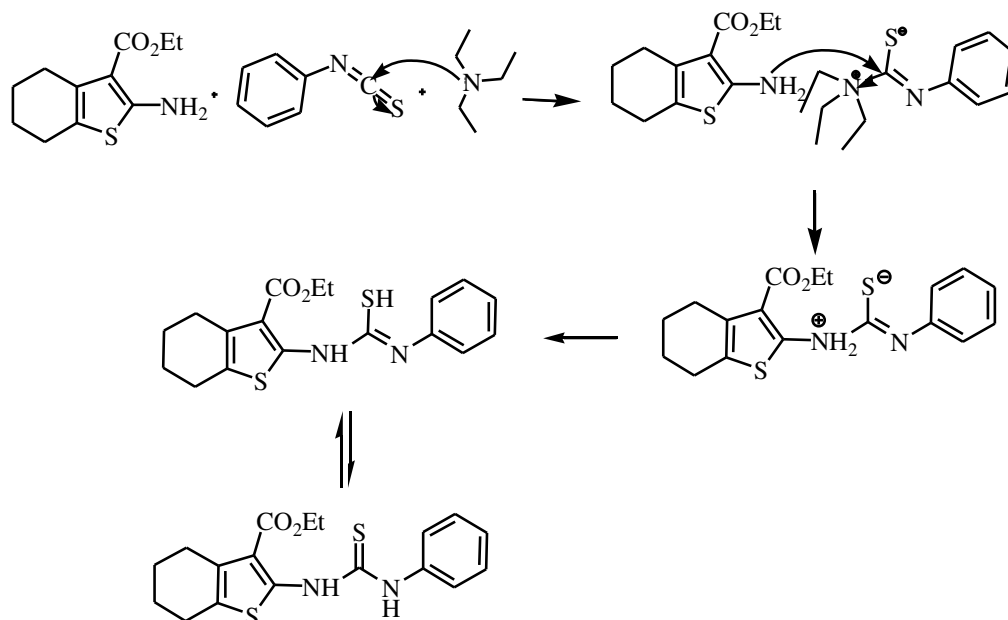
formado ataca um dos átomos de enxofre (S₈) que por sua vez, ataca o carbono da nitrila, fechando o ciclo. Sucessivas transferências de prótons e tautomerização resultam no 2-amino-tiofeno final. O mecanismo está representado abaixo.



Esquema 20: Mecanismo da reação de Gewald

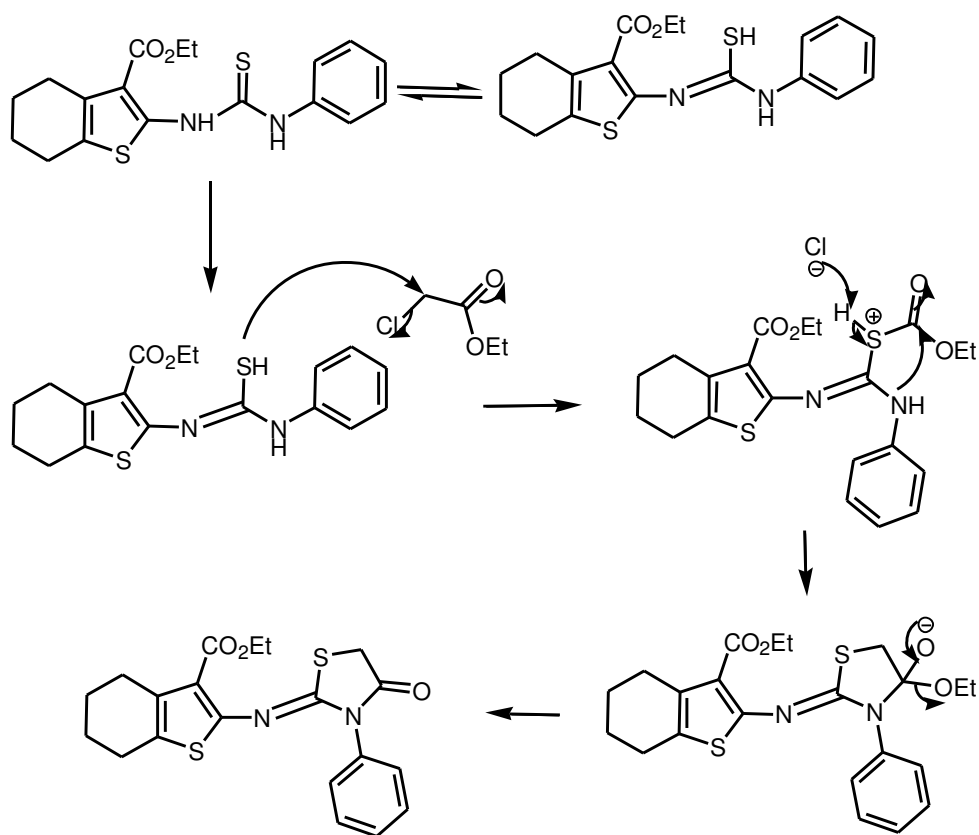
A segunda etapa da síntese caracteriza-se por uma reação onde a amina livre ataca o carbono da tiocarbonila do derivado isotiocianato (Esquema 21). Nesta reação o carbono da tiocarbonila se torna mais suscetível ao ataque com catálise básica por da trietilamina. O nitrogênio da função amino do derivado tiofeno possui par de elétrons livres que atacam o carbono positivo, o ataque resulta na quebra da ligação da base com o carbono. O nitrogênio positivo perde seu próton para a base

ou através de abstração intramolecular e por fim em razão do equilíbrio químico chega-se ao derivado tioureido.



Esquema 21: Mecanismo da síntese de tioureido

A terceira etapa consiste na formação do anel 4-tiazolidinona (Esquema 22). A reação consiste na abstração do próton diretamente ligado ao nitrogênio na posição dois do anel tiofênico. Esta abstração conduz a um deslocamento de elétrons para cima do enxofre que por sua vez ataca o carbono dois do cloroacetato de etila caracterizando uma substituição nucleofílica tipo SN_2 . O nitrogênio diretamente ligado ao anel ataca a carbonila levando a uma oscilação de carga para o oxigênio, quando há o retorno da mesma é liberado o grupo etóxido na forma de álcool.



Esquema 22: Mecanismo de formação do anel 4-tiazolidinona

4.1.2 Procedimentos experimentais

I. Síntese dos derivados 2-amino-tiofeno:

Em um balão de fundo redondo foram adicionados a cetona cíclica (pentanona, hexanona ou heptanona), na mesma razão molar que a malonitrila ou cianoacetato de etila, sendo a morfolina adicionada na proporção de 0,6 mols para cada 1 mol da malonitrila, em presença de etanol absoluto. A malonitrila foi adicionada gota a gota e a mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente por cerca de 4 horas. A mistura reacional foi filtrada e lavada com etanol gelado. Em seguida a água mãe foi levada ao freezer *overnight* e após esse período o precipitado formado novamente foi filtrado e lavado com etanol gelado. O produto

final foi purificado através de cristalizações sucessivas ou por cromatografia em coluna utilizando pressão.

II. Síntese dos derivados 2(3-fenil-tioureido)-cicloalquiltiofeno-3- ácido carboxílico éster etílico.

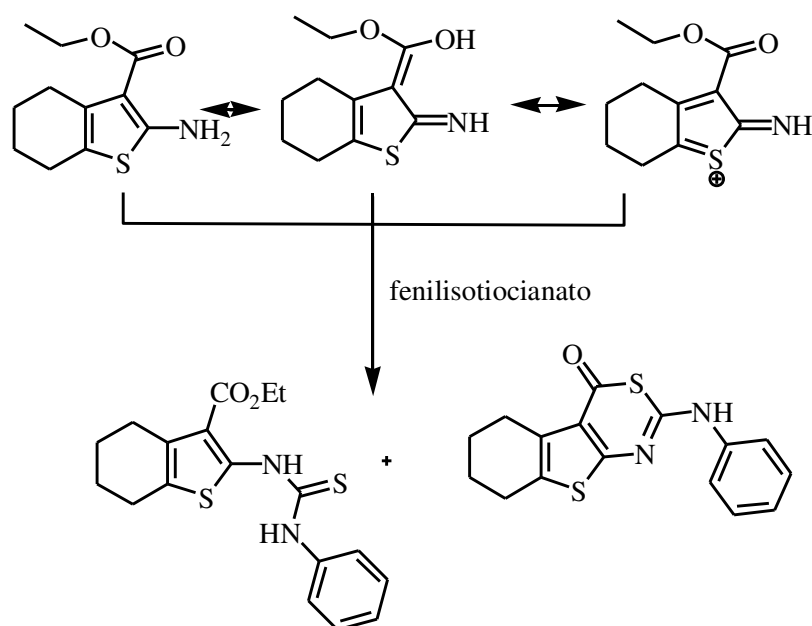
Quantidades equimolares do 2-amino-tiofeno (LPSF/ZA) e do derivado isotiocianato de escolha foram postos a reagir em tolueno tendo como catalisador trietilamina; Essa mistura reacional foi posta à temperatura de refluxo e a reação foi acompanhada por placas de cromatografia em camada delgada. Após constatado termino da reação, o produto final precipitou no meio, sendo posteriormente, filtrado e lavado com acetato de etila gelado sucessivas vezes. O filtrado foi levado ao freezer e após precipitação, filtrado e lavado sucessivas vezes.

III. Síntese dos derivados 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-indeno-ácido carboxílico éster etílico.

Em um balão de fundo redondo foram adicionados derivados tioureido (LPSF/ZA) e 1.1 equivalentes de cloroacetato de etila em meio etanólico catalizado por 4 equivalentes de acetato de sódio fundido. Essa mistura reacional foi posta à temperatura de refluxo e a reação foi acompanhada por placas de cromatografia em camada delgada. Depois de constatado termino da reação com evidente formação de precipitados, sendo posteriormente a vácuo e lavado com etanol gelado sucessivas vezes. O filtrado foi levado ao freezer e após precipitação, filtrado e lavado sucessivas vezes.

4.2 Resultados e Discussão

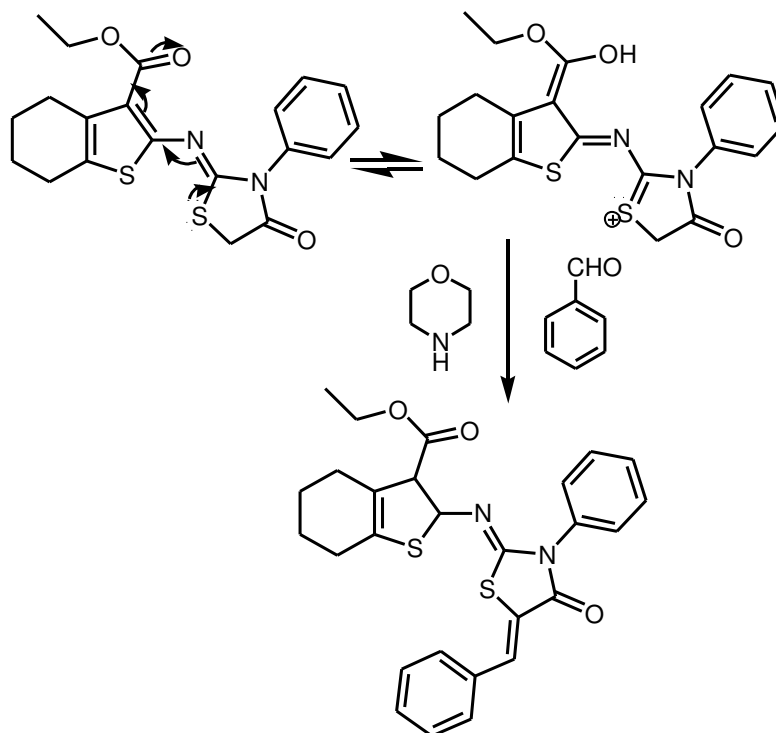
Todas as rotas sintéticas, dos compostos tiofenos LPSF/ZA mostraram-se eficazes, no entanto, segundo já previsto na literatura produtos resultantes da reação de Gewald apresentam rendimentos, relativamente, baixos. A maior parte dos compostos sintetizados foi obtida em bons rendimentos, relativamente, e sem a necessidade de purificação por cromatografia em coluna, sendo apenas necessárias etapas de lavagens e recristalização. Rendimentos obtidos não satisfatórios são atribuídos ao equilíbrio químico do éster 2-aminotiofeno (Esquema 23). Além disso, o derivado tioureido formado na segunda etapa o produto formado pode formar um terceiro ciclo resultado do ataque do nitrogênio a carbonila do carbono 3.



Esquema 23: Equilíbrio químico de derivados cicloalquiltiofenos e possíveis produtos formados

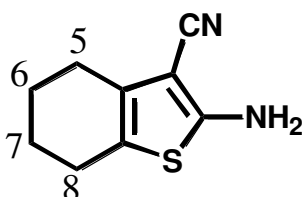
Vale salientar, que é de interesse a condensação do anel 4-tiazolidinona na posição 5 (Esquema 24). No entanto, por não haver restrição da ressonância o metileno não se mostrou ativo suficiente para realizar a condensação de Knoevenagel (GOUDA, BERGHOT et al., 2010). Para obter os derivados

substituídos também na posição 5 é necessário inserir um grupo espaçador ou outro meio que restrinja a ressonância na molécula.



Esquema 24: Ressonância de derivados LPSF/ZA impossibilitando condensação de Knoevenagel

4.2.1 2-Amino-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (LPSF/ZA-01);



- Fórmula Molecular: C₉H₁₀N₂S MM(g/mol): 178. Cor/Aparência: Cristais beges claro. Rdt(%): 67,7. PF (°C): 157-159. Rf (n-Hex/AcOEt 8,5:1,5): 0,45.
- RMN ¹H (200MHz, CDCl₃) (H-5,8) 2,44-2,50 ppm, m, 4H, (H-6,7) 1,67-1,80 ppm, m, 4H (NH₂) 4,63 ppm, s, 2H. RMN¹³C (200 MHz, CDCl₃) 22,0(C5), 23,3(C6), 24,0(C7), 24,4(C8), 88,6(CN), 115,4(C4), 120,5(C9), 132,2(C3), 159,9(C2).

- IV (KBr, cm^{-1}): 1621,56 (C=O); 3327,96 (NH₂); 2196,56 (CN); 2933,328 (CH₂ Def. axial);
- MS: (ESI⁺): 179,0651

4.2.2 Ácido 2-Amino-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[*b*]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-02);

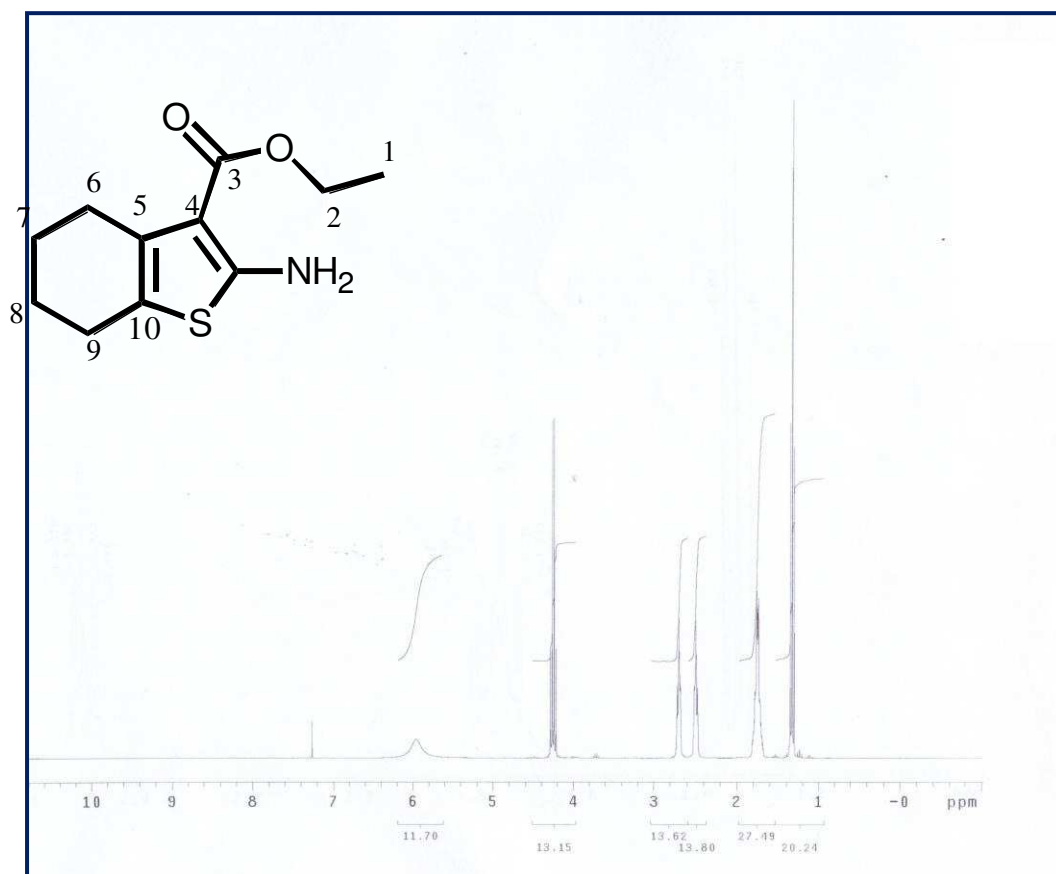
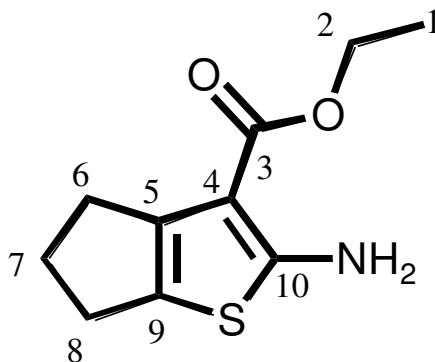


Figura 11: Espectro de RMN ¹H do composto LPSF/ZA-02

- Fórmula Molecular C₁₁H₁₅NO₂S; Massa Molecular: 225,08 g/mol, sólido cor Bege claro; Ponto de Fusão: 104^o C Rendimento: 54,35% Razão de Frente e Sistema: 0,5 *n*-Hex./AcOEt. 8:2;
- RMN ¹H (Figura 11): (CDCl₃, 300MHz): δ : *H* (1) 1,302-1,350 ppm (m, 3H, CH₃); 1,738-1,756 ppm (m, 4H, CH₂); 2,463-2,508 ppm (m, 2H, CH₂); 2,673-2,718 ppm (m, 2H, CH₂); 4,213-4,284 ppm (dd, 2H, CH₂); 5,956 (NH).

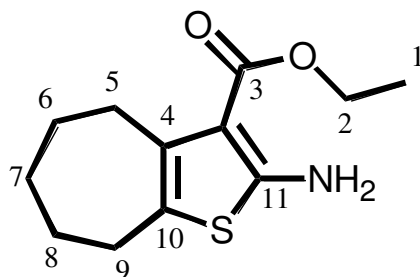
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 300MHz) δ : 14,402 (C_1); 22,758 (C_6); 23,178 (C_9); 24,460 (C_7); 26,871 (C_8); 59,319 (C_2); 117,536 (C_4/C_5); 132,371 (C_{10}); 161,674(C_3);
- IV (KBr, cm^{-1}): 1596,78-1647,37 ($\text{C}=\text{O}$); 3298,92-3405,14 (NH_2); 1491 (CH_2 Def. angular), 1335 (CH_3 Def. angular); 1027 ($\text{C}=\text{O}$ Def. angular);
- MS: (ESI^+) 226,0731

4.2.3 Ácido 2-Amino-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-04);



- Fórmula Molecular: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$; Massa Molecular: 211,07 g/mol, sólido cor Bege claro; Ponto de Fusão: 92º C Rendimento: 43% Razão de Frente e Sistema: 0,5 *n*-Hex./AcOEt. 8:2;
- RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz): δ : *H* (1) 1,289-1,233 ppm (m, 3H, CH_3); 1,824 ppm (1H, CH_2); 2,311 ppm (1H, CH_2); 2,683-2,725 ppm (m, 2H, CH_2); 2,776-2,824 ppm (m, 2H, CH_2);
- RMN ^{13}C : (CDCl_3 , 300MHz) δ : 14,112-14,372 (C_1); 25,04 (C_6); 26,505 (C_8); 27,154 (C_7); 59,334 (C_2); 115,575 (C_{10}); 121,207 (C_5); 142,559 (C_9); 161,674(C_3);
- IV (KBr, cm^{-1}): 1643, 11 ($\text{C}=\text{O}$); 3295, 78-3414, 23 (NH_2); 1494,5 (CH_2 Def. angular), 1265,84 (CH_3 Def. angular); 1038,63 ($\text{C}=\text{O}$ Def. angular);
- MS (ESI^+): 212,0582

4.2.4 Ácido 2-Amino-5,6,7,8-tetrahidro-4H-ciclohepta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA 03);



➤ Fórmula Molecular: $C_{12}H_{17}NO_2S$; Massa Molecular: 239,10 g/mol, sólido cor bege escuro; Ponto de Fusão: 105° C Rendimento: 39%% Razão de Frente e Sistema: 0,56 *n*-Hex./AcOEt. 8:2;

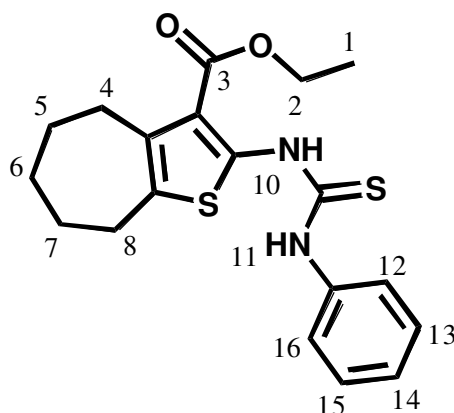
➤ RMN 1H ($CDCl_3$, 300MHz): δ : *H* (1) 1,317-1,36 ppm (t, 3H, CH_3); 1,60-1,645 ppm (m, 4H, CH_2); 1,774-1,821 ppm (m, 2H, CH_2); 2,548-2,585 (m, 2H, CH_2); 2,946- 1,982 ppm (m, 2H, CH_2); 4,238-4,310 ppm (dd, 2H, CH_2); 5,744 (NH);

➤ RMN ^{13}C : ($CDCl_3$, 300MHz) δ : 14,387 (C_1); 26,856 (C_5); 27,780 (C_9); 28,558 (C_7); 26,154-26,307 ($C_{8,6}$); 59,517 (C_2); 107,479 (C_{11}); 121,222 (C_{10}); 159,812 (C_3);

➤ IV (KBr, cm^{-1}): 1651, 96 ($C=O$); 3398, 61-3301, 66 (NH_2); 1481,11 (CH_2 Def. angular), 1277,90 (CH_3 Def. angular); 1024,93 ($C=O$ Def. angular);

➤ MS (ESI^+): 240,0876

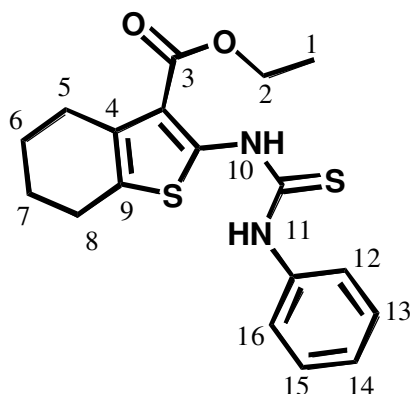
4.2.5 Ácido 2-(fenil-tioureido)-5,6,7,8-tetrahidro-4H-ciclohepta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-09);



➤ Fórmula Molecular: $C_{17}H_{18}N_2O_2S_2$; Massa Molecular: 374,11 g/mol, sólido cor Bege claro; Ponto de Fusão: 185° C Rendimento: 54,83% Razão de Frente e Sistema: 0,5 *n*-Hex./AcOEt. 9:1;

➤ RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ : *H* (1) 1,297-1,344 ppm (t, 3H, CH_3 , $J=7,2$ Hz); *H* (4) 1,589-1,600 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_1=5,6$ Hz); *H* (5 e 6) 2,768-2,816 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (7) 4,192-4,207 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_3=6$ Hz); 7,23-7,247 ppm (s, 1H, Ar); 7,378-7,413 ppm (d, 2H, Ar, $J_2=6,8$ Hz); 7,494-7,476 ppm (d, 2H, Ar, $J_2=7,2$ Hz); 11,006 ppm (s, 1H, NH); 11,581 ppm (s, 1H, NH).

4.2.6 Ácido 2-(fenil-tioureido)-4,5,6,7-tetrahidro-4H-benzo[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-05);



➤ Fórmula Molecular: $C_{18}H_{20}N_2O_2S_2$; Massa Molecular: 360,10 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 185° C Rendimento: 66,79% Razão de Frente e Sistema: 0,4 *n*-Hex./AcOEt. 9:1;

➤ RMN 1H (DMSO, 400MHz): δ : *H* (1) 1,224-1,259 ppm (t, 3H, CH_3 , $J=6,8$ Hz); *H* (6 e 7) 1,687 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (8) 2,560 ppm (s, 2H, CH_2); *H* (5) 2,675 ppm (s, 2H, CH_2); 3,324 ppm (DMSO); *H* (2) 4,182-4,235 ppm (dd, 2H, CH, $J_3=7,2$ Hz); *H* (12,13,14,15 e 16) 7,192-7,458 ppm (m, 5H, Ar); 10,946 ppm (s, 1H, NH); 11,817 ppm (s, 1H, NH). IR

➤ IV: (KBr, cm^{-1}): 506,65 (-C-S-); 1663,01 (C=O); 1437,83 (CH_2 Def. angular), 1235,62 (CH_3 Def. angular); 1026,52 (C=O Def. angular);

➤ MS (ESI⁺): 361,0807

4.2.7 Ácido 2-(3-fenil-tioureido)-5,6-dihidro-4H-ciclopenta[b]tiofene-3-etil éster carboxílico (LPSF/ZA-06);

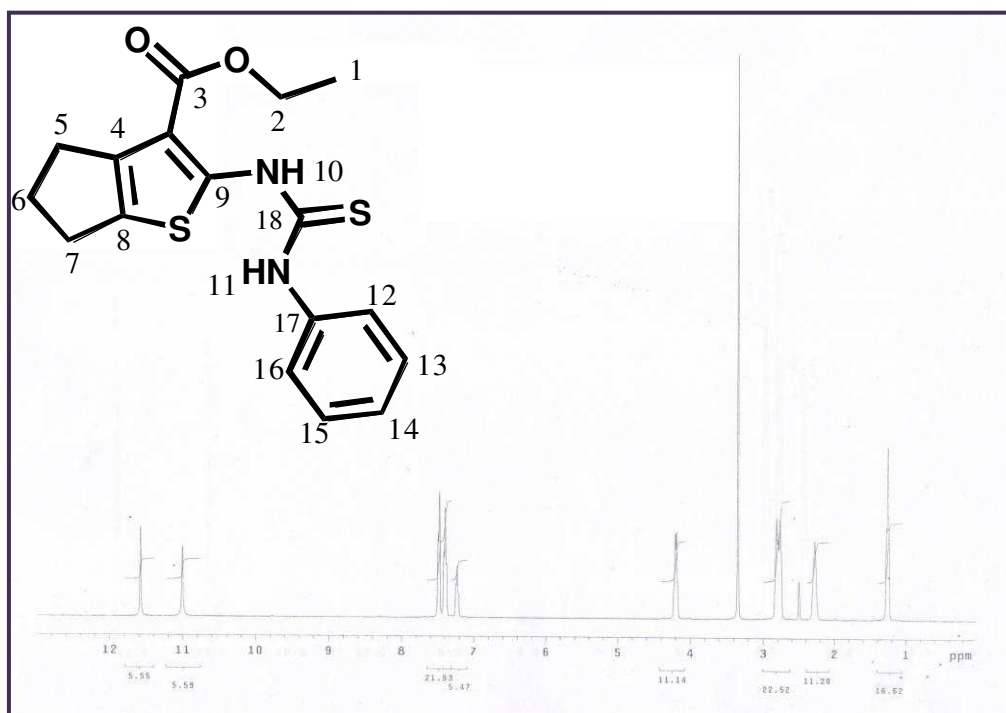


Figura 12: Espectro de RMN 1H do composto LPSF/ZA-06

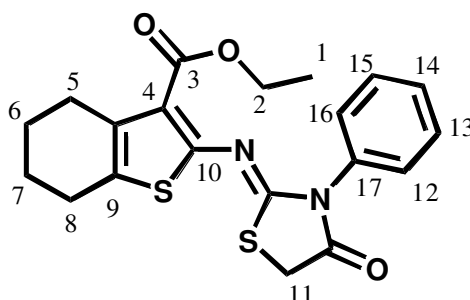
➤ Fórmula Molecular: $C_{17}H_{18}N_2O_2S_2$; Massa Molecular: 346,08 g/mol, sólido cor Bege claro; Ponto de Fusão: 185-187 °C Rendimento: 73,52% Razão de Frente e Sistema: 0,4 *n*-Hex./AcOEt. 9:1;

➤ RMN 1H (Figura 12) ($CDCl_3$, 400MHz): δ : *H* (1) 1,245-1,275 ppm (t, 3H, CH_3 , $J=6,4$ Hz); *H* (5) 2,278-2,292 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_1=5,6$ Hz); *H* (6 e 7) 2,768-2,816 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (2) 4,192-4,207 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_3=6$ Hz); *H* (14) 7,23-7,247 ppm (s, 1H, Ar); *H* (12 e 13) 7,378-7,413 ppm (d, 2H, Ar, $J_2=6,8$ Hz); *H* (15 e 16) 7,494-7,476 ppm (d, 2H, Ar, $J_2=7,2$ Hz); 11,006 ppm (s, 1H, NH); 11,581 ppm (s, 1H, NH).

➤ RMN ^{13}C : ($CDCl_3$, 300MHz) δ : 14,006 (C_1); 27,177 (C_5); 28,290 (C_6); 30,139 (C_6); 60,224 (C_2); 124,198-125,679 ($C_{12,13}$); 128,894-131,342 ($C_{13,14}$); 138,091 (C_4); 140,368 (C_{17}); 153,607 (C_8); 165,066 (C_3); 175,231 (C_{18});

➤ MS (ESI^+): 347,0658

4.2.8 Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-13);



➤ Fórmula Molecular: $C_{20}H_{20}N_2O_3S_2$; Massa Molecular: 400,09 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 185° C Rendimento: 24,46% Razão de Frente e Sistema: 0,4 *n*-Hex./AcOEt. 9:1;

➤ RMN 1H ($CDCl_3$, 400MHz): δ : *H* (1) 1,37 ppm (t, 3H, CH_3 , $J=7,2$ Hz); *H* (5 e 6) 1,8 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (7) 2,78 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_2=6$ Hz); *H* (8) 2,94 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_2=6$ Hz); *H* (11) 3,82 ppm (s, 2H, CH_2); *H* (2) 4,182-4,235 ppm (dd, 2H, CH,

4.2.9 Ácido 2-(4-Oxo-3-fenil-tiazolidin-2-ilideneamino)-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3-etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-14);

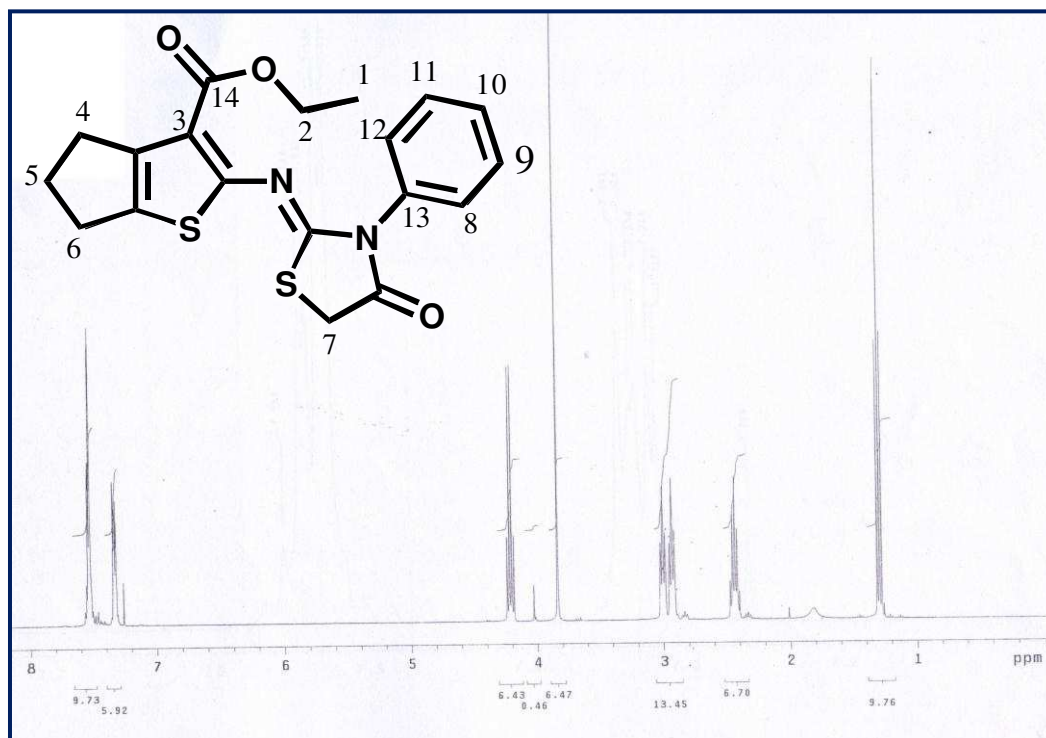


Figura 13: Espectro de RMN¹H do composto LPSF/ZA-14

➤ Fórmula Molecular: C₁₉H₁₈N₂O₃S₂; Massa Molecular: 386,08 g/mol, sólido cor bege claro; Ponto de Fusão: 142-144°C Rendimento 14 %. Razão de Frente e Sistema: 0,5 *n*-Hex./AcOEt. 8:2;

➤ RMN ¹H (Figura 13)(CDCl₃, 400MHz): δ: *H* (1) 1,283-1,319 ppm (t, 3H, CH₃, *J*=7,2 Hz); *H* (4 e 5) 2,40-2,458 ppm (m, 4H, CH₂); *H* (6) 2,989-3,085 ppm (d, 2H, CH₂, *J*₂= 7,2 Hz); *H* (7) 3,844 ppm (s, 2H, CH₂); *H* (2) 4,189-4,242 ppm (dd, 2H, CH, *J*₃= 6,8 Hz); *H* (12 e 11/ 8 e 9) 7,320-7,344 ppm (m, 2H, Ar); *H* (9, 10 e 11) 7,520-7,558 ppm (m, 3H, CH, Ar).

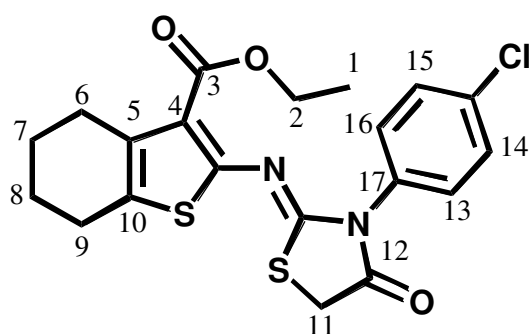
➤ RMN ¹³C (CDCl₃, 300MHz) δ: 14,209 (C₁); 27,916 (C₄); 28,824-29,516 (C₅); 34,911 (C₇); 61,827 (C₂); 129,031-129,752 (C₈ ou C₁₂); 130,102 (C₁₀); 135,423-

137,157 (C_{9,11}); 140,483 (C₃); 155,381 (C₁₃); 158,268 (C₁₄); 166,923 (C=N); 168,396 (C₁₅ tiazolidinona).

➤ IV: (KBr, cm⁻¹): 1686,21 (C=O); 1512,56 (CH₂ Def. angular), 1307,45 (CH₃ Def. angular); 1027,96 (CH₃ Def. angular)

➤ MS (ESI⁺): 387,0595

4.2.10 Ácido 2-[3-(4-Cloro-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3- etil éster carboxílico (LPSF/ZA-20);



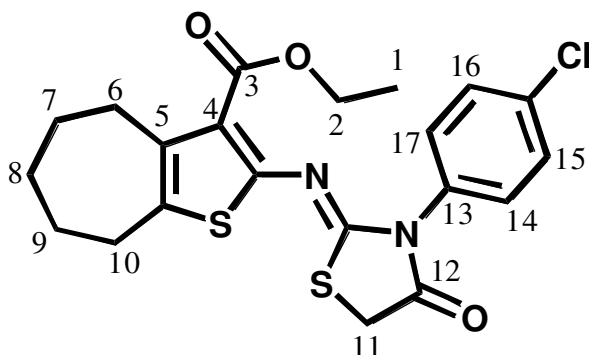
➤ Fórmula Molecular: C₂₀H₁₉ClN₂O₃S₂; Massa Molecular: 434,05 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 121-122°C Rendimento: 36% Razão de Frente e Sistema: 0,65 *n*-Hex./AcOEt. 7:3;

➤ RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ: *H* (1) 1,293-1,342 ppm (t, 3H, CH₃, *J*=6,9 Hz); *H* (7 e 8) 1,811-1,904 ppm (m, 4H, CH₂); *H* (9) 2,748-2,786 ppm (d, 2H, CH₂, *J*₂= 6 Hz); *H* (6) 2,914-2,953 ppm (d, 2H, CH₂, *J*₂= 5,7 Hz); *H* (11) 3,864 ppm (s, 2H, CH₂); *H* (2) 4,194-4,264 ppm (dd, 2H, CH, *J*₃= 7,2 Hz); *H* (13 e 14 ou 15 e 16) 7,27-7,298 ppm (m, 2H, Ar); *H* (13 e 14 ou 15 e 16) 7,515-7,542 ppm (m, 2H, CH, Ar).

➤ RMN ¹³C (CDCl₃, 300MHz) δ: 14,232 (C₁); 22,198 (C₇); 22,919 (C₈); 25,056 (C₆); 25,296 (C₈); 34,930 (C₁₁); 61,910 (C₂); 130,089-130,512 (C₁₃ ou C₁₆); 131,661-132,195 (C₁₄ ou C₁₅); 136,254 (C₁₀); 155,210 (C₁₇); 158,262 (C₅); 161,956 (C₃); 168,297 (C₁₂).

➤ IV (KBr, cm^{-1}): 2938,45 (CH_2 Def. axial); 1679,97 ($\text{C}=\text{O}$), 1734,42 ($\text{C}=\text{O}$), 1514,64 (CH_2 Def. angular); 1170,96 (CH_3 Def. angular) 797,11 (Ar).

4.2.11 Ácido 2-[3-(4-Cloro-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3- etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-21);



➤ Fórmula Molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}_2$; Massa Molecular: 448,07 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 145°C Rendimento: 32% Razão de Frente e Sistema: 0,65 *n*-Hex./AcOEt. 7:3;

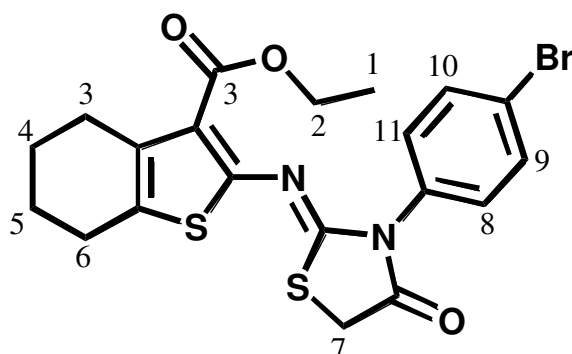
➤ RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ : *H* (1) 1,295-1,343 ppm (t, 3H, CH_3 , $J_1=7,2$ Hz); *H* (6 e 7) 1,63-1,732 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (8) 1,876-1,912 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_2= 5,4$ Hz); *H* (9) 2,816-2,853 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_2= 5,7$ Hz); *H* (10) 3,234-3,271 (d, 2H, CH_2 , $J=5,4$); *H* (11) 3,853 ppm (s, 2H, CH_2); *H* (2) 4,193-4,265 ppm (dd, 2H, CH, $J_3= 7,2$ Hz); *H* (14 e 15) 7,264-7,294 ppm (m, 2H, Ar); *H* (16 e 17) 7,513-7,542 ppm (m, 2H, CH, Ar).

➤ RMN ^{13}C (CDCl_3 , 300MHz) δ : 14,235 (C_1); 27,166 (C_6); 27,616-27,742 (C_7); 29,799 (C_8); 32,542 (C_9); 34,866 (C_{11}); 61,921 (C_2); 119, 737 (C_{14} ou C_{17}); 130,077-130,257 (C_{15} ou C_{16}); 133,996 (C_4); 136,419 (C_{13}); 137,239 (C_5); 158,773 (C_3); 168,346 (C_{12}).

➤ IV (KBr, cm^{-1}): 1674,85 ($\text{C}=\text{O}$); 1740,62 ($\text{C}=\text{O}$); 2919,86 (CH_2 Def. axial); 1514,80 (CH_2 Def. angular); 1169,67 (CH_3 Def. angular);

➤ MS (ESI^+): 449,0736

4.2.12 Ácido 2-[3-(4-Bromo-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3- Etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-27);

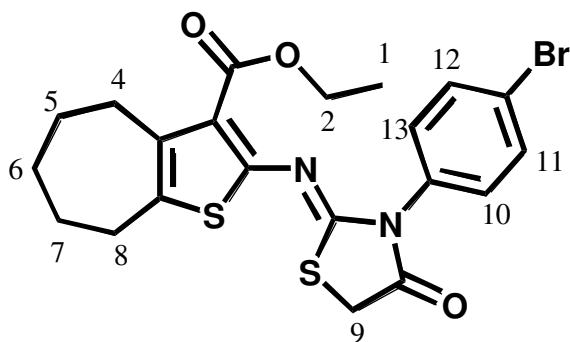


➤ Fórmula Molecular: C₂₀H₁₉BrN₂O₃S₂; Massa Molecular: 478 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 137-139° C Rendimento: 42% Razão de Frente e Sistema: 0,65 *n*-Hex./AcOEt. 8:2;

➤ RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ: H (1) 1,278-1,326 ppm (t, 3H, CH₃, *J*=7,2 Hz); H (4 e 5) 1,791-1,875 ppm (m, 4H, CH₂); H (3) 2,729-2,749 ppm (d, 2H, CH₂, *J*₂= 6 Hz); H (6) 2,914-2,953 ppm (d, 2H, CH₂, *J*₁= 5,7 Hz); 2,893-2,931 (d, 2H, *J*₁= 5,4 Hz); H (7) 3,847 ppm (s, 2H, CH₂); H (2) 4,177-4,248 ppm (dd, 2H, CH, *J*₃= 7,2 Hz); H (8 e 9 ou 10 e 11) 7,19-7,219 ppm (m, 2H, Ar); H (10 e 11 ou 8 e 9) 7,656-7,685 ppm (m, 2H, CH, Ar).

➤ IV (KBr, cm⁻¹): 1679,81 (C=O); 1729,35 (C=O); 2938,44 (CH₂ Def. axial); 1514,42 (CH₂ Def. angular); 1170,66 (CH₃ Def. angular);

4.2.13 Ácido 2-[3-(4-Bromo-fenil)-4-oxo-tiazolidin-2-ilideneamino]-4,5,6,7,8-tetrahidro benzo[*b*]-tiofeno-3- Etil éster Carboxílico (LPSF/ZA-26);



➤ Fórmula Molecular: $C_{21}H_{21}BrN_2O_3S_2$; Massa Molecular: 492,02 g/mol, sólido cor branco; Ponto de Fusão: 148-150° C Rendimento: 38% Razão de Frente e Sistema: 0,65 *n*-Hex./AcOEt. 7:3;

➤ RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz): δ : *H* (1) 1,281-1,329 ppm (t, 3H, CH_3 , $J_3=7,2$ Hz); *H* (5 e 6) 1,627-1,713 ppm (m, 4H, CH_2); *H* (4) 1,878 ppm (s, 2H, CH_2); *H* (7) 2,801-2,837 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_1= 5,1$ Hz); *H* (8) 3,217-3,253 ppm (d, 2H, CH_2 , $J_1= 5,7$ Hz); *H* (9) 3,837 ppm (s, 2H, CH_2); 4,178-4,249 ppm (dd, 2H, CH, $J_3= 7,2$ Hz); *H* (10 e 11 ou 13 e 12) 7,187-7,215 ppm (m, 2H, CH, Ar); *H* (10 e 11 ou 13 e 12) 7,656-7,684 ppm (m, 2H, CH, Ar).

➤ IV (KBr, cm^{-1}): 1673,40 (C=O); 2918,07 (CH_2 Def. axial); 1514,77 (CH_2 Def. angular), 1169,63 (CH_3 Def. angular); 1028,87 (C=O Def. angular);

➤ MS (ESI $^+$): 493,0063

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA

5. Avaliação da Atividade Antifúngica e Antibacteriana

5.1 Material e Métodos

Local de trabalho

Os ensaios laboratoriais referentes ao estudo da atividade antimicrobiana das substâncias foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

Microrganismos

Os microrganismos utilizados no ensaio para avaliação da atividade antifúngica foram representados pelas leveduras: *Candida albicans* (ATCC - 76485 e LM - V42); *Candida tropicalis* (ATCC – 13803 e LM – 14); *Cryptococcus neoformans* (ICB – 59 e LM – 0310), e pelas bactérias: *Staphylococcus aureus* (ATCC – 25923 e 12228); *Escherichia coli* (ATCC – 10536 e ATCC – 8733); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC – 25853 e P – 03). As mesmas foram adquiridas do Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. Todas elas foram mantidas em tubos de ensaio contendo Ágar Sabouraud dextrose (ASD) inclinado, sob refrigeração (4°C) e a temperatura ambiente (28 – 30°C).

Meio de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios microbiológicos foram, caldo Sabouraud dextrose (CSD) caldo Nutriente (CN), adquiridos da Difco® e preparados conforme instruções do fabricante. Os meios foram solubilizados em água destilada e esterilizado em autoclave, a 121 °C por 15 minutos.

Inóculo

Na preparação do inóculo dos microrganismos, primeiramente os isolados foram cultivados em meio ASD (leveduras); e em AMH (bactérias), incubados a 35 °C por 24 – 72 horas (*overnight*). Inicialmente, foram preparadas as suspensões dos microrganismos em tubos contendo 5 mL de solução salina estéril (NaCl a 0,85% p/v). Em seguida, essas suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio de aparelho vortex. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada àquela apresentada pela solução de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala de McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 10^6 unidades formadoras de colônias por mililitro- UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA et al., 2007).

Produtos

Foram testadas 9 substâncias (LPSF/ZA-05, LPSF/ZA-06, LPSF/ZA-09, LPSF/ZA-11, LPSF/ZA-14, LPSF/ZA-20, LPSF/ZA-21, LPSF/ZA-21, LPSF/ZA-26 e LPSF/ZA-27) nas concentrações de 2048 até 64 µg/ mL, as quais foram solubilizadas em dimetilsufóxido (DMSO), numa proporção até 10%. Para os controles com antimicrobianos, foram usados miconazol a 50 µg/mL (para leveduras) e cloranfenicol a 50 µg/mL (para bactérias).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM dos produtos testados foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” e em duplicata. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido CSD e CN, duplamente concentrados. Posteriormente, 100 µL da solução dos produtos, também duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, serão obtidas concentrações de 2048 µg/mL até 64 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo dos

microrganismos nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa.

Foram feitos controles de crescimento dos microrganismos nos meios de culturas; e com antimicrobianos miconazol a 50 µg/mL e cloranfenicol a 50 µg/mL. As placas foram seladas e incubadas a 35°C por 24 – 72 horas. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico verificado nas cavidades, quando comparado com o crescimento controle. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos valores de CIM obtidas nos dois ensaios (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA et al., 2007).

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes parâmetros: 50-100 µg/mL= excelente/ótima atividade; 500-1000 µg/mL= atividade moderada; maior que 1000 µg/mL=produto inativo (MITCHER et al., 1972; HOLETZ et al., 2002; HOUGHTON et al., 2007).

5.2 Resultados e Discussão

No total de 9 substâncias avaliadas quanto aos ensaios de atividade antifúngica, 6 e 7 delas, inibiram, respectivamente, o crescimento das cepas *C. albicans* ATCC – 76485 e *C. albicans* LM – v42. A CIM produzida pelas substâncias ficou estabelecida entre 256 e 2048 µg/ mL, dependendo da substância.

Tabela 1: Avaliação do crescimento fúngico expresso pela concentração inibitória mínima (CIM) em µg/mL, onde 50-100 µg/mL considerada atividade ótima, 500-1000 µg/mL e maior que 1000 µg/mL considerado inativo.

Substâncias	Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/ mL)					
	<i>C.albicans</i> ATCC – 76485	<i>C.Albicans</i> LM – V42	<i>C. tropicalis</i> ATCC – 13803	<i>C. tropicalis</i> LM – 14	<i>C. neoformans</i> ICB - 59	<i>C. neoformans</i> LM – 0310
ZA-05	256	256	256	512	512	512
ZA-06	1024	1024	1024	1024	1024	1024
ZA-09	2048	2048	2048	2048	2048	2048
ZA-11	512	512	512	1024	1024	1024
ZA-14	256	256	256	256	256	256
ZA-20	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-21	Resistente	Resistente	Resistente	2048	Resistente	Resistente
ZA-26	2048	2048	2048	2048	2048	2048
ZA-27	Resistente	2048	2048	2048	Resistente	Resistente
Controle	–	–	–	–	–	–
Controle de viabilidade	+	+	+	+	+	+

Com relação à atividade antifúngica das 9 substâncias avaliadas, os compostos LPSF/ZA-05 e LPSF/ZA-14 se mostraram ativos frente a todas as cepas variando as concentrações inibitórias de 256 a 512 µg/mL. Já o LPSF/ZA-11 se mostrou ativo frente a 3 cepas *C.albicans* ATCC – 76485, *C.Albicans* LM – V42 *C. tropicalis* ATCC – 13803 na concentração de 512 µg/mL. Os demais mostraram-se inativos com concentração de inibição acima de 1000 µg/mL ou a cepa mostrou-se resistente.

Tabela 2. Avaliação do crescimento bacteriano expresso pela concentração inibitória mínima (CIM), em µg/mL, onde 50-100 µg/mL considerada atividade ótima, 500-1000 µg/mL e maior que 1000 µg/mL considerado inativo.

Substâncias	Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/ mL)					
	<i>S. aureus</i> ATCC - 25923	<i>S. aureus</i> ATCC – 12228	<i>E. coli</i> ATCC – 10536	<i>E. coli</i> ATCC - 8733	<i>P.</i> <i>aruginosa</i> ATCC – 25853	<i>P.</i> <i>aruginosa</i> P – 03
ZA-05	1024	1024	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-06	2048	2048	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-09	512	1024	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-11	2048	2048	2048	2048	2048	2048
ZA-14	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-20	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-21	Resistente	Resistente	Resistente	2048	Resistente	Resistente
ZA-26	2048	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
ZA-27	2048	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente
Controle	+	–	+	+	–	+
Controle de viabilidade	+	+	+	+	+	+

Os resultados sugerem pouca relevância antibacteriana, mas considerando que se trata de uma linha de testes preliminar, indispensáveis a otimização de protótipos por fornecer indícios de atividade, se faz necessário a realização de novos testes antifúngicos e antibacterianos com um número mais significativo de cepas, submetendo-as a testes de suscetibilidade.

CONCLUSÕES

6.CONCLUSÕES

Foram sintetizados dez novos compostos tiofenicos denominados LPSF/ZA divididos em 3 diferentes séries (ciclopentila, ciclohexila e cicloheptila). Todos os compostos foram obtidos com rendimentos razoáveis. Com isso foi comprova a validade das rotas sintéticas utilizadas. Contudo, os derivados tiofênicos apresentam rendimentos entre 14 e 73 %.

As rotas sintéticas utilizadas para condensação de derivados 4-tiazolidiona contendo o tiofeno mostraram-se ineficazes provavelmente por efeitos de ressonância.

Observou-se também que a presença dos grupos cicloalquila ligados ao núcleo tiofênico são importantes para a atividade antifúngica exercem variações na sensibilidade dos microorganismos

Diante dos resultados obtidos, há indícios de que os compostos LPSF/ZA-14 e LPSF/ZA-05 desta série apresentam um perfil de inibição relevante frente às cepas fúngicas testadas, os demais mostraram-se inativos ou moderados. Vale salientar que os compostos foram submetidos apenas a uma avaliação preliminar, logo devem ser submetidos à avaliação demais testes de suscetibilidade e avaliados frente a outras a atividades biológicas.

7. PERSPECTIVAS

- Sintetizar novos compostos 4-tiazolidinonas substituídos na posição 5 com arilidenos, planejando restrições de ressonância.
- Desenvolver e avaliar novas séries de derivados tiofênicos, baseado em técnicas de modelagem molecular, que permitam a obtenção de novos derivados ainda mais potentes que os testados nessa dissertação
- Avaliar as demais 4-tiazolidinonas sintetizadas em ensaios que permitam a avaliação do potencial antiinflamatório.
- Avaliar as demais 4-tiazolidinonas sintetizadas em ensaios que permitam a avaliação do potencial antitumoral.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

AL-OBAID, A. M. et al. Synthesis and biological evaluation of new cyclopenteno[b]thiophene derivatives as local anesthetic and antiarrhythmic agents. *Pharmazie*, v. 53, n. 1, p. 24-8, Jan 1998.

ALQASOUMI, S. I. et al. Novel antitumor acetamide, pyrrole, pyrrolopyrimidine, thiocyanate, hydrazone, pyrazole, isothiocyanate and thiophene derivatives containing a biologically active pyrazole moiety. *Arzneimittelforschung*, v. 59, n. 12, p. 666-71, 2009.

ALTINTAS, H. et al. Synthesis of Mannich bases of some 2,5-disubstituted 4-thiazolidinones and evaluation of their antimicrobial activities. *Turkish Journal of Chemistry*, v. 29, n. 4, p. 425-435, 2005 .

ANDERSON, W. K.; JONES, A. N. Synthesis and evaluation of furan, thiophene, andazole bis[(carbamoyloxy)methyl] derivatives as potential antineoplastic agents. *J Med Chem*, v. 27, n. 12, p. 1559-1565, 1984.

ANDES D.; PASCUAL A.; MARCHETTI O. Antifungal Therapeutic Drug Monitoring: Established and Emerging Indications. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. v. 53, p. 24–34, 2009.

ANDRES, C. J. et al. 4-thiazolidinones: Novel inhibitors of the bacterial enzyme MurB. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 10, n. 8, p. 715-717, 2000.

ARHIN, F. et al. A new class of small molecule RNA polymerase inhibitors with activity against Rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 14, n. 17, p. 5812-5832, 2006.

ASIRI, A. M.; KHAN, S. A. Synthesis and anti-bacterial activities of a bis-chalcone derived from thiophene and its bis-cyclized products. *Molecules*, v. 16, n. 1, p. 523-31, 2011.

BALSAMO, A. et al. Synthesis of heteroaromatic analogues of (2-aryl-1-cyclopentenyl-1-alkylidene)-(arylmethoxy)amine COX-2 inhibitors: effects on the inhibitory activity of the replacement of the cyclopentene central core with pyrazole, thiophene or isoxazole ring. *European Journal on Medicinal Chemistry*, v. 38, n. 2, p. 157-68, 2003.

BALZARINI, J. et al. Synthesis and anti-HIV studies of 2-adamantyl-substituted thiazolidin-4-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 42, n. 7, p. 993-1003, 2007.

BARRAIRO, E. J. *Química Medicinal As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. 2. ed. Porto Alegre: 2008. 536.

BARRECA, M. L. et al. Discovery of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as potent anti-HIV-1 agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 11, n. 13, p. 1793-1796, 2001.

BARREIRO, E. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo,.v. 25, p. 1172-1180, 2002.

BERSENEVA, V. S. et al. Synthesis of novel thiazolidin-4-ones by reaction of malonothioamide derivatives with dimethyl acetylenedicarboxylate. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions*, n.1, v.14, p. 2133-2136, 1998.

BULDIC M. et al., *Escherichia coli* Bacteriocins: Antimicrobial Efficacy and Prevalence among Isolates from Patients with Bacteraemia. *Plos one*. n. 6, p.28769, 2011.

BEHR, J. B. CHITIN. Synthase as an antifungal target: recent advances. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents*. v.2, p. 1-17, 2003.

BOMBARDIERI, C. C.; TAURINS, A. The mannich condensation of compounds containing acidic imino groups. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne De Chimie*, v. 33, n. 5, p. 923-928, 1955.

BONDOCK, S.; FADALY, W.; METWALLY, M. A. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazole, thiophene and pyrazole derivatives containing benzothiazole moiety. *European Journal of Medicinl Chemistry*, v. 45, n. 9, p. 3692-701, 2010.

BOZDAG-DUENDAR, O. et al. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 15, n. 18, p. 6012-6017, 2007.

CAMPAIGNE, E. et al. Benzo(b)thiophene derivatives. mannich bases with antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 8, p. 136-7, 1965.

CHAN, L. et al. Discovery of thiophene-2-carboxylic acids as potent inhibitors of HCV NS5B polymerase and HCV subgenomic RNA replication. Part 1: Sulfonamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Lett*, v. 14, n. 3, p. 793-6, 2004.

CHOHAN, Z. H. et al. In vitro antibacterial, antifungal & cytotoxic activity of some isonicotinoylhydrazide Schiff's bases and their cobalt(II), copper(II), nickel(II) and

zinc(II) complexes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, v. 21, n. 1, p. 95-103, 2006.

CLEELAND, A. N.; SQUIRES, E. Evaluation of the antimicrobials "in vitro" and in experimental animal infections. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Linppincott Williams & Wilkins,. p. 739-788, 1991.

COSTA LEITE, L. F. et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arylidene-thiazolidinediones with potential hypoglycemic and hypolipidemic activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 42, n. 10, p. 1263-71, 2007.

DANDIA, A. et al. Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro indole-thiazohdinones as potent antifungal agents and crystal structure of spiro 3H-indole-3,2 '-thiazolidine -3 '(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4 '(1H)-dione. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 14, n. 7, p. 2409-2417, 2006.

AQUINO, T. M. et al. Synthesis, anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 16, n. 1, p. 446-56, 2008.

DEBONO, M.; GORDEE, A. S. Antibiotics that inhibit fungal cell-wall development. *Annual Review Microbiology*., v. 48, p. 4971-497. 1994.

DISMUKES, W. E. Introduction to antifungal drugs. *Clinical Infectious Diseases*. p.653-657, 2000,.

DOLBIER, W. R., JR. et al. Friedel-Crafts Reactions of 2,2-Difluorocyclopropanecarbonyl Chloride: Unexpected Ring-Opening Chemistry. *Journal of Organic Chemistry*, v. 76, n. 9, p. 3450-3456, 2011.

EL-DEEB, I. M. et al. Synthesis and antitumor evaluation of novel cyclic arylsulfonylureas: ADME-T and pharmacophore prediction. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, n. 6, p. 2516-30, 2010.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria, *Planta Medica*, v. 64, p. 711-713, 1978.

FLIPO M. et al. Ethionamide Boosters: Synthesis, Biological Activity, and Structure Activity Relationships of a Series of 1,2,4-Oxadiazole EthR Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 54, p. 2994-3010, 2011.

GANS, K. R. et al. Antiinflammatory and safety profile of dup-697, a novel orally effective prostaglandin synthesis inhibitor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 254, n. 1, p. 180-187, 1990.

GEWALD, K. Heterocyclen aus α -Aciden Nitrilen .7. 2-Amino-thiophene aus α -Oxo-mercaptanen und methylenaktiven Nitrilen. *Chemische Berichte-Recueil*, v. 98, n. 11, p. 3571, 1965.

GEWALD, K.; NEUMANN, G.; BOTTCHE, H. NEUE Synthese von 2-Amino-thionaphthen. *Zeitschrift Fur Chemie*, v. 6, n. 7, p. 261, 1966.

GHOGARE, J. G. et al. Design, synthesis and pharmacological screening of potential anticonvulsant agents using hybrid approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, n. 3, p. 857-863, 2010.

GOEL, B. et al. 2-Substituted-3-(4-bromo-2-carboxyphenyl)-5-methyl-4-thiazolidinones as potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 34, n. 3, p. 265-269, 1999.

GOMPPER, R.; KUTTER, E. NEUE, Thiophene und thieno 2.3-b thiophene. *Angewandte Chemie-International Edition*, v. 74, n. 7, p. 251, 1962.

GOUDA, M. A. et al. Synthesis and Antimicrobial of Certain New Thiazolidinone, Thiazoline, and Thiophene Derivatives. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements*, v. 185, n. 7, p. 1455-1462, 2010.

GOUVEIA, F. L. et al. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, n. 5, p. 2038-2043, 2009.

HALLAS, G.; CHOI, J. H. Synthesis and spectral properties of azo dyes derived from 2-aminothiophenes and 2-aminothiazoles. *Dyes and Pigments*, v. 42, n. 3, p. 249-265, Jun 11 1999.

HELLIWELL, M. et al. N'-[1-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3-yl-idene)ethyl]thiophene-2-carbo-hydrazide. *Acta Crystallographica*, v. 67, n. Pt 4, p.1014, 2011.

HORSCH, M.; MAYER, C.; SENNHAUSER, U.; RAST, D. M. β -Nacetylhexosaminidase: a target for the design of antifungal agents. *Pharmacology Therapeutics*. v.76, p. 187-218, 1997.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, n. 7, p. 1027-1031, 2007.

HOUGHTON, P. J. et al. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 110, p. 391-400, 2007.

HUANG, Z.; ZHANG, J.; WANG, N.-X. The study of Friedel-Crafts alkylation reaction of thiophenes with glyoxylate imine catalyzed by Fe(III): an easy access to alpha-aminoesters. *Tetrahedron*, v. 67, n. 10, p. 1788-1791, 2011.

JANAK, K. E. et al. Thiophene and butadiene-thiolate complexes of molybdenum: observations relevant to the mechanism of hydrodesulfurization. *Journal of the American Chemical Society*, v. 124, n. 16, p. 4182-3, 2002.

JOHNSON, M. R. et al. Synthesis of beta-lactams by the photochemical extrusion of sulfur-dioxide from 1,1-dioxo-4-thiazolidinones. *Journal of Organic Chemistry*, v. 48, n. 4, p. 494-499, 1983.

KAYA I., AYDIN A. A new approach for synthesis of electroactive phenol based polymer: 4-(2,5-Di(thiophen-2-yl)-1H-pyrrol-1-yl)phenol and its oxidative polymer. *Progress in organic coatings*. v. 73. p. 239-249, 2011.

KAKWANI M. D. et al. Design, synthesis and antimycobacterial activity of cinnamide derivatives: A molecular hybridization approach. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 21, p. 1997–1999, 2011.

KUMAR, A.; RAJPUT, C. S. Synthesis and anti-inflammatory activity of newer quinazolin-4-one derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, n. 1, p. 83-90, 2009.

LEISTNER, S.; GUTSCHOW, M.; WAGNER, G. Polycyclic azines with hetero-atoms in the 1st and 3rd positions .19. simple synthesis of 2-aminothieno 2,3-d 1,3 thiazin-4-ones, in some cases 5,6-anellated. *Synthesis-Stuttgart*, n. 5, p. 466-470, 1987.

MAURYA, M. R. et al. Polymer-Bound Oxidovanadium(IV) and Dioxidovanadium(V) Complexes As Catalysts for the Oxidative Desulfurization of Model Fuel Diesel. *Inorganic Chemistry*, v. 49, n. 14, p. 6586-6600, 2010.

MENZIES-GOW, N. J.; YOUNG, N. J. Antibiotic resistance in faecal bacteria isolated from horses receiving virginiamycin for the prevention of pasture-associated laminitis. *Veterinary Microbiology*, v. 152, n. 3-4, p. 424-428, 2011.

METWALLY, N. H. et al. Synthesis and antimicrobial activity of some new N-glycosides of 2-thioxo-4-thiazolidinone derivatives. *Carbohydrate Research*, v. 345, n. 9, p. 1135-1141, 2010.

MILART, P.; WILAMOWSKI, J.; SEPIOL, J. J. Synthesis of di- and triamino-1,1'-terphenyls from arylethylidene- and arylidenemalonodinitriles. *Tetrahedron*, v. 54, n. 51, p. 15643-15656, 1998.

Mistcher, L. A.; et al. Antimicrobial agents from higher plants I: Introduction, Rationale and methodology. *Lloydia*, v. 35, n. 2, p. 157-166, 1972.

MODICA, M. et al. High potent and selective arylpiperazine derivatives as ligands for the 5-HT_{1A} receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 10, n. 10, p. 1089-1092, 2000.

MOORE, P. F. et al. Tenidap, a structurally novel drug for the treatment of arthritis: Antiinflammatory and analgesic properties. *Inflammation Research*, v. 45, n. 2, p. 54-61, 1996.

MUTLIB, A. E.; JURCAK, J.; HRIB, N. Metabolism of an atypical antipsychotic agent, 3-[4-(6-fluorobenzo [b] thien-3-yl)-1-piperazinyl] butyl -2,5,5-trimethyl-4-

thiazolidinone (HP236). Drug Metabolism and Disposition, v. 24, n. 10, p. 1139-1150, 1996.

NAUMANN, B. et al. Preparation of new trifunctional thiophene derivatives. Pharmazie, v. 51, n. 1, p. 4-6, 1996. I

OMAR, K. et al. Novel 4-thiazolidinone derivatives as potential antifungal and antibacterial drugs. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 18, n. 1, p. 426-432, 2010.

OTTANA, R. et al. 5-Arylidene-2-phenylimino-4-thiazolidinones as PTP1B and LMW-PTP inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 17, n. 5, p. 1928-1937, 2009.

PANAGOULIS, D. et al. Synthesis and pharmacochemical study of new Cu(II) complexes with thiophen-2-yl saturated and alpha,beta-unsaturated substituted carboxylic acids. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 101, n. 4, p. 623-634, 2007.

PETRIKAITE, V.; TARASEVICIUS, E.; PAVILONIS, A. New ethacridine derivatives as the potential antifungal and antibacterial preparations. Medicina-Lithuania, v. 43, n. 8, p. 657-663, 2007.

PINTO, E. et al. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo b thiophene moiety. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 16, n. 17, p. 8172-8177, Sep 1 2008.

PFALLER M. A. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. The American Journal of Medicine, v. 125, p. S3-S13, 2012.

PUTEROVA, Z.; KRUTOSIKOVA, A.; VEGH, D. Gewald reaction: synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes. *Arkivoc*, p. 209-246, 2010.

RAGAB, F. A.-F. et al. Synthesis and Anticonvulsant Activity of Certain Substituted Furochromone, Benzofuran and Flavone Derivatives. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 58, n. 9, p. 1148-1156, 2010.

RAPOSO, M. M. M.; KIRSCH, G. A combination of Friedel-Crafts and Lawesson reactions to 5-substituted 2,2'-bitiophenes. *Heterocycles*, v. 55, n. 8, p. 1487-1498, 2001.

RODRIGUEZ-ARGUELLES C. M., et al. Complexes of 2-thiophenecarbonyl and isonicotinoyl hydrazones of 3-(N-methyl)isatin. A study of their antimicrobial activity. *Journal of inorganic biochemistry* v.101, p. 138-147, 2007.

RUIZ-HERRERA, J.; SAN-BLAS, G. Chitin synthesis as a target for antifungal drugs. *Current Drug Targets Infectious Disorders*, v. 3, p. 77-9, 2003.

RYZHKOV O.; et al. Preparation of Chiral pyrrole derivatives by the paal-knorr reaction, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, v 47, n 2, p. 231 a 244. 2011

SANTAGATI, N. A. et al. Inhibition of human leucocyte elastase by novel thieno-1,3-oxazin-4-ones and thieno-1,3-thioxazin-4-ones. *Letters in Drug Design & Discovery*, v. 4, n. 6, p. 386-393, 2007. I

SINGH, S. P. et al. Chemistry and biological-activity of thiazolidinones. *Chemical Reviews*, v. 81, n. 2, p. 175-203, 198.

SOUZA, E. L.; et al. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. Food Control, v. 18, n. 5, p. 409-413, 2007.

THANGAMANI A. Regiospecific synthesis and biological evaluation of spirooxindolopyrrolizidines via [3+2] cycloaddition of azomethine ylide. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 45. p. 6120 e 6126, 2010.

VICENTE, M. F. et al. Microbial natural products as a source of antifungals. Clinical Microbiology and Infection. 9, 15-32, 2003.

VICINI, P. et al. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 14, n. 11, p. 3859-3864, 2006.

WANG, K. et al. Structure-activity relationship analysis of a novel necroptosis inhibitor, Necrostatin-5. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v. 17, n. 5, p. 1455-1465, 2007.

WANG, S. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-one moiety as potential antitumor agent. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 46, n. 8, p. 3509-3518, 2011.

WARDAKHANA, W. W.; LOUCA, N. A.; KAMEL, M. M. The reaction of 2-aminocyclohexeno b thiophene derivatives with ethoxycarbonyl isothiocyanate: Synthesis of fused thiophene derivatives with antibacterial and antifungal activities. Acta Chimica Slovenica, v. 54, n. 2, p. 229-241, 2007.

WILLIAMS, A. L. et al. Microwave-assisted synthesis of 4-chloro-N-(naphthalen-1-ylmethyl)-5-(3-(piperazin-10-yl)phenoxy)thiophene-2-sulfonamide (B-355252): a new

potentiator of nerve growth factor (NGF)-induced neurite outgrowth. *Tetrahedron*, v. 66, n. 50, p. 9577-9581, 2010.

WILLIAMS, A. L.; DANDEPALLY, S. R.; KOTTURI, S. V. A p-methoxybenzyl (PMB) protection/deprotection approach toward the synthesis of 5-phenoxy-4-chloro-N-(aryl/alkyl) thiophene-2-sulfonamides. *Molecular Diversity*, v. 14, n. 4, p. 697-707, 2010.

2-Amino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]thiophene-3-carbonitrile

Willams L. Silva,^a Maria do Carmo A. de Lima,^b Suely L. Galdino,^b Ivan R. Pitta^b and Carlos A. De Simone^{c*}

^aLaboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas, Bioativas., Universidade Estadual da Paraíba, 58020-540 João Pessoa, PB, Brazil, ^bLaboratório de Síntese e Planejamento de Fármacos, Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-910 Recife, PE, Brazil, and ^cDepartamento de Física e Informática, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo - USP, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

Correspondence e-mail: casimone@ifsc.usp.br

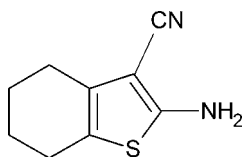
Received 26 October 2011; accepted 28 October 2011

Key indicators: single-crystal X-ray study; $T = 295$ K; mean $\sigma(\text{C}-\text{C}) = 0.003$ Å; R factor = 0.045; wR factor = 0.137; data-to-parameter ratio = 18.9.

The title compound, $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{S}$, was synthesized according to Gewald procedures by the reaction of cyclohexanone with malonitrile and sulfur in the presence morpholine. The cyclohexane ring adopts a half-chair conformation and the thiophene ring is essentially planar (r.m.s. deviation = 0.05 Å). The crystal packing is stabilized by two intermolecular $\text{N}-\text{H}\cdots\text{N}$ hydrogen bonds, which link the molecules into centrosymmetric rings with graph-set motif $R_2^2(12)$.

Related literature

For background to 2-amino thiophenes, see: Puterová *et al.* (2009). For antiarrhythmic and serotonin antagonist properties of 2-substituted thiophene derivatives, see: Amr *et al.* (2010). For their analgesic or anti-inflammatory activity, see: Hafez & El-Gazzar (2008). For the synthesis of 2-amino thiophenes, see: Gewald *et al.* (1966); Wang *et al.* (2010). For similar structures, see: Larson & Simonsen (1988); Mendonça Junior *et al.* (2010). For puckering parameters, see: Cremer & Pople (1975). For hydrogen-bond motifs, see: Bernstein *et al.* (1995).



Experimental

Crystal data

$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{S}$

$M_r = 178.25$

Monoclinic, $P2_1/c$
 $a = 10.4274$ (3) Å
 $b = 8.1487$ (3) Å
 $c = 13.2342$ (4) Å
 $\beta = 126.937$ (2)°
 $V = 898.81$ (5) Å³

$Z = 4$
 Mo $K\alpha$ radiation
 $\mu = 0.30$ mm⁻¹
 $T = 295$ K
 $0.22 \times 0.22 \times 0.20$ mm

Data collection

Nonius KappaCCD diffractometer
 12462 measured reflections
 2058 independent reflections

1630 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.052$

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.045$
 $wR(F^2) = 0.137$
 $S = 1.04$
 2058 reflections

109 parameters
 H-atom parameters constrained
 $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.19$ e Å⁻³
 $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.36$ e Å⁻³

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
$\text{N2}-\text{H2A}\cdots\text{N1}^{\text{i}}$	0.86	2.28	3.121 (2)	166
$\text{N2}-\text{H2B}\cdots\text{N1}^{\text{ii}}$	0.86	2.42	3.225 (3)	155

Symmetry codes: (i) $-x, -y - 1, -z$; (ii) $x, -y - \frac{1}{2}, z + \frac{1}{2}$.

Data collection: *COLLECT* (Nonius, 1997); cell refinement: *SCALEPACK* (Otwinowski & Minor, 1997); data reduction: *DENZO* (Otwinowski & Minor, 1997) and *SCALEPACK*; program(s) used to solve structure: *SHELXS97* (Sheldrick, 2008); program(s) used to refine structure: *SHELXL97* (Sheldrick, 2008); molecular graphics: *ORTEP-3 for Windows* (Farrugia, 1997); software used to prepare material for publication: *WinGX* (Farrugia, 1999).

This work has received partial support from CNPq, CAPES, FACEPE and FINEP.

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: BX2379).

References

- Amr, A. E. E., Sherif, M. H., Assy, M. G., Al-Omar, M. A. & Ragab, I. (2010). *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 5935–5942.
 Bernstein, J., Davis, R. E., Shimon, L. & Chang, N.-L. (1995). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34**, 1555–1573.
 Cremer, D. & Pople, J. A. (1975). *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 1354–1358.
 Farrugia, L. J. (1997). *J. Appl. Cryst.* **30**, 565.
 Farrugia, L. J. (1999). *J. Appl. Cryst.* **32**, 837–838.
 Gewald, K., Schinke, E. & Bottcher, H. (1966). *Chem. Ber.* **99**, 99–100.
 Hafez, H. N. & El-Gazzar, A. B. A. (2008). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**, 5222–5227.
 Larson, S. B. & Simonsen, S. H. (1988). *Acta Cryst.* **C44**, 2035–2037.
 Mendonça Junior, F. J. B., Lima, M. do C. A. de, Galdino, S. L., Pitta, I. R. & Simone, C. A. de (2010). *Acta Cryst.* **E66**, o2543.
 Nonius (1997). *COLLECT in KappaCCD Server Software for Windows*. Nonius BV, Delft, The Netherlands.
 Otwinowski, Z. & Minor, W. (1997). *Methods in Enzymology*, Vol. 276, *Macromolecular Crystallography*, Part A, edited by C. W. Carter Jr & R. M. Sweet, pp. 307–326. New York: Academic Press.
 Puterová, Z., Krutosiková, A. & Végh, D. (2009). *Nova Biotech.* **9**, 167–173.
 Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* **A64**, 112–122.
 Wang, T., Huang, X., Liu, J., Li, B., Wu, J., Chen, K., Zhu, W., Xu, X. & Zeng, B. (2010). *Synthesis*, **9**, 1351–1354.

supplementary materials

Acta Cryst. (2011). E67, o3161 [doi:10.1107/S1600536811045338]

2-Amino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[*b*]thiophene-3-carbonitrile

W. L. Silva, M. do C. A. de Lima, S. L. Galdino, I. R. Pitta and C. A. De Simone

Comment

Thiophenes and their fused heterocyclic ring systems possess a wide spectrum of biological activities, as antiarrhythmic and serotonin antagonist (Amr *et al.*, 2010) and analgesic or anti-inflammatory activities (Hafez & El-Gazzar, 2008). In this work, the title compound was obtained according Gewald procedures, by the reaction of cyclohexanone with malonitrile and sulfur in the presence morpholine (Gewald *et al.*, 1966; Wang *et al.*, 2010). In the title compound, the cyclohexane ring adopts a half-chair conformation with calculated puckering parameters of: $Q_T = 0.487$ (1) Å, $\theta = 50.6$ (1)°, $\varphi = 148.6$ (2)° (Cremer & Pople, 1975). The crystal packing is stabilized by two intermolecular N—H...N hydrogen bonds, which links the molecules into rings with graph-set notation $R_2^2(12)$, Table 1 & Fig.2.

Experimental

Crystals suitable for single-crystal X-ray diffraction were grown by slow evaporation at room temperature of a solution from ethanol/water.

Refinement

All H atoms attached were fixed geometrically and treated as riding with C—H = 0.97 Å (methylene) and N—H = 0.86 Å and with $U_{iso}(H) = 1.2U_{eq}(C \text{ or } N)$.

Figures

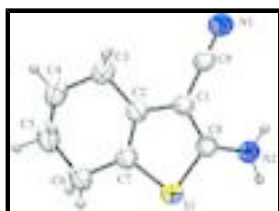


Fig. 1. The structure of (I), showing the atom-labelling scheme. Displacement ellipsoids are shown at the 50% probability level.

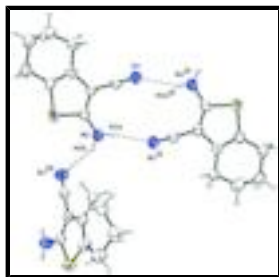


Fig. 2. Part of the crystal structure showing the formation of centrosymmetric dimers $R_2^2(12)$ rings. [Symmetry codes: (i) $-x, -y-1, -z$; (ii) $x, -y-1/2, z+1/2$.]

2-Amino-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophene-3-carbonitrile

Crystal data

$C_9H_{10}N_2S$	$F(000) = 376$
$M_r = 178.25$	$D_x = 1.317 \text{ Mg m}^{-3}$
Monoclinic, $P2_1/c$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
Hall symbol: -P 2ybc	Cell parameters from 6505 reflections
$a = 10.4274 (3) \text{ \AA}$	$\theta = 2.6\text{--}27.5^\circ$
$b = 8.1487 (3) \text{ \AA}$	$\mu = 0.30 \text{ mm}^{-1}$
$c = 13.2342 (4) \text{ \AA}$	$T = 295 \text{ K}$
$\beta = 126.937 (2)^\circ$	Prism, yellow
$V = 898.81 (5) \text{ \AA}^3$	$0.22 \times 0.22 \times 0.20 \text{ mm}$
$Z = 4$	

Data collection

Nonius KappaCCD diffractometer	1630 reflections with $I > 2\sigma(I)$
Radiation source: Enraf–Nonius FR590	$R_{\text{int}} = 0.052$
horizontally mounted graphite crystal	$\theta_{\text{max}} = 27.5^\circ$, $\theta_{\text{min}} = 3.1^\circ$
Detector resolution: 9 pixels mm^{-1}	$h = -13 \rightarrow 13$
CCD rotation images, thick slices scans	$k = -10 \rightarrow 10$
12462 measured reflections	$l = -17 \rightarrow 17$
2058 independent reflections	

Refinement

Refinement on F^2	Primary atom site location: structure-invariant direct methods
Least-squares matrix: full	Secondary atom site location: difference Fourier map
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.045$	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
$wR(F^2) = 0.137$	H-atom parameters constrained
$S = 1.04$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1P)^2]$
2058 reflections	where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
109 parameters	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} = 0.001$
0 restraints	$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.19 \text{ e \AA}^{-3}$
	$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.36 \text{ e \AA}^{-3}$

Special details

Geometry. All e.s.d.'s (except the e.s.d. in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell e.s.d.'s are taken into account individually in the estimation of e.s.d.'s in distances, angles and torsion angles; correlations between e.s.d.'s in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell e.s.d.'s is used for estimating e.s.d.'s involving l.s. planes.

Refinement. Refinement of F^2 against ALL reflections. The weighted R -factor wR and goodness of fit S are based on F^2 , conventional R -factors R are based on F , with F set to zero for negative F^2 . The threshold expression of $F^2 > \sigma(F^2)$ is used only for calculating R -factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement. R -factors based on F^2 are statistically about twice as large as those based on F , and R -factors based on ALL data will be even larger.

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2$)

	x	y	z	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
S1	0.22127 (5)	0.01327 (5)	0.27769 (4)	0.0543 (2)
N1	0.0577 (2)	−0.37778 (18)	−0.07760 (14)	0.0648 (4)
N2	0.07860 (18)	−0.28276 (18)	0.20995 (14)	0.0603 (4)
H2A	0.0428	−0.3698	0.1640	0.072*
H2B	0.0719	−0.2727	0.2713	0.072*
C1	0.16686 (17)	−0.15535 (17)	0.09245 (13)	0.0426 (3)
C2	0.24712 (19)	−0.00893 (18)	0.09686 (15)	0.0445 (4)
C3	0.2917 (2)	0.0288 (2)	0.01054 (17)	0.0532 (4)
H3A	0.1965	0.0603	−0.0720	0.064*
H3B	0.3365	−0.0684	0.0002	0.064*
C4	0.4146 (2)	0.1681 (2)	0.06489 (19)	0.0662 (5)
H4A	0.5188	0.1265	0.1345	0.079*
H4B	0.4235	0.2079	0.0003	0.079*
C5	0.3678 (2)	0.3083 (2)	0.1112 (2)	0.0690 (5)
H5A	0.2627	0.3485	0.0419	0.083*
H5B	0.4439	0.3974	0.1389	0.083*
C6	0.3640 (2)	0.2565 (2)	0.22012 (18)	0.0641 (5)
H6A	0.4725	0.2486	0.2975	0.077*
H6B	0.3068	0.3380	0.2325	0.077*
C7	0.28162 (17)	0.0932 (2)	0.19015 (15)	0.0499 (4)
C8	0.14543 (17)	−0.16192 (19)	0.18582 (13)	0.0451 (4)
C9	0.10751 (18)	−0.27940 (19)	−0.00076 (14)	0.0477 (4)

Atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
S1	0.0624 (3)	0.0552 (3)	0.0567 (3)	−0.01030 (17)	0.0419 (3)	−0.01544 (17)
N1	0.0984 (12)	0.0474 (8)	0.0663 (9)	−0.0081 (8)	0.0589 (9)	−0.0091 (7)
N2	0.0834 (10)	0.0550 (9)	0.0623 (8)	−0.0155 (7)	0.0543 (8)	−0.0106 (6)
C1	0.0474 (7)	0.0386 (7)	0.0442 (7)	0.0030 (6)	0.0288 (6)	−0.0003 (6)
C2	0.0430 (8)	0.0457 (8)	0.0457 (8)	0.0023 (6)	0.0271 (7)	0.0008 (6)
C3	0.0579 (10)	0.0550 (10)	0.0544 (9)	0.0025 (7)	0.0378 (8)	0.0051 (7)
C4	0.0629 (10)	0.0718 (13)	0.0748 (11)	−0.0065 (9)	0.0472 (9)	0.0060 (9)
C5	0.0694 (11)	0.0575 (11)	0.0780 (12)	−0.0141 (9)	0.0432 (10)	−0.0016 (9)
C6	0.0630 (10)	0.0561 (10)	0.0719 (11)	−0.0175 (8)	0.0398 (9)	−0.0164 (8)
C7	0.0469 (8)	0.0497 (9)	0.0539 (8)	−0.0047 (6)	0.0308 (7)	−0.0056 (7)
C8	0.0466 (7)	0.0441 (8)	0.0468 (8)	0.0014 (6)	0.0292 (7)	−0.0020 (6)
C9	0.0618 (9)	0.0409 (8)	0.0500 (8)	0.0028 (6)	0.0387 (7)	0.0026 (6)

Geometric parameters ($\text{\AA}$, $^\circ$)

S1—C8	1.7280 (15)	C3—H3A	0.9700
S1—C7	1.7432 (17)	C3—H3B	0.9700
N1—C9	1.145 (2)	C4—C5	1.509 (3)
N2—C8	1.351 (2)	C4—H4A	0.9700
N2—H2A	0.8600	C4—H4B	0.9700
N2—H2B	0.8600	C5—C6	1.526 (3)
C1—C8	1.383 (2)	C5—H5A	0.9700
C1—C9	1.417 (2)	C5—H5B	0.9700
C1—C2	1.438 (2)	C6—C7	1.502 (2)
C2—C7	1.346 (2)	C6—H6A	0.9700
C2—C3	1.502 (2)	C6—H6B	0.9700
C3—C4	1.530 (2)		
C8—S1—C7	92.09 (7)	H4A—C4—H4B	108.0
C8—N2—H2A	120.0	C4—C5—C6	111.88 (16)
C8—N2—H2B	120.0	C4—C5—H5A	109.2
H2A—N2—H2B	120.0	C6—C5—H5A	109.2
C8—C1—C9	121.99 (14)	C4—C5—H5B	109.2
C8—C1—C2	113.48 (13)	C6—C5—H5B	109.2
C9—C1—C2	124.47 (13)	H5A—C5—H5B	107.9
C7—C2—C1	112.23 (14)	C7—C6—C5	109.33 (15)
C7—C2—C3	122.47 (14)	C7—C6—H6A	109.8
C1—C2—C3	125.29 (14)	C5—C6—H6A	109.8
C2—C3—C4	110.43 (14)	C7—C6—H6B	109.8
C2—C3—H3A	109.6	C5—C6—H6B	109.8
C4—C3—H3A	109.6	H6A—C6—H6B	108.3
C2—C3—H3B	109.6	C2—C7—C6	125.82 (15)
C4—C3—H3B	109.6	C2—C7—S1	111.97 (12)
H3A—C3—H3B	108.1	C6—C7—S1	122.20 (13)
C5—C4—C3	111.65 (15)	N2—C8—C1	128.53 (14)
C5—C4—H4A	109.3	N2—C8—S1	121.26 (11)
C3—C4—H4A	109.3	C1—C8—S1	110.21 (11)
C5—C4—H4B	109.3	N1—C9—C1	178.84 (18)
C3—C4—H4B	109.3		

Hydrogen-bond geometry ($\text{\AA}$, $^\circ$)

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
N2—H2A $\cdots$ N1 ⁱ	0.86	2.28	3.121 (2)	166
N2—H2B $\cdots$ N1 ⁱⁱ	0.86	2.42	3.225 (3)	155

Symmetry codes: (i) $-x, -y-1, -z$; (ii) $x, -y-1/2, z+1/2$.

Fig. 1

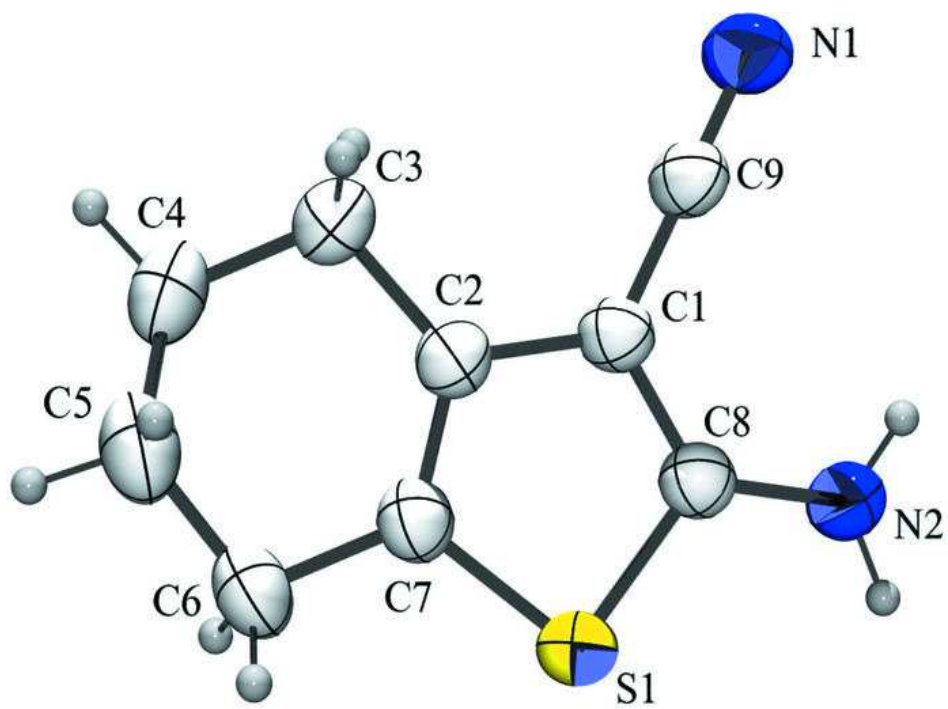


Fig. 2

