



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

**MARCIA IZABEL FREIRE DE SOUZA**

**Avaliação das Atividades Biológicas de Novos Derivados da  
Nitrofurantoína como Potenciais Candidatos a Fármacos.**

**RECIFE**

**2016**

**MARCIA IZABEL FREIRE DE SOUZA**

**Avaliação das Atividades Biológicas de Novos Derivados da Nitrofurantoína como Potenciais Candidatos a Fármacos.**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, como requisito final para obtenção do título de doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Dalci José Brondani.

Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Teresinha Gonçalves da Silva.

**RECIFE**

**2016**

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S729a Souza, Marcia Izabel Freire de.  
Avaliação das atividades biológicas de novos derivados da nitrofurantoína como potenciais candidatos a fármacos / Marcia Izabel Freire de Souza. – 2016.  
133 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Dalci José Brondani.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.

Inclui referências e anexos.

1. Anticâncer. 2. Nitrocompostos. 3. Nitrofurantoína. 4. Alquilação. I. Brondani, Dalci José (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-235)

**MARCIA IZABEL FREIRE DE SOUZA**

**Síntese e Avaliação das Atividades Biológicas de Novos Derivados da Nitrofurantoína como Potenciais Candidatos a Fármacos.**

**Aprovada: 16 de Setembro de 2016.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José Dalci Brondani. Dcfar/UFPE (Presidente)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Teresinha Gonçalves da Silva. Dep. Antibióticos /UFPE (Membro Interno Titular)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jaciana Aguiar. Dep Antibióticos /UFPE (Membro Interno Titular)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr<sup>ª</sup>. Antônio Rodolfo de Faria Dcfar/UFPE (Membro externo Titular)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Janete Magali de Araújo Dep Antibióticos /UFPE (Membro Externo Titular)

Universidade Federal de Pernambuco

Marcia Izabel Freire de Souza

Aos meus pais e a minha avó (*in memoriam*) por todo amor, incentivo, carinho e apoio dedicados durante toda minha vida. E ao meu esposo por toda paciência, incentivo, apoio e amor dedicados durante a execução desse trabalho!

## AGRADECIMENTOS

- Primeiramente agradeço a Deus, por existir, por ter saúde e por ter me dado força e discernimento para ultrapassar todas as barreiras na minha vida.
- A minha avó Sebastiana, que em vida sempre me apoiou incondicionalmente. A minha mãe Alzira por todo apoio, amor e paciência, a meu pai Márcio por sempre acreditar no meu potencial, me dando sempre incentivo e estímulo.
- Ao meu esposo Jefferson, por me incentivar e apoiar estando ao meu lado em todos os momentos. Te amo!
- Ao meu orientador Professor Dr Dalci Brondani por ter aberto as portas do seu laboratório e ter passado seu conhecimento ao longo desses anos.
- A todos os meus familiares por estarem sempre comigo em todos os momentos, sejam eles alegres ou tristes.
- A Família LABSINFA: Jannieres, Milca, Lecílio, Mirelly, Jackson, Eloisa e Danillo por todos os momentos de alegria e de descontração vividos em nosso dia-dia laboratorial, e tenho certeza que mais momentos agradáveis virão por ai.
- A meus queridos ICs e amigos Jackson, Eloísa, Carol e Clarissa, por toda dedicação empenhada ao me ajudar a realizar os experimentos.
- A Andréa (deinha) por ter sido sempre minha amiga, amizade esta que vem desde graduação e tenho completa convicção que será para a vida toda. Não posso deixar de mencionar também todo o carinho e amizade das minhas queridas amigas Juliana, Leilane e Hellen que sempre estarão em meu coração.
- As professoras Teresinha Gonçalves e Janete Magaly por disponibilizarem seus laboratórios e equipamentos para a realização dos experimentos, obrigada pelo apoio e paciência!
- A todos os professores que fazem parte do PPGCF por compartilharem conosco de seus conhecimentos.
- A todos os funcionários do DCFar, em especial Iguaci, Fátima e Nerilin.
- A FACEPE pela concessão do auxílio financeiro durante o doutorado, possibi a realização deste trabalho.

*Quanto melhor é adquirir a  
sabedoria do que o ouro! E  
quanto mais excelente é escolher  
o entendimento do que a prata.*

*Provérbios.*

## RESUMO

A humanidade ao longo do tempo tratou suas enfermidades com preparações obtidas de fontes naturais, através da observação dos efeitos terapêuticos. Com o surgimento da indústria farmacêutica, esse conhecimento empírico foi utilizado para o isolamento de substâncias com o uso de elucidação estrutural. Desde então, as abordagens focaram na identificação de moléculas potentes e seletivas. Neste trabalho, foi sintetizada uma série de derivados da nitrofurantoína, com análises das atividades antimicrobiana, antitumoral e toxicidade. Os mesmos foram sintetizados a partir da nitrofurantoína, a elucidação estrutural foi realizada através da análise de RMN  $^1\text{H}$ , e IV. Com relação às atividades biológicas, os testes antimicrobianos foram realizados *in vitro*, frente aos microorganismos da coleção do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os derivados demonstraram conservação da atividade antimicrobiana, e em alguns casos possuíram atividade mais pronunciada que o protótipo Nitrofurantoína. Com relação à atividade antitumoral, as amostras foram submetidas a ensaios de citotoxicidade, realizados também no Departamento de Antibióticos da UFPE. Algumas substâncias apresentaram um percentual de citotoxicidade variando de 51-100% indicando que apresentam atividade para o potencial citotóxico. Contudo, os derivados demonstraram certa conservação e até elevada atividade biológica em comparação com seu protótipo e podem ser considerados promissores protótipos a fármacos.

Palavras - chave: Anticâncer. Nitrocompostos. Nitrofurantoína. Alquilação.

## ABSTRACT

Mankind over time their diseases treated with preparations obtained from natural sources, by observing the therapeutic effects. With the emergence pharmaceutical industry, this empirical knowledge was used for isolation of substances with the use of structural elucidation. Since then, the approaches focused on the identification of potent and selective molecules. In this study, a series of derivatives was synthesized nitrofurantoin, with analysis of the antimicrobial, and antitumor toxicity. They were synthesized from the nitrofurantoin, the structural elucidation was performed by <sup>1</sup>H NMR analysis and IR. With respect to biological activity, antimicrobial tests were performed in vitro, compared with microorganisms from the collection of the Department of Antibiotics UFPE. The derivatives showed preservation of antimicrobial activity, and in some cases possessed more pronounced activity than nitrofurantoin prototype. With respect to antitumor activity, samples were submitted for cytotoxicity tests also performed in the Department of Antibiotics UFPE. Some substances showed an cytotoxicity percentage ranging from 51-100% indicating that present moderate activity for the cytotoxic potential. However, certain derivatives conservation and demonstrated by high biological activity compared to a prototype and can be considered a promising prototype fármacos.

Key-words: Anticancer. Nitrocompounds. Nitrofurantoin. Alkylation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01-</b>	Modificação estrutural da cocaína.	25
<b>Figura 02-</b>	Dissociação de sistema anelares fundidos.	25
<b>Figura 03-</b>	Série de homólogos monoalquilados.	26
<b>Figura 04-</b>	Estruturas químicas do benorilato e acetaminossalol.	27
<b>Figura 05-</b>	Representação esquemática do conceito de pró-fármaco.	27
<b>Figura 06-</b>	Conversão <i>In vivo</i> de N-alkilaminobenzofenonas.	28
<b>Figura 07-</b>	Esquema de liberação química no SNC.	29
<b>Figura 08-</b>	Estrutura química da nitrofurazona, furazolidona e nitrofurantoína.	32
<b>Figura 09-</b>	Estrutura química da fenitoína.	35
<b>Figura 10-</b>	Estrutura química da nifurfolina e nitrofurantoína.	36
<b>Figura 11-</b>	Estrutura química da Iprodiona.	37
<b>Figura 12-</b>	Estrutura química da nitrofurantoína.	39
<b>Figura 13-</b>	Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no grupo azometínico.	40
<b>Figura 14-</b>	Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no grupo nitro.	40
<b>Figura 15-</b>	Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no anel Imidazolínico.	41
<b>Figura 16-</b>	Estrutura química da N-Hidroxi-Metil-Nitrofurantoína.	43
<b>Figura 17-</b>	Mecanismo proposto para a ação de compostos N-Metil Hidroxilados.	44
<b>Figura 18-</b>	Estrutura química da hidroximetil-Nitrofurazona.	44
<b>Figura 19-</b>	Estrutura dos derivados obtidos.	58

<b>Figura 20-</b>	Estrutura química da Nitrofurantoína com destaque no hidrogênio X.	61
<b>Figura 21-</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Nitrofurantoína.	62
<b>Figura 22-</b>	Estrutura química da Substância <u>10</u> .	63
<b>Figura 23-</b>	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da Substância <u>10</u> .	63
<b>Figura 24-</b>	Estrutura química da Substância <u>25</u> .	64
<b>Figura 25-</b>	Espectro de RMN da Substância <u>25</u> .	64
<b>Figura 26-</b>	Espectro de IV da Nitrofurantoína.	65
<b>Figura 27-</b>	Espectro de IV da Substância <u>10</u> .	66
<b>Figura 28-</b>	Espectro de IV da Substância <u>25</u> .	67

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1-</b>	Rotas de síntese para N-alquilação de semicarbazonas.	45
<b>Esquema 2-</b>	Rota sintética para a obtenção dos derivados da Nitrofurantoína.	50
<b>Esquema 3-</b>	Rota Sintética para a obtenção do N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína.	51
<b>Esquema 4-</b>	Rota sintética para obtenção dos derivados do N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína.	51
<b>Esquema 5-</b>	Rota sintética para a obtenção dos derivados Amino alquilados da Nitrofurantoína.	52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b>	Determinação da ZMI, dos derivados sintetizados	69
<b>Tabela 2-</b>	Determinação da CMI e CMB, dos derivados sintetizados	72
<b>Tabela 3-</b>	Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em quatro linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL	73
<b>Tabela 4-</b>	Percentual de inibição de 50% de crescimento celular (IC <sub>50</sub> ) dos novos compostos em linhagens tumorais	75
<b>Tabela 5-</b>	Índice de Seletividade (IS)	76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA:	Ácido Desoxirribonucléico
NFT :	Nitrofurantoína
NFTOH:	N-hidroxi-metil-Nitrofurantoín
H <sub>2</sub> S:	Sulfeto de Hidrogênio
CMI:	Concentração Mínima Inibitória
NO <sub>2</sub> :	Grupo Nitro
RNA:	Ácido Ribonucléico
OMS:	Organização Mundial de Saúde
CH <sub>2</sub> O:	Aldeído Fórmico
μM:	Micro Molar
RMN- <sup>1</sup> H:	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IV:	Infravermelho
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> :	Carbonato de Potássio
CCD:	Cromatografia em Camada Delgada
DQF	Departamento de Química Fundamental
CMB:	Concentração Mínima Bactericida
UFC:	Unidades Formadoras de Colônia
DMF:	Dimetil-formamida
NCI:	<i>National Cancer Institute</i> dos Estados Unidos
MTT:	-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazoliu
UV :	Ultravioleta

( $\lambda$ ) : Comprimento de onda

KBr : Brometo de Potássio

DMSO-d<sub>6</sub>: Dimetil Sulfóxido

Hz. : Hertz

ZMI: Zona média de inibição

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.</b>	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Generalidades da Química medicinal.</b>	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Evolução da Química medicinal.</b>	<b>23</b>
<b>2.3</b>	<b>Planejamento de Fármacos.</b>	<b>24</b>
<b>2.4</b>	<b>Ferramentas usadas para a modificação molecular.</b>	<b>24</b>
2.4.1	<i>Simplificação Molecular.</i>	24
2.4.2	<i>Disjunção de anéis.</i>	25
2.4.3	<i>Síntese de série homólogas.</i>	26
2.4.4	<i>Bioisosterismo.</i>	26
2.4.5	<i>Hibridização.</i>	26
2.4.6	<i>Latenciação.</i>	27
2.4.7	<i>Escolha de um protótipo à fármaco.</i>	30
<b>2.5</b>	<b>Nitocompostos como importantes protótipos.</b>	<b>32</b>
2.5.1	<i>Nitrocompostos Generalidades.</i>	32
2.5.2	<i>Atividade Biológica dos Nitrocompostos.</i>	33
2.5.3	<i>Mecanismo de ação.</i>	33
2.5.4	<i>Atividade Antimicrobiana e Antiparasitária de Nitrocompostos.</i>	33
2.5.5	<i>Atividade Antineoplásica e Mutagenicidade de Nitrocompostos.</i>	34
2.5.6	<i>Nitrocompostos e planejamento molecular.</i>	34
<b>2.6</b>	<b>Hidantoínas.</b>	<b>35</b>
2.6.1	<i>Hidantoínas: Generalidades.</i>	35
2.6.2	<i>Reatividade química das Hidantoínas (N-alquilação).</i>	37

2.6.3	<i>Propriedades Biológicas das Hidantoínas.</i>	37
2.6.3.1	Atividade Antimicrobiana das Hidantoínas.	37
2.6.3.2	Atividade Esquistossomicida das Hidantoínas.	38
2.6.4	<i>Nitrofurantoína- Generalidades.</i>	39
2.6.4.1	Química da Nitrofurantoína.	40
2.6.4.2	Aplicações Farmacológicas da Nitrofurantoína.	41
2.6.4.3	Implicações no uso da Nitrofurantoína.	42
2.6.4.4	Fototoxicidade da Nitrofurantoína.	42
2.6.5	<i>N-hidroxi-metil-Nitrofunatoínas (generalidades).</i>	43
2.6.5.1	Latenciação de Fármacos.	43
2.6.5.2	Hidroximetilação.	43
2.6.5.3	N-Alquilação da Nitrofurantoína.	45
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	47
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral.</b>	48
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos.</b>	48
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA: OBTENÇÃO DOS NOVOS DERIVADOS.</b>	50
<b>4.1</b>	<b>Procedimento Geral Para Obtenção de Derivados da Nitrofurantoína.</b>	50
<b>4.2</b>	<b>Obtenção da N-Hidroxi-Metil Nitrofurantoína.</b>	51
<b>4.3</b>	<b>Procedimento Geral Para Obtenção de Derivados da N-hidroxi-Metil Nitrofurantoína.</b>	51
<b>4.4</b>	<b>Procedimento Geral Para Obtenção de Derivados Amino alquilados da Nitrofurantoína.</b>	51
<b>5</b>	<b>INTRODUÇÃO METODOLOGIA (PARTE BIOLÓGICA)</b>	54
<b>5.1</b>	<b>Metodologia da Avaliação da Atividade Antibacteriana dos Derivados da Nitrofurantoína.</b>	54
<b>5.2</b>	<b>Método de difusão em discos de papel.</b>	54
<b>5.3</b>	<b>Metodologia da determinação da CMI e CMB dos derivados da Nitrofurantoína.</b>	55
<b>5.4</b>	<b>Citotoxicidade In vitro dos Derivados da Nitrofurantoína.</b>	55

<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE QUÍMICA).</b>	<b>58</b>
<b>6.1</b>	<b>Estrutura dos derivados obtidos.</b>	<b>58</b>
<b>6.2</b>	<b>Elucidação Estrutural.</b>	<b>61</b>
<b>6.3</b>	<b>Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H).</b>	<b>61</b>
<b>6.4</b>	<b>Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV).</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO (PARTE BIOLÓGICA).</b>	<b>68</b>
<b>7.1</b>	<b>Resultado e Discussão da Atividade Antimicrobiana.</b>	<b>69</b>
<b>7.2</b>	<b>Resultado e Discussão da Atividade Antiproliferativa.</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.</b>	<b>78</b>
<b>8.1</b>	<b>Materiais e métodos.</b>	<b>78</b>
8.1.1	<i>Cromatografias.</i>	78
8.1.2	<i>Pontos de Fusão.</i>	78
8.1.3	<i>Espectroscopia de IV, RMN <sup>1</sup>H.</i>	78
8.1.4	<i>Equipamentos.</i>	79
8.1.5	<i>Reagentes e Solventes.</i>	80
<b>9</b>	<b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.</b>	<b>81</b>
<b>9.1</b>	<b>Síntese e Caracterização estrutural.</b>	<b>82</b>
<b>9.2</b>	<b>Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H).</b>	<b>110</b>
<b>9.3</b>	<b>Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV).</b>	<b>110</b>
<b>9.4</b>	<b>Avaliação das Atividades Biológica dos compostos.</b>	<b>110</b>
9.4.1	<i>Metodologia da Avaliação Antimicrobiana.</i>	110
9.4.1.1	<i>Método de difusão em discos de papel.</i>	110
9.4.2	<i>Determinação da CMI e CMB.</i>	111
<b>9.5</b>	<b>Metodologia da Atividade Antitumoral.</b>	<b>111</b>

9.5.1	<i>Citotoxicidade in vitro dos Derivados da Nitrofurantoína.</i>	111
<b>10</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.</b>	113
<b>10.1</b>	<b>Conclusões.</b>	114
<b>10.2</b>	<b>Perspectivas.</b>	115
	<b>Referências</b>	116
	<b>Anexos</b>	124
<i>Anexo A</i>	<i>RMN <math>H^1</math>: Substância 1- Nitrofurantoína</i>	125
<i>Anexo B</i>	<i>RMN <math>H^1</math>: Substância 13</i>	126
<i>Anexo C</i>	<i>RMN <math>H^1</math>: Substância 10</i>	127
<i>Anexo D</i>	<i>RMN <math>H^1</math>: Substância 25</i>	128
<i>Anexo E</i>	<i>IV <math>cm^{-1}</math>: Substância 1</i>	129
<i>Anexo F</i>	<i>IV <math>cm^{-1}</math>: Substância 10</i>	130
<i>Anexo G</i>	<i>IV <math>cm^{-1}</math>: Substância 13</i>	131
<i>Anexo H</i>	<i>IV <math>cm^{-1}</math>: Substância 25</i>	132

# *INTRODUÇÃO*

## 1.INTRODUÇÃO

A humanidade enfrenta grandes problemas na descoberta de novas drogas para sanar principalmente falhas na terapêutica de infecções bacterianas e na quimioterapia do Câncer.

Atualmente a terapia antimicrobiana torna-se um desafio, devido ao uso abusivo dos agentes antibacterianos, acarretando no desenvolvimento de resistência. Segundo Andrea Massunari 2007, mortes associadas a infecções bacterianas variam de 12% a 81% no mundo todo, dependendo das condições e particularidades dos tipos de pacientes e tratamentos utilizados, observando-se que a elevação das taxas de mortalidade está associada, fundamentalmente, ao aumento do espectro de resistência dos patógenos (MASSUNARI *et al.*, 2005).

Devido a esses fatores a pesquisa por novos agentes antimicrobianos, torna-se uma questão de urgência médica. Desde a introdução dos antimicrobianos naturais como as penicilinas, bem como os semi-sintéticos em meados do século XX, a crescente ineficácia desses agentes se tornou um desafio de saúde pública (WHO ;1990) .

Fármacos já utilizados na terapêutica como agentes antimicrobianos como a Nitrofurantoína, tornam-se importantes alvos de pesquisa, visto que apresentam uma atividade antibacteriana conhecida e possuem sítios que podem ser modificados para melhoria de seu mecanismo de ação, bem como diminuição da toxicidade. Desta forma, novos derivados podem ser obtidos e avaliados com relação à ação antimicrobiana podendo se tornar importantes ferramentas no combate contra as infecções microbianas.

Com relação ao Câncer a problemática é outra, o tratamento é feito por meio de Cirurgias, Radioterapias ou Quimioterapias. Os quimioterápicos não atuam exclusivamente sobre as células tumorais, mas também em células sadias que estão em constante renovação tais como: medula óssea e células do tubo digestivo, o que torna o tratamento bastante agressivo ao paciente.

Além disso, o desenvolvimento de resistência a drogas antineoplásicas levam a uma falha na quimioterapia (CHUNG *et al.*, 2003), pois algumas populações celulares acabam por desenvolver uma nova codificação genética após exposição a elas. Com isso, constantes pesquisas na indústria farmacêutica visam obter drogas cada vez mais específicas e com menos efeitos deletérios sobre o corpo. Neste contexto, a modificação molecular surge como

uma importante ferramenta para elaboração de novos candidatos a fármacos antitumorais, visando à diminuição de resistência e inibição significativa do crescimento do tumor.

Segundo Leonardo Vianna 2009, grandes vantagens são observadas com o planejamento de novos fármacos a partir de outros pré-existentes (ALMEIDA ; 2009). Dentre essas vantagens pode-se citar o mecanismo de ação, reações adversas, ação terapêutica e perfil farmacocinético que já são conhecidas (FRIIS *et al.*, 1996). Portanto, a utilização de antimicrobianos nitro-aromáticos como protótipos é bastante interessante para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial terapêutico para tornarem-se novos agentes antimicrobianos.

O grupo nitro está presente em uma variedade de substâncias que apresentam atividade antimicrobiana, como por exemplo: furazolidona, metronidazol, secnidazol, tinidazol, cloranfenicol, nitrofurantoína, nitrofurural, nitrofurazona, (atividade antimicrobiana), Oxaminiquina (atividade esquistossomicida); benznidazol (BZN), nifurtimox (atividade antichagásica), como também em outras classes terapêuticas (CHUNG *et al.*, 2003). A utilização do grupo nitro na obtenção de novas moléculas apresenta uma restrição devido ao aumento da potencialidade de toxicidade do mesmo. No entanto, é possível diminuir esta toxicidade utilizando a estratégia de latenciação, na obtenção de pró-fármacos (CHUNG *et al.*, 2003).

É importante destacar que o melhor desempenho da atividade biológica pode ocorrer com a introdução de novos nitrocompostos, baseados em estruturas já conhecidas e com bioatividade comprovada, resultantes de modificações moleculares planejadas com base na influência de propriedades físico-químicas que influenciam a atividade desta classe de compostos (LENKE *et al.*, 2008).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi a síntese de nitrocompostos derivados da Nitrofurantoína, visto que este composto apresenta uma ação antimicrobiana já reconhecida, porém existem vários relatos na literatura sobre suas ações tóxicas, através da modificação molecular.

Foram obtidos novos derivados N-alquilados, aminados e eterificados, tanto os protótipos quanto os derivados foram avaliados quanto à sua toxicidade além da ação antimicrobiana e antitumoral, testes estes inéditos para os compostos em questão.

# *Revisão de literatura*

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Generalidades da Química Medicinal

A Química Medicinal envolve a invenção, a descoberta, o desenho, a identificação e a preparação de fármacos. Além do estudo e da interpretação de seu modelo de ação ao nível molecular (IUPAC ; 2008).

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos (P&D) é complexo, longo e de alto custo, tendo suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas (SILVA ., 2013). A química medicinal, de reconhecido papel no processo de P&D de fármacos, abrange diversas especialidades, tais como; química orgânica, bioquímica, farmacologia, informática, biologia molecular e estrutural, entre outras.

É incluído também nesse contexto, fatores relacionados à absorção, à distribuição e à toxicidade de compostos (WERMUTH; 1998), (WERMUTH; 2008).

### 2.2 Evolução da Química Medicinal.

A humanidade ao longo do tempo tratou suas enfermidades e sintomas com preparações obtidas de fontes naturais (vegetais, animais e minerais), onde se baseavam na observação empírica dos efeitos terapêuticos destas preparações originando a Medicina tradicional (CALIXTO *et al.*, 2008), (JALENCA; 2013).

No final do século XIX surgiram as primeiras indústrias farmacêuticas, que utilizaram esse conhecimento empírico para o isolamento das substâncias que eram responsáveis pelos efeitos biológicos observados. Utilizaram para isso ferramentas de elucidação estrutural (MORPHY *et al.*, 2008), (COSTANTINO *et al.*, 2013). Posteriormente, passaram a utilizar ensaios *in vivo* em animais, para triagem dos compostos.

Nos anos subseqüentes, surgiram dois conceitos que fundamentaram a descoberta da ligação do fármaco com receptores específicos. O primeiro conceito foi introduzido por

Fischer (1852-1919), denominado de complementaridade molecular ilustrado pelo modelo “chave – fechadura”, e o segundo foi a teoria dos “receptores específicos”. Esses conceitos combinados serviram de base para a identificação, planejamento e desenvolvimento de fármacos (SAMS; 2005), (MEDINA *et al.*, 2013)

Por volta dos anos 50 e 60, surgiram as estratégias clássicas de modificação estrutural. Nos anos 60 e 70 ocorreu a determinação da estrutura de proteínas, por difração de raios x e química computacional e modelagem molecular.

Com o surgimento da química combinatória e da triagem robotizada de alto rendimento, ocorreu um aumento no número de novas entidades químicas testadas *in silico* e *in vitro* em um curto espaço de tempo. Desde então, as abordagens empregadas pela indústria farmacêutica focaram na identificação de moléculas potentes e seletivas.

### **2.3 Planejamento de Fármacos.**

Entre as inúmeras atribuições da química medicinal está o planejamento racional, envolvendo a síntese ou isolamento de substâncias, a identificação ou elucidação estrutural, descrição das moléculas desde sua constituição atômica até suas características estruturais e interações com os diferentes sistemas biofase/biológicos; a compreensão em nível molecular de processos bioquímicos, farmacológicos, toxicológicos e farmacocinéticos (AMARAL; 2002).

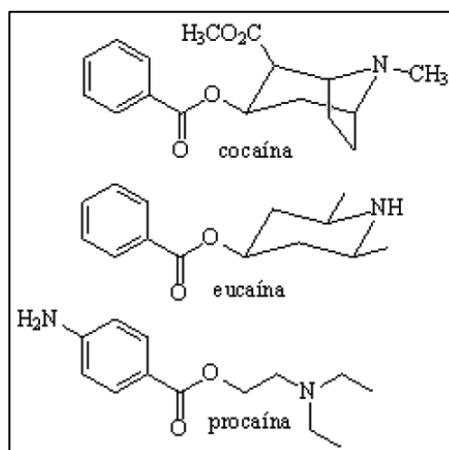
### **2.4 Ferramentas usadas para a modificação molecular.**

Dentre as ferramentas usadas para a modificação molecular podemos citar:

#### **2.4.1 Simplificação Molecular.**

Consiste na modificação molecular ou otimização de fármacos e/ou protótipos, permitindo a obtenção de novos análogos ativos de estruturas mais simples em relação ao protótipo como pode-se observar na Figura 1 , Ex: cocaína → procaína (CERA; 2004).

Figura 1. Modificação estrutural progressiva da cocaína.

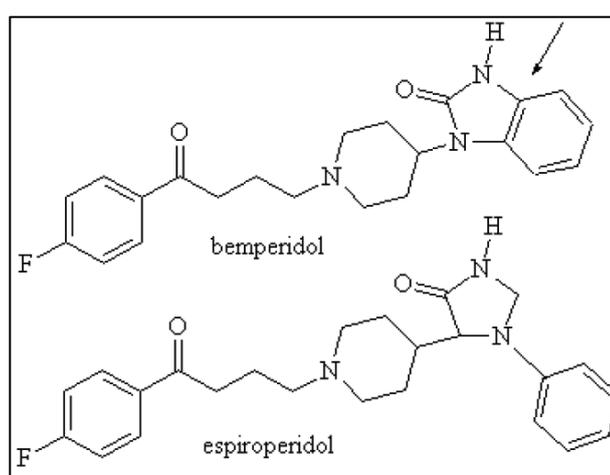


Fone: CERA; 2004.

#### 2.4.2 Disjunção de anéis.

Moléculas com sistemas cíclicos, podendo ter os ciclos; abertos, expandidos, contraídos, retirados ou modificados de diversas maneiras. A disjunção de anéis tem como principal objetivo a simplificação progressiva em relação ao fármaco original, Figura 2. A reorganização de sistemas anelares pode ser realizada por fusão ou dissociação desses sistemas de anéis (CERA; 2004).

Figura 2. Dissociação de sistemas anelares fundidos, dissociação do grupo benzênico do sistema anelar fundido da estrutura do bemperidol resultando em espiroperidol

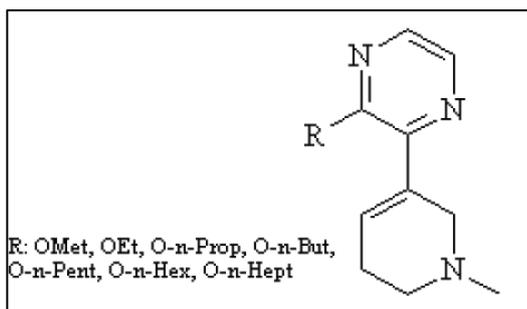


Fonte: CERA; 2004.

### 2.4.3 Síntese de série homólogas.

É a síntese de séries homólogas, onde a principal diferença entre as moléculas é a introdução de um grupo metilênico, Figura 3.

Figura 3. Série de homólogos monoalquilados de 1-metil-1,2,3,4-tetrahidropiridilpirazinas (Agonistas de receptores muscarínicos)



Fonte: CERA; 2004.

### 2.4.4 Bioisosterismo.

O bioisosterismo refere-se a compostos de subunidades estruturais e bioativos que apresentam volumes moleculares, formas, distribuição eletrônica e propriedades físico-químicas semelhantes, capazes de apresentar propriedades biológicas similares.

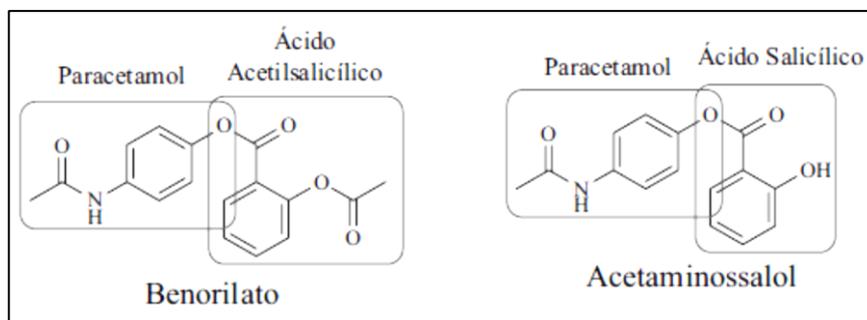
Baseia-se, na trocas de determinados fragmentos moleculares, por exemplo, um grupamento funcional por outro que apresentem propriedades físico-químicas similares como a acidez, dentre outras (BARREIRO; 2001)

### 2.4.5 Hibridização.

A hibridização molecular é um termo definido sucintamente como uma junção de fragmentos bioativos em uma estrutura molecular química única. É uma estratégia clássica eficiente para o desenho de novos protótipos (MASSUNARI; 2005). Pode ser baseada na junção de fármacos distintos (droga-droga), ou de grupos farmacofóricos de fármacos distintos (farmacofórica). A nova molécula produzida passa a se chamar híbrido, o qual frequentemente apresenta maior afinidade e eficácia que os compostos que lhe deram origem (NEPALI; 2014).

Um exemplo de hibridação do tipo droga-droga é a síntese do benorilato, um fármaco anti-inflamatório, analgésico e antipirético, obtido mediante reação entre o paracetamol (analgésico e antipirético) e o cloreto do ácido acetilsalicílico, Figura 4, um derivado do ácido acetilsalicílico (anti-inflamatório, analgésico e antipirético). A mesma estratégia foi utilizada para obter outro híbrido com as mesmas ações farmacológicas, o acetaminossalol, sintetizado a partir do paracetamol e do ácido salicílico (KOROLKOVAS *et al* 1988).

Figura 4. Estruturas químicas do benorilato e acetaminossalol, híbridos obtidos por hibridização molecular do tipo droga-droga

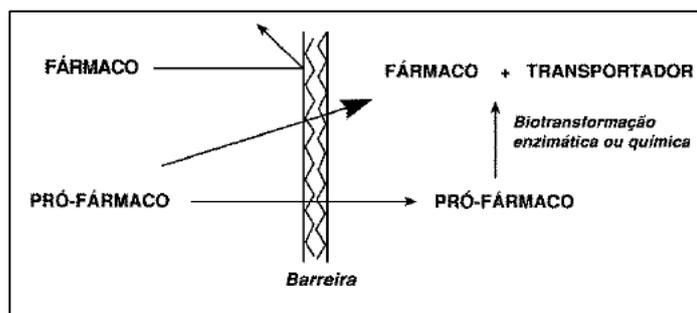


Fonte: KOROLKOVAS *et al* 1988 .

#### 2.4.6 Latenciação.

Transformação do fármaco em forma de transporte inativo que, *in vivo*, mediante reação química ou enzimática, libera a porção ativa no local de ação ou próximo dele. Uma das formas latentes obtidas mediante este processo denomina-se pró-fármaco, Figura 5 (CHUNG; 1999).

Figura 5. Representação esquemática do conceito de pró-fármaco.



Fonte: CHUNG; 1999.

De acordo com Wermuth, 1984 os pró-fármacos podem ser classificados em:

- a)Pró-fármaco clássico;
- b)Bioprecursores;
- c)Pró-fármacos mistos;
- d)Fármacos dirigidos.

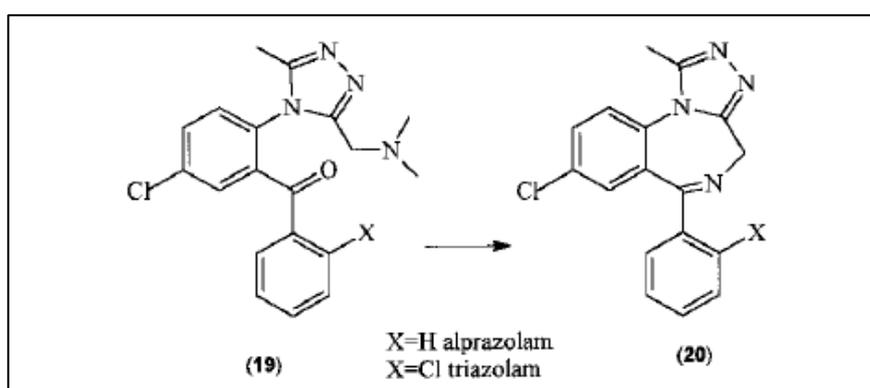
a)Pró-fármacos clássicos:

Promovem a melhoria da atividade terapêutica por aumento de biodisponibilidade, diminuição da toxicidade, prolongamento da ação, aumento da seletividade, mediante a escolha de transportador adequado. São menos ativos ou inativos quando comparados a matriz e devem sofrer reação hidrolítica para liberar a porção ativa.

b)Bioprecursores:

Diferentemente dos pró-fármacos, esse tipo de forma latente não apresenta transportador. Constituem-se em moléculas resultantes de modificação molecular com a formação de um novo composto que deve sofrer metabolização, geralmente, pelo sistema redox celular para transformar-se em metabólito ativo, Figura 6 (WERMUTH; 1996).

Figura 6. Conversão in vivo de N-alkilaminobenzofenonas em derivados benzodiazepínicos



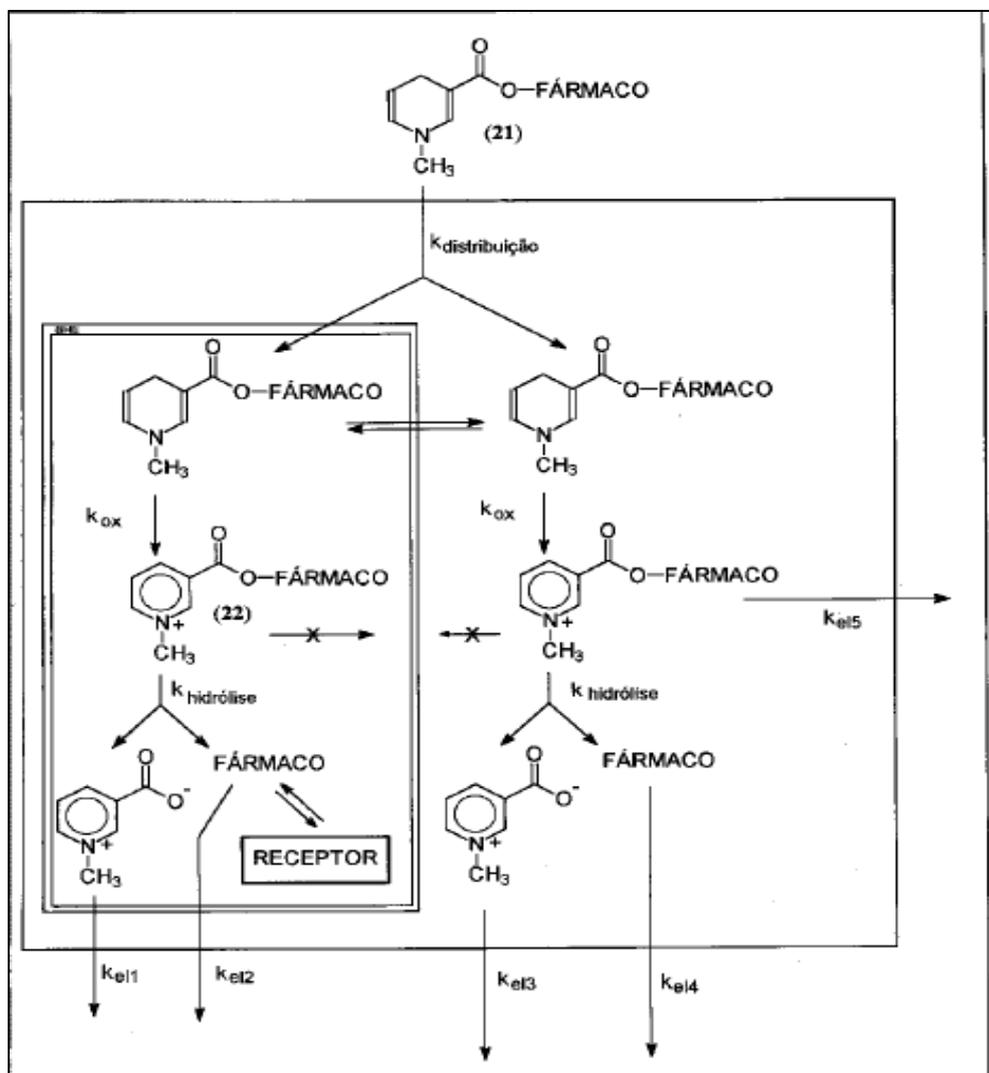
Fonte: WERMUTH; 1996.

.c) Pro-fármacos mistos:

Apresentam, ao mesmo tempo, características de pró-fármacos clássicos e de bioprecusores. Um exemplo é a utilização dos ésteres de trigomelina como transportadores de fármacos de ação central (WERMUTH; 1996).

Estes atravessam a barreira hematoencefálica, sofrem ação do sistema redox celular, tornam-se carregados ficam retidos no sistema nervoso central e após hidrólise, liberam o fármaco. Este sistema é chamado de sistema de liberação química, Figura 7.

Figura 7. Esquema de liberação química no sistema nervoso central.



Fonte: (WERMUTH; 1996).

.d) Fármacos dirigidos:

Os transportadores utilizados nesta forma latente são capazes de transportar os fármacos seletivamente do local de administração até o sítio de ação (receptores específicos), (TROUET. O objetivo principal do fármaco dirigido é minimizar as reações adversas provocadas pela ação inespecífica do fármaco em outros alvos, diminuindo, a toxicidade.

Na aplicação de estratégias de planejamento de fármacos, os estudos dos processos evolutivos de reconhecimento molecular em sistemas biológicos assumem grande importância, pois constituem as bases fundamentais para o entendimento de propriedades como potência, afinidade e seletividade. Diante desse complexo paradigma, as ferramentas biotecnológicas associadas aos métodos de química medicinal ganham papel destacado no desenvolvimento de novas moléculas com atividade biológica (GUIDO et al., 2008).

#### *2.4.7 Escolha de um protótipo à fármaco.*

A descoberta dos primeiros compostos bioativos restringia-se a curiosidade humana. A falta de conhecimento específico associava-se a “serendipidade”, palavra relacionada às descobertas acidentais, resultando no conhecimento popular traduzido na etnofarmacologia, usada ainda hoje como ponto de partida para a obtenção de compostos ativos (WERMUTH; 2008).

Nas últimas décadas, houve uma revolução no processo de descoberta de fármacos. O desenho de candidatos seria orientado pela compreensão do sítio de reconhecimento molecular da enzima central ou alvo envolvido na fisiopatologia. As vias disponíveis para o planejamento de protótipos de fármacos, foram organizados por Wermuth em diferentes abordagens (WERMUTH; 2008);

- a) Desenho de análogos;
- b) Triagem sistemática;
- c) Exploração de informações biológicas e farmacológicas;
- d) Desenho sob medida.

- Desenho de análogos.

Estratégia mais utilizada no planejamento de fármacos, uma vez que envolve menos riscos de insucessos, pois parte de um fármaco já bem estabelecido quanto aos perfis farmacodinâmicos e farmacocinéticos.

- Triagem sistemática.

Consiste na avaliação de uma biblioteca de compostos de origem sintética ou natural em promissores alvos disponíveis cuja tendência tem sido os modelos *in vitro*: ensaio de ligação, quantificação de inibição enzimática, atividade em órgão ou células isoladas, entre outros (WERMUTH; 2008).

- Exploração de informações biológicas.

Descoberta de novos compostos bioativos através da exploração de informações biológicas oriundas da etnofarmacologia, fundamentada na medicina popular com a devida avaliação clínica dos seus efeitos.

- Desenho sob medida.

Origina-se do desenho de um protótipo a partir de um ligante conhecido, ou ainda da topografia do receptor, macromolécula central do processo fisiopatológico.

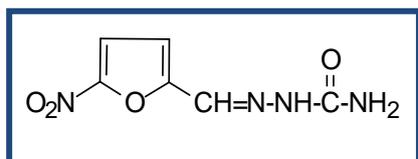
## 2.5 Nitrocompostos como importantes protótipos.

### 2.5.1 Nitrocompostos Generalidades.

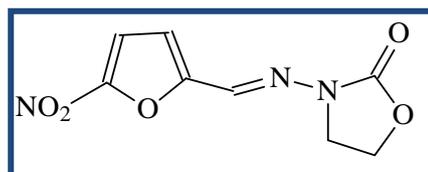
Diversas doenças como, por exemplo, a doença de chagas, câncer e terapia antimicrobiana possuem falhas na quimioterapia, deficiências da terapêutica atual. Fatos estes que alertam para a síntese de novos compostos (PONTES; 2009). Alguns nitrocompostos, candidatos potenciais a agentes terapêuticos, destacam-se como antiparasitários, antineoplásicos e antibacterianos, ressaltando a importância desta classe de compostos (REISDORFER; 2007).

Na década de 40 os nitrocompostos foram introduzidos na terapêutica, neste período, diversos compostos dessa classe foram sintetizados e testados para várias doenças. Os primeiros compostos nitroheterocíclicos utilizados na quimioterapia foram os nitrofuranos. Três deles, o nitrofural (Nitrofurazona), a Furazolidona e a Nitrofurantoína (Figura 8), são utilizados no tratamento de vários tipos de infecções bacterianas por mais de 50 anos (BOSQUESI *et al.*, 2009).

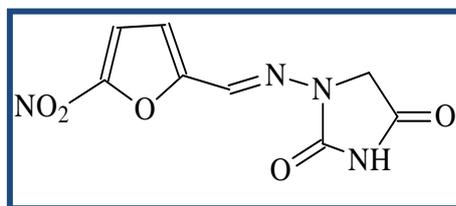
Figura 8. Estruturas químicas da Nitrofurazona, Furazolidona e Nitrofurantoína.



Nitrofurazona



Furazolidona



Nitrofurantoína

### 2.5.2 Atividade Biológica dos Nitrocompostos:

A atividade biológica dos nitrocompostos depende da presença do grupo nitro. A redução do mesmo, devido-se a seu caráter fortemente acceptor de elétrons, bem como pelo efeito de ressonância entre o nitrogênio e os dois átomos de oxigênio de sua estrutura (YAN *et al.*, 2005), (KOROLKOVAS *et al.*, 1988). O efeito biológico, em alguns casos, pode resultar também da interação desses compostos com receptores específicos da biofase, sem que a redução catalítica do grupo nitro seja o elemento essencial da bioatividade do composto.

A maioria dos nitrocompostos, com ação antineoplásica, antiparasitária e antibacteriana apresenta o processo de biorredução enzimática do grupo nitro como provável mecanismo de ação (TOCHER; 1997), (VIODÉ *et al.*, 1998), (MAYA *et al.*, 2007). O que o torna um requisito imprescindível para o desempenho da atividade biológica.

### 2.5.3 Mecanismo de Ação.

O mecanismo de ação dos nitrocompostos ainda não está totalmente esclarecido. Essas moléculas atravessam as membranas celulares através de difusão passiva e essa passagem aumenta devido à presença de radicais livres que são produzidos pela biorredução e desta forma desestabilizam a membrana celular.

Com o aumento da concentração intracelular de nitrocompostos, maior quantidade de radicais livres é gerada, conseqüentemente, maior é o dano causado pelo estresse oxidativo (TOCHER; 1997). De acordo com dados da literatura é consenso que o mecanismo de ação desta classe de compostos está ligado ao processo de redução *in vivo* do grupo nitro e à subseqüente interação dos produtos formados e de espécies reativas do oxigênio, com biomoléculas essenciais de bactérias, fungos e parasitas (VIODÉ *et al.*, 1998), (MAYA *et al.*, 2007), (EDWARDS; 1986), (KAPPUS; 1986).

### 2.5.4 Atividade Antimicrobiana e Antiparasitária de Nitrocompostos.

Alguns nitroheterocíclicos são metabolizados por fotobactérias (redutase) ligadas a ferredoxina pelo complexo piruvato (flavoproteína, NADPH e ferredoxina), presente em alguns microorganismos aeróbios ou anaeróbios (TOCHER; 1997), (ROLDÁN *et al.*, 1988). No *Trypanosoma cruzi*, a redução do grupo nitro é feita por flavoenzimas, e a produção de

nitro radicais aniônicos e peróxido podem inibir algumas enzimas que detoxificam os radicais livres, como a tripanotona redutase, ou mesmo interagir com o substrato desta enzima, tornando o parasita suscetível à ação tóxica destes radicais (VIODÉ *et al.*, 1998), (NÚÑES *et al.*, 1995).

#### *2.5.5 Atividade Antineoplásica e Mutagenicidade de Nitrocompostos.*

Entre várias substâncias químicas que possuem caráter mutagênico, os nitrocompostos representam um grupo importante devido à presença de dois grupos potencialmente reativos como: o nitro na posição 5 e os substituintes (R) na posição 2 do anel furânico (MCCALLA; 1983), (KOBIEKSKA; 1994), (MECCA; 2002), (HIRAKU *et al.*, 2004).

O grupo nitro sofre redução enzimática, resultando em radicais livres, em sistemas bacterianos a redução do grupo nitro é feita por, no mínimo, três redutases. As reduções resultam de reduções em cadeia, formando espécies eletrofílicas que reagem com o DNA. Com relação à atividade antineoplásica de nitrocompostos estes tem de modo controverso despertado interesse na terapia antineoplásica, no tratamento de tumores sólidos contendo áreas de hipóxia (HORROKS *et al.*, 2003), (AL-MASOUDI *et al.*, 2006).

Devido à baixa concentração de oxigênio intracelular, ocorre a formação de radicais livres, originários da biorredução dos nitrocompostos. Estes radicais livres possuem potencial de redução menores que o observado para células normais, justificando assim a ação citotóxica seletiva de células em hipóxia. Contribuindo assim para o planejamento de novos fármacos antineoplásicos mais específicos em relação a esta função (KHLEBNIKOV *et al.*, 2002).

#### *2.5.6 Nitrocompostos e planejamento molecular*

Apesar de a literatura reletar a toxicidade de compostos nitrofurânicos, a utilização destes compostos na terapêutica ainda é presente e importante, muitas vezes, sendo eficaz em doenças negligenciadas (REISDORFER; 2007). Neste contexto, o emprego de ferramentas de modulação da estrutura dos nitrocompostos, possibilitado o planejamento de moléculas com melhor perfil farmacológico, é bastante promissor (REISDORFER; 2007). Desta forma, a nitrofurantoína, possuindo em sua estrutura um anel nitrofurânico, torna-se

uma excelente fonte de pesquisa para novos fármacos, uma vez que a modificação molecular tanto da nitrofurantoína quanto da n-hidroxi-metil-nitrofurantoína, é algo inédito apesar de serem utilizados há tantos anos na terapêutica.

## 2.6 Hidantoínas

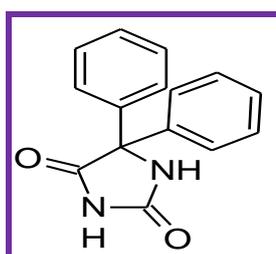
### 2.6.1 Hidantoínas: Generalidades

A hidantoína foi descoberta por Baeyer, em 1861, enquanto pesquisava as reações do ácido úrico e corresponde ao 2,4-diceto-tetra-hidro-imidazol Johnson e Chernoff prepararam a 4-tio-hidantoína, a partir do tratamento da carbetóxi-aminoacetonitrila com  $H_2S$  em meio básico (BAEYER; 1965), (JOHNSON; 1992).

A primeira fórmula estrutural da hidantoína foi sugerida por Kolbe, em 1870, tendo sido modificada por Strecker, que, neste mesmo ano, propôs uma nova fórmula que é aceita até hoje. A partir dessa época, o sistema anelar hidantoínico tem sido intensivamente estudado tanto no tocante aos aspectos químicos, quanto biológicos (BAEYER; 1965).

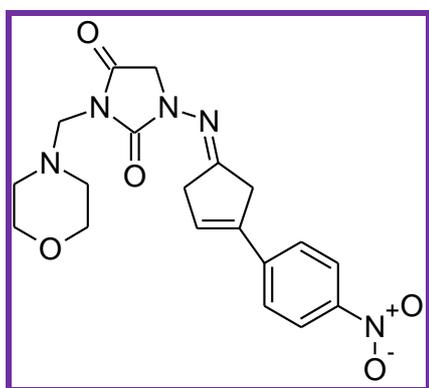
Os derivados hidantoínicos destacam-se por apresentarem ação biológica diversificada, como antimicrobiana, anticonvulsivante e antiparasitária. É digno de nota que a hidantoína tem causado um grande impacto na indústria farmacêutica, visto que vários fármacos contendo este anel heterocíclico são utilizados na clínica. Por exemplo, a 5,5-difenil-hidantoína, denominada genericamente de fenitoína (Dilantin® USA), Figura 9, é amplamente utilizada no mundo como o anticonvulsivante de escolha no tratamento das crises epilépticas, especificamente de convulsões parciais e tônico-clônicas, mas não nas crises de ausência. Sua atividade antiepiléptica é, principalmente, associada ao bloqueio dos canais de sódio (ROGAWSKI; 1990).

Figura 9. Estrutura química da Fenitoína

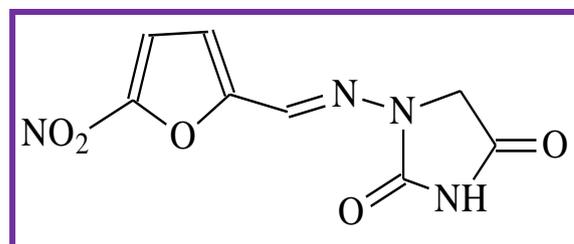


Fármacos contendo o anel hidantoínico, como os genéricos nifurfolina, nifurtoinol e nitrofurantoína, apresentam propriedades antibacterianas e anti-sépticas. A nitrofurantoína, mais utilizada como anti-séptico, devido a sua capacidade de inibir a desidrogenase bacteriana, provocando a inibição da síntese protéica, é amplamente comercializada em diversos países no mundo (Berkfurin®, Furadantin®, Nitrex®).

Figura 10. Estruturas químicas da Nifurfolina e Nitrofurantoína.



Nifurfolina



Nitrofurantoína

Além das importantes atividades biológicas apresentadas por moléculas derivadas da hidantoína, vários outros aspectos relevantes acerca dessas substâncias têm sido abordados na literatura, cujo foco é dirigido para temas de grande interesse como a reatividade do anel imidazolidínico, a aplicação de novas metodologias de síntese (MEUSEL; 2004).

### 2.6.2 Reatividade química das Hidantoínas (*N*-alquilação)

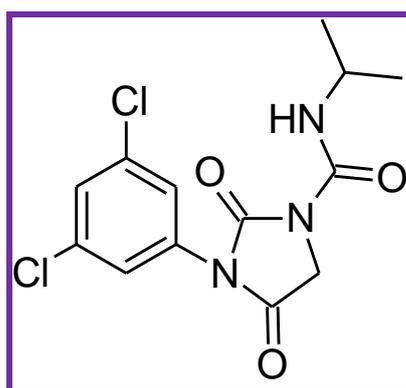
As hidantoínas podem ser alquiladas na posição 3 com haletos de alquila tanto em solventes próticos como apróticos. Outros agentes alquilantes incluem dimetil sulfato e diazometano. Hidantoínas mono-alquiladas em N1 podem ser obtidas por proteção do nitrogênio imida com um grupo amino metil, seguido da alquilação do nitrogênio da amida e da remoção do grupo protetor por hidrólise alcalina suave (ORAZI; 1965). Alquilações em N1 são conhecidas em compostos hidantoínicos substituídos na posição 3, contudo, ocorrem em condições mais severas que aquelas em N3 (ORAZI; 1974).

### 2.6.3 Propriedades Biológicas das Hidantoínas

#### 2.6.3.1 Atividade Antimicrobiana das Hidantoínas

Compostos contendo o sistema hidantoínico possuem propriedade antifúngica e antibacteriana: a iprodiona [3-(3,5-diclorofenil)-*N*-isopropil-2,4-dioxo-imidazolidina-1-carboxiamida] (Figura 12), constitui o fungicida hidantoínico mais importante, inibindo ao mesmo tempo a germinação de esporos e o crescimento de micélios de fungos (SAULI; 1972).

Figura 11. Estrutura química da Iprodiona



Fonte: SAULI; 1972.

Em 1992, Lima e colaboradores, estudaram a atividade antimicrobiana de derivados 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilidenoimidazolidinônicos e observaram, através da determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI), que o derivado com o substituinte NO<sub>2</sub> em posição 4 no grupo benzilideno, foi ativo contra *Candida albicans* e *Neurospora crassa* e

também frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Mycobacterium smegmatis*.

O composto 3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-5-arilazo-imidazolidin-2-ona, foi sintetizado e sua atividade microbiana foi avaliada, mostrando-se ativo frente ao *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis* e *Serratia marcescens*, dentre outros microrganismos (BRANDÃO *et al.*, 1997).

Em 1999, Albuquerque e colaboradores, sintetizaram e avaliaram a atividade antimicrobiana de derivados 3-benzil-5-arilidenoimidazolidinônicos. Dez compostos foram avaliados como potenciais agentes antimicrobianos frente a seis microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*) e apresentaram uma CMI entre 32 e 128 µg/mL.

#### 2.6.3.2 Atividade Esquistossomicida das Hidantoínas.

Luttermoser e Bond observaram que a 5,5-difenil-hidantoína e a 5-(*p*-clorofenil)-5-metil-hidantoína apresentavam atividade frente a vermes adultos de *Schistosoma mansoni* em ratos portadores da esquistossomose mansônica (LUTTERMOSER *et al.*, 1954).

A 5-(2,4,5-triclorofenil)-hidantoína e a 1-(5-nitro-tiofeno-3-il)-imidazolidin-2-tiona também possuem atividade esquistossomicida (ALBUQUERQUE *et al.*, 1999). Benazet e colaboradores, avaliaram a susceptibilidade *in vivo* do *S. mansoni* frente a derivados imidazolidinônicos 3,5- dissustituídos, tendo o composto 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona apresentado uma importante atividade esquistossomicida *in vitro* (BENAZET *et al.*, 1977).

Em 2005, Albuquerque e colaboradores, avaliaram a atividade esquistossomicida de derivado tio-hidantoínicos e a mobilidade dos vermes (*S. mansoni*) foi reduzida após 24 h de contato com as drogas. Também foi observado que os compostos 3-benzil-5-(4-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas demonstraram baixos níveis de toxicidade quando administrados em altas doses nos camundongos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005).

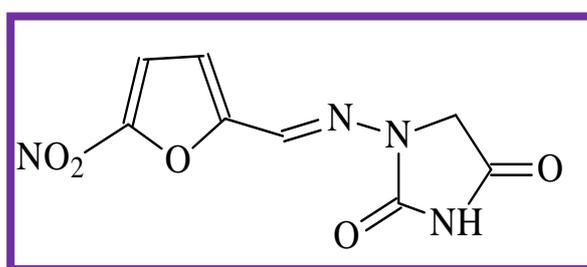
Diversas atividades biológicas são atribuídas ao núcleo hidantoínico, recentemente, outras atividades estão sendo relacionadas a este heterociclo (antinflamatória, (KNOW *et al.*, 2008) moduladora de colesterol HDL, (ELOKDAH *et al.*, 2004) inibidora de agregação

plaquetária, (BARRACLOUGH *et al.*, 1994) antiarrítmica (DYLAGE *et al.* 2004), anticâncer (KUSHEV *et al.*, 2003) e antiviral) (VERLINDEN *et al.*, 2000).

#### 2.6.4 Nitrofurantoína – Generalidades.

A Nitrofurantoína é um eficaz antibacteriano, utilizado em infecções do trato urinário cujo mecanismo de ação molecular não está totalmente delineado (Figura 12) (CHARLES *et al.*, 1994). Foi introduzida na terapêutica em 1953, é conhecida pelo nome comercial de Furadantin; corresponde quimicamente a N-(5-Nitro-2-Furfuriliena)-Amino-Hidantoína.

Figura 12. Estrutura química da Nitrofurantoína



Fonte: CHARLES *et al.*, 1994.

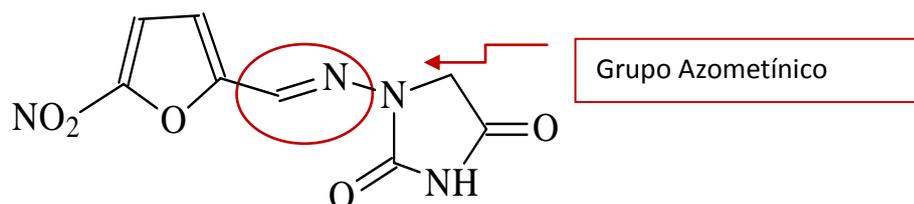
A Nitrofurantoína apresenta atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo bacteriostática e bactericida contra a maioria das espécies de estafilococos e estreptococos. Tem a mesma ação contra a *Escherichia coli* e *Aerobacter aerogenes*. Este composto é inativo frente a fungos e vírus. Sendo utilizada para as infecções bacterianas das vias urinárias também por via oral (HERRLICH; 1976). A Nitrofurantoína em baixas concentrações tem sido relatado previamente para inibir a síntese induzida de galactosidase e galactosquinase em *Escherichia coli* e galactosidase em *Klebsiella aerogenes* (GRANT; 1971), sem afetar a síntese total de proteínas. Em altas concentrações, o tratamento Nitrofurantoína inibe as enzimas do ciclo do ácido cítrico, bem como DNA, RNA e síntese de proteínas totais por um mecanismo pensado para envolver a reação dos eletrófilos gerado na sequência da redução bacteriana de Nitrofurantoína com sítios nucleofílicos em macromoléculas bacterianas (FOYE *et al.*, 1995).

### 2.6.4.1 Química da Nitrofurantoína

A Nitrofurantoína é um agente antimicrobiano sintético que tem sido utilizado na terapêutica por mais de 50 anos. A nitrofurantoína é historicamente preparada pela reação de sulfato de 1 aminohidantoína com o 5-nitro-2-furaldeído diacetato (MERK; 2006). Esse composto apresenta em sua estrutura três grupos funcionais, que garantem a nitrofurantoína uma interessante atividade biológica, esses grupos farmacofóricos são: Grupo Azometínico, Anel Nitrofurânico e Anel imidazólico.

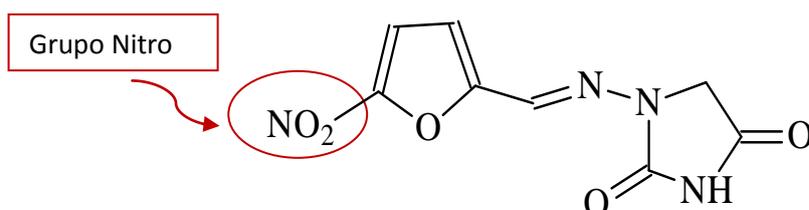
Compostos nitrofurânicos utilizados como antibacterianos apresentam em comum o grupo azometínico ( $-\text{CH}=\text{N}$ ) ligado ao carbono 2 do anel 5-nitrofurânico, resultando em sinergismo farmacológico entre estas duas subestruturas (KOROLKOVAS; 1988), (TOCHER; 1997), (ULMAR; 1968), esses grupos funcionais podem ser observados na Figura 13.

Figura 13. Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no grupo azometínico.



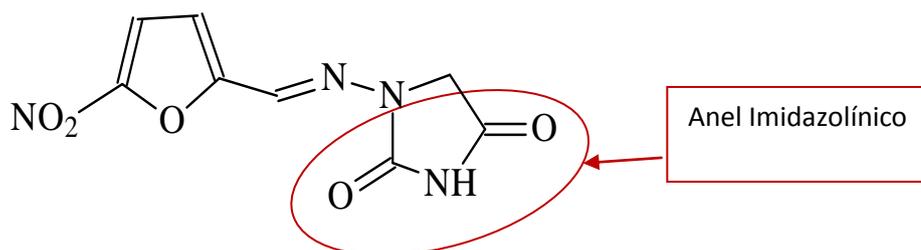
Segundo Massunari, o grupo nitro presente na estrutura da nitrofurantoína, Figura 14, ligado ao anel furânico, através de sua redução, funciona como aceptor de elétrons, perturbando o fluxo fisiológico de elétrons, inibindo enzimas envolvidas no metabolismo do piruvato, processo essencial para a produção de energia celular (ULMAR; 1968), (ASNIS et al., 1951), (GREEN; 1948), (SPILBERG; 1981).

Figura 14. Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no grupo nitro.



O anel imidazolínico, Figura 15, por sua vez, tem sido relatado na literatura como potencializador da atividade antibacteriana e anti-septica da Nitrofurantoína, uma vez que também está presente em estruturas de moléculas que apresentam tais mecanismos de ação. O anel imidazolínico possui alta reatividade o que impulsiona o interesse pela aplicação de novas metodologias de síntese

. Figura 15. Estrutura química da Nitrofurantoína com detalhe no anel Imidazolínico.



#### 2.6.4.2 Aplicações Farmacológicas da Nitrofurantoína

O mecanismo de ação da Nitrofurantoína de um modo geral envolve a redução do grupo Nitro por enzimas, originando intermediários reativos (SPIELBERG; 1981). As bactérias reduzem os compostos Nitrofurânicos de uma forma mais rápida que as células humanas, pois células mais evoluídas possuem mecanismos bioquímicos que desativam a ação de moléculas reativas. Desta forma, a Nitrofurantoína possui uma maior seletividade para a ação bacteriostática para a maioria das espécies bacterianas susceptíveis, em concentrações abaixo de 32 µg/ml (RANG; 2001), (GOODMAN; 2000).

Em estudo para determinação de tratamento adequado para infecções complicadas do trato urinário, foi relatado que a Nitrofurantoína tem utilidade limitada no estabelecimento de infecções urinárias graves e deve ser reservada como opção de tratamento alternativo para infecções menores do trato urinário por cerca de 1 a 4 semanas com base na situação clínica.

#### 2.6.4.3 Implicações no uso da Nitrofurantoína.

Segundo Leonardo Viana 2009, a Nitrofurantoína apresenta diversos efeitos colaterais nas concentrações terapêuticas e conseqüentemente, possui limitações na sua aplicação. Por se tratar de um fármaco rapidamente eliminado e não atingir a concentração necessária no plasma, seu uso é limitado na ação antimicrobiana sistêmica.

A Nitrofurantoína é usada preferencialmente no combate a infecções urinárias, pois cerca de 40% é eliminado sob a forma inalterada na urina, com meia vida plasmática de apenas 0,3 à 1 hora.

Os efeitos adversos causados por este fármaco incluem toxicidade hepática, além de casos graves de hepatite crônica,<sup>82</sup> pulmonar (hipersensibilidade e fibrose pulmonar), leucopenia, anemia hemolítica, disfunções neurológicas e neuropatias, desmielinização e degradação de nervos motores e sensitivos, além de atrofia muscular. Alguns dos efeitos adversos são atribuídos a metabólitos tóxicos reativos (RANG; 2001), (GOODMAN; 2000).

#### 2.6.4.4 Fototoxicidade da Nitrofurantoína

A fototoxicidade da Nitrofurantoína(NFT ) já foi documentada contra diversos tipos de bactérias Gram positivas e Gram negativas, aeróbicas ou anaeróbicas (CULLOTA *et al.*, 1992), (STAMLER *et al.*, 1992), como também , sua ação foto alérgica em pacientes ( HENEGOUWN; 1991). Devido ao seu amplo espectro de atividade antimicrobiana, a NFT também tem sido utilizada na alimentação animal como aditivo para prevenir ou tratar várias infecções gastro-intestinais (BARBOSA *et al.*, 2007), ( MOTTER *et al.*, 2007). Sua citotoxicidade está relacionada à redução enzimática por seu grupo nitro com formação de espécies reativas de Oxigênio e Nitrogênio (MARTINEZ; 1995).

Uma desvantagem os derivados de nitrofuranos é que vários dentre eles, são carcinogênicos. Dentre os mais importantes estão a Furazolidona, Nitrofurazona, Furaltadona, Nifursol. Entretanto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) excluiu a NFT da categoria de compostos potencialmente cancerígenos, por apresentar evidências limitadas dos efeitos carcinogênicos, tanto em animais quanto em humanos (WHO; 1990).

Em estudo realizado por Gustavo Parra 2010, a Nitrofurantoína foi analisada quanto a sua dinâmica de fotodecomposição e a liberação de radical NO<sup>•</sup> em soluções aquosas em função do ambiente , tendo em vista a análise da sua potencialidade para aplicação em

fotoquimioterapia de diversas doenças, inclusive o câncer. Neste estudo pode-se constatar que a fototoxicidade da NFT é devido a presença do grupo nitro (PARRA; 2010).

### 2.6.5 *N-Hidroxi-Metil-Nitrofurantoína: Generalidades*

#### 2.6.5.1 Latenciação de Fármacos.

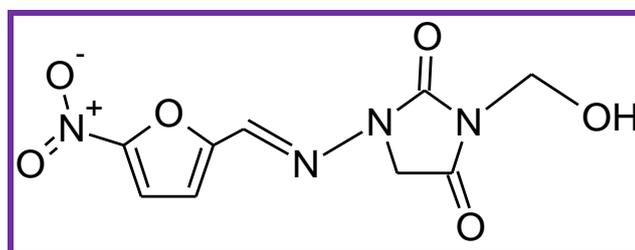
A latenciação de fármacos foi proposta, em 1959, por Harper, e consiste, basicamente, na transformação do fármaco em forma de transporte inativo, que, *in vivo*, mediante reação química ou enzimática, libera a porção ativa no local de ação ou próximo dele. O desenvolvimento de pró-fármacos tem como objetivo resolver diversos problemas relacionados aos fármacos, como baixa biodisponibilidade, toxicidade, falta de seletividade e instabilidade, entre outros (ETTMYER; 2004).

#### 2.6.5.2 Hidroximetilação.

A hidrosolubilidade pode ser aumentada mediante diminuição das ligações de hidrogênio intra e/ou intermoleculares, uma vez que estas conduzem a estruturas mais arranjadas, mais dificilmente solubilizadas em meio aquoso (BUNDGAARD; 1985).

Derivados hidroximetilados de fármacos ácidos, como amidas, permitem o aumento da hidrossolubilidade e se constituem em intermediários para ésteres, com o objetivo de obter derivados mais hidrofílicos que o composto original (BUNDGAARD; 1985). Neste contexto surgiu o Nifurtoinol, pró fármaco da Nitrofurantoína criado para melhorar as questões relacionadas a hidrossolubilidade da mesma (Figura 16).

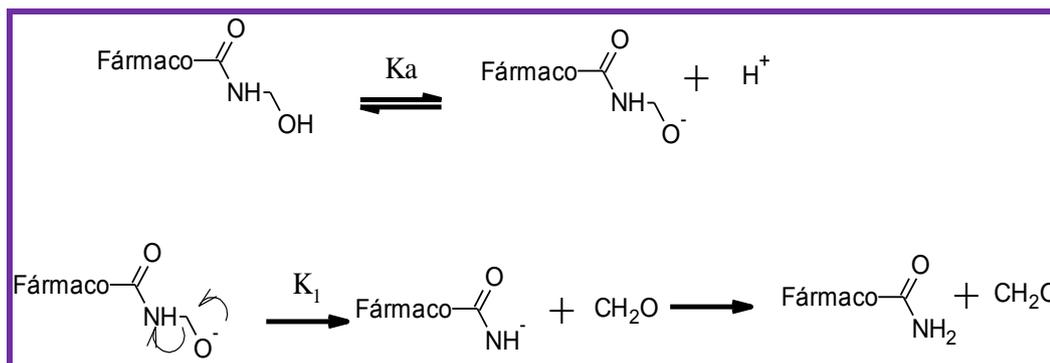
Figura 16. Estrutura química do nifurtoinol (N-Hidroxi-Metil-Nitrofurantoína).



O derivado N-(hidroximetilado) da Nitrofurantoína, (Nifutoinol) é um antibacteriano, utilizado no tratamento de infecções do trato urinário. A N-hidroxi-metil Nitrofurantoína é um pró-fármaco de elevada biodisponibilidade. Sua maior atividade antibacteriana pode ser

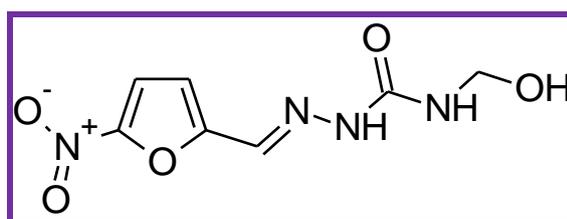
devido a liberação do formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) próximo do local de ação, neste caso o trato urinário, durante o processo de biotransformação, como observado na figura 17 (TESTA *et al.*, 2003).

Figura 17. Mecanismo proposto para a ação de compostos N-Metil Hidroxilados (LARSEN *et al.*, 2003).



Outros fármacos hidroximetilados foram sintetizados com esse intuito, exemplo disso é a hidroximetilação da Nitrofurazona, realizada por Chung e colaboradores (CHUNG *et al.*, 2003), (CHUNG *et al.*, 2005), que obtiveram e avaliaram *in vitro* o derivado da Nitrofurazona, o hidroximetil-Nitrofurazona (NFOH-121), Figura 18, sintetizado em meio alcalino de acordo com o método de Yananoaka e colaboradores (YAMOAKA *et al.*, 1983).

Figura 18: Estrutura química da hidroximetil-Nitrofurazona.



O derivado mostrou-se bastante promissor, pois a atividade do NFOH-121 foi evidente tanto nas tripomastigotas quanto nas amastigotas, quando comparadas ao Benznidazol, usado como droga padrão. Com as amastigotas, o Benznidazol apresentou um percentual de 81,1% de inibição do crescimento, enquanto que com o derivado NFOH-121 foi de 99,6 e 100%, nas doses de 5 e 10  $\mu\text{M}$ . Neste mesmo ensaio, na dose de 5  $\mu\text{M}$ , a Nitrofurazona inibe 97,2%. Estes mesmos autores revelaram que o composto NFOH-121 atua como um pró-fármaco da Nitrofurazona, apresentando menor potencial mutagênico em relação à mesma (CHUNG *et al.*, 2003).

Baseados na boa atividade relatada para derivados hidroximetilados, nosso grupo de pesquisa decidiu investigar a ação da N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína, bem como o de seus derivados eterificados, em comparativo com os derivados N-alquilados da Nitrofurantoína.

### 2.6.5.3 N-Alquilação dos Derivados da Nitrofurantoína.

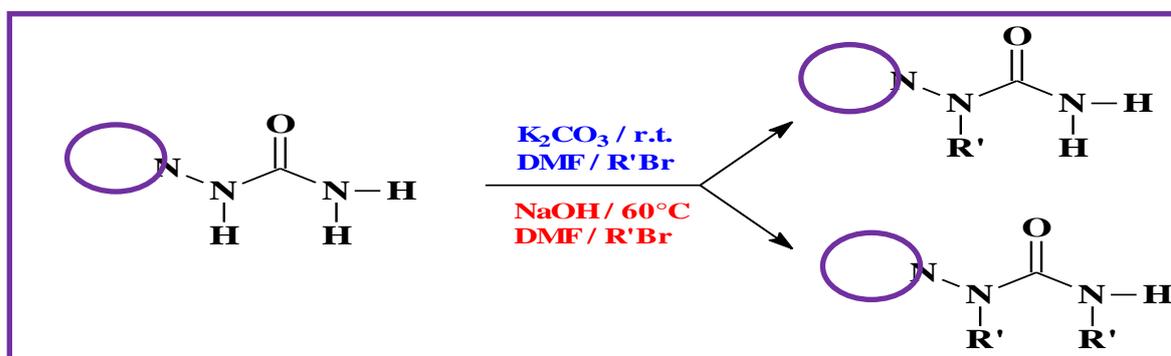
A N-Alquilação de compostos orgânicos apresenta-se como uma das soluções em se melhorar a lipofilia de derivados semicarbazônicos, tendo em vista que, a alta polaridade de fármacos pode dificultar suas atividades em organismos biológicos.

A N-alquilação também se mostrou eficaz para obtenção de derivados da Ftalimida, as Ftalimidas fazem parte das imidas cíclicas, que igualmente a Nitrofurantoína possuem o grupo -CO-N(R)-CO-, sendo R um átomo de hidrogênio, grupo alquila ou grupo arila.

Inúmeras moléculas derivadas da Ftalimida, através de processos como a N-alquilação, mostraram-se bastante promissoras com relação às atividades; anticonvulsivantes, antibacteriana, antitumoral e analgésica (CECHINEL *et al.*, 2003).

D. J. Brondani, 2007, descreveu um método seletivo para N<sup>2</sup>-alquilação em derivados semicarbazônicos, utilizando meio aprótico e controle cinético. Até então, os métodos de N-alquilação em derivados semicarbazônicos só eram regioseletivos para a porção -NH<sub>2</sub> (N<sup>4</sup>-alquilação) do grupamento amida, sendo comum a ocorrência de overalquilações (N<sup>2</sup>,N<sup>4</sup>-alquilação). O esquema geral da síntese encontra-se abaixo:

Esquema 01: Rotas de síntese para N-alquilação de semicarbazonas.



Fonte: BRONDANI ; 2007.

A rota de síntese usada neste estudo foi baseada neste método, uma vez que esta metodologia resultou em moléculas com feitos farmacológicos bastante interessantes. A estrutura da Nitrofurantoína permite a realização deste tipo de modificação estrutural, desta forma utilizamos a N-alquilação regioseletiva para a síntese de novos derivados N-alquilados da Nitrofurantoína.

Contudo, dentre as vias apresentadas para a escolha de um protótipo mais eficiente e mais seguro. O desenho de análogos foi a técnica escolhida para o trabalho em questão, onde um fármaco já é bem conhecido na terapêutica, nitrofurantoína, porém com sérios problemas de biodisponibilidade, foi submetido a uma série inédita e com promissoras atividades biológicas, conservando a ação antimicrobiana e apresentando de forma inédita atividade antitumoral.

# *OBJETIVOS*

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral.

Síntetizar e avaliar biologicamente derivados n-alquilados e eterificados da nitrofurantoína, visando à obtenção de compostos ativos contra o Câncer, de forma pioneira, e de menor toxicidade que os fármacos utilizados atualmente na quimioterapia da doença, além de avaliação da ação antimicrobiana desses derivados.

#### 3.2 Objetivos Específicos.

- Síntetizar derivados alquilados e eterificados da nitrofurantína e purificar esses novos compostos propostos;
- Caracterização físico-química de todos os derivados, e elucidação estrutural através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio ( $^1\text{H}$ -RMN), Carbono ( $^{13}\text{C}$ -RMN), Infravermelho (IV) e Espectroscopia de Massa (EM).
- Avaliação da citotoxicidade em macrófagos através de ensaios *in vitro*, para avaliação do potencial Antitumoral;
- Avaliação da atividade Antimicrobiana dos derivados.

# *METODOLOGIA*

## **PARTE QUÍMICA**

#### 4. METODOLOGIA: OBTENÇÃO DOS NOVOS DERIVADOS .

As Hidantoínas, como anteriormente citadas, possuem em suas estruturas o anel Imidazolinico, que possui uma alta reatividade química, proporcionando a aplicação de novas metodologias de síntese e desta forma, a obtenção de novos derivados.

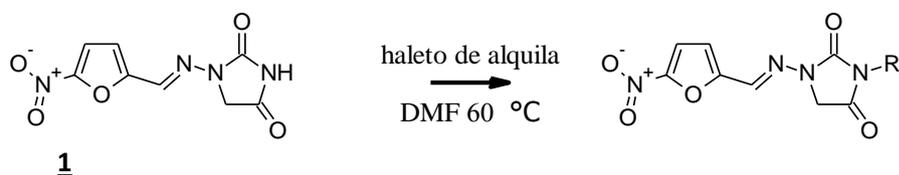
Duas metodologias foram utilizadas para a obtenção dos derivados, inicialmente com base na N<sup>2</sup>-Alquilação regioseletiva para derivados semicarbazônicos, proposto por Brondani *et al* 2007, foram obtidos os derivados alquilados, além de usar também como nova proposta de síntese de amino metil derivados da nitrofurantoína baseados na metodologia de Metin *et al* 2013 e Moore *et al* 1946, utilizadas na obtenção de derivados da Ftalimida, foram sintetizados os novos derivados da Nitrofurantoína, uma vez que a estrutura da mesma proporciona a aplicação desses tipos de modificações estruturais .

##### 4.1 Procedimento Geral Para Obtenção de Derivados N-alkilados da Nitrofurantoína:

Os métodos propostos são simples, viáveis Já desenvolvidos em nosso laboratório e bem documentado na literatura.

A obtenção dos derivados N-alkilados da NFT foi de forma semelhante ao realizado para os derivados da NFTOH. A reação procedeu com a NFT com adição do Halletos correspondentes em meio básico. A rota sintética utilizada pode ser observada no esquema 2.

**Esquema 2.** Rota sintética para a obtenção dos derivados da Nitrofurantoína.

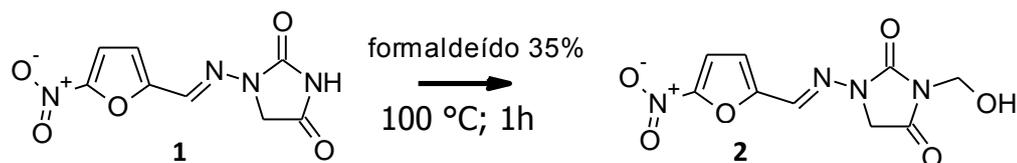


R<sub>1</sub> : Propila, Butila, Pentila, Pentenila

## 4.2 Obtenção da N-Hidroxi-Metil Nitrofurantoína:

Para a obtenção do N-Hidroxi-Metil Nitrofurantoína foi utilizado a nitrofurantoína com aldeído fórmico a 35%, em temperatura de 100°C, por 1h, o esquema reacional pode ser observado no esquema 3.

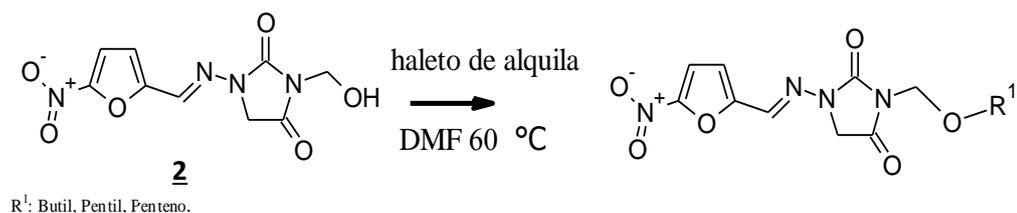
**Esquema 3.** Rota Sintética para a obtenção do N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína.



## 4.3 Procedimento Geral Para Obtenção de Derivados da N-hidroxi-Metil Nitrofurantoína;

Foi utilizado o nifurtoímol, com diferentes Haleto de alquila e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> utilizado como base. Para a obtenção do derivado éter da NFTOH, as reações foram aquecidas a 60°C com duração média de 18 horas, sendo monitoradas por CCD, esquema 4.

**Esquema 4.** Rota sintética para obtenção dos derivados do N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína.

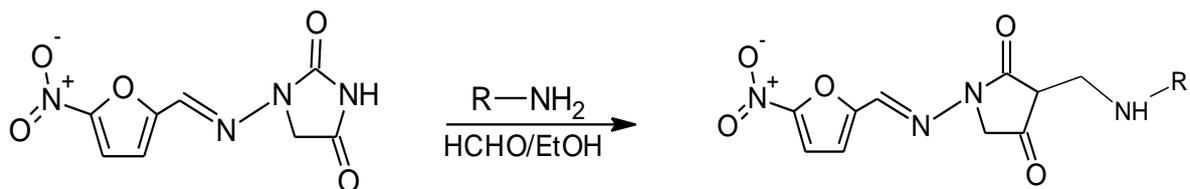


## 4.4 Procedimento geral para a obtenção dos derivados Amino aril da Nitrofurantoína.

Baseados na metodologia descrita por Moore *et al* 1946 e Metin *et al* 2013, que retrata a aminação em ftalimidas, utilizamos uma mistura de etanol/formol ( 1:1) com um

equivalente da anilina substituída em questão, em balão de fundo redondo, sob agitação em temperatura ambiente por uma hora, posteriormente era adicionado um equivalente da Nitrofurantoína e a reação continuava sob temperatura ambiente Overnight, como pode ser observado no esquema 5.

**Esquema 5:** Rota sintética para obtenção dos derivados amino aril.



# *METODOLOGIA*

## **PARTE BIOLÓGICA**

## **Avaliação das atividades biológicas**

### **5 INTRODUÇÃO.**

Após a obtenção dos derivados da Nitrofurantoína, estes foram submetidos à análise de suas atividades biológicas. Os testes realizados foram; determinação da citotoxicidade, bem como, avaliação da atividade antibacteriana e antitumoral.

#### **5.1 Metodologia da Avaliação da Atividade Antibacteriana dos Derivados da Nitrofurantoína.**

Para a análise da atividade antibacteriana dos derivados da Nitrofurantoína foram utilizados o método de difusão em discos de papel e a determinação da CMI e CMB.

#### **5.2 Método de difusão em discos de papel.**

Neste método, os discos contendo concentrações conhecidas dos compostos sintetizados foram colocados na superfície de uma placa de ágar, onde uma suspensão padronizada dos microorganismos em teste foi inoculada. As suspensões dos microorganismos testes foram padronizadas através da escala de McFarland com turbidez correspondente a 0,5, equivalente a  $1$  a  $2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL).

Discos de papel contendo apenas o solvente dimetil-sulfóxido (DMSO), foram utilizados como controles negativos. As placas foram levadas a estufa durante 24h e 48h à temperatura de 30°C e 37°C e após o período de incubação mediram-se os halos de inibição em milímetros (mm). O halo de inibição foi considerado a área sem crescimento detectável a olho nu. A zona média de inibição para Nitrofurantoína (antibiótico) foi utilizada como valor de referência. Os experimentos foram realizados em triplicata, e repetidos se os resultados apresentassem alguma divergência (BAUER *et al.*, 1966).

### 5.3 Metodologia da determinação da CMI e CMB dos Derivados da Nitrofurantoína.

Para os ensaios de CMI e CMB, foi utilizada a técnica de macrodiluição em meio líquido, onde a partir de uma solução-mãe com concentração de 1,25mg/mL dos compostos em análise, solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO), foram realizadas diluições seriadas em placa multipoços, para obtenção das concentrações desejadas. Foram adicionados 10 µL da suspensão bacteriana, previamente padronizadas através da escala McFarland, nos poços contendo as concentrações desejadas dos compostos em análise.

As placas contendo bactérias foram incubadas a 37°C por 24h, e as contendo fungo, foram incubadas por 48 horas e, em seguida examinados para visualização da presença ou ausência de organismos de cultivo, poços contendo apenas DMSO também foram avaliados. Os valores de CMI foram obtidos a partir da menor concentração dos compostos onde não foi observado qualquer crescimento de bactérias.

Os valores da CMB foram medidos através da inoculação dos caldos utilizados para determinação da CMI. Os valores de CMB foram observados a partir do crescimento da diluição subsequente. Os valores da CMI e da CMB, foram expressos em µg/mL (ETTMAYER *et al.*, 2004).

### 5.4 Citotoxicidade in vitro dos Derivados da Nitrofurantoína

A atividade citotóxica foi realizada através do método do MTT brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ALLEY; 1988), (MOSSMAN; 1983) .

As linhagens de células utilizadas serão NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e HEP-2 (carcinoma de laringe humana) mantidas em meio de cultura DMEM, HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e MCF-7 (câncer de mama humano) mantidas em meio de cultura RPMI 1640. Os meios foram suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO<sub>2</sub>.

As células NCI-H292, MCF-7, HEp-2 e HL-60 ( $3 \times 10^5$  células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24h. Em seguida as amostras dissolvidas em DMSO (1%) foram adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. O fármaco doxorubicina (5 µg/mL) foi utilizado como padrão. Após 72 h de reincubação foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT serão aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm.

Os experimentos serão realizados em quadruplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPad Prism 7.0. demo*.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras com atividade (95 a 100 % de inibição), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 70 a 90%) e sem atividade (inibição de crescimento menor que 50 %), (RODRIGUES; 2014).

Os produtos (0.195 – 25 µg/mL) que apresentaram atividade moderada (> 70% de inibição) em duas linhagens aderidas e uma linhagem em suspensão foram submetidos a determinação da concentração que inibe 50 % do crescimento em relação ao controle negativo ( $CI_{50}$ ). A doxorubicina (0.009 - 1.25 µg/mL) é utilizada como padrão. A  $CI_{50}$  e os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados a partir da regressão não linear no programa *GraphPad Prism 7.0. demo*.

# *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

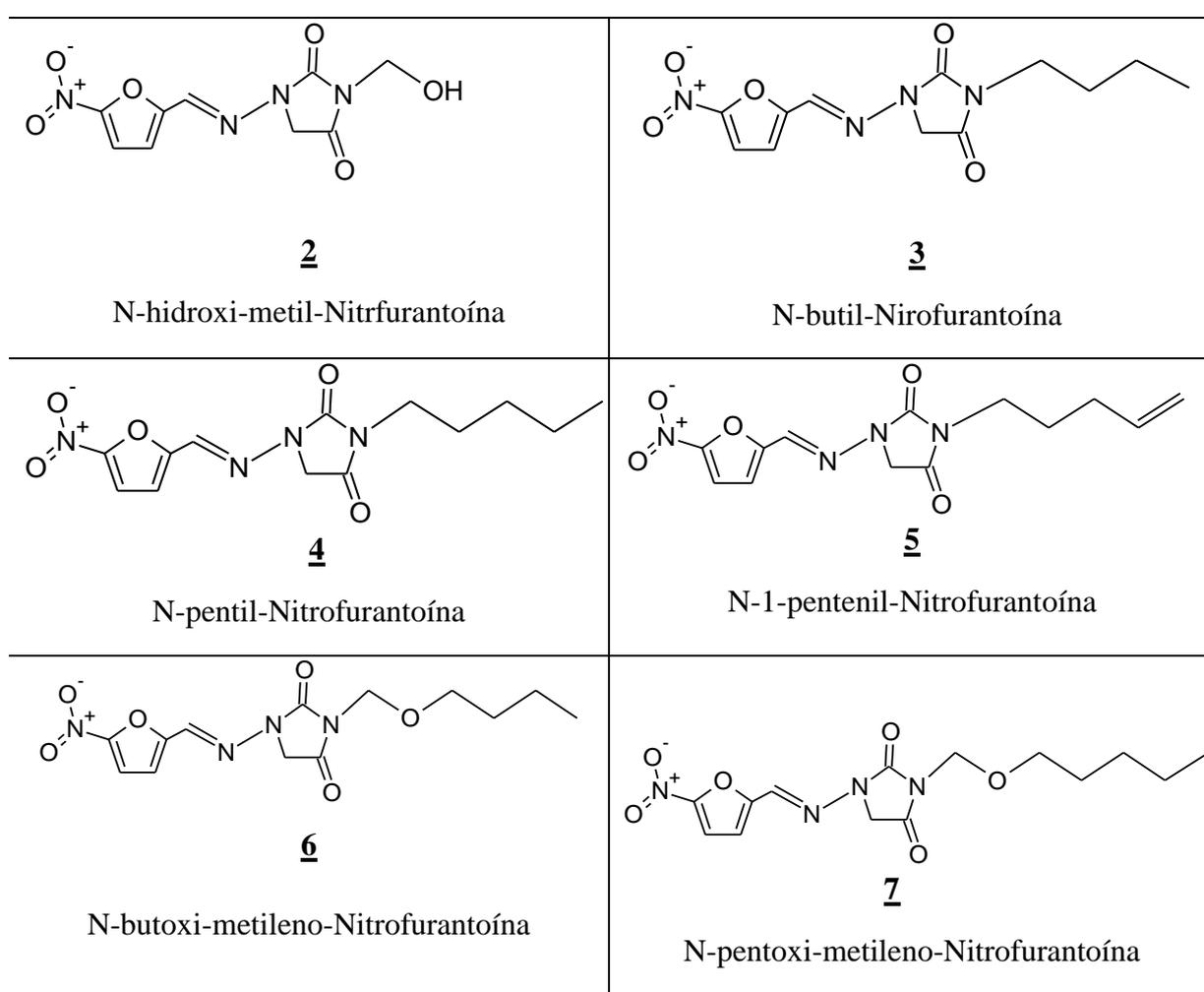
## **PARTE QUÍMICA**

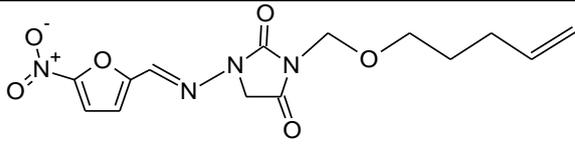
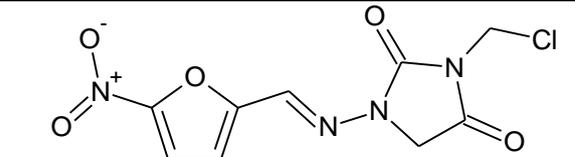
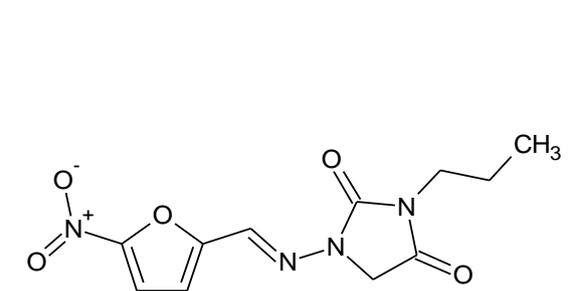
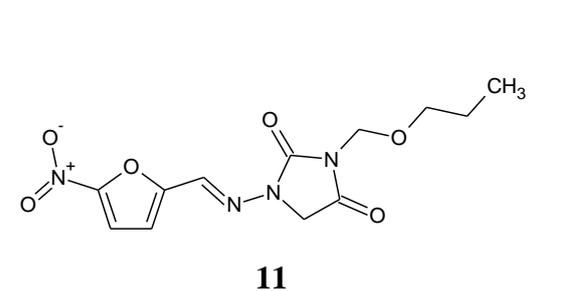
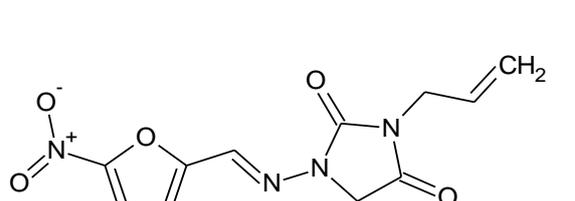
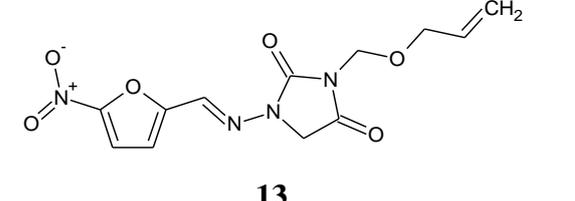
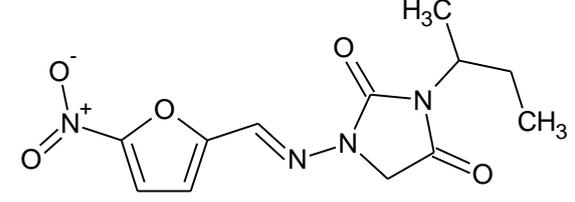
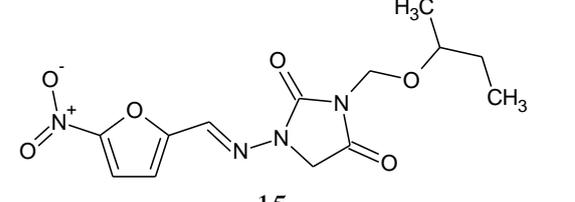
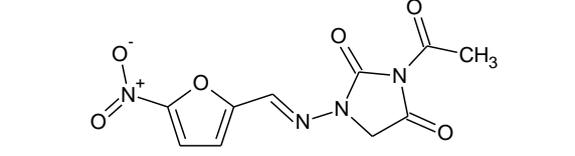
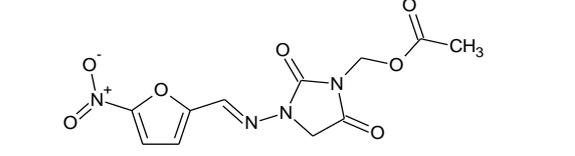
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

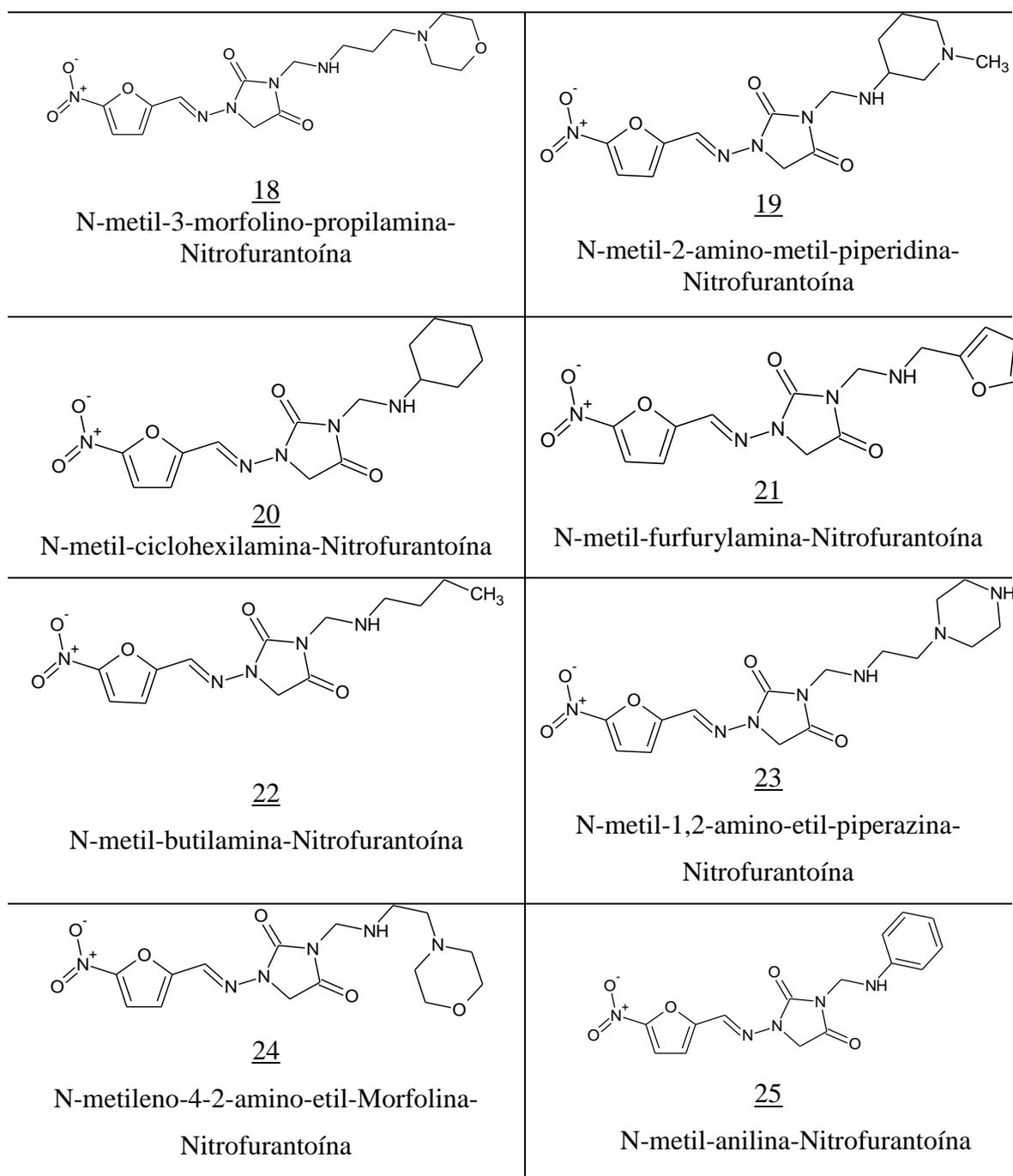
### 6.1 Estrutura dos derivados obtidos.

Os derivados foram obtidos através de uma metodologia simples, são reações baratas e com pouco tempo reacional. O principal problema enfrentado nesta reação foi à retirada do DMF, pois o mesmo após sucessivas extrações permanecia no meio reacional. Para os derivados aminados, os mesmos foram obtidos de forma satisfatória, Figura 19.

Figura 19. Estrutura dos derivados obtidos.



 <p style="text-align: center;"><b><u>8</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-1-pentenox-metileno-Nitrofurantoína</p>	 <p style="text-align: center;"><b><u>9</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-Cloro-metil-Nitrofurantoína</p>
 <p style="text-align: center;"><b><u>10</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-propil-Nitrofurantoína</p>	 <p style="text-align: center;"><b><u>11</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-Metil-propoxi-Nitrofurantoína</p>
 <p style="text-align: center;"><b><u>12</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-propenil-Nitrofurantoína</p>	 <p style="text-align: center;"><b><u>13</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-metil-propenox-Nitrofurantoína</p>
 <p style="text-align: center;"><b><u>14</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-2-butil-Nitrofurantoína</p>	 <p style="text-align: center;"><b><u>15</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-2-metil-butoxi-Nitrofurantoína</p>
 <p style="text-align: center;"><b><u>16</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-acetil-Nitrofurantoína</p>	 <p style="text-align: center;"><b><u>17</u></b></p> <p style="text-align: center;">N-metil-acetoxi-Nitrofurantoína</p>



Após a síntese dos derivados N-alquilados, eterificados e aminados da nitrofurantoína, Figura 19, foi iniciada a síntese de novos derivados utilizando anidridos, tais como; anidrido succínico, acético, ftálico e maléico. Entretanto, devido a instabilidade dos reagentes, obteve-se êxito apenas na obtenção do derivado a partir do anidrido acético.

Foi iniciada também a segunda etapa de síntese onde procuramos condensar a Nitrofurantoína com a semicarbazida e a tiosemicarbazida, para posteriores alquilações. Para esta etapa foi testada inicialmente a reação da Nitrofurantoína com o bromo acetaldeído-

dietil-acetal para posterior hidrólise, objetivando a obtenção de uma função aldeído, para favorecimento da condensação com a semicarbazida bem como com a tiossemicarbazida. No entanto, o resultado da hidrólise não foi satisfatório, pois ocorreu a degradação do composto, devido a quebra do anel ftalimídico.

## 6.2 Elucidação Estrutural

Os produtos, foram submetidos à elucidação estrutural em por RMN  $^1\text{H}$ , e IV, testes estes realizados no Departamento de Química Fundamental (DQF).

## 6.3 Análises de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ ):

De acordo com os dados obtidos nos espectros de RMN $^{-1}$ , dos compostos derivados da Nitrofurantoína, observam-se alguns picos que confirmam a estrutura molecular planejada para esses compostos.

A Nitrofurantoína possui um pico característico em torno de 11,48 ppm, que pela multiplicidade (Singleto) e deslocamento já citado, corresponde ao hidrogênio X, Figura 20. Este pico desaparece nos espectros dos compostos derivados da mesma, confirmando que a modificação ocorre no nitrogênio do anel imidazolínico.

Figura 20: Estrutura química da Nitrofurantoína com destaque no hidrogênio X. Espectro da Nitrofurantoína 1

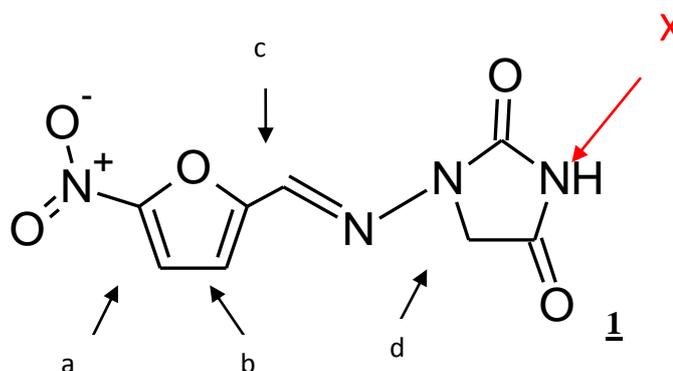
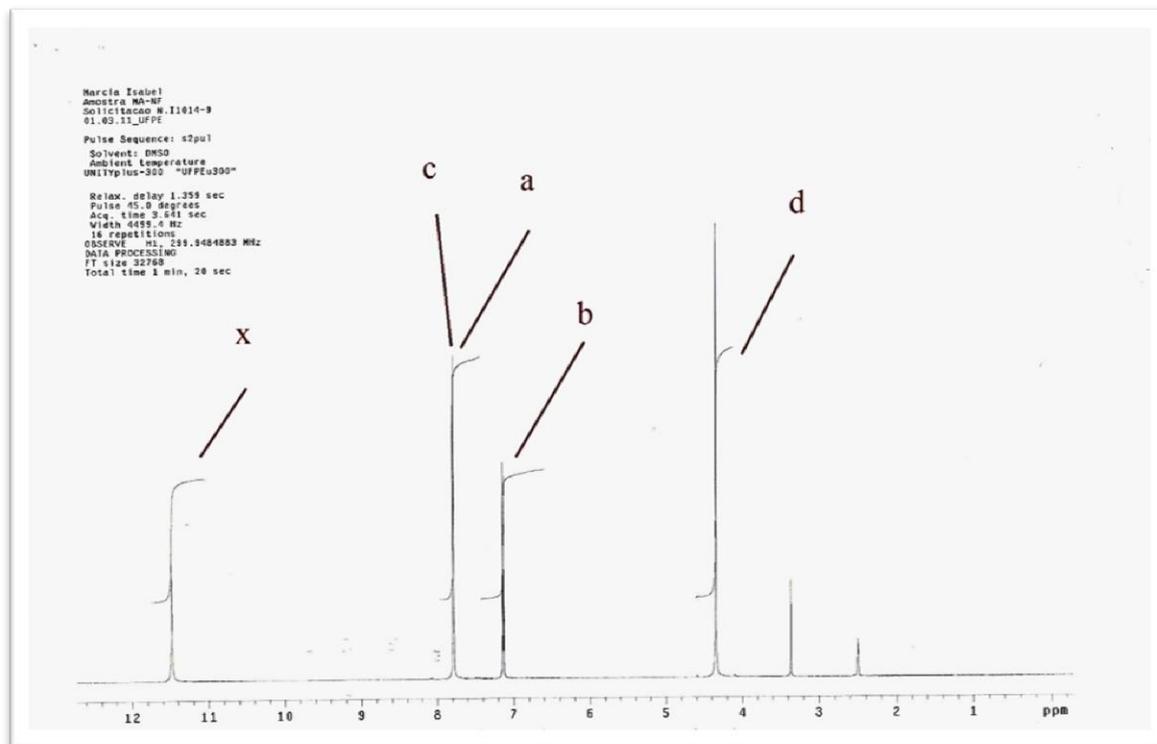


Figura 21: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da Nitrofurantoína 1.



Na região de 1 a 3 ppm no espectro da Nitrofurantoína, não existem picos de absorção. Porém nos espectros dos derivados aparecem picos que variam de 0,86 ppm a 2,60 ppm, picos estes que decorrem dos prótons existentes nas cadeias alquílicas introduzidas nas moléculas de Nitrofurantoína.

Figura 22: Estrutura química da N-propil-Nitrofurantoína.

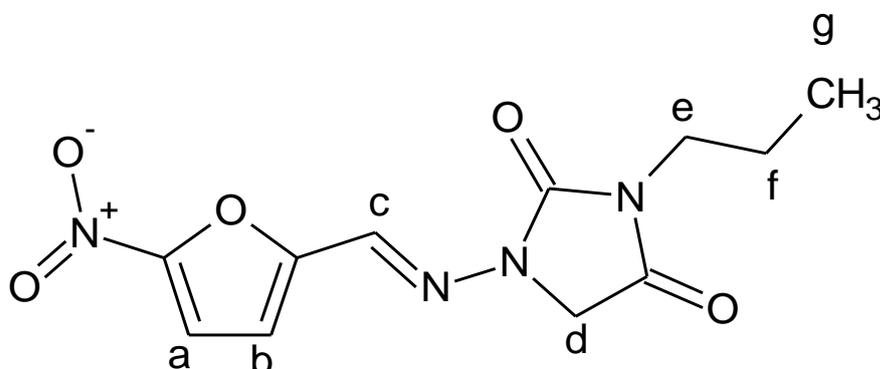
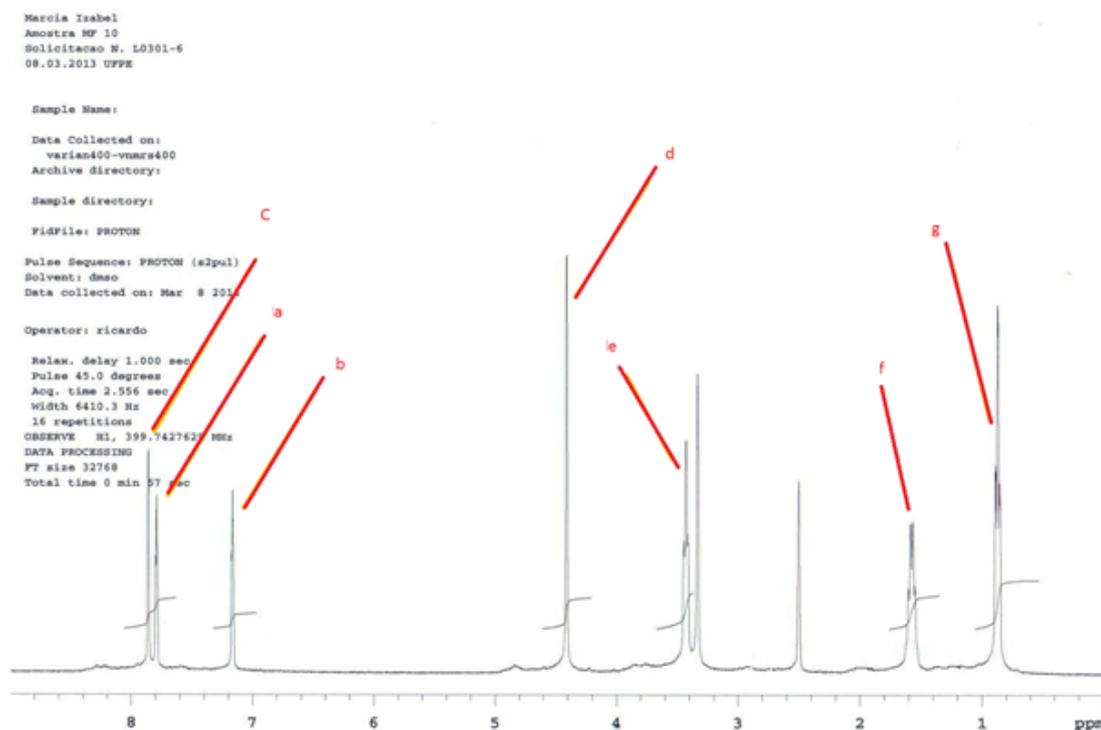


Figura 23: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da N-propil-Nitrofurantoína.



Para o espectro da substância **10**, podemos verificar a ocorrência da modificação estrutural devido ao desaparecimento do hidrogênio **X**, presente na Nitrofurantoína e o aparecimento de picos na região de 0.871ppm à 3.429 ppm, referentes aos hidrogênios do grupo propil adicionado a cadeia.

Figura 24: Estrutura química da N-Metileno-anilina-Nitrofurantoína.

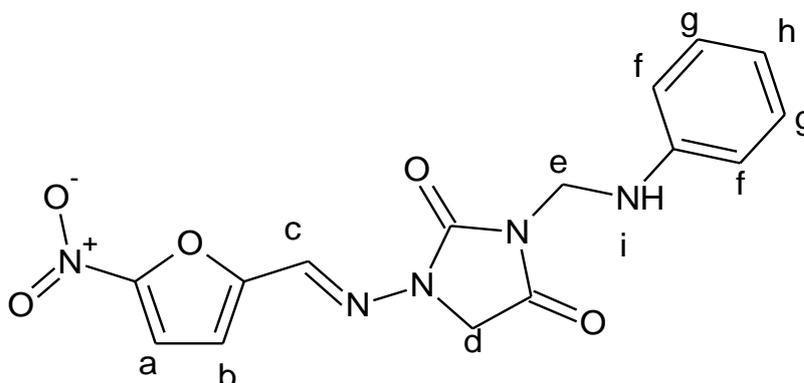
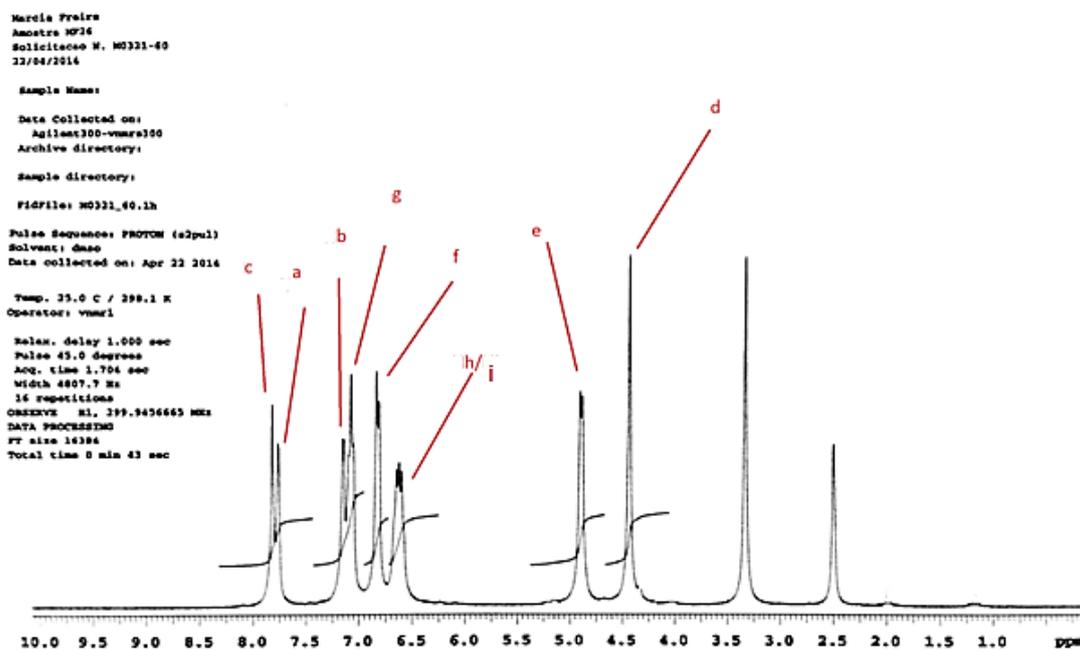


Figura 25: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da N- Metileno-Anilina.



A modificação na estrutura **26** também foi confirmada, com o desaparecimento do hidrogênio Hx, bem como o aparecimento de picos na região de 6.634ppm à 7.038 ppm, referentes a inserção da anilina a estrutura da nitrofurantoína.

#### 6.4 Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV)

Após a análise dos espectros de Infravermelho, algumas bandas de absorção são comuns a todos os compostos, como as bandas que comprovam a presença de carbonilas acopladas, carbonilas estas que estão presentes no anel imidazolínico, além de bandas que são características da presença do grupamento nitro ligado a anel aromático. As bandas de absorção que configuram as diferentes características estruturais dos compostos, devido as modificações ocorridas para a obtenção dos mesmos, podem ser melhores observadas ao analisar os espectros a seguir.

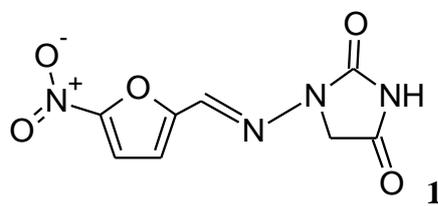
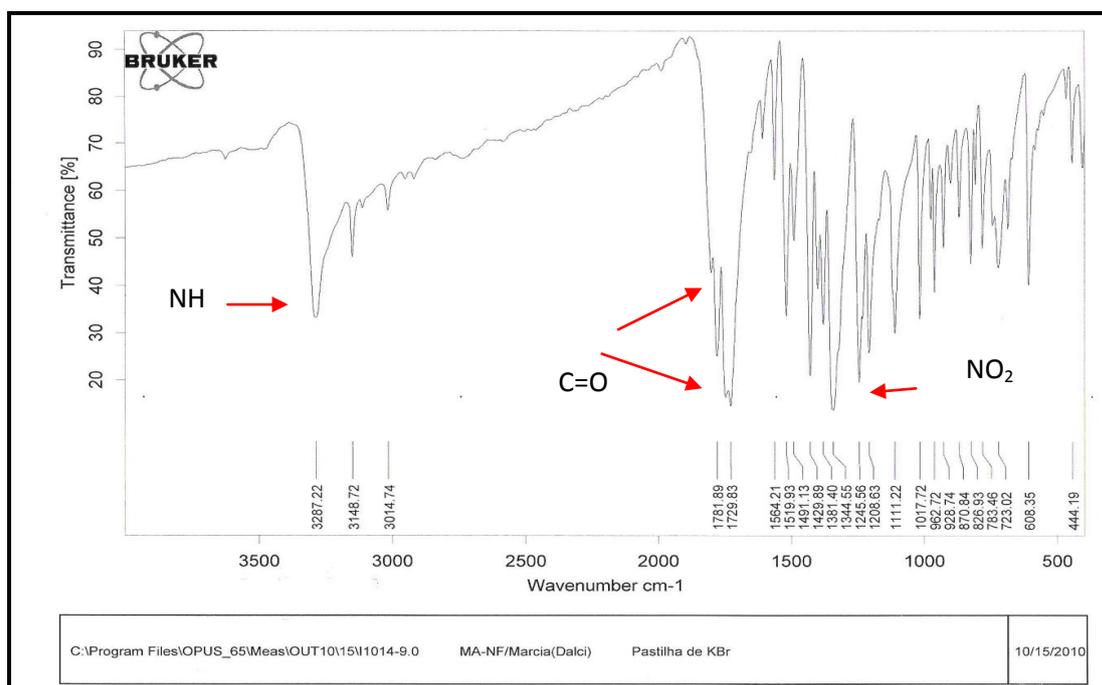
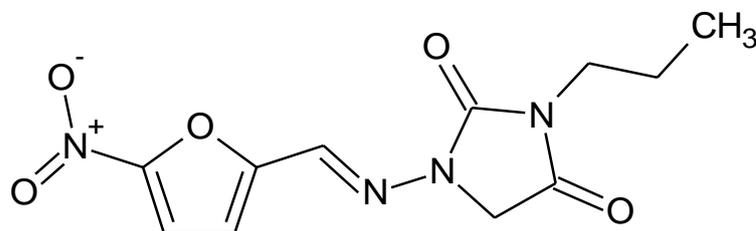


Figura 26: Espectro de IV da Nitrofurantoína



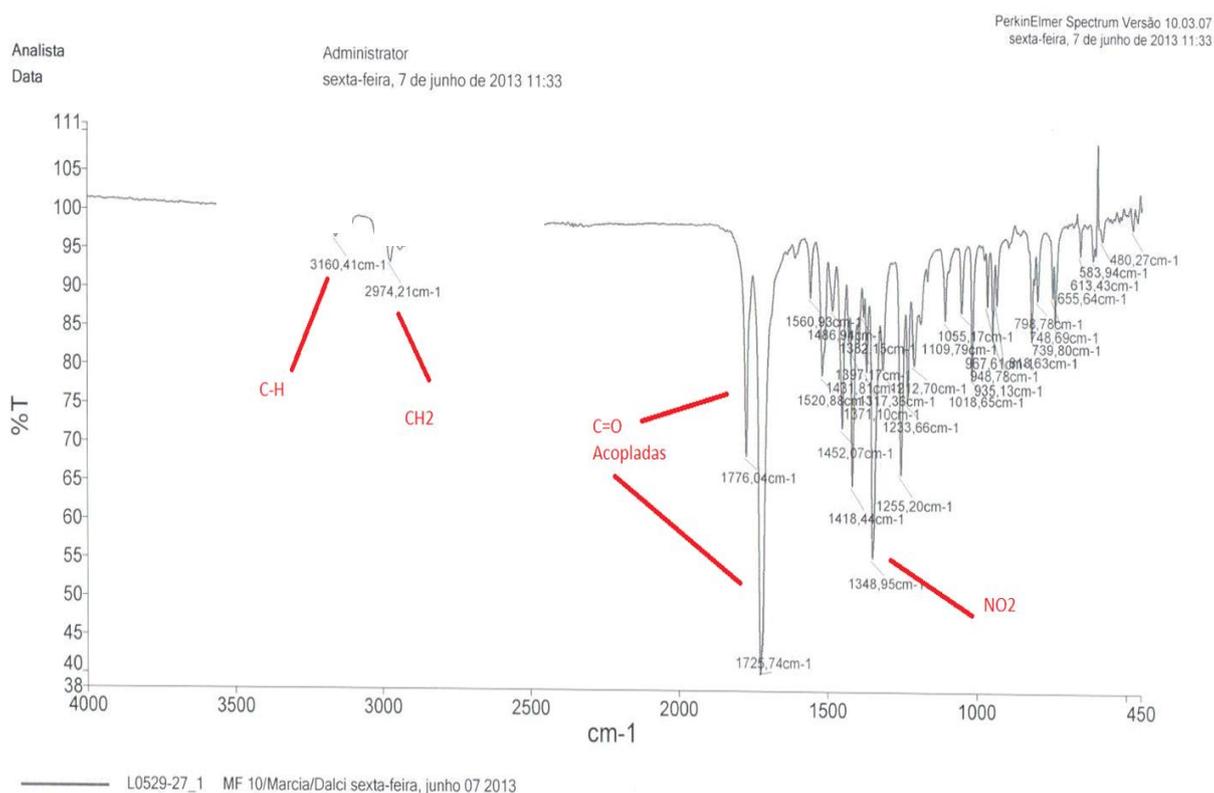
A principal banda que diferencia a Nitrofurantoína dos demais compostos é observada em  $3287.22 \text{ cm}^{-1}$ , referente ao N-H presente na nitrofurantoína, essa banda está

ausente nos derivados da mesma, confirmando a modificação ocorrida no nitrogênio do anel imidazólico, como pode ser observado no espectro do derivado **10**.

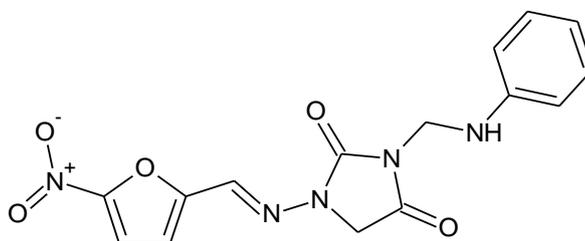


**10**

Figura 27: Espectro de IV da N- propil-Nitrofurantoína **10**.

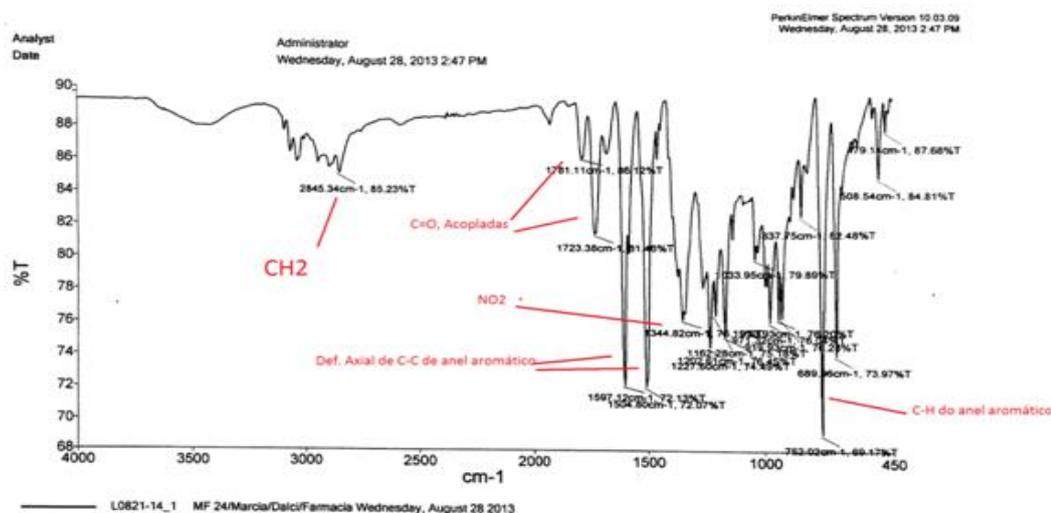


Para o espectro da substância **10**, podemos observar o aparecimento de bandas de deformação axial C-H e CH<sub>2</sub>, (3160.41/2974.21 cm<sup>-1</sup>), respectivamente, confirmando desta forma a modificação estrutural.



### 25

Figura 28: Espectro de IV da N-Metileno-Anilina-Nitrofurantoína 25.



Para a substância **25**, confirmamos a modificação pela presença de bandas na região de 2845.34 cm<sup>-1</sup>, referente a deformação axial de CH<sub>2</sub>, bem como o aparecimento de bandas em 1597 e 1504.80 cm<sup>-1</sup>, típicas de deformação axial c-c do anel aromático.

# *RESULTADO E DISCUSSÃO*

## **PARTE BIOLÓGICA**

## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 Resultado e Discussão da Atividade Antimicrobiana.

Para os compostos sintetizados, obtemos os seguintes resultados para o método de difusão em discos de papel, Tabela 01.

Tabela 01. Determinação da ZMI, dos derivados sintetizados.

Cepas Substâncias	02	86	224	396	416	1007
1	36	38	31	21	14	0
2	41	41	33	24	17	21
3	21	35	0	0	12	19
4	19	31	12	0	0	17
5	31	35	14	13	13	22
6	25	35	14	12	16	22
7	23	34	12	13	15	22
8	38	36	14	11	14	17
9	15	20	30	0	0	19
10	20	21	0	0	0	0
11	33	34	25	19	0	25
12	27	28	0	0	0	0
13	39	36	26	18	11	23
14	29	27	19	10	0	0
15	15	18	14	0	0	0
16	33	27	29	21	0	0
17	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0
19	25	21	16	16	11	10
20	0	0	0	0	0	0
21	20	17	12	12	10	17
22	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0

Tabela 01. Determinação da ZMI, dos derivados sintetizados. 02- *Staphylococcus aureus*, 86- *Bacillus subtilis*, 224- *Escherichia coli*, 396- *Klebsiela pneumoniae*, 416- *Pseudomonas aeruginosa*, 1007- *Candida albicans*.(-) Não testado.

Ao analisar a tabela 1, observa-se que os compostos **17**, **18**, **20**, **22**, **23**, **24**, **25**, não apresentaram atividade antimicrobiana para as cepas testadas, curiosamente os compostos **18**, **20**, **22-25**, apresentam como principal semelhança estrutural o fato de possuírem uma amina secundária resultante da substituição empregada, o que pode estar intimamente

relacionado a este resultado. O composto **17** que também não apresentou atividade antimicrobiana e possui diferentemente na sua estrutura um grupamento éster.

Por outro lado, compostos como **19**, **21**, apesar de também possuírem amina secundária, apresentaram atividade, o fato é que estas últimas apresentam outros grupos funcionais em seus radicais que podem ser os responsáveis pela ação observada, como amina terciária na substância **19** e presença do furano para o **21**. Para os demais compostos, tomando como padrões a substância **1** (nitrofurantoína) e substância **2** (nifurtoíol), observa-se que os compostos sintetizados mostraram-se ativos.

Com relação aos compostos alquilados **3**, **4**, **5**, **9**, **10**, **12**, **14**, foi observado que as substâncias **3** e **4**, que apresentam um radical butil e pentil respectivamente, mostraram-se ativas para bactérias Gram positivas 02- *Staphylococcus aureus* e 86 *Bacillus subtilis*, além do fungo 1007- *Candida albicans*, porém essa atividade foi inferior ao protótipo **1**. O mesmo ocorre para a substância **5** que possui um radical pentenil, porém ela também apresentou atividade para a bactéria álcool-ácido resistente 71- *Mycobacterium smegmatis*, porém menor que o padrão. Provavelmente a presença da dupla ligação na estrutura resultou no diferente resultado.

O composto **14** que apresenta um radical sec-butyl, foi ativo para as cepas, 02, 224, 396 e 86, porém esta última superior ao padrão. Os compostos **10** e **12**, que apresentam radicais propil e propenil respectivamente, foram ativos para a 02 e 86, com atividade inferior ao padrão. A substância **16** apresentou halos superiores aos halos apresentados pelo protótipo, frente às cepas 86 e 224.

Para o fungo *Candida albicans*, apenas as substâncias **11**, **13**, **19** e **21**, apresentaram atividade diferentemente da nitrofurantoína que não apresenta ação para o mesmo.

Para os compostos eterificados **6**, **7**, **8**, **11**, **13**, **15** e **17**, se pode observar os seguintes resultados; o derivado **17** que apresenta o radical acetoxi, não foi ativo, possivelmente por sofrer hidrólise no local de ação. Para o composto **15** que apresenta radical sec-butoxi, o mesmo foi ativo para 02, 86, e 224 porém com halos inferiores aos protótipo. O composto **11** que apresenta o radical propoxi, foi ativo frente a 02, 86, 224, 396 e 1007, com halos inferiores ao protótipo. Ao ser comparado com o composto **3** que apresenta o radical propil, observa-se que seus halos são superiores, sugerindo que a eterificação aumentou a atividade para este composto.

As substâncias **6**, **7**, **8** e **13**, foram os mais promissores, onde a substância **13** com radical propenox foi ativa para todas as cepas testadas, com destaque para sua ação frente as cepas 02 e 86, halos superiores a da nitrofurantoína **1**. As substâncias **6**, **7** e **8**, que apresentam radicais butox, pentox e pentenox respectivamente, foram ativas para todos os microorganismos testados, onde o melhor resultado foi frente a cepa 71-*Mycobacterium smegmatis* com halos de até 55 cm, sendo assim superiores aos protótipos **1** e **2** que apresentaram halos de 29 cm e 34 cm respectivamente. A substância **8** também apresentou halo superior a nitrofurantoína frente ao 02- *Staphylococcus aureus*.

Ao fazer um comparativo entre os derivados que foram alquilados e seus respectivos eterificados, com exceção dos compostos **14** e **15** onde o composto alquilado **14**, teve ação superior ao eterificado, a eterificação aumentou consideravelmente a ação dos compostos eterificados. Sugerindo que a presença do espaçador metileno e a função éter, favorece a ação dos compostos uma vez que dentre todos os derivados sintetizados na série os éteres foram os mais ativos.

Os compostos que apresentaram halos de inibição superior a 25 mm, foram submetidos a determinação do CMI (Concentração Mínima Inibitória) e CMB (Concentração Mínima Bactericida), paras as cepas onde a atividade foi mais pronunciada.

Tabela 2. Determinação da CMI e CMB dos compostos (em µg/mL).

Amostras	Linhagens									
	02		86		224		396		1007	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
1	1.35	3.75	3.75	7.5	-	-	-	-	-	-
2	3.75	7.5	7.5	15	-	-	-	-	-	-
3	7.5	15	3.75	7.5	-	-	-	-	-	-
4	7.5	15	1.35	3.75	-	-	-	-	-	-
5	7.5	15	1.35	3.75	-	-	-	-	-	-
6	7.5	15	3.75	7.5	-	-	-	-	-	-
7	0.7	3.75	3.75	0.7	-	-	-	-	-	-
8	7.5	15	3.75	7.5	-	-	-	-	-	-
11	-	-	7.5	15	3.75	7.5	-	-	15	30
12	7.5	15	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	7.5	15	3.75	7.5	7.5	15	-	-
14	-	-	-	-	30	60	-	-	-	-
16	-	-	3.75	7.5	1.8	3.75	3.75	7.5	-	-
19	-	-	15	30	-	-	-	-	3.75	7.5

Tabela 2. Determinação da CMI e CMB dos compostos (em µg/mL). 02- *Staphylococcus aureus*, 86- *Bacillus subtilis*, 224- *Escherichia coli*, 396- *Klebsiela pneumoniae*, 1007- *Candida albicans*.(-) Não testado.

Na tabela 2, se pode observar o resultado da CMI e CMB para os derivados que apresentaram halos de inibição maiores que 25cm.

Para o 02- *Staphylococcus aureus* a substância 7 demonstrou melhor resultado, apresentando CMI e CMB, menor que o protótipo 2. Para o 86-*Bacillus subtilis*, os derivados 4, 5, 6 e 7 apresentaram bons resultados, com CMI e CMB menores que os padrões, as substâncias 3, 11, 13, 16 com CMI e CMB iguais aos seus respectivos protótipos.

## 7.2 Resultado e Discussão da Atividade Antiproliferativa.

Ao analisar as moléculas sintetizadas desta série, verifica-se na tabela 3, que os derivados da Nitrofurantoína apresentam atividade antitumoral.

Tabela 3- Percentual de inibição do crescimento celular (IC%).

Resultados da Atividade Antiproliferativa e Citotóxica										
	RAW	SD	hep-2	SD	NCIH292	SD	MCF-7	SD	HL-60	SD
<u>1</u>	84,4	4,0	90,1	4,3	76,4	1,1	58,3	0,4	95,6	1,4
<u>2</u>	81,1	6,1	85,8	6,8	16,3	3,6	65,1	2,7	94,1	3,4
<u>3</u>	97,2	1,3	86,3	2,8	78,4	3,3	72,9	0,8	92,8	1,5
<u>4</u>	99,0	0,3	88,9	3,6	74,6	2,7	70,4	1	95,0	2,2
<u>5</u>	98,8	0,4	63,2	3,7	50,2	2,9	86,4	2,9	92,7	1,3
<u>6</u>	97,6	0,7	46,2	0,0	67,5	1,6	78,6	2,1	73,7	5,8
<u>7</u>	98,8	0,9	62,0	6,0	78,6	0,0	76,8	0,0	90,1	3,0
<u>8</u>	96,6	1,2	11,1	0,0	13,6	0,0	22,1	0,0	11,4	0,0
<u>9</u>	nt	nt	nt	nt	100,0	0,0	100,0	0	100	0
<u>10</u>	97,8	0,7	60,1	7,0	55,5	0,0	70,0	1,6	90,8	1,9
<u>11</u>	48,6	3,1	38,4	6,0	37,5	0,0	52,9	7	40,2	0,3
<u>12</u>	19,9	0,0	18,1	1,3	8,3	3,6	21,3	0,0	87,3	4,9
<u>13</u>	97,9	0,8	23,3	0,0	63,1	0,0	48,9	3,5	36,9	0
<u>14</u>	88,6	5,7	80,6	3,2	35,4	3,6	59,8	7,3	58,1	1,6
<u>15</u>	93,3	4,6	81,9	6,4	5,8	3,0	80,4	8,4	73,7	1,4
<u>16</u>	95,5	2,4	81,4	1,6	63,5	11,3	65,1	3,6	97,8	0,2
<u>17</u>	17,1	0,4	80,6	3,2	26,9	0,3	10,6	0,8	14,2	0,0
<u>18</u>	56,2	4,4	75,1	1,0	33,9	2,1	48,9	7,8	62,5	2,7
<u>19</u>	48,1	2,2	37,6	0,8	10,2	2,6	23,7	2,1	44,9	3
<u>20</u>	55,1	3,1	17,2	0,0	39,5	3,4	38,9	0,0	94,3	1,6
<u>21</u>	98,4	0,7	62,0	5,8	34,6	3,6	46,3	0,6	46,3	1
<u>22</u>	2,2	0,0	87,9	0,6	43,8	0,0	12,5	0,0	0,0	0
<u>23</u>	35,7	2,8	43,1	2,0	68,5	2,6	51,1	0	10,5	1,9
<u>24</u>	62,5	4,8	49,1	3,7	20,0	7,7	31,8	1,5	35,7	4
<u>25</u>	66,9	5,4	89,5	6,6	67,9	2,0	83,4	3,7	92,1	0,8
<u>DX</u>	96,51	0,81	79,39	2,65	94,15	2,99	74,77	2,09	92,01	2,63

**Tabela 3-** Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL. DX= Doxorubicina (Padrão).

Os compostos obtidos nesse trabalho, sofreram três tipos de modificações; alquilação, eterificação e aminação, resultando em três grupos distintos de farmacos. Tomando por base essa diferença estrutural dos compostos, os resultados foram analisados primeiro fazendo o comparativo entre as moléculas que possuem características estruturais semelhantes e posteriormente os melhores de cada grupo foram comparados de forma geral levando em consideração suas diferenças estruturais.

Os primeiros derivados obtidos foram os alquilados (**2, 3, 4, 5, 9, 10, 12 e 14**), e as células da linhagem HL 60 foram as mais sensíveis a ação dos mesmos, onde todos os compostos alquilados demonstraram atividade anti proliferativa, seja de forma moderada ou com muita atividade biológica, com percentuais de inibição variando de 58,1% para a substância **14** até o valor de 100% para a substância **9**.

Com relação a linhagem NCIH 292, alguns resultados merecem destaque, como os dos compostos (**3, 4, 7**), onde o percentual de inibição foram de 78,4%, 74,6%, 78,6%, respectivamente, para a substância **9**, esses valores foram ainda melhores, onde o mesmo apresentou cerca de 100% de inibição, valores que superaram o percentual do padrão Doxorubicina que possui um percentual de 94,15%.

Outra linhagem submetida aos ensaios a MCF-7 também foi sensível aos derivados, onde compostos como o **3, 4, 9 e 10**, apresentaram muita atividade, com percentuais que variavam de 70% à 100%, onde o padrão utilizado Doxorubicina apresenta cerca de 74,77 de inibição. As substâncias **14** e **16**, também apresentaram atividade superior ao padrão se tratando da linhagem Hep-2, onde as mesmas obtiveram cerca de 81,4% e 80,6% respectivamente, enquanto o padrão apresentou 79,34%.

Ao fazer a mesma comparação com os derivados eterificados **6, 7, 8, 11, 13, 15 e 17**, observa-se que para a linhagem HL60, os derivados **6, 7 e 15** foram os que tiveram os melhores percentuais, 78,6%, 76,8% e 80,4% respectivamente, onde a droga padrão apresentou cerca de 74,77%. A substância **7** também apresentou inibição de 78,6% para NCI-292, com relação a Hep-2 se destaca a substância **15** com inibição de 81,9%, superior ao padrão com 79,39% de inibição.

Partindo para o grupo dos aminados (**18-25**), nota-se uma diminuição significativa na atividade antitumoral onde os valores obtidos estão na faixa de 75,1% da substância **8** para a Hep-2, de 94,3% para a HL 60 da substância **20**, cerca de 87,9% da substância **22** para a

Hep-2. Merecido destaque para a substância **25** que apresentou atividade para três linhagens diferentes (89,5%, 83,4% e 92,1%) para as linhagens Hep-2, MCF-7e HL-60 respectivamente.

Ao fazer uma análise geral dos três grupos destacam-se pela atividade antiproliferativa as seguintes substâncias; **3, 4, 7, 9, 12 e 25**, e dentre essas as que apresentam menor toxicidade são a **12** e **25** com percentual de inibição para a RAW de 19,9% e 66,9% respectivamente, valores estes menores que o do padrão para a mesma célula que é de 96,51%. Os compostos que apresentaram melhor Atividade foram submetidos à análise do percentual do crescimento celular (IC<sub>50</sub>).

Tabela 4. Percenual de inibição de 50% do crescimento celular.

	RAW	Hep-2	NCIH-292	MCF-7	HL60
1	12,8 10.9 - 14.9	5.8 4.7 - 7.1	<b>0.9</b> 0.6 - 1.2	não	7,9 6.4 - 9.8
3	<b>2,2</b> 1.9 - 2.6	8.3 7.6 - 9.2	8.2 7.3 - 9.3	<b>1.98</b> 1.7 - 2.9	<b>2.4</b> 1.9 - 2.9
4	<b>3.4</b> 3.0 - 3.8	16.5 14.9 - 18.2	4.5 3.4 - 6.1	<b>1.3</b> 1.0 - 1.6	6.0 5.2 - 6.9
6	13.1 11.6 - 14.8	não	não	11.3 9.1 - 14.1	14.3 12.6 - 16.2
7	<b>F</b>	não	19.0 16.3 - 22.2	7.4 6.5 - 8.3	12.3 10.4 - 14.5
10	7.2 6.29 - 8.2	não	não	<b>3.4</b> 2.7 - 4.2	4.8 3.9 - 5.8
15	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	14.6 12.1 - 17.6	4,3 3.3 - 5.7
25	não	12.5 10.5 - 14.9	6,7 5.4 - 8.3	17.0 14.8 - 19.7	7,7 5.9 - 9.9

Tabela 4. Percenual de inibição de 50% do crescimento celular.

Após o cálculo do IC<sub>50</sub>, o resultado foi utilizado para determinação do índice de seletividade. O índice de seletividade pode indicar a seletividade de um composto entre uma linhagem neoplásica e uma normal, indicando o potencial uso deste composto em testes

clínicos. Assim, neste estudo, o IS corresponde a divisão entre o valor da IC<sub>50</sub> de cada composto-teste na linhagem de células normais RAW e o valor da IC<sub>50</sub> de cada composto na linhagem de células neoplásicas. (IS=IC<sub>50</sub> RAW / IC<sub>50</sub> células neoplásicas). Foi considerado significativo um valor de IS maior ou igual a 2,0, ou seja, este valor significa que o composto é duas vezes mais ativo na linhagem de células neoplásicas do que em células normais (RAW) (HOUGHTON *et al.*, 2007).

Tabela 5. Índice de Seletividade (IS).

Índice de Seletividade (IS)				
	HEP-2	NCIH-292	MCF-7	HL-60
1	2,20	14,2	-	1,62
3	0,26	0,26	1,11	0,91
4	0,20	0,75	1,7	2,61
6	-	-	1,15	0,91
10	-	-	2,11	1,50
doxorubicina	1	3	3	5

Tabela 5. Índice de Seletividade (IS).

Verifica-se que compostos **1**, **4** e **10** apresentaram um índice de seletividade significativo (Tabela 5), isto é, um valor maior ou igual a 2,0, o que significa que o composto é duas ou mais vezes mais ativo na linhagem de células neoplásicas do que em células normais (RAW) (HOUGHTON *et al.*, 2007).

A atividade antitumoral apresentada pelos derivados corrobora com as pesquisas que afirmam a presença de atividade antitumoral em nitrocompostos. Essa atividade deve-se provavelmente a redução ocorrida no radical nitro, que resulta em espécies radicalares ativadas *in situ*, as quais por sua vez, induzem à formação de radical hidroxila, que pode levar a modificações do DNA, o que leva a inibição da síntese de ácidos nucléicos e a quebra de fita simples e duplas do DNA. Segundo Reisdorfer *et al.*, a maioria dos nitrocompostos com ação antineoplásica, antiparasitária e antibacteriana apresentam o processo de biorredução enzimática do grupo nitro como provável mecanismo de ação.

De acordo com dados da literatura é consenso que o mecanismo de ação desta classe de compostos está ligado ao processo de redução *in vivo* do grupo nitro e à subsequente interação dos produtos formados, a partir desta reação com biomoléculas essenciais de bactérias, fungos e parasitas (TOCHER; 1997).

# *Parte Experimental*

## 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1 Materiais e Métodos.

#### 8.1.1 Cromatografias.

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram conduzidas em placas de Sílica Gel 60 F254 da MERCK de 0,25 mm de espessura. A leitura das mesmas foi realizada através de radiação de ultravioleta (UV) no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 254 nm.

#### 8.1.2 Pontos de Fusão.

Os pontos de fusão foram medidos no equipamento digital FISATON MOD. 430D.

#### 8.1.3 Espectroscopia de IV, RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ .

Os espectros de IV foram obtidos em espectrofotômetro BRUKER IFS-66, em discos de KBr. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ , foram obtidos em um equipamento UNITYplus-300 MHz-VARIAN e UNITYplus-400 MHz-VARIAN, utilizando-se DMSO- $d_6$  como solvente. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram reportados em ppm, utilizando tetrametilsilano como referência interna, as constantes de acoplamento foram indicadas em Hz.

#### *8.1.4 Equipamentos.*

- Bomba de vácuo TECNAL TE 058;
- Estufa;
- Evaporador rotativo;
- Placas de agitação e aquecimento FISOTON 752 A;
- Vidraria geral;
- Capela com exaustão;
- Balança analítica BEL 220;
- Balança semi-analítica BEL Marc 500 C;
- Espectrofotômetro (Biorad 3550);
- Fusiômetro FISATOM MOD. 430 D;
- Freezer;
- Espátulas e pinças metálicas;

### 8.1.5 Reagentes e Solventes.

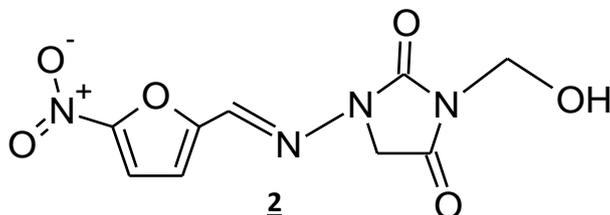
- Nitrofurantoína;
- Formol 35%;
- Carbonato de potássio
- Bromo-Propano
- 2- Bromo -Butano
- Bromo-Acetaldeído
- Anidrido Acético
- Cloreto de alila
- Acetato de Etila
- 3- Morfolino-Propilamina
- 2-Amino-Metil-Piperidina
- Ciclohexilamina
- Dimetil-formamida (DMF)
- Dimetil-sufóxido (DMSO)
- Água Destilada
- Metanol
- Meio de cultura Muller-Hinton
- Timidina Tritiada
- Soro Bovino Fetal
- Furfurylamina
- Butilamina
- 1,2-Amino-Etil-Piperazina
- 4-Amino-metil-piridina
- 4-2-Amino-etil-Morfolina
- Anilina
- Epicloridrina
- Semicarbazida
- Tiosemicarbazida
- HCl
- N-Hexano

# *Procedimentos Experimentais*

## 9 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 9.1 Síntese e Caracterização estrutural

#### Composto 2: N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína



Em um balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,001 mols do reagente Nitrofurantoína, adquirido comercialmente. Em seguida acrescentou-se cerca de 5 ml do Aldeído Fórmico a 35%. Esta mistura foi submetida a aquecimento de 100° C sob agitação durante 1 hora. Após esse tempo a reação terminou e foram realizadas três extrações com Butanol/água. Em seguida a fase orgânica foi evaporada e para a completa purificação foi realizada a separação por coluna cromatográfica, após a separação o produto extraído foi evaporado obtendo-se cristais amarelos.

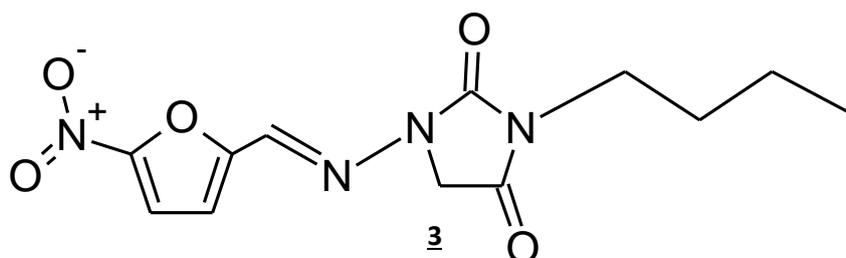
#### Caracterização

- F.M: C<sub>9</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>H<sub>8</sub>
- P.M: 268g
- Sólido Amarelo Claro; Rendimento: 81, 25% Rf:0,18 P.F: 191-193°C
- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Dubleto	4.062	2H	6,39Hz
Singleto	4.460	2H	-
Tripleto	6.542	1H	6.79Hz
Dubleto	7.199	1H	3.99Hz
Dubleto	7.785	1H	3.99Hz
Singleto	7.867	1H	-

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): (OH:  $3526.68\text{cm}^{-1}$ ) (C=O,  $1783.23\text{cm}^{-1}/1728.93\text{cm}^{-1}$ ); ( $\text{NO}_2$ ,  $1352.28\text{cm}^{-1}$ ); (C-N de  $\text{NO}_2$ ,  $809.49\text{cm}^{-1}$ ).

### Composto 3: N-butil-Nitrofurantoína.



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00068 mols do reagente Nitrofurantoína **1**. Em seguida foi adicionado 0,00072 mols do reagente Bromo butano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de  $6^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido à permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de cristais marron claro.

### Caracterização:

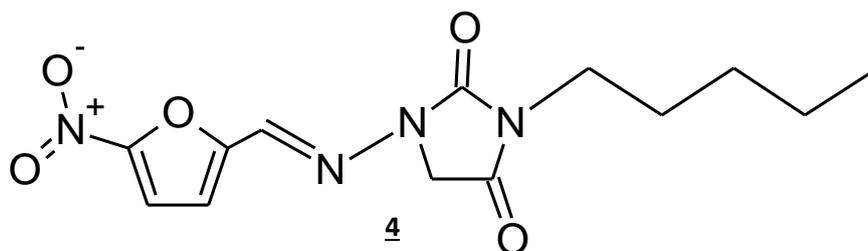
- F.M:  $\text{C}_{12}\text{N}_4\text{O}_5\text{H}_{14}$
- P.M: 294g
- Sólido Marron Claro; Rendimento: 60%; Rf: 0,78 (7:3 Acetato/Hexano)
- P.F:  $172-174^\circ\text{C}$

- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.892	3	7.19 Hz
Multiplete	1.298	2	-
Multiplete	1.540	2	-
Tripleto	3.466	2	6.99Hz
Singleto	4.407	2	-
Tripleto	7.164	1	1.99Hz
Tripleto	7.785	1	1.99Hz
Singleto	7.858	1	-

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O, 1775.52cm<sup>-1</sup>/1721.41cm<sup>-1</sup>); (NO<sub>2</sub>, 1347.50cm<sup>-1</sup>); (C-N de NO<sub>2</sub>, 814.92cm<sup>-1</sup>).

#### Substância 4: N-pentil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00068 mols do reagente Nitrofurantoína. Em seguida foi adicionado 0,00072 mols do reagente Bromo pentano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com

acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido à permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de cristais marron escuro.

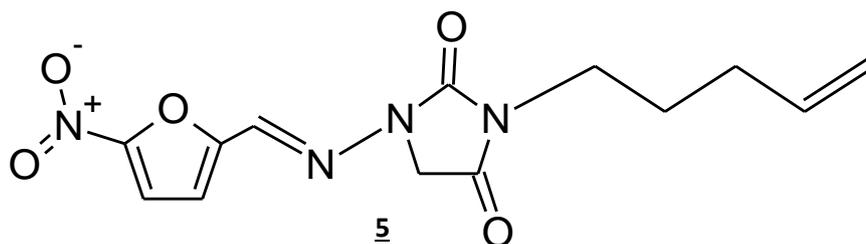
#### Caracterização:

- **F.M:**  $C_{13}N_4O_5H_{18}$
- **P.M:** 308g
- Sólido amarelo Claro; Rendimento: 65%; Rf: 0,73 (7:3 Acetato/Hexano)
- P.F: 150-153°C
- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.864	3	6.79 Hz
Dubleto	1.293	4	13.59Hz
Tripleto	1.556	2	6.39Hz
Singleto	4.412	2	-
Dubleto	7.168	1	3.19Hz
Tripleto	3.455	2	6.39Hz
Singleto	7.869	1	-
Singleto	7.783	1	-

Bandas do IV( $Cm^{-1}$ ): (C=O,  $1773.36cm^{-1}/1765.8cm^{-1}$ ); (NO<sub>2</sub>,  $1369.98 cm^{-1}$ ); (C-N de NO<sub>2</sub>,  $825.06 cm^{-1}$ ); (C-N,  $743.54$ ).

### Substância 5 : N-1-pentenil-Nitrofurantoína



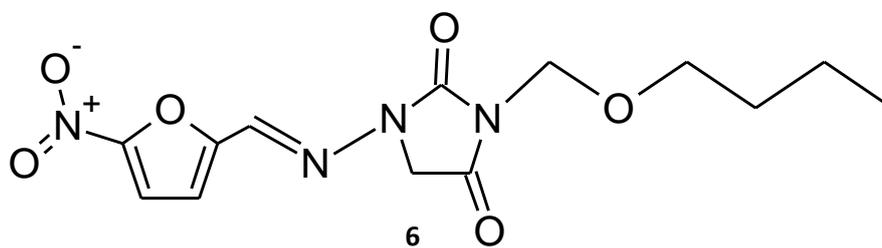
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00002 mmols do reagente Nitrofurantoína. Em seguida foi adicionado 0,00014 mmols do reagente Bromo penteno, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o término da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido a permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de cristais amarelo claro.

#### Caracterização

- **F.M:** C<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>H<sub>14</sub>
- **P.M:** 306g
- Sólido Amarelo escuro; Rendimento: 77.82%; Rf: 0.80 (7:3Acetato/Hexano)
- P.F: 140-145°C
- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Quarteto	1.640	2H	14,69;7.49 Hz
Multiplete	2.036	2H	-
Triplete	3.471	2H	13.79;6.89Hz
Singleto	4.396	2H	-
Multiplete	5.015	2H	-
Multiplete	5.810	1H	-
Dubleto	7.167	1H	3.89Hz
Dubleto	7.796	1H	3.89Hz
Singleto	7.860	1H	-

### Substância 6: N-butoxi-metileno-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,0026 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0.00059 mols do reagente Bromo butano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido a permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de óleo marron escuro.

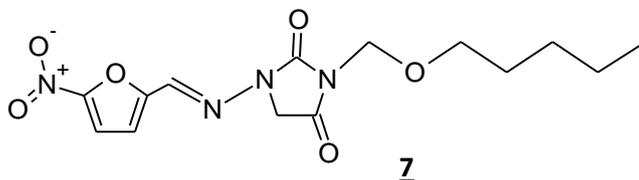
### Caracterização

- F.M: C<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>H<sub>16</sub>
- P.M: 324g
- Óleo marrom escuro; Rendimento: 81.27%; Rf: 0,75 (7:3Acetato/Hexano)
- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Multipleto	0.860	3H	-
Multipleto	1.208	2H	-
Multipleto	1.512	1H	-
Multipleto	1.779	1H	-
Tripleto	3.335	2H	13.49;6.59Hz
Dubleto	3.721	2H	4.19Hz
Dubleto	5.276	2H	
Dubleto	7.320	1H	3.89Hz
Dubleto	7.815	1H	3.89Hz

Singleto	7.948	1H	-
Bandas do IV(Cm <sup>-1</sup> ): (C=O, 1765.39cm <sup>-1</sup> /1704.87cm <sup>-1</sup> ), (NO <sub>2</sub> , 1333.66cm <sup>-1</sup> ), (C-O-C assimétrica= 1251.60cm <sup>-1</sup> ), (C-O-C simétrica, 1092.58cm <sup>-1</sup> ).			

### Substância 7: N-pentoxi-metileno-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,0025 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0,003 mols do reagente Bromo pentano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido a permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de óleo marron claro.

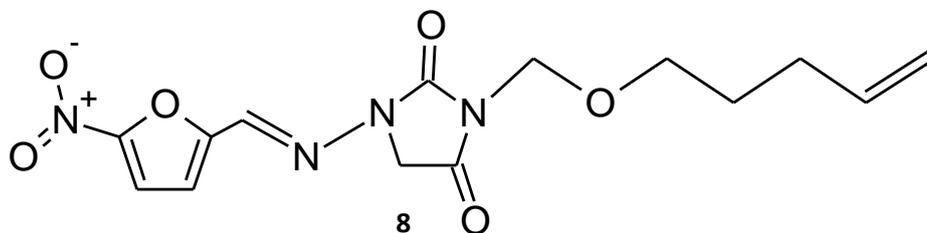
### Caracterização

- F.M: C<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>H<sub>18</sub>
- P.M: 338g
- Óleo marrom claro; Rendimento:55,17%; Rf: 0.78 (7:3Acetato/Hexano)
- RMN:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.868	3H	13.19;6.89Hz
Dubleto	1.236	4H	3.29Hz
Multipleteo	1.540	2H	-
Tripleto	3.456	2H	13.49;6.89Hz
Singleto	3.656	2H	-
Singleto	5.309	2H	-
Dubleto	7.320	2H	3.59Hz
Dubleto	7.805	2H	4.19Hz
Singleto	7.949	1H	-

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O, 1772.42cm<sup>-1</sup>/1713.42cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1335.14cm<sup>-1</sup>), (C-O-C assimétrica= 1255.26cm<sup>-1</sup>), (C-O-C simétrica, 1096.62cm<sup>-1</sup>).

### Substância 8 N-1-pentenox-metileno-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,0005 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0,0003 mols do reagente Bromo pentano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas três extrações, a primeira com dicloro-metano e as demais com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, devido a permanência de DMF o mesmo foi submetido à separação por coluna cromatográfica obtendo o produto na forma de cristal amarelo claro.

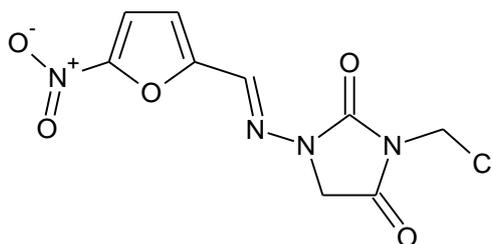
### Caracterização

- F.M: C<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>H<sub>16</sub>
- P.M: 336g
- Sólido Amarelo claro; Rendimento: 15,97 %; Rf: 0.73 (7:3Acetato/Hexano)
- P.F: 140-141°C

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Quinteto	1.624	2H	14.69;7.49;6.89Hz
Multipleto	2.023	2H	-
Tripleto	3.490	2H	13.49;6.89Hz
Multipleto	4.994	2H	-

Tripleto	5.329	2H	10.49;5.69Hz
Multipleteo	5.806	1H	-
Dubleto	7.322	1H	4.19Hz
Dubleto	7.813	1H	3.89Hz
Singleto	9.378	1H	-

### MF 9: N-Cloro-metil-Nitrofurantoína



Em balão e fundo redondo foi adicionado 1g de N-hidroxi-metil-Nitrofurantoína e 10 ml de HCl concentrado, sob refluxo e aquecimento de 50°C. A reação seguiu por cerca de 5 horas, e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, usando como eluente (7:3, Acetato/Hexano). Foi extraída com clorofórmio e rotaevaporada para eliminação do solvente.

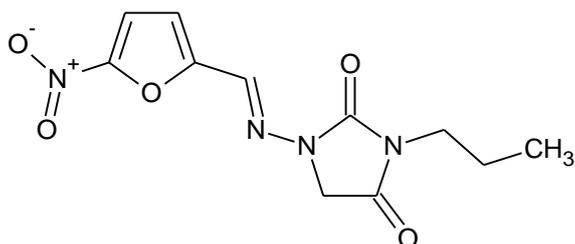
- Massa molecular: 286.5g
- Fórmula molecular: C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>1</sub>
- Óleo amarelo escuro. Rendimento: 62%, Rf: 0.46; 7:3 (Acetato/Hexano)
- RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	9.784	1H	-
Dubleto	7.820	1H	3.59Hz
Dubleto	7.750	1H	3.59Hz
Singleto	7.630	2H	-
Singleto	6.362	2H	-

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): ( $\text{C}=\text{O}$ ,  $1.721\text{cm}^{-1}/1.761\text{cm}^{-1}$ ); ( $\text{NO}_2$ ,  $1.350\text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{C}-\text{N}$  de  $\text{NO}_2$ ,  $814,5\text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{C}-\text{N}$  de amida,  $741,43\text{cm}^{-1}$ ); ( $\text{C}-\text{Cl}$  alifático,  $599,03\text{cm}^{-1}$ ); (Deformação axial de  $\text{CH}_2$ ,  $2.879.07\text{ cm}^{-1}$ ).

DEPT: ( $\text{CH}_2$ :  $36.24\text{ ppm}/31.22\text{ ppm}$ ), ( $\text{C}-\text{H}$ :  $84.74\text{ ppm}/70.41\text{ ppm}/62.97\text{ ppm}$ ), ( $\text{C}$ -quaternário:  $180.70\text{ ppm}/123.64\text{ ppm}/122.96\text{ ppm}/113.48\text{ ppm}$ ).

### MF 10: N-propil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente Nitrofurantoína **1**. Em seguida foi adicionado 0,024 mols do reagente Bromo propano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de  $60^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo o produto na forma de cristais amarelo escuro.

- Massa : 280g
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_4$
- Rendimento: 87,27%, Ponto de fusão:  $245-246^\circ\text{C}$ , Rf: 0,50; 5:5 (Acetato/Hexano).
- Picos no RMN- $\text{H}^1$ :

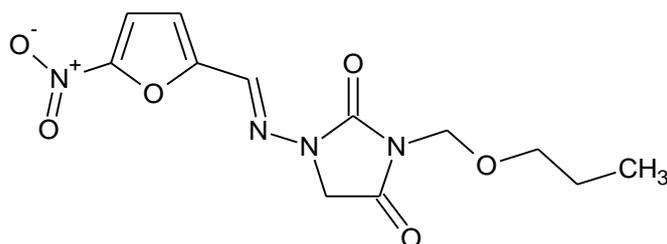
Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.871ppm	3H	6.39 Hz/6.79Hz
Quarteto	1.570ppm	2H	5.99 Hz /6.79Hz/6.39Hz
Tripleto	3.429ppm	2H	6.39Hz/ 5.99 Hz

Singleto	4.412ppm	1H	
Dubleto	7.167ppm	1H	3.59Hz
Dubleto	7.792ppm	1H	3.59Hz
Singleto	7.861ppm	1H	

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): ( $\text{C}=\text{O}$ ,  $1776.04\text{cm}^{-1}/1725.74\text{cm}^{-1}$ ); ( $\text{NO}_2$ ,  $1348.95\text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{C-N de NO}_2$ ,  $818.63\text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{C-N}$ ,  $739.80$ ); ( $\text{C-H}$ ,  $3160.41\text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{CH}_2$ ,  $2974.21\text{ cm}^{-1}$ ).

DEPT: ( $\text{CH}_3$ :  $11.052\text{ ppm}$ ), ( $\text{CH}_2$ :  $20.795\text{ ppm}$ ;  $40.120\text{ ppm}$ ;  $48.144\text{ ppm}$ ), ( $\text{CH}$  :  $114.682\text{ ppm}$ ,  $114.713\text{ ppm}$ ,  $131.520\text{ppm}$ ). (C-quaternário:  $151.728\text{ ppm}$ ,  $151.782\text{ ppm}$ ,  $152.928\text{ ppm}$ ,  $167.404\text{ ppm}$ ).

#### MF- 11: N-metileno-propil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0.024 mols do reagente Bromo propano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de  $60^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo escuro.

- Massa: 296g
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{N}_4$
- Rendimento: 63,5% Rf: 0,51; 5:5 (Acetato/Hexano)

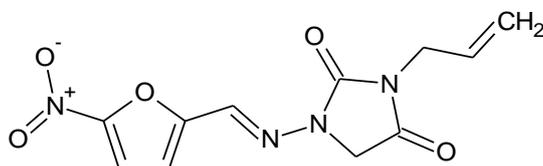
- RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.843ppm	3H	7.19Hz
Quarteto	1.560ppm	2H	6.19Hz/7.19 Hz
Tripleto	3.443ppm	2H	6.79 Hz
Singleto	5.754ppm	2H	
Singleto	5.314ppm	2H	
Dubleto	7.313ppm	1H	3.99Hz
Dubleto	7.806ppm	1H	3.99Hz
Singleto	7.950ppm	1H	

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O, 1.771 cm<sup>-1</sup>/1.709,29 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1.334,81 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C assimétrica=1.254,86 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C simétrica, 1.089.22 cm<sup>-1</sup>), (C-H axial de metila, 2.968 cm<sup>-1</sup>), (def. axial assim. de CH<sub>2</sub>, 2.939.4 cm<sup>-1</sup>), (def. axial simétrica CH<sub>2</sub>, 2.879.1 cm<sup>-1</sup>).

DEPT: (CH<sub>3</sub>: 10.827ppm), (CH<sub>2</sub>: 20.741 ppm/ 39.585 ppm/ 54.921 ppm/ 58.747 ppm), (C-H: 114.651 ppm/ 115.922 ppm/ 136.795 ppm), (C-quaternário: 74.578 ppm/ 153.726 ppm/ 151.882 ppm/ 171.021 ppm).

### MF12: N-propenil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente Nitrofurantoína **1**. Em seguida foi adicionado 0,024 mols do reagente Cloreto de Alila, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi

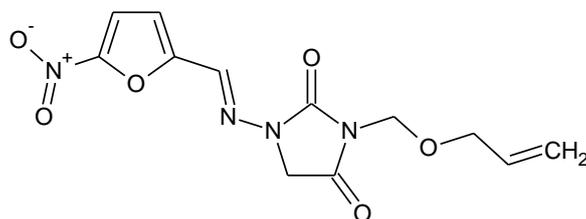
evaporado para a retirada do solvente, obtendo o produto na forma de óleo marron escuro.

- Massa : 278g
- Fórmula molecular:  $C_{11}H_{10}O_5N_4$
- Rendimento: 85,7% Rf: 0,50; 5:5 (Acetato/Hexano).
- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	4.05ppm	2H	-
Dubleto	4.89ppm	1H	-
Multipleteo	5.87-5.75ppm	1H	-
Duplo dubleto	5.22ppm	1H	2.38/4.80Hz
Duplo dubleto	5.19ppm	1H	2.38/4.90Hz
Dubleto	7.59ppm	1H	4.15Hz
Dubleto	7.09ppm	1H	4.15Hz
Singleto	8.28ppm	1H	-

Bandas do IV( $Cm^{-1}$ ): (C=O,  $1782.9\text{ cm}^{-1}/1727.9\text{ cm}^{-1}$ ); ( $NO_2$ ,  $1322.02\text{ cm}^{-1}$ ); (C-H,  $3149.41\text{ cm}^{-1}$ );

DEPT: ( $CH_2$ : 47.0ppm/ 39.37ppm/ 117.41ppm), (C-H: 114.4ppm/ 114.3ppm/ 131.4ppm/132.3ppm), (Carbono quaternário: 151.99ppm/152.79ppm/ 181,19ppm/ 171.0ppm ).

**MF13 – N-Metileno-propenil-Nitrofurantoína**

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0.024 mols do reagente Cloreto de Alila, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo Amarelo escuro.

Massa : 278g

Fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub>

Rendimento: 78,43%, Rf: 0.53%; 7:3 (Acetato/Hexano)

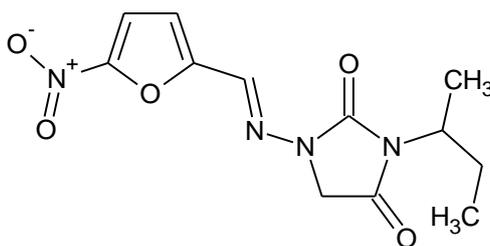
RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	4.091ppm	2H	-
Dubleto	4.097ppm	1H	-
Multipleto	5.856-5.734ppm	1H	-
Duplo dubleto	5.370ppm	1H	2.39/4.79Hz
Duplo dubleto	5.298ppm	1H	2.39/5.09Hz
Singleto	5.249ppm	2H	-
Dubleto	7.324ppm	1H	4.19Hz
Dubleto	7.807ppm	1H	4.19Hz
Singleto	9.372ppm	1H	-

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O, 1770.4 cm<sup>-1</sup>/1707.67 cm<sup>-1</sup>); (NO<sub>2</sub>, 1337.02 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C assimétrica, 1252.71 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C simétrica, 1093.58 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub> simétrica, 814.47 cm<sup>-1</sup>).

DEPT: (CH<sub>2</sub>: 58.72ppm/ 39.77ppm/ 115.81ppm), (C-H: 115.8ppm/ 114.60ppm/ 137.04ppm/131.12ppm), (Carbono quaternário: 74.859ppm/151.99ppm/153.14ppm/ 170.60ppm ).

#### MF 14 : N-2-butil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente Nitrofurantoína **1**. Em seguida foi adicionado 0,024 mols do reagente 2-Br-butano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo o produto na forma de óleo marron escuro.

- Massa : 294g
- Fórmula molecular: C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub>
- Rendimento: 85,03%, Rf: 0.63; 6:4 (Acetato/Hexano).
- RMN-H<sup>1</sup>:

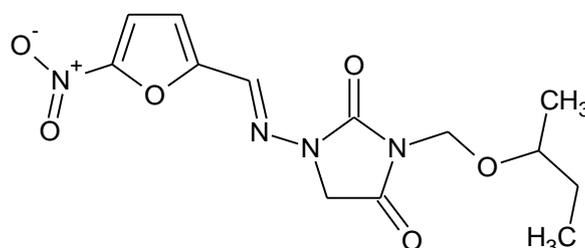
Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.824ppm	3H	6.59Hz
Dubleto	1.00ppm	3H	6.79Hz
Multipleto	1.351ppm-1.276ppm	2H	-
Multipleto	1.679ppm-1.610ppm	1H	-
Singleto	4.418ppm	2H	-
Dubleto	7.205ppm	1H	4.19Hz

Dubleto	7.794ppm	1H	4.19Hz
Singleto	7.946ppm	1H	-

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ):(C=O acopladas,  $1.777\text{cm}^{-1}/1.724\text{cm}^{-1}$ ), ( $\text{NO}_2$ ,  $1.349\text{cm}^{-1}$ ), (C-H axial de metila,  $2971\text{cm}^{-1}$ ), (def. axial assim. de  $\text{CH}_2$ ,  $2.936.3\text{cm}^{-1}$ ), (def. axial simétrica  $\text{CH}_2$ ,  $2.879\text{cm}^{-1}$ ).

DEPT: ( $\text{CH}_3$ : 26.68 ppm), ( $\text{CH}_2$ : 48.34ppm), (C-H: 132.133 ppm/ 115.808ppm/ 115,027ppm), (Carbono quaternário: 168.287ppm/165.820 ppm/151.704ppm/ 150.0ppm ).

#### MF-15: N-metileno-2-butil-Nitrofurantoína.



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 0.024 mols do reagente 2-Br-butano, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de  $60^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo escuro.

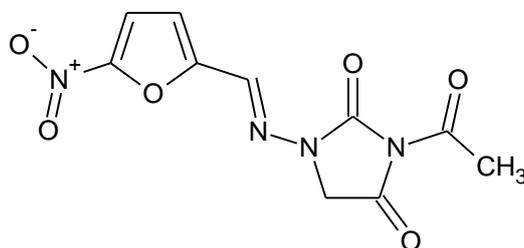
- Massa: 311g
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}_4$
- Rendimento: 63,33%, Rf: 0.67; 7:3 (Acetato/Hexano).
- RMN- $\text{H}^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Tripleto	0.817ppm	3H	7.59Hz
Dubleto	1.313ppm	3H	7.59 Hz

<b>Multiplete</b>	1.630-1.605ppm	2H	-
<b>Multiplete</b>	1890-1.910ppm	2H	-
<b>Singleto</b>	3.648ppm	2H	-
<b>Singleto</b>	5.290ppm	2H	-
<b>Dubleto</b>	7.303ppm	1H	2.69Hz
<b>Dubleto</b>	7.806ppm	1H	2.69Hz
<b>Singleto</b>	9.395ppm	1H	-

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O acopladas, 1771.22cm<sup>-1</sup>/1709.59 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1333.57 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C Assimétrica, 1252.80 cm<sup>-1</sup>), (C-O-C Simétrica, 1086.99 cm<sup>-1</sup>), (C-N de NO<sub>2</sub>, 813.47 cm<sup>-1</sup>, (C-N de Amida, 739.43 cm<sup>-1</sup>).

#### MF 16: N-acetil-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente Nitrofurtoína **1** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 5ml do reagente Anidrido acético, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um cristal amarelo escuro.

- Massa molecular: 280g
- Fórmula molecular: C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>
- Rendimento: 85,5%, Ponto de fusão: 240-241°C
- Rf: 0.54; 7:3 (Acetato/Hexano).

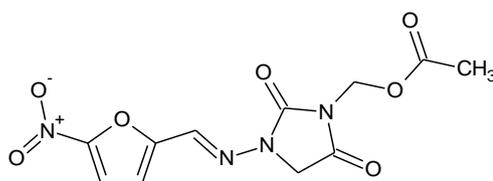
- RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	1.900ppm	3H	-
Singleto	4.405ppm	2H	-
Singleto	7.199ppm	1H	-
Dubleto	7.791ppm	1H	3.99Hz
Singleto	7.933ppm	1H	3.99Hz

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O acopladas, 1811,95 cm<sup>-1</sup>, 1777,05 cm<sup>-1</sup>), (C=O de cetona, 1751,83 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1348,24 cm<sup>-1</sup>), (C-N de NO<sub>2</sub>, 809,34), ( C-N de Amida, 741.82), (C-H de Aldeído, 1375,91 cm<sup>-1</sup>).

RMN C<sup>13</sup>:( CH<sub>3</sub>, 26.271ppm),( CH, 114.605ppm/ 115.418ppm/133.526ppm), (CH<sub>2</sub>, 167.861), (C-quaternário, 149.412ppm/ 151.255ppm/ 151.975ppm/ 165.398ppm/ 167.861ppm).

#### MF17: N- metileno- acetoxi- Nitrofuratoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,002 mols do reagente N-hidroxi-metil-Nitrofurtoína **2** obtida anteriormente em nosso laboratório. Em seguida foi adicionado 5ml do reagente Anidrido acético, adquirido comercialmente, o solvente utilizado foi o DMF. A esta mistura foi adicionado quantidade equimolar do Carbonato de Potássio, deixando-se sob agitação e aquecimento de 60°C por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um cristal amarelo escuro.

- Massa molecular:310g
- Fórmula molecular: C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>

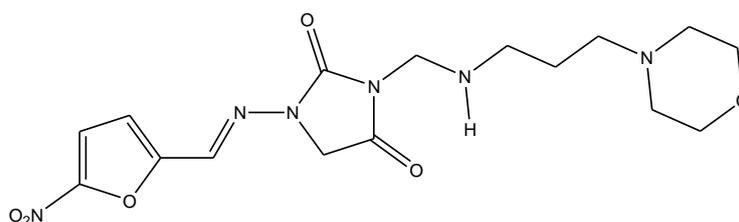
- Rendimento: 86,4%, Ponto de fusão: 239-241°C, Rf: 0.57; 7:3 (Acetato/Hexano).
- RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	2.21ppm	3H	-
Singleto	5.95ppm	2H	-
Singleto	4.02ppm	2H	-
Singleto	8.28ppm	1H	-
Singleto	7.59ppm	1H	3.99Hz
Singleto	7.09ppm	1H	3.99Hz

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O acopladas, 1798,90 cm<sup>-1</sup>, 1777,05 cm<sup>-1</sup>), (C=O de Éster, 1750,36 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1338,46 cm<sup>-1</sup>), (C-N de NO<sub>2</sub>, 811,31), (C-O de Éster, 1266,90 cm<sup>-1</sup>).

RMN C<sup>13</sup>: (CH<sub>3</sub>, 20.44ppm), (CH, 114.4ppm/ 114.32ppm/131.49ppm), (CH<sub>2</sub>, 69.66ppm/46.6ppm), (C-quaternário, 170.2ppm/ 161.0ppm/ 171.0ppm/ 152.39ppm/ 151.86ppm).

#### MF18: N-metileno-3-morfolino-propilamina-Nitrofurantoína.



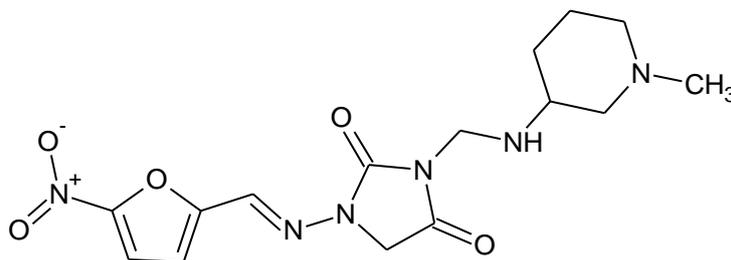
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente 3-morfolino-propilamina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com

acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo claro.

- Massa molecular: 408g
- Fórmula molecular:  $C_{17}H_{24}N_6O_6$
- Rendimento: 67,7%, Óleo amarelo claro, Rf: 0.54, 7:3 (Acetato/hexano)
- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	8.385ppm	1H	-
Dubleto	7.801ppm	1H	3.89Hz
Dubleto	7.327ppm	1H	3.89Hz
Dubleto	4.649ppm	2H	2.99Hz
Singleto	4.596ppm	2H	-
Multipleteo	2.308-2.232ppm	1H	-
Tripleteo	4.507ppm	2H	5.99Hz
Dubleto	4.280ppm	2H	-
Tripleteo	3.709ppm	4H	5.99Hz
Tripleteo	2.500ppm	2H	-
Multipleteo	0.860-0.853ppm	2H	-

Bandas do IV( $Cm^{-1}$ ): (C=O acopladas,  $1777\text{ cm}^{-1}$ ,  $1717\text{ cm}^{-1}$ ), ( $NO_2$ ,  $1335,37\text{ cm}^{-1}$ ), (C-O-C assimétrica,  $1256\text{ cm}^{-1}$ ), (N-H,  $3389,19\text{ cm}^{-1}$ ), ( $CH_2$ ,  $2926,47\text{ cm}^{-1}$ ).

**MF19: N-metileno-2-amino-metil-piperidina-Nitrofurantoína**

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente 2-amino metil piperidina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo.

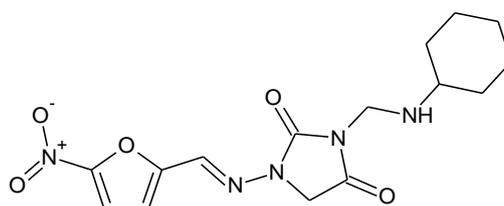
- Massa molecular: 347g
- Fórmula molecular:  $C_{14}H_{17}N_6O_5$
- Rendimento: 74,5%, Rf: 0.59; 8:2 (Acetato/Hexano)
- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Dubleto	7.807ppm	1H	3.99Hz
Dubleto	7.342ppm	1H	3.99Hz
Singleto	8.332ppm	2H	-
Singleto	4.655ppm	2H	-
Dubleto	4.796ppm	2H	-
Tripleto	1.043ppm	4H	-
Singleto	1.891ppm	3H	-
Multipleteo	2.177ppm	5H	-

Multipleteo	4.507ppm	1H	-
-------------	----------	----	---

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): ( $\text{C}=\text{O}$  acopladas,  $1776 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1717 \text{ cm}^{-1}$ ),, ( $\text{NO}_2$ ,  $1333,7 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $\text{N}-\text{H}$ ,  $3.400 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $\text{CH}_2$ ,  $2939,4 \text{ cm}^{-1}$ ).

### MF20- N-metileno-ciclohexilamina-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente Furfurylamina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo claro.

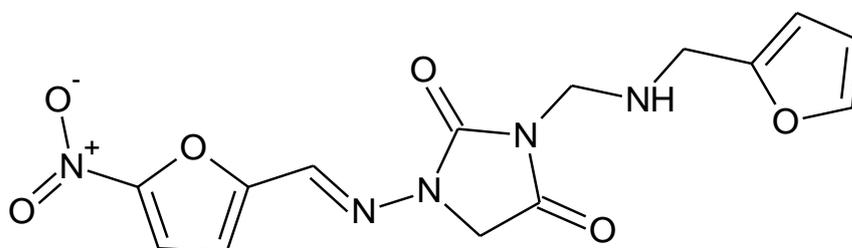
- Massa molecular: 344g
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_5$
- Rendimento: 75,8%, Rf: 0.57; 8:2 (Acetato/Hexano)
- RMN- $\text{H}^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Dubleto	7.59ppm	1H	3.89Hz
Dubleto	7.09ppm	1H	3.89Hz
Singleto	8.28ppm	1H	-
Singleto	4.05ppm	2H	-
Dubleto	4.42ppm	2H	2.99

Multipleteo	1.21ppm	6H	-
Multipleteo	2.67ppm	1H	-

DEPT: (CH<sub>2</sub>, 25.7ppm /25.10pp m /34.0ppm /57.7ppm /46.6ppm ), (C-H, 131.4ppm /114.4ppm /114.3 ppm/53. 5ppm), (C- quaternário, 151.8ppm /152.0ppm / 162.2ppm/ 171.0ppm).

### MF21-N-metileno-furfurylamina-Nitrofurantoína.



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente Furfurylamina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo claro.

- Massa molecular: 347g
- Fórmula molecular: C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>
- Rendimento: 68,8% , Rf: 0.60; 8:2 (Acetato/Hexano)
- RMN-H<sup>1</sup>:

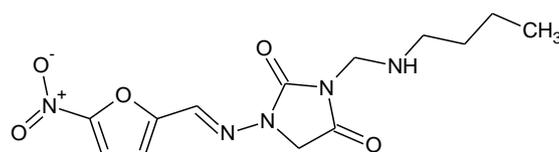
Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	8.419ppm	1H	-
Dubleto	7.949ppm	1H	4.19Hz

Dubleto	7.805ppm	1H	4.19Hz
Dubleto	7.789.ppm	1H	5.09Hz
Tripleto	7.552ppm	1H	3.59/5.09Hz
Dubleto	7.331ppm	1H	3.59Hz
Dubleto	4.797ppm	2H	7.19Hz
Singleto	4.596ppm	2H	-
Dubleto	4.501ppm	2H	3.29Hz
Quinteto	3.451ppm	1H	7.19/3.29Hz

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): ( $\text{C}=\text{O}$  acopladas,  $1775 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1717 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $\text{NO}_2$ ,  $1334,7 \text{ cm}^{-1}$ ), ( $\text{N}-\text{H}$   $1.661$ ),

DEPT:( $\text{CH}_2$ ,  $58.9\text{ppm}/61.0\text{ppm}/74.46\text{ppm}$ ), ( $\text{C}-\text{H}$ ,  $109.6\text{ppm}$  /  $110.27\text{ppm}$  /  $114.61\text{ppm}$  /  $115.90\text{ppm}$  /  $137.13\text{ppm}$  /  $152.21\text{ppm}$ ), ( $\text{C}$ - quaternário,  $139.0\text{ppm}$  /  $151.8\text{ppm}$  /  $152.0\text{ppm}$  /  $170.7\text{ppm}$  /  $174.0\text{ppm}$ ).

#### MF22: N-metileno-butilamina-Nitrofurantoína



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente butilamina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo escuro.

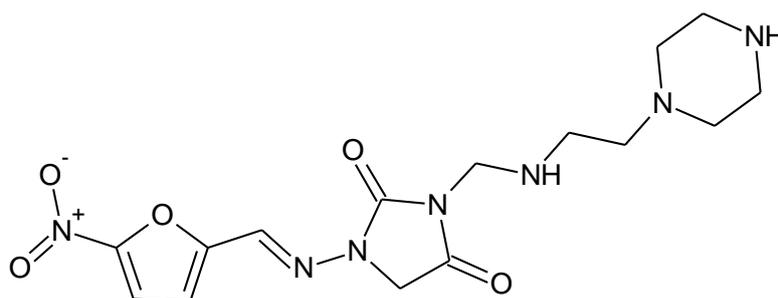
- Massa molecular: 323g
- Fórmula molecular:  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5$
- Rendimento: 76%, Óleo amarelo escuro, Rf: 0.55; 8:2 (Acetato/Hexano)

- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	8.55ppm	1H	-
Dubleto	7.79ppm	1H	2.99Hz
Dubleto	7.65ppm	1H	2.99Hz
Singleto	3.21ppm	2H	-
Dubleto	3.11ppm	2H	-
Tripleto	2.04ppm	2H	-
Multipleteo	1.40-1.52ppm	4H	-
Tripleto	0,778ppm	3H	-
Multipleteo	2.55ppm	1H	-

Bandas do IV( $Cm^{-1}$ ): (C=O acopladas,  $1775\text{ cm}^{-1}$ ,  $1717\text{ cm}^{-1}$ ), ( $NO_2$ ,  $1333,7\text{ cm}^{-1}$ ), (N-H 1.659).ver ch2

DEPT:( $CH_2$ , 31,3ppm/ 57.2ppm/ 46.7ppm/ 32.4ppm/ 20.1ppm),(C-H,114.4ppm /114.2ppm /163.7ppm / 59.2ppm), (C- quaternário, 150.9ppm /153.0ppm/ 180.3ppm/ 176.7ppm).

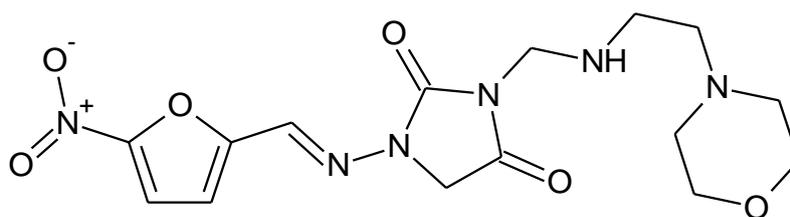
**MF23: N-metileno-1,2-amino-etil-piperazina.**

Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente 1,2 amino etil piperazina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um cristal amarelo claro.

- Massa molecular: 373g
- Fórmula molecular:  $C_{15}H_{15}N_7O_5$
- Rendimento: 67,5% , Ponto de fusão: 241-242 °C , Rf: 0.61; 8:2(Acetato/Hexano).
- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	9.422ppm	1H	-
Dubleto	7.748ppm	1H	2.99Hz
Dubleto	6.996ppm	1H	2.99Hz
Multipleteo	5.300-5.410ppm	1H	-
Singleto	4.561ppm	2H	-
Singleto	4.561ppm	1H	-
Multipleteo	3.700-3.164ppm	16H	-

Bandas do IV( $Cm^{-1}$ ): (C=O, 1.776/1705), ( $NO_2$ , 1319,6), (N-H, 3.587/3.505/ 3.365)

**MF24: N-metileno-4-2-amino-etil-morfolina-Nitrofurantoína.**

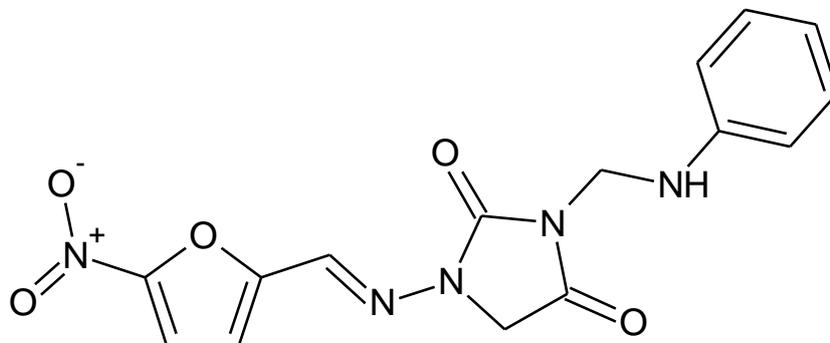
Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente 4-2 amino etil morfolina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo claro.

- Massa molecular: 376g
- Fórmula molecular:  $C_{15}H_{16}N_6O_6$
- Rendimento: 68,2%, Rf: 0.60; 8:2 (Acetato/Hexano)
- RMN- $H^1$ :

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	7.943ppm	1H	-
Dubleto	7.793ppm	1H	4.19Hz
Dubleto	7.322ppm	1H	4.19Hz
Dubleto	4.667.ppm	2H	4.19Hz
Singleto	4.592ppm	2H	-
Quarteto	2.377ppm	1H	4.19/5.99Hz
Tripleto	4.504ppm	4H	6.89Hz
Tripleto	3.379ppm	4H	6.89Hz
Tripleto	1.078ppm	2H	4.19Hz
Tripleto	1.040ppm	2H	4.19Hz

Bandas do IV(Cm<sup>-1</sup>): (C=O, 1.777/1718 cm<sup>-1</sup>), (NO<sub>2</sub>, 1335,96 cm<sup>-1</sup>), (N-H, 3.379 cm<sup>-1</sup>).

**MF25: N-metileno-anilina-Nitrofurantoína.**



Em balão de fundo redondo com capacidade para 100 ml, foi adicionado 0,00042 mols do reagente Anilina obtido comercialmente. Em seguida foi adicionado 1ml de etanol e 1ml de formol, após três horas foi adicionado 0,00042 mols da Nitrofurantoína, adquirido comercialmente, sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o termino da reação, foram realizadas extrações, com acetato de etila/água. Após as extrações, o produto foi evaporado para a retirada do solvente, obtendo-se um óleo amarelo escuro

Massa molecular: 343g

Fórmula molecular: C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>

Rendimento: 78,2%, Rf: 0.62; 8:2 (Acetato/Hexano)

RMN-H<sup>1</sup>:

Multiplicidade	Deslocamento químico	Integração	Acoplamento
Singleto	7.834ppm	1H	-
Dubleto	7.781ppm	1H	2.09Hz
Dubleto	7.164ppm	1H	2.09Hz
tripleto	7.092ppm	2H	6.89Hz
Dubleto	6.838ppm	2H	6.89Hz
Tripleto	6.634ppm	1H	6.89Hz/6.59Hz

Dubleto	4.900ppm	2H	6.59Hz
Singleto	4.439ppm	2H	-

Bandas do IV( $\text{Cm}^{-1}$ ): ( $\text{CH}_2$ ;  $2845.34 \text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{C}=\text{O}$  acopladas,  $1781.11/1723.38 \text{ cm}^{-1}$ ); (deformação axial c-c do anel arom.,  $1597.12/ 1504.80 \text{ cm}^{-1}$ ); ( $\text{NO}_2$ ,  $1344.82 \text{ cm}^{-1}$ ).

## 9.2 Análise de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ ):

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e das substâncias sintetizadas foram obtidos no espectrômetro da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, Recife - PE, utilizando como solvente  $\text{DMSO-d}_6$  e como padrão interno  $\text{DMSO}$ .

## 9.3 Análise de espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV):

Os espectros de absorção no infravermelho na região de  $4.000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$ , foram obtidos em pastilhas de  $\text{KBr}$  no espectrofotômetro de infravermelho, disponível na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, Recife - PE.

## 9.4 Avaliação das Atividades Biológica dos compostos

### 9.4.1 Metodologia da Avaliação Antimicrobiana

#### 9.4.1.1 Método de difusão em discos de papel

Neste método, os discos contendo concentrações conhecidas dos compostos sintetizados foram colocados na superfície de uma placa de ágar, onde uma suspensão padronizada dos microorganismos em teste foi inoculada. As suspensões dos microorganismos testes foram padronizadas através da escala de McFarland com turbidez correspondente a 0,5, equivalente a  $1$  a  $2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL). Discos de papel contendo apenas o solvente dimetil-formamida (DMF) foram utilizados como controles negativos. As placas foram levadas a estufa durante 24h e 48h à temperatura de  $30^\circ\text{C}$  e  $37^\circ\text{C}$  e após o período de incubação mediram-se os halos de inibição em milímetros (mm). O halo de inibição será considerado a área sem crescimento

detectável a olho nu. A zona média de inibição para amoxicilina (antibiótico) foi utilizada como valor de referência, a qual foi medida em outro trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa. Os experimentos foram realizados em triplicata, e repetidos se os resultados apresentassem alguma divergência (ALLEY, 1988).

#### *9.4.2 Determinação da CMI e CMB.*

Para os ensaios de CMI e CMB, foi utilizada a técnica de macrodiluição em meio líquido, onde a partir de uma solução-mãe com concentração de 1mg/mL dos compostos em análise, solubilizados em dimetilformamida, foram realizadas diluições seriadas para obtenção das concentrações desejadas. Foram adicionados 100µL da suspensão bacteriana, previamente padronizadas através da escala de McFarland acima citada, aos tubos de Muller-Hinton contendo as concentrações desejadas dos compostos em análise. Os tubos foram incubados a 37°C por 24-48 h, e, em seguida, examinados para visualização da presença ou ausência de organismos de cultivo. Tubos contendo apenas DMF também foram avaliados. Os valores de CMI foram obtidos a partir da menor concentração dos compostos onde não foi observado qualquer crescimento de bactérias. Os valores da CMB foram medidos através da inoculação dos caldos utilizados para determinação do CMI para meio sem drogas. Os valores de CMB foram observados a partir do crescimento da diluição subsequente. Os valores da CMI e da CMB, foram expressos em µg/mL (MOSSMAN, 1983).

### **9.5 Metodologia da Atividade Antitumoral.**

#### *9.5.1 Citotoxicidade in vitro dos Derivados da Nitrofurantoína.*

A atividade citotóxica será realizada através do método do MTT brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983).

As linhagens de células utilizadas serão NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e HEp-2 (carcinoma de laringe humana) mantidas em meio de cultura DMEM, HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e MCF-7 (câncer de mama humano) mantidas em meio de cultura RPMI 1640. Os meios serão

suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células serão mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO<sub>2</sub>.

As células NCI-H292, MCF-7, HEp-2, HT-29 (105 células/mL) e HL-60 (3 x 10<sup>5</sup> células/mL) serão plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24h. Em seguida as amostras dissolvidas em DMSO (1%) serão adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. O fármaco doxorrubicina (5 µg/mL) será utilizado como padrão. Após 72 h de reincubação será adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT serão aspirados e 100 µL de DMSO será adicionado a cada poço. A absorbância será medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm.

Os experimentos serão realizados em quadruplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa GraphPad Prism 7.0. demo.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras com atividade (95 a 100 % de inibição), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 70 a 90%) e sem atividade (inibição de crescimento menor que 50 %).

Os produtos (0.195 – 25 µg/mL) que apresentarem atividade moderada (> 70% de inibição) em duas linhagens aderidas e uma linhagem em suspensão serão submetidos a determinação da concentração que inibe 50 % do crescimento em relação ao controle negativo (CI<sub>50</sub>). A doxorrubicina (0.009 - 1.25 µg/mL) será utilizada como padrão. A CI<sub>50</sub> e os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados a partir da regressão não linear no programa GraphPad Prism 7.0. demo.

# *Conclusão e Perspectivas*

## 10 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

### 10.1 Conclusão

Os derivados da Nitrofurantoína foram obtidos partindo de metodologia simples e econômica, onde os compostos foram sintetizados em curto tempo reacional, resultando em bons rendimentos. A estrutura química foi elucidada através de espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  e IV, confirmando que a substituição ocorreu de maneira satisfatória.

Com relação à atividade antimicrobiana os compostos apresentaram atividade, com halos de inibição muitas vezes superiores aos halos apresentados pelo protótipo Nitrofurantoína. Para o 02- *Staphylococcus aureus* a substância 7 demonstrou melhor resultado, apresentando CMI e CMB, menor que o protótipo 2. Para o 86-*Bacillus subtilis*, os derivados 4, 5, 6 e 7 apresentaram bons resultados, com CMI e CMB menores que os padrões, as substâncias 3, 11, 13, 16 com CMI e CMB iguais aos seus respectivos protótipos.

Para a atividade antitumoral, os compostos apresentaram uma variação de 51-100% de inibição, onde os melhores tiveram sua IC50 determinada e foi calculado o IS, onde Verificou-se que compostos 1, 4 e 10 apresentaram um índice de seletividade significativo isto é, um valor maior ou igual a 2,0, o que significa que o composto é duas ou mais vezes mais ativo na linhagem de células neoplásicas do que em células normais (RAW).

Os compostos derivados da Nitrofurantoína, demonstraram uma excelente conservação da atividade antimicrobiana, e apresentaram de forma pioneira interessante atividade antitumoral, principalmente os derivados alquilados, sendo promissores candidatos a futuros fármacos.

## 10.2 Perspectivas

- Realização do aumento da série , com condensação da Nitrofurantoína com a Semicarbazida e Tiosemicarbazida, para posteriores variações em suas estruturas.
- Realizar ensaios para a determinação da ZMI, bem como a determinação do CMI e CMB para os mais promissores, para a atividade antimicrobiana dos compostos frente a cepas antibiótico-resistentes.
- Realização de ensaios frente às formas evolutivas do *T. cruzi* e da *L. Amazonensis*. Visto que a Nitrofurantoína e os seus derivados possuem o grupo nitro no anel furânico, grupamento este que pode favorecer a atividade antiparasitária.
- Submeter os compostos a estudo de “docking”, para análise da relação estrutura-atividade.

## Referências

- MASUNARI, A. Planejamento, desenvolvimento e estudos de QSAR-2De SAR-3D de derivados 5-nitro-tiofilidênicos com atividade frente a *Staphylococcus aureus* multi-resistente (CEB-clone Endêmico Brasileiro), tese de doutorado, Conjunto das Químicas-USP, 2005.
- WHO; “IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans-Pharmaceutical drugs”; **International Agency for Research of Cancer**, v. 50, p.211-231, 1990.
- CHUNG, M. C.; GUIDO, R. .V.; MARTINELLI, T. F.; GONCALVES, M. F.; POLLI, M. C.; BOTELHO, K. C.; VARANDA, E. A.; COLLI, W.; MIRANDA, M. T.; FERREIRA, E. I. Synthesis and *in vitro* evaluation of potential antichagasic hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): a new nitrofurazone prodrug. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 3, p.4779-4783, 2003.
- ALMEIDA L.V. Dissertação de mestrado, Síntese e Determinação da Atividade Antimicrobiana de 2-[5-nitro-tiofen-2-il]-3-acetil-5-[4-fenil-substituído]-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazolina frente a cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*:USP, 2009.
- FRIIS, G.J.; BUNDGAARD, H. Design and application of prodrugs. In: KROGSGAARD-LARSEN, P., LILJEFORS, T., MADSEN, U., eds. *A textbook of drug design and development*. Amsterdam: **Harwood Academic**, v.1, p. 351-385, 1996.
- CHUNG, M. C.; GUIDO, R. V. C.; MARTINELLI, T. F.; GONCALVES, M. F.; POLLI, M. C.; BOTELHO, K. C. A.; VARANDA, E. A.; COLLI, W.; MIRANDA, M. T.; FERREIRA, E. I. Synthesis and *in vitro* evaluation of potential antichagasic hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): A new nitrofurazone prodrug. **Bioorg. Med.Chem.**,v.1, p.4779–4783,2003.
- LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A., FOYE’S Principles of Medicinal Chemistry, 6th ed., **Lippincott Williams & Wilkins**: Baltimore, 2008.
- Sítio da International Union of Pure and Applied Chemistry. Disponível em: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac>. Acesso em: 29 de Novembro de 2015.
- SILVA, T. F. Abordagens da Química Medicinal para o planejamento de protótipos de fármacos Rev. Virtual de Quím. v.5, p. 921-933, 2013.
- WERMUTH, C. G.; GANELLIN, C. R.; LINDBERG, P.; MITSCHER, L. A. Pure Appl. Chem., v.7, p.1129, 1998.
- WERMUTH, C. G.; The Practice of Medicinal Chemistry, 3a. ed., Elsevier/Academic Press: London, 2008.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JR, J. M.Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v.1, p.78, 98, 2008.

- JALENCA, X.; MESTRES, J. On the origins of drug polypharmacology. *Medicinal Chemistry Communications*, v.1, p. 4, 80, 2013.
- MORPHY, R. & RANKOVIC, Z. Em The practice of Medicinal Chemistry; Wermuth, C. G.; 3a. ed., *Elsevier*: Burlington, cap. 27, 2008.
- COSTANTINO, L.; BARLOCCO, D. Challenges in the design of multitarget drugs against multifactorial pathologies: a new life for medicinal chemistry? *Future Medicinal Chemistry*, v.5, p. 5, 2013.
- SAMS-DODD, F. Target-based drug discovery: is something wrong? *Drug Discovery Today: Targets*, v.10, p.139, 2005.
- MEDINA-FRANCO, J. L.; GIULIANOTTI, M. A.; WELMAKER, G. S.;HOUGHTEN, R. A. Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery. *Drug Discovery Today*, v.18, p. 495. 2013.
- AMARAL. T. A.; Química Medicinal: 25 anos de Planejamento Racional de Fármacos. *Quim. Nova*, v. 25, p. 39-44, 2002.
- CERA. P. T., PANCOTE. G. C.; Planejamento de Fármacos. *Revista Científica Unilago*. v.1, p.137-147, 2004.
- BARREIRO, E.J., FRAGA, C. A. M. Química Medicinal. As Bases Moleculares da ação dos fármacos. *Artmed*, 1 ed. Porto Alegre, 2001.
- NEPALI, K.; SHARMA, S.; SHARMA, M.; BEDI, P. M. S.; DHAR, K. L.; *Eur. J. Med. Chem.*, v.1, p.77, 422, 2014.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.; Química Farmacêutica, 1ª ed., *Guanabara Koogan*, 1988.
- ÁZARA, P. O.; Dicionário de substâncias farmacêuticas comerciais, 5ª ed., Associação Brasileira de Indústria Farmoquímica (ABIQUIF): Rio de Janeiro,. v.1, p.724, 2013.
- CHUNG, M.C.; FERREIRA, E. I.; O Processo de latenciação no planejamento de fármacos. ; *Química Nova*, v.22, p.75-82, 1999.
- WERMUTH, C. G.; Em Drug Design: fact or fantasy? K. R. H. Wooldridge e G. Jolles, Eds.; *Academic Press*, London, p.47-72, 1984.
- WERMUTH, C. G. Ed.; The practice of medicinal chemistry; *Academic*, London, 1996.
- TROUET, A.; DEPRez-DE-COMPENEERE, D.; BAURAIN, R. E SCHNEIDER, Y.J.; Em Drug design: fact or fantasy? K. R. H. Wooldridge e G. Jolles, Eds.; *Academic Press*, New York, p. 3-15, 1984.
- GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. *Rev. Proc. Quim.*, v.2, n.4, p.24-26, 2008.
- WERMUTH, C. G.; The Praticice of Medicinal Chemistry, 3a. ed., *Elsevier/Academic Press*: London, 2008.
- PONTES F. Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo. *Rev Inovação em Pauta*, v.6, p.69-73. 2009.

REISDORFER, F.P. QSPR/SAR em derivados 5-nitro-heterocíclicos com atividade antichagásica. Estudo das relações entre o potencial de redução do grupo nitro e Propriedades físico-químicas, **Tese de Doutorado**, Conjunto das Químicas - USP, 2007.

BOSQUESI, P. L., ALMEIDA, A. E., BLAU, L. , MENEGON, R. F. ; CHUNG, M. C. Toxicidade de fármacos nitrofurânicos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, V. 29, n. 3, p. 231-238, 2009.

YAN, X.-F.; XIAO, H.-M.; GONG, S.-D.; JU, S.-H.; Quantitative structure-activity relationships of nitroaromatics toxicity to the algae (*Scenedesmus obliquus*). *Chemosphere*, p.59, 467, 2005.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H.; *Química Farmacêutica, Guanabara Koogan*: Rio de Janeiro, v.1, p. 65, 542, 544-545, 1988.

TOCHER, J. H.; Reductive activation of nitroheterocyclic compounds. *Gen. Pharmac.* p.28, 485, 1997.

VIODÉ, C.; BETTACHE, N.; CENAS, N.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; CHAUVIÉRE, G.; BAKALARA, N.; PÉRIÉ, J.; Enzymatic reduction studies of nitroheterocycles *Biochem. Pharmac.* v.1, p. 57, 549, 1998.

MAYA, J. D.; CASSELS, B. K.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, P.; FERREIRA, J.; FAÚNDEZ, M.; GALANTI, N.; FERREIRA, A.; MORELLO, A., Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. *Comp. Biochem. Phys. Part A*, p. 146, 601, 2007.

EDWARDS, D. I.; Reduction of nitroimidazoles in vitro and DNA damage. *Biochem. Pharmacol*, v.1, p.35, 53, 1986.

KAPPUS, H.; Review: Oxidative stress in chemical toxicity; *Biochem. Pharmacol*, v.1, p.35, 1986.

ROLDÁN, M. D.; PÉREZ-REINALDO, E.; CASTILLO, F.; MORENO-VIVIÁN, C.; *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, 32, 474; Kedderis, G. L.; Miwa, G. T.; *Drugs Metabolism Reviews* , v.1, p. 19, 33, 1988.

NÚÑES-VERGARA, L. J., ALDUNATE, J., LETELIER, M. E; BOLLO, S., REPETTO Y., MORELLO, A., SPENCER, P. L., SQUELLA, J. A., Nitro radical anion formation from nifurtimox II; Eletrochemical evidence. *Bioelec. Bioenerg.* , Lausane, v. 38, p. 355-358, 1995.

MCCALLA D.R., Mutagenicity of nitrofurán derivatives: review. *Environ Mutagen*, v.5, p.:745-65, 1983.

KOBIERSKA-SZELIGA M, CZECZOT H. Characterization of the genotoxic properties of nitrofurans: nitrofurazone and furazolidone. *Acta Biochim Pol* , v.4, p.1-5, 1994.

- MECCA MM, DIAZ EG, CASTRO JA. Nifurtimox biotransformation to reactive metabolites or nitrite in liver subcellular fractions and model systems. *Toxicol Lett* v.1, p.1-8, 2002.
- HIRAKU Y, SEKINE A, NABESHI H, MODORIKAWA K, MURATA M, KUMAGAI Y, KAWANISHI S. Mechanism of carcinogenesis induced by a veterinary antimicrobial drug, nitrofurazone, via oxidative DNA. *Cancer Lett*, v.2, p.141-50, 2004.
- HORROCKS, S. M.; JUNG, Y. S.; HUWE, J. K.; HARVEY, R. B.; RICKE, S. C.; CARSTENS, G. E.; CALLAWAY, T. R.; ANDERSON, R. C.; RAMLACHAN, N.; NISBET, D. J., *J. FOOD SCI.*, 2007, 72, M50; RAETHER, W.; HANEL, H.; Effects of short-chain nitrocompounds against *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in vitro. *Parasitol. Res.* **2003**, v.1, p. 90, 2007.
- AL-MASOUDI, N. A.; AL-SOUD, Y. A.; KALOGERAKIS, A.; PANNECOUQUE, C.; DE CLERCQ, E.; Nitroimidazoles, part 2: Synthesis, antiviral and antitumor activity of new 4-nitroimidazoles. *Chem. Biodiv*, v. 3, p. 515, 2006.
- KHLEBNIKOV, A.; SCHEPETKIN, I.; KWON, B. S.; Modeling of the anticancer action for radical derivatives of nitroazoles: quantitative structure-activity relationship (QSAR) study. *Cancer Biother. Radiopharm.*, v.1, p. 17, 193, 2002.
- BAEYER, A.; The Carboxylation of Hydantoins, *Ann. Chem.* **1861**, 117, 178; Finkbeiner, H.; *J. Org. Chem*, p. 30, 3414, 1965.
- JOHNSON, T. B.; CHERNOFF, L. H.; Hydantoins: Synthesis of 5-Thiohydantoins. *J. Am. Chem. Soc.*, v.1, p.34, 1208, 1912.
- ROGAWSKI, M.; PORTER, R. J.; Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. *Pharmacol. Rev*, v.1, p. 42, 223, 1990.
- MEUSEL, M.; GÜTSCHOW, M.; Recent Developments in Hydantoin Chemistry. *Org. Prep. Proced. Int.*, v.1, p.36, 391, 2004.
- ORAZI, O. O.; CORRAL, R. A.; New route for 1-substituted hydantoins. *Experientia*, v.1, p.21, 508, 1965
- ORAZI, O. O.; CORRAL, R. A.; Schttenberg, H.; Hydantoins. *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, v.2, p. 219, 1974.
- SAULI, M.; Synthesis of the spirocyclopropanated five-membered ring analogue 7a of Iprodione *Ger. Offen.*, v.2, p.923, 1972.
- LIMA, M. C. A.; COSTA, L. B.; GÓES, A. J. S.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C.; Thiazolidinediones: reactivity of the active methylene group *Pharmazie*, v.47, p.182, 1992.
- BRANDÃO, S. S. F.; ROCHA FILHO, J. A.; CHANTEGREL, J.; ALBUQUERQUE, J. F. C.; XIMENES, E. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; PERRISSIN, M.; LUU-

DUUC, C.; Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines *Ann. Pharm. Fr.*, v.1, p.55, 206, 1997.

ALBUQUERQUE, J. F. C.; ROCHA FILHO, J. A.; BRANDÃO, S. S. F.; LIMA, M. C. A.; XIMENES, E. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; CHANTEGREL, J.; PERRISSIN, M.; LUU-DUUC, C.; Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones *Fármaco*, v.1, p.54, 77, 1999.

LUTTERMOSER, G. W.; BOND, H. W.; Studies on the chemotherapy of experimental schistosomiasis, *J. Parasitol.*, v.1, p. 40, 33, 1954.

BENAZET, F.; LEROY, J. P.; *BULL. SOC. PAT. E.* **1974**, 3, 287; WERBEL, L. M.; ELSLAGER, E. F.; Antischistosomal effects of 5-(2,4,5-trichlorophenyl)hydantoin and related compounds *J. Med. Chem.*, v.1, p.20, 1569, 1977.

ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; SILVA, T. G.; PITTA, M. G. R.; SILVA, A. C. A.; SILVA, P. G.; MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J. V.; WANDERLEY, A. G.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; BARBE, J.; PITTA, I. R.; Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds. *Pharmazie*, v.1, p.60, 13, 2005.

KNOW, S. K.; PARK, M. S.; *J. MED. CHEM.* 1991, 34, 1845; SANTOS, L. C.; MOURÃO, R. H. V.; UCHOA, F. T.; SILVA, T. G.; MALTA, D. J. N.; MOURA, R. O.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; BARBE, J.; Structure, reactivity, and biological properties of hidantoines *J. Heterocyclic Comm.*, v.1, p.11, 433, 2008.

ELOKDAH, H.; SULKOWSKI, T. S.; ABOU-GHARBIA, M.; BUTERA, J. A.; CHAI, S. Y.; MCFARLANE, G. R.; MCKEAN, M. L.; BABIAK, J. L.; ADELMAN, S. J.; QUINET, E. M.; Design, synthesis, and biological evaluation of thio-containing compounds with serum HDL-cholesterol-elevating properties. *J. Med. Chem.*, v.1, p.47, 681, 2004.

BARRACLOUGH, P.; BROCKWELL, M.; CADWELL, A. G.; DEMAINE, D. A.; HARRIS, C. J.; KING, W. R.; STEPNEY, R. J.; WHARTON, C. J.; WHITTLE, B. J. R.; ChemInform Abstract: Synthesis and Inhibitory Activity on Platelet Aggregation of 13'-Aza and Other  $\omega$ -Chain Modified BW245C Analogues *Arch.Pharm. - Weinheim.*, v.1, p.327, 307, 1994.

DYLAG, T.; ZYGMUNT, M.; MACIAG, D.; HANDZLIK, J.; BEDNARSKI, M.; FILIPEK, B.; KIEC-KONONOWICZ, K.; Synthesis and evaluation of in vivo activity of diphenylhydantoin basic derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, v.1, p. 39, 1013, 2004.

KUSHEV, D.; NAYDENOVA, E.; POPOVA, J.; MANEVA, L.; GRANCHAROV, K.; SPASSOVSKA, N.; *Z. NATURFORSCH.*, Synthesis and cytotoxicity of platinum(II) complexes of 3-aminocyclopentanespiro-5-hydantoin and 3-aminocycloheptanespiro-5-hydantoin. *C: J. Biosci.*, v.1, p.58, 103, 2003.

VERLINDEN, Y.; CUCONATI, A.; WIMMER, E.; ROMBAUT, B.; The antiviral compound 5-(3,4-dichlorophenyl) methylhydantoin inhibits the post-synthetic cleavages and the assembly of poliovirus in a cell-free system. *Antiviral Res.*, v.1, p.48, 61, 2000.

CHARLES C. MCOSKER AND PENNY M. FITZPATRICK, Nitrofurantoin: mechanism of action and implications for resistance development in common uropathogens, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 33, p. 23-30, 1994.

HERRLICH, P. & SCHWEIGER, M. Nitrofurans, a group of synthetic antibiotics, with a new mode of action: discrimination of specific messenger RNA classes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* v.1, p.73, 3386-90, 1976.

GRANT, D. J. W. & DESZOES, J. Inhibitory effects of some anti-inflammatory and other analgesics and nitrofurans on the induction of  $\beta$ -galactosidase synthesis in *Klebsiella aerogenes*. *Biochemical Pharmacology* v.20, p. 625-35, 1971.

FOYE, W.O.; LEMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A. *Principles of medicinal chemistry*. 4.ed. **Baltimore: Williams & Wilkins**, v.1, p.995, 1995.

THE MERCK INDEX, *Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals* 12th ed. Entry# 6696.

KOROLKOVAS, A. *Essentials of medicinal chemistry*, 2. ed., New York: **JOHN WILEY**, v.1 p. 1204, 1988.

TOCHER, J.H. Reductive activation of nitroheterocyclic compounds. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v. 28, n. 4, p. 485- 487, 1997.

ULMAR, T.M.; MITCHARD, M. The competitive inhibition of nitroreductase by some analogues of nitrofurantoin. *Biochem. Pharmacol.*, New York, v.17, p.2057-2060, 1968.

ASNIS, R.E.; GOTS, J.S. Studies on the action of nitrofurans on bacterial enzyme systems. I. The inhibition of bacterial respiration by furacin. *Arch. Biochem.*, New York, v. 30, n. 1, p. 25-33, 1951.

GREEN, M.N. The effect of furacin (5-Nitro-2-Furaldehyde Semicarbazone) on the metabolism of bacteria. *Arch. Biochem.*, New York, v. 19, n. 1, p. 397-405, 1948.

SPIELBERG, S. P., GORDON, G. B. Nitrofurantoin cytotoxicity. *Journal of Clinical Investigation*, v. 67, p. 37-71, 1981.

RANG,H.P.,DALE, M. M., RITTER, J. M. *Farmacologia*, 4<sup>a</sup> ed. **Editora Guanabara-Koogan**, 2001.

GOODMAN, A. G., RALL, T. W.,NIES, A. S., TAYLOR, P. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. **McGraw-Hill**, 2000.

ALMEIDA L.V. Dissertação de mestrado, Síntese e Determinação da Atividade Antimicrobiana de 2-[5-nitro-tiofen-2-il]-3-acetil-5-[4-fenil-substituído]-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazolina frente a cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*: USP, 2009.

BLACK, M., RABIN, L. SCHATZ, N. Nitrofurantoin-induced chronic active hepatitis. *Annu. Intern. Med.*, 92, p. 62-64, 1980.

CULOTTA. E, KOSHLAND. D, NO news is good news, **Science**, v.258 p.1862-1865, 1992.

STAMLER.J, SINGLE D, LOSCALSO. J, Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms, **Science**, v.258, p. 1898-1902, 1992.

HENEGOUWN. G. M, (Systemic) phototoxicity of drug and other xenobiotics. **Journal of Photochemistry And Photobiology**, v.10. p.183-210, 1991.

BARBOSA. J, MOURA. S, BARBOSA . R, RAMOS. F, SILVEIRA. M.I, Determination of nitrofurantoin in animal feeds by liquid chromatography- uv photodiode array detection and liquid chromatography-ionspray Tandem mass spectrometry., **Analytica Chimica Acta**, v.586, p. 359-65, 2007.

MOTTIER P, KHONG. S, CREMAUD E, RICHIG J, DELATOURS T. GOLDMANN, Quantitative determination of four nitrofurantoin metabolites in meat by isotope dilution liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry, **journal of chromatography A**, v. 1067, p. 85-91,2007.

MARTINEZ P, Nitrofurantoin-Stimulated Reactive Oxygen Species Production and Genotoxicity in Digestive Gland Microsomes and Cytosol of the Common Mussel (*Mytilus idulis* L.), **toxicology and Applied Pharmacology**, v. 131, p. 332-341, 1995.

WHO; "IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans-Pharmaceutical drugs"; **International Agency for Research of Cancer**, v. 50, p. 211-231, 1990.

PARRA, G. G.; Dissertação de mestrado: Estudo da dinâmica de Fototransformação do Antimicrobiano Nitrofurantoina e da formação das espécies ativas durante sua fototransformação.**USP**, v.1, p. 39-40, 2010.

ETTMAYER, P.; AMIDON, G. L.; CLEMENT, B.; TESTA, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 2393-2404, 2004.

BUNDGAARD, H., ed. Prodrug design. Amsterdam: **Elsevier**, 1985. 360 p.

TESTA, B.; MAYER, J. M. Hidrolysis in drug and prodrug metabolism, chemistry, biochemistry, and enzymology. **Zurich: Wilet-VCH**, v.1, p. 148-162, 2003.

LARSEN, S. W.; SIDENIUS M.; ANKERSEN, M.; LARSEN, C. Kinetics of degradation of 4-imidazolidinone prodrug types obtained from reacting prilocaine with formaldehyde and acetaldehyde. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 2, p. 233-240, 2003.

CHUNG, M. C.; GUIDO, R. .V.; MARTINELLI, T. F.; GONCALVES, M. F.; POLLI, M. C.; BOTELHO, K. C.; VARANDA, E. A.; COLLI, W.; MIRANDA, M. T.; FERREIRA, E. I. Synthesis and *in vitro* evaluation of potential antichagasic hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): a new nitrofurazone prodrug. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 3, p.4779-4783, 2003

CHUNG, M. C.; SILVA, A. T. A.; CASTRO, L. F. et al. Latentiation and advanced drug transport forms. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**, v. 41, n. 2,

p. 155-180, 2005.

YAMOAKA, Y., ROBERTS, R.D., STELLA, V.J. Low-melting phenytoin prodrugs as alternative oral delivery modes for phenytoin: a model for other high-melting sparingly water-soluble drugs. *J. Pharm. Sci.*, v. 72, 400-405, 1983.

CECHINEL, V.; DE CAMPOS, F.; CORREA, R.; YUNES, R.A.; NUNES, R.J., Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura *Quím. Nova*, v. 26, p.230-241, 2003.

BRONDANI, D. J. *et al.* A new and efficient N-alkylation procedure for semicarbazides/semicarbazones derivatives. *Tetrahedron Letters*. v. 48, p. 3919–3923, 2007.

MOORE B.M., RAPALA R. T. N-Alkamine Substituted Phthalimides. *Abbott Laboratories*, Aug., v.1, p. 657-1658, 1946.

METIN., CAHIT O., AKIF EVREN P., ABDURRAZAK S., PELIN K., MUSTAFA K., SEVGI DURNA D., Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2,4-dihydro-3H-1,2, 4-triazole-3-thiones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.63, p. 340-346, 2013.

BAUER AW, KIRBY WMM, SHERRIS JC, TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, v.45, p.493-496, 1966.

ETTMAYER, P.; AMIDON, G. L.; CLEMENT, B.; TESTA, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. *J. Med. Chem.*, v. 47, p. 2393-2404, 2004.

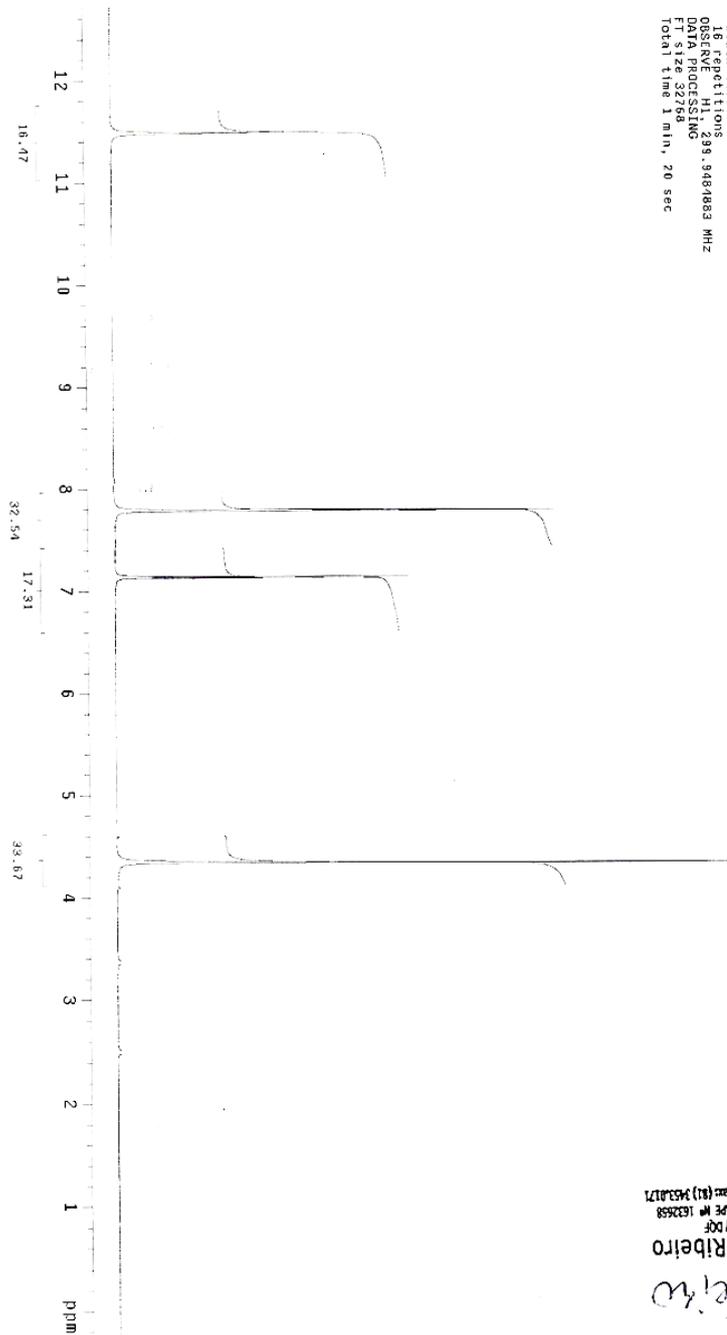
ALLEY, M. C. *et al.* Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Research*, v. 48, p. 589- 601, 1988.

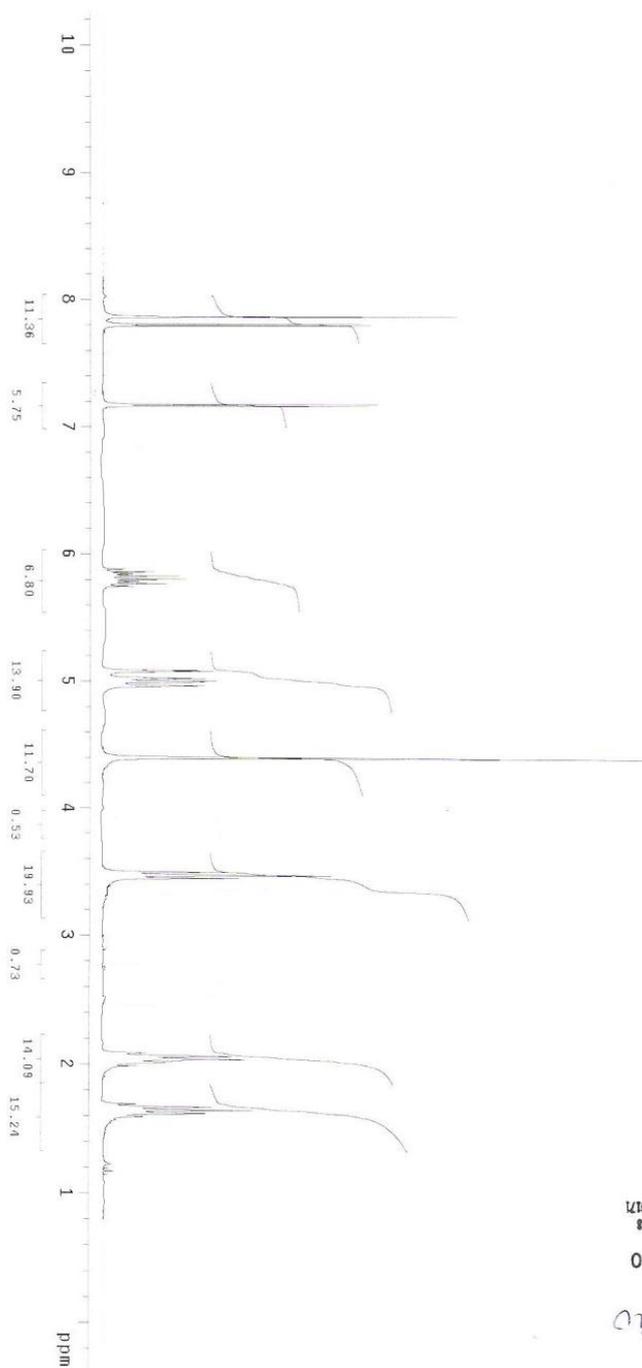
MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65: 55-63, 1983.

RODRIGUES, F. A. R. *et al.* Mefloquine–Oxazolidine Derivatives: A New Class of Anticancer Agents. *Chem Biol Drug Des*, v. 83, p. 126–131, 2014.

HOUGHTON, P.; FANG, R.; TECHATANAWAT, I.; STEVENTON, G.; HYLANDS, P. J.; LEE, C.C. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. *Methods*, v. 42: 377-387, 2007.

# **ANEXOS**

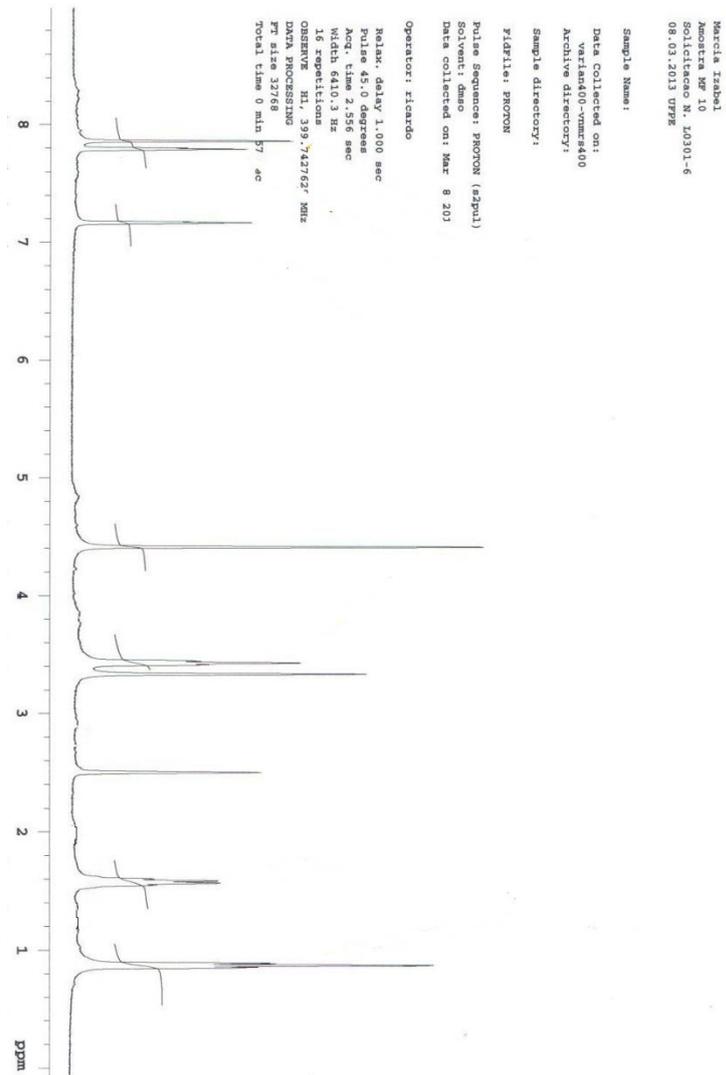
Anexo A -RMN H<sup>1</sup>: Substância 1-nitrofurantóina

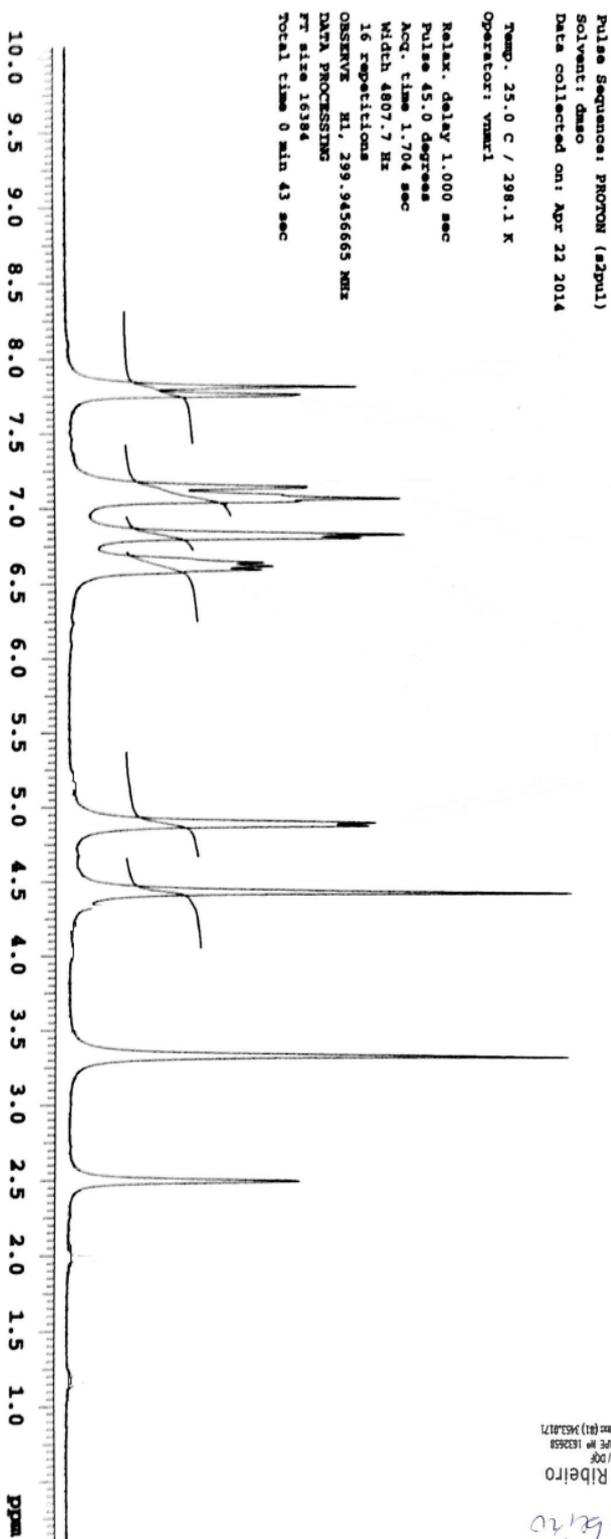
Anxo B -RMN H<sup>1</sup>: Substância 13

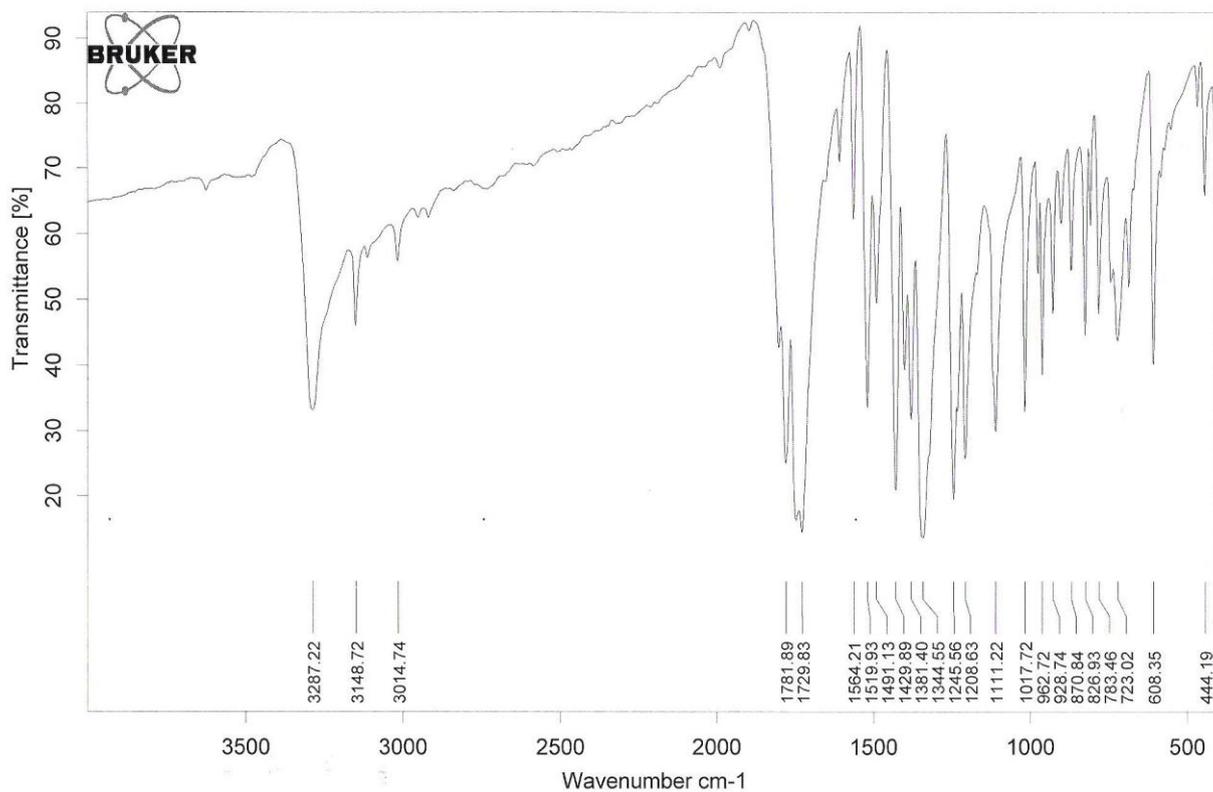
Marcia Izabel  
ANEXO B - RMN H<sup>1</sup>  
10.03.11\_UJFE  
Pulse Sequence: s2pu1  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
UNITYplus-300 <sup>1</sup>HFEU300  
Relax. delay 1.359 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Width 409.0 Hz  
16 repetitions  
OBSERVE H1 299.9484839 MHz  
DATA PROCESSING  
F1 size 32768  
Total time 1 min, 20 sec

Abene Silva Ribeiro  
Central Analítica / DQF  
Técnica de Laboratório - SIAPE Nº 182658  
Fones: (51) 2125.0445 Fone/Fax: (51) 2453.0171

*Abene Ribeiro*

Anexo C -RMN H<sup>1</sup>: Substância 10

Anxo D -RMN H<sup>1</sup>: Substância 25

Anexo E -IV  $\text{cm}^{-1}$ : Substância 1

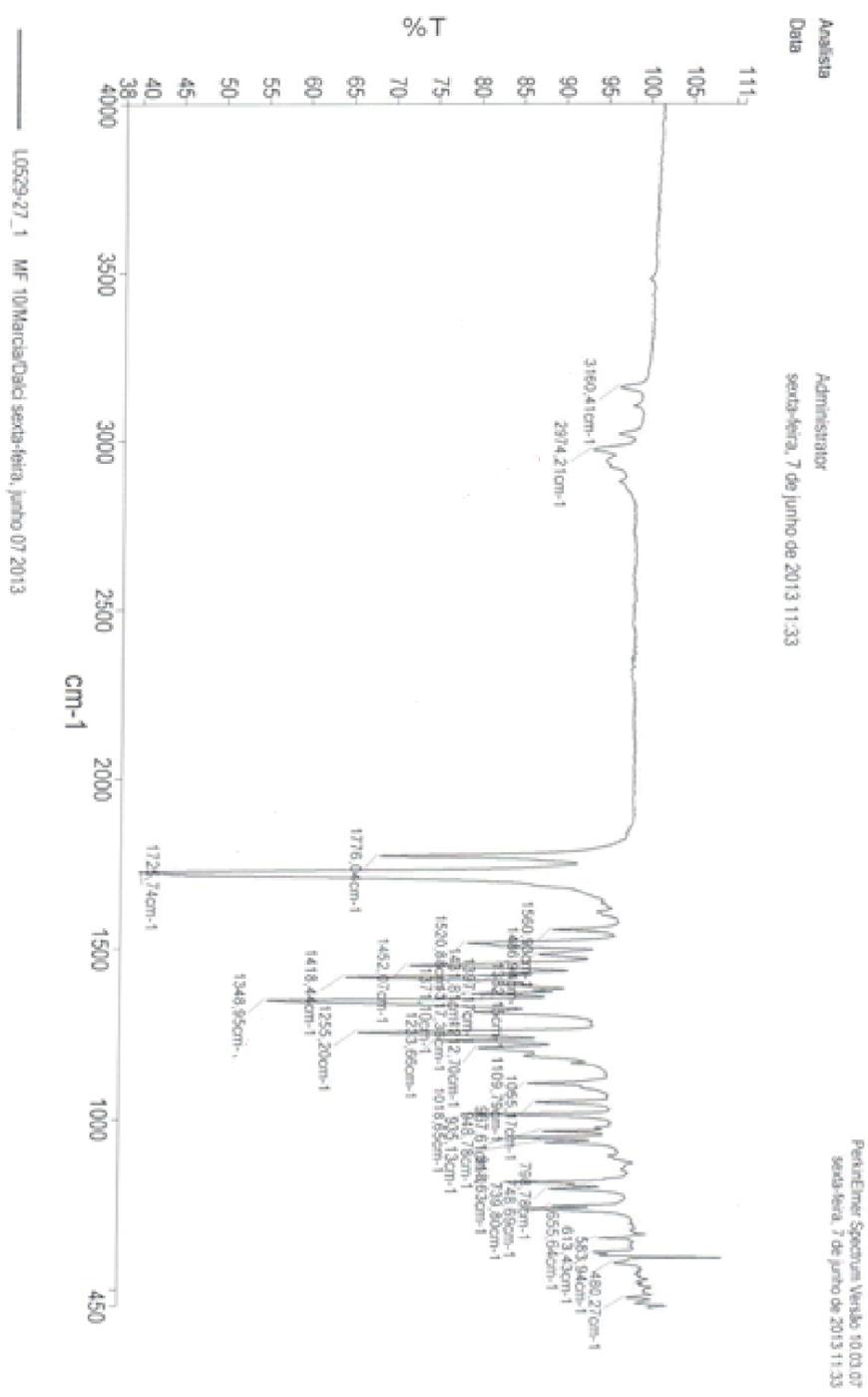
C:\Program Files\OPUS\_65\Meas\OUT10\15\11014-9.0

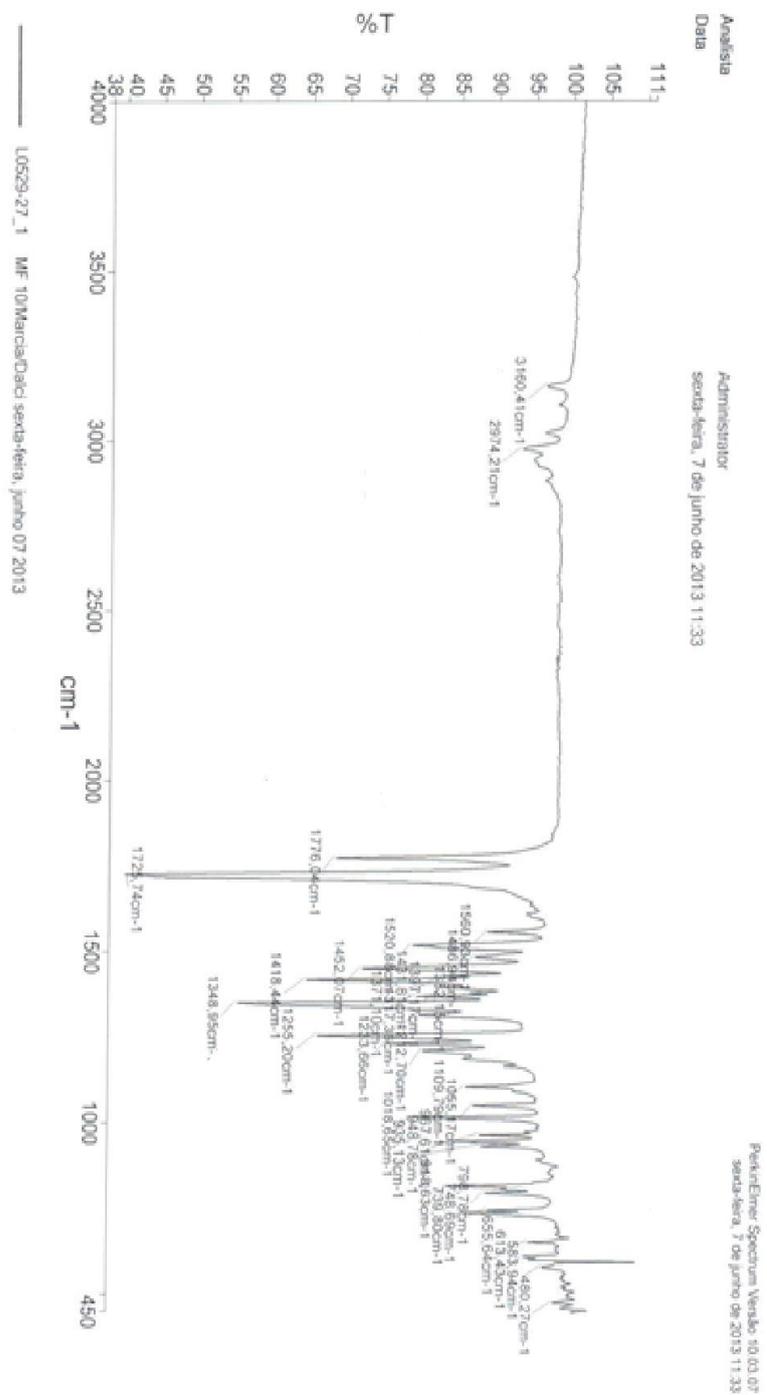
MA-NF/Marcia(Dalci)

Pastilha de KBr

10/15/2010

Anxo F -IV cm<sup>-1</sup>: Substância 10



Anexo G -IV  $\text{cm}^{-1}$ : substância 13

Anexo H -IV cm<sup>-1</sup>: Substância 25

