



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

ERALDO ANTUNES GUIMARÃES NETO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA
DA SÉRIE 2-[(2-PIRIDINIL-METILENO)HIDRAZONO]- 5-BENZILIDENO-4-
TIAZOLIDINONA**

RECIFE

2012

ERALDO ANTUNES GUIMARÃES NETO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA
DA SÉRIE 2-[(2-PIRIDINIL-METILENO)HIDRAZONO]- 5-BENZILIDENO-4-
TIAZOLIDINONA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José Gildo de Lima

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes

**RECIFE
2012**

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4-1895

G963s Guimarães Neto, Eraldo Antunes.
 Síntese e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica da
 série 2-[(2-piridinil-metileno) hidrazono]-5-benzilideno-4-tiazolidinona/ Eraldo
 Antunes Guimarães Neto. – Recife: o autor, 2012.
 105 f.: il.; 30 cm.

 Orientador: José Gildo de Lima.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
 Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências
 Farmacêuticas. Recife, 2012.
 Inclui referências.

 1. 4-tiazolidinonas. 2. Benzilideno. 3. Antimicrobiana. 4. Citotóxicidade.
 I. Lima, José Gildo de (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2017-286)



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



Recife, 29 fevereiro de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado de Eraldo Antunes Guimarães Neto, defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 29 de fevereiro de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores doutores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: José Gildo de Lima do Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Antônio Rodolfo de Faria do Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior do Depto. de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB.

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA EXTERNA: Gardênia Carmen Gadelha Militão do Depto. de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

Assinatura: _____

ERALDO ANTUNES GUIMARÃES NETO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA
DA SÉRIE 2-[(2-PIRIDINIL-METILENO)HIDRAZONO]- 5-BENZILIDENO-4-
TIAZOLIDINONA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

BANCA EXAMINADORA:

Presidente:

Prof. Dr. José Gildo de Lima - DCFar/ UFPE

Membro Interno Titular:

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria - DCFar /UFPE

Membro Externo Titular:

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior - DCB/UEPB

Membro Externo Titular:

Prof^a. Dr^a. Gardênia Carmen Gadelha Militão - DFF/UFPE

Membros Suplentes:

Prof. Dr. Antônio José Alves - DCFar/ UFPE

Prof^a. Dra. Janete Magaly de Araújo – DA/UFPE

**RECIFE
2012**



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

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Tadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

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

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

Aos meus pais, pelo exemplo de respeito e dignidade;

A minha tia Terezinha, pela confiança depositada em mim;

Aos meus amigos pelas horas de companheirismo e vontade de vencer mesmo diante das adversidades

AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela oportunidade de viver com saúde e paz e pelas graças concedidas que recebi em toda a minha vida.
- Aos meus pais, pela educação, ensinamentos de lealdade e dignidade e por todo o carinho e paciência necessária a minha formação e pelo suporte para conquistar os meus objetivos.
- À minha Tia Terezinha pelos ensinamentos de valores que foram necessárias para minha formação, além de acreditar em mim nos momentos mais difíceis da minha vida.
- Ao meu orientador José Gildo de Lima, pela paciência, confiança, ensinamentos e pela amizade construída nesse período da minha vida;
- Ao Prof. Alexandre Góes pela oportunidade de desenvolver o mestrado no seu laboratório, além de ensinamentos e experiência de vida ensinada no dia-dia.
- A Prof^a. Ana Beatriz pelos ensinamentos e experiências que, de uma forma ou de outra ajudaram no desenvolvimento do presente trabalho.
- Aos Meus colegas de Mestrado: Juliana, Willians e Hugo pelos momentos e companheirismo vividos no mestrado.
- Aos meus amigos pertencentes aos outros laboratórios: Wanderlan, Dyego, Marcia, Andreia, Victor, Gevânio e Leilane por todo companheirismo, amizade e pelos momentos vivenciados em suas presenças.
- Aos meus amigos de graduação, por todos os momentos inesquecíveis proporcionados, em especial Almir, Henrique, Everton, Diego Bezerra, Luiz Carlos, Lenarthe.
- A minha família, que de uma forma e de outra me ajudaram nos momentos de tristeza, em especial minhas primas Fabiana e Thamires e meus primos Thiago e Fabio, os quais consideram como irmãos;.
- A toda equipe integrante da central analítica (DQF-UFPE), em especial à Eliete, Elaine e Abene e Professor Ricardo, sempre bastante voluntariosos e atenciosos para esclarecimentos de dúvidas encontradas na elucidação dos espectros.
- A todos os professores que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), por compartilharem seus vastos conhecimentos, mostrando-me uma nova visão científica.
- A todos os funcionários do DCFar, em especial Iguaci, Fátima, Conceição e Margareth.

- A CAPES e CNPQ, pelo incentivo Financeiro concedido;
- A todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para o desenvolvimento do meu trabalho.

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

RESUMO

Doenças infecciosas causadas por micro-organismos resistentes são alvo de estudo de cientistas, pois afetam milhares de pessoas, sendo prevalente em ambiente hospitalar. A infecção hospitalar vem sendo tratada com bastante atenção, pois se alastra pelos principais centros hospitalares no mundo, atingindo principalmente indivíduos imunocomprometidos e pacientes com câncer e AIDS. Outro tema bastante preocupante, a resistência das células neoplásicas a diversos fármacos vem dificultando o processo da quimioterapia, pois já existem relatos na literatura mostrando que esse fato prejudica o tratamento de diversos casos de câncer metastático. Diante desse quadro, existe a necessidade de buscar novos fármacos mais eficazes e seguros. As 4-tiazolidinonas vêm ganhando destaque, por estar presente em diversos compostos que apresentam amplo espectro de propriedades biológicas comprovado. Na busca de novas substâncias ativas contra micro-organismos resistentes, bem como apresentando boa atividade citotóxica, desenvolvemos a síntese de uma série de 2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-4-tiazolidinona (**3a-d**) e seus derivados 5-benzilideno-2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-4-tiazolidinona (**4a-p**), com a intenção de sintetizar novos compostos ativos frente à bactérias e fungos, e com atividade antineoplásica. As 5-benzilideno-4-Tiazolidinonas (4a-p) foram sintetizadas em três etapas. A primeira constituiu a obtenção das tiossemicarbazonas (**2a-d**), que foram sintetizadas a partir de tiossemicarbazidas (1a-d) e 2-formilpiridina e meio hidroetanólico e presença de ácido acético em quantidades catalíticas. As 4-tiazolidinonas (3a-d) foram obtidas através da condensação entre tiossemicarbazonas e ácido cloroacético, em presença de acetato de sódio anidro em meio etanólico. Já as 5-benzilideno-4-tiazolidinonas foram sintetizadas através da reação de condensação do tipo Knoevenagel, através dos intermediários (3a-d) com benzaldeídos. Após purificação, os compostos finais apresentaram rendimentos entre 44-87%. Todos foram caracterizados por métodos espectrométricos convencionais (RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV), apresentando-se consistentes com as respectivas estruturas. Todos os compostos da série (4a-p) e seus percursores (3a-d) foram testados in vitro contra bactérias e fungos e para o teste citotóxico em células tumorais. A maioria dos compostos não apresentou boas atividades diante de diversos micro-organismos, no entanto o composto 3a apresentou excelente atividade diante da *Candida albicans* e *Fusarium moniliforme*, apresentando resultados comparáveis a nistatina. No teste citotóxico os compostos 2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-4-tiazolidinona ($\text{IC}_{50} = 1,6 \mu\text{g/mL}$), 2-[(4-piridinil-metileno)-hidrazono]-5-*p*-dimetilamino-benzilideno-4-tiazolidinona ($\text{CI}_{50} = 0,7 \mu\text{g/mL}$) e 2-[(4-piridinil-metileno)-hidrazono]-5-*p*-nitro-benzilideno-4-tiazolidinona IC_{50} ($= 0,5 \mu\text{g/mL}$) apresentaram excelentes resultados, reduzindo significantemente o crescimento de linhagens tumorais, sendo este efeito mais pronunciado nas linhagens HEp-2. Esses compostos apresentaram concentração inibitória superior ao etoposídeo ($\text{IC}_{50} = 6,63 \mu\text{g/mL}$), indicando a presença do radical benzilideno produzindo um efeito positivo na atividade citotóxica para esta série.

Palavras-chave: 4-Tiazolidinonas; Benzilideno; Antimicrobiana; Citotoxicidade.

ABSTRACT

Infectious diseases caused by resistant microorganisms are studied by scientists, as they affect thousands of people and are prevalent in a hospital environment. The hospital infection has been treated with great attention, as it is spread through the main hospitals throughout the world, reaching mainly immunocompromised individuals and patients with cancer and AIDS. Another very worrying theme, the resistance of neoplastic cells to several drugs, has been making the chemotherapy process difficult, since there are already reports in the literature showing that this fact harms the treatment of several cases of metastatic cancer. Before this situation, there is a need to seek new, more effective and safe drugs. The 4-thiazolidinones have been gaining prominence, being present in several compounds that have a comprehensive spectrum of biological properties proven. In the search for new active substances against resistant microorganisms as well as good cytotoxic activity, we have developed the synthesis of a series of 2 - [(2-pyridinyl-methylene) hydrazono] -4-thiazolidinone (3a-d) and its derivatives 5-benzylidene-2 - [(2-pyridinyl-methylene) hydrazono] -4-thiazolidinone (4a-p), with the intention of synthesizing new active compounds against bacteria and fungi, and with antineoplastic activity. The 5-benzylidene-4-thiazolidinones (4a-p) were synthesized in three steps. The first one consisted of obtaining the thiosemicarbazones (2a-d), which were synthesized from thiosemicarbazides (1a-d) and 2-formylpyridine and hydroethanolic medium and from the presence of acetic acid in catalytic amounts. The 4-thiazolidinones (3a-d) were obtained by condensation between thiosemicarbazones and chloroacetic acid in the presence of anhydrous sodium acetate in medium ethanolic. The 5-benzylidene-4-thiazolidinones were synthesized through the Knoevenagel type condensation reaction through the intermediates (3a-d) with benzaldehydes. After purification, the final compounds showed yields of 44-87%. All were characterized by conventional spectrometric methods (RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV), and were consistent with the respective structures. All compounds of the series (4a-p) and their precursors (3a-d) were tested in vitro against bacteria and fungi and for cytotoxic testing on tumor cells. Most of the compounds did not present good activity in the presence of several microorganisms, however, the 3a compound presented excellent activity against *Candida albicans* and *Fusarium moniliforme*, presenting results comparable to nystatin. In the cytotoxic test the 2 - [(2-pyridinyl-methylene) hydrazono]-4-thiazolidinone compounds ($\text{IC}_{50} = 1.6 \mu\text{g} / \text{mL}$), 2 - [(4-pyridinylmethylene) hydrazono]-5-benzilidene ($\text{IC}_{50} = 0.7 \mu\text{g} / \text{ml}$) and 2-[(4-pyridinyl-methylene)-hydrazono]-5-p-nitro-benzylidene-4-thiazolidinone ($\text{IC}_{50} = 0.5 \mu\text{g} / \text{mL}$) presented excellent outcomes, reducing significantly the growth of tumoral lineages, being this effect more pronounced in the HEP-2 lineages. These compounds had a higher inhibitory concentration to the etoposide ($\text{IC}_{50} = 6.63 \mu\text{g} / \text{mL}$), indicating the presence of the benzylidene radical producing a positive effect on cytotoxic activity for this series.

Keywords: 4-Thiazolidinones, Benzylidene, Antimicrobial, Cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gráfico mostrando decréscimo de indústrias farmacêuticas interessados por novos fármacos antimicrobianos.....	26
Figura 2: Estrutura da linezolida.....	27
Figura 3: Tipos de Câncer mais estimados para 2010.....	29
Figura 4: Conversão de célula normal em maligna.....	30
Figura 5: Estrutura geral das 4-Tiazolidinonas.....	31
Figura 6: Derivados 4-tiazolidinona com atividade antimicrobiana e antifúngica.....	39
Figura 7: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antimicrobiana.....	40
Figura 8: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antitumoral.....	41
Figura 9: Derivados 4-Tiazolidinonas com atividade frente à câncer de pulmão.....	41
Figura 10: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antiedematoso.....	41
Figura 11: Derivados 4-tiazolidinonas que apresentaram atividade frente ao <i>Toxoplasma gondii</i>	42
Figura 12: Derivados 4-Tiazolidinonas que apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica.....	42
Figura 13: Derivado 4-tiazolidinona com atividade antineoplásica.....	43
Figura 14: Estruturas dos compostos 4-tiazolidinonas planejados para este trabalho.....	44
Figura 15: Espectro de IV referente à tiossemicarbazona 2c (pastilha de KBr).....	49
Figura 16: Espectro de IV para o derivado 4-tiazolidinona 3c (pastilha de KBr).....	53
Figura 17: Espectro de IV para o derivado 5-benzilideno-4-tiazolidinona 4l (pastilha de KBr)	54
Figura 18: Espectro de RMN ¹ H para a 4-tiazolidinona 3c (CDCl ₃ ; 400 MHz), ilustrando os singletos referentes aos grupos metileno e azometínico.....	57

Figura 19: Espectro de RMN ^1H para o derivado 5-benzilideno-4-tiazolidinona 4i (CDCl_3 ; 400 MHz), ilustrando principalmente o singlete referente hidrogênio vinilidênico.....	57
Figura 20: Estruturas teóricas dos diastereoisômeros <i>Z</i> e <i>E</i> para as 4-tiazolidinonas da série 4a-p	58
Figura 21: Compostos sintetizados no trabalho de Vicini <i>et al.</i> 2006.....	59
Figura 22: Composto 5-benzilideno 4-tiazolidinona utilizado no trabalho de Vicini et al. 2006.....	64
Figura 23: Compostos sintetizados por Verçoza <i>et al.</i> , 2008 para avaliação da atividade antimicrobiana.....	65
Figura 24: Composto 5-benzilideno-4-tiazolidinona com atividade antineoplásica.....	68

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Rotas sintéticas de formação das 4-Tiazolidinonas	32
Esquema 2: Síntese de derivados 4-Tiazolidinonas por condensação “one pot”	33
Esquema 3: Síntese de derivados 4-tiazolidinonas com o sistema THF/DCC	34
Esquema 4: Síntese de 4-tiazolidinonas pela metodologia de micro-ondas	34
Esquema 5: Síntese de derivados 4-tiazolidinonas a partir de tiossemicarbazonas	35
Esquema 6: Síntese de derivados de 4-tiazolidinonas a partir de ácidos α -haloacéticos	35
Esquema 7: Síntese de iminotiazolidinonas a partir de tiouréias e derivados de ácido α -haloacéticos	36
Esquema 8: Síntese de tiazolidinonas a partir de aciltiossemicarbazidas	37
Esquema 9: Condensação de tiouréias com o DMAD, formando novas 4-tiazolidinonas	38
Esquema 10: Síntese de compostos tiazolidinônicos seguindo a reação de tia-Michael	38
Esquema 11: Rota Sintética Programada para obtenção de 4-Tiazolidinonas e Derivados	47
Esquema 12: Mecanismo de formação das tiossemicarbazonas da série 2a-d	48
Esquema 13: Mecanismo de reação geral para obtenção das 4-tiazolidinonas da série 3a-d	50
Esquema 14: Mecanismo da reação de síntese da 5-benzilideno-4-tiazolidinona 4a-p	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (3a-d)	53
Tabela 2: Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (4a-p).....	54
Tabela 3: Principais deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ¹ H para as 4-tiazolidinonas (3a-d).....	55
Tabela 4: Principais deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ¹ H para as 4-tiazolidinonas (4a-p).....	56
Tabela 5: Principais deslocamentos químicos encontrados no RMN de ¹³ C.....	60
Tabela 6: Halos em milímetros (mm) referentes a atividade antimicrobiana dos compostos 3a-d e 4a-p	62
Tabela 7: Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Mínima Bacteriostática (CMB) e Concentração Mínima Fungistática (CMF) dos compostos 4-tiazolidinona selecionados.....	63
Tabela 8: Percentual de inibição do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais testadas nas doses de 25 µg/mL.....	66
Tabela 9: Valores de CL ₅₀ e intervalo de confiança após 72 h de incubação.....	67

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Espécies de bactérias e fungos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana para os compostos sintetizados	96
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NA -	Agar nutritivo
BHI -	Brain heart infusion
CCD -	Cromatografia camada delgada
CDCl_3 -	Clorofórmio deuterado
CIM -	Concentração inibitória mínima
DMSO-d_6 -	Dimetilsulfóxido deuterado
DCC -	Dicicloexilcarbodiimida
DCU -	Dicicloexilureia
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
HRMS -	Espectrômetro de massa de alta resolução
IARC/OMS-	Instituto Americano de pesquisa sobre Câncer/ Organização mundial de Saúde
IC_{50} -	Concentração inibe 50% do processo
IV-	Infravermelho
INCA -	Instituto Nacional do Câncer
IUPAC -	União Internacional de Química Pura e Aplicada
MRSA -	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
$\text{RMN } ^1\text{H}$ -	Ressonância Magnética Nuclear de Próton
$\text{RMN } ^{13}\text{C}$ -	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
THF -	Tetrahidrofurano
UFC/ml -	Unidade formadora de colônia/mililitro
VRE -	<i>Enterococcus</i> resistente a meticilina
ZMI -	Zona de inibição mínima

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1. RESISTENCIA BACTERIANA	24
2.2. CÂNCER	28
2.3 4-TIAZOLIDINONAS	31
2.3.1 QUÍMICA DAS 4-TIAZOLIDINONAS	33
2.3.1.1 Síntese de 4-tiazolidinonas envolvendo mercaptoácidos	34
2.3.1.2 Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de ácidos α -haloacéticos e derivados	35
2.3.1.3 Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de tioamida e anidrido maleico ou acetildicarboxilato de dimetila	37
2.3.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS 4-TIAZOLIDINONAS	38
3 OBJETIVOS	44
3.1. OBJETIVO GERAL.....	44
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS SÉRIES 4-TIAZOLIDINONAS 3a-d e 4a-p	47
4.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E MECANISMOS REACIONAIS	48
4.2.1 OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS (2a-d)	48
4.2.2 OBTENÇÃO DE 2-[(2-PIRIDINOMETILENO)HIDRAZONO]-4-TIAZOLIDINONAS (3a-d)	50
4.2.3 OBTENÇÃO DE 2-[(2-PIRIDINOMETILENO)HIDRAZONO]-5-BENZILIDENO-4-TIAZOLIDINONAS (4a-p)	51
4.2.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS TIAZOLIDINÔNICOS (3a-d) e (4a-p)	52
5 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS DERIVADOS 4-TIAZOLIDINÔNICOS	62
5.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	64
5.2 ATIVIDADE CITOTÓXICA	67

6 CONCLUSÃO	70
7 MATERIAIS E MÉTODOS	72
7.1 PARTE EXPERIMENTAL	72
7.1.1 CROMATOGRAFIAS	72
7.1.2 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE FUSÃO	72
7.1.3 ESPECTROSCOPIAS DE IV, RMN ¹ H E RMN ¹³ C	72
7.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	73
7.2.1 PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS NÃO SUBSTITUÍDAS E SUBSTITUÍDAS (2a-d)	73
7.2.2 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS PARA AS TIOSSEMICARBAZONAS NÃO SUBSTITUÍDAS E SUBSTITUÍDAS (2a-d)	73
7.2.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DE 4- TIAZOLIDINONAS (3a-d)	74
7.2.4 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS PARA AS 4- TIAZOLIDINONAS (3a-d)	76
7.2.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DE 2-[2- PIRIDINOMETILENO)-HIDRAZONO]-5-BENZILIDENO-4- TIAZOLIDINONAS (4a-p)	80
7.2.6 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS PARA AS 2-[2- PIRIDINOMETILENO)-HIDRAZONO]-5-BENZILIDENO-4- TIAZOLIDINONAS (4a-p).....	80
7.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA	96
7.3.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	96
7.3.2 ATIVIDADE DE CITOTOXICIDADE	99
REFERÊNCIAS	100

Introdução e Revisão de Literatura

1 INTRODUÇÃO

É notável, e ao mesmo tempo fascinante, o interesse da Química Medicinal pela busca de novas moléculas para o tratamento de diversas doenças que afligem a humanidade ao longo dos anos. O homem sempre procurou estudar as propriedades biológicas dos compostos bioativos para a cura de enfermidades (BARREIRO, 2001).

Dentre os diversos alvos de pesquisas, as patologias provocadas por bactérias multirresistentes ganham destaque, pois elas atualmente vêm se tornando um problema de Saúde Pública (NIELSEN et al., 2004), pois os agentes etiológicos dessas moléstias apresentam mecanismos de resistências ao arsenal terapêutico existente atualmente. (VICINI et al., 2006).

Embora a indústria farmacêutica se preocupe em lançar novas alternativas para combate a multirresistência, a produção de novos fármacos não acompanha a velocidade de surgimento de novas cepas resistentes (HARRIS e THORARENSEN, 2002). Os medicamentos utilizados na última linha de defesa (vancomicina, teicoplanina e linezolida) em alguns casos, se tornam ineficazes diante de diversos micro-organismos multirresistentes, como *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA), *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) entre outros patógenos (SILVEIRA et al., 2006, GOULD, 2008, NIELSEN et al., 2002).

Outro tema bastante debatido na ciência, a busca de novos compostos bioativos para o tratamento do câncer, ganha notoriedade por se tratar de uma doença crônico-degenerativa que possui altos índices de morte em todo o mundo (ALMEIDA et al., 2004). Estimativas mostram altas taxas de incidência dessa doença, principalmente nos países que apresentam expectativa de vida elevada e também que apresentam altos índices exposição à carcinógenos como álcool e o tabaco (BOFFETTA & McCORMACK, 2010; MAI et al., 2011).

“Além disso, os mecanismos de resistência, por parte das células neoplásicas a fármacos dificulta o tratamento de vários tipos de tumores” (HUBER, 2010), não obstante, outros fatores também devem ser considerados como reações adversas fortes, além de alta toxicidade, dificultando a aceitação do tratamento por parte do paciente.

Diante desse cenário, é importante a missão da Química Medicinal de buscar novos compostos bioativos para combate a essas doenças que afligem grande parte da população

mundial, compostos estes que sejam eficientes no seu objetivo, ao mesmo tempo, ofereçam susceptibilidade ao tratamento, além de baixa incidência de reações adversas.

Dentre esses compostos, as 4-tiazolidinonas, que existem diversos estudos na literatura onde se demonstram a aplicação de novos compostos sintéticos contra essas doenças (OTTANA et al., 2005).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência bacteriana vem dificultando o tratamento de diversas doenças infecciosas. Origina-se pelo uso extensivo (e abusivo) de antibióticos por consequente seleção natural de cepas resistentes, através de mutação e transferência de genes, com a produção de uma maquinaria bacteriana capaz de superar as ações de muitos antibióticos. (CHU et al., 1996).

De um modo geral, a resistência bacteriana deve ser entendida como um mecanismo adaptativo de evolução da espécie ao meio onde se esteja inserido (SILVEIRA et al., 2006).

As bactérias dispõem de numerosos processos adaptativos de ordem genéticos, sendo estes de modo natural, como mutação ao acaso do material genético e outros mais sofisticados como plasmídeos e transposons, que por sua vez promove a distribuição de importantes genes de resistência entre muitos gêneros e espécies de bactérias (STEFANI, 2005).

Além desses fatores, outros mecanismos contribuem para o fenômeno da multirresistência, como: efluxo ativo de compostos potentes, genes de resistência à vancomicina, evolução de beta-lactamases e gentes mutantes com menor afinidade a DNA girase. (HARRIS et al., 2002).

Além da questão genética, outro fator que contribui para o fenômeno da resistência é o uso indiscriminado de antibióticos. A utilização indevida de alguns antibióticos, além de indicações inadequadas, contribui para que seja a força motriz para o desenvolvimento dos mecanismos de resistência (STEFANI, 2005).

Existem relatos, sobretudo nos EUA e Europa, que estimam que uma grande parte da produção total de antibióticos é direcionada para o tratamento de patógenos que acometem tanto animais como também humanos, produzindo assim o aparecimento de cepas resistentes (STEFANI, 2005). Outros fatores relevantes para o desenvolvimento da resistência é o uso incorreto dos antibióticos favorecendo “ambiente favorável” para o aparecimento de patógenos resistentes.

Embora o problema da resistência seja global, a situação é mais grave nos países subdesenvolvidos. O surgimento de cepas multirresistentes em indivíduos com tuberculose, infecções respiratórias agudas e diarreia, muitas vezes referida como doenças da pobreza, teve seu maior tributo em países em desenvolvimento. A epidemia de HIV / AIDS, com mais de

30 milhões de casos em países em desenvolvimento, tem aumentado a população de pacientes imunocomprometidos.

Fatores como a pobreza, ignorância, falta de saneamento, a fome e a desnutrição, acesso inadequado aos medicamentos, sistemas de cuidados de saúde inadequados e pobres, conflitos civis e descaso por parte dos governantes nos países em desenvolvimento compromete o sucesso no controle das doenças infecciosas (BYARUGABA, 2004).

De fato, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima em cinco milhões de mortes neonatais acontecem por ano, devido a doenças infecciosas, (KAYANGE et al., 2010).

“Dentre os microorganismos que adquiriram a capacidade de resistência e provocar graves doenças infecciosas, destacam-se os estafilococos, os enterococos e os pneumococos” (TAVARES, 2000).

As infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA) é um dos maiores desafios da terapia antimicrobiana, com aumento na taxa de mortalidade em países desenvolvidos de até 30%. Ao longo dos anos o MRSA gerou uma drástica diminuição na sensibilidade a maioria dos antibióticos das principais classes de uso comum como as cefalosporinas, penicilinas, carbapenems, quinolonas e aminoglicosídeos (GOULD, 2008).

Conforme citado anteriormente, MRSA vem botando em xeque toda a era de ouro da antibioticoterapia. As infecções causadas por cepas resistentes já chegaram a atingir mais de 50% das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) dos Estados Unidos (GOULD, 2008). Outro fato importante é o desenvolvimento de *enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) (antibiótico glicopeptídico), considerado como a última linha de defesa contra cepas resistentes, já foram relatados resistências a este fármaco (GOULD, 2008). “O perigo dessa combinação pode ser o desenvolvimento de cepas de *Staphylococcus aureus* que possam desenvolver resistência à vancomicina.” (BRICKNER et al., 1996)

Por outro lado, a produção de novos compostos bioativos vem diminuindo ao longo dos tempos, consequentemente o arsenal terapêutico disponível atualmente não vem atendendo às necessidades médicas. De fato, esta necessidade está intimamente ligada à rapidez e à proliferação de desenvolvimento de resistência, e o número de outros fármacos que podem ser usados para a mesma indicação terapêutica (BUSH, 2004).

Infelizmente, essa crise vem ameaçar a “época de ouro” da antibioticoterapia, tendo em vista que antibióticos antes usados para o tratamento dessas doenças antes susceptíveis, não servem mais para o tratamento dessas cepas. Também devemos considerar que o sucesso da antibioticoterapia nos anos 1980 levou a uma atitude de desprezo à infecção, e falta de uma política de saneamento básico nessas localidades, remonta ao temor das doenças infecciosas. Os problemas sem precedentes de infecção hospitalar e resistência a antibióticos claramente andam lado a lado e se alimentam uns dos outros, sustentada pelo tratamento incorreto, facilitando assim o surgimento da multirresistência. (GOULD, 2009).

Mesmo diante desse quadro, a indústria farmacêutica não consegue produzir novos medicamentos eficazes para o tratamento de doenças causadas por cepas multirresistentes. A prova disso é que ao longo do tempo, o número de companhias que mantêm centros de pesquisa, interessados na busca de novos antimicrobianos vêm em decréscimo ao longo dos anos (Figura 1).

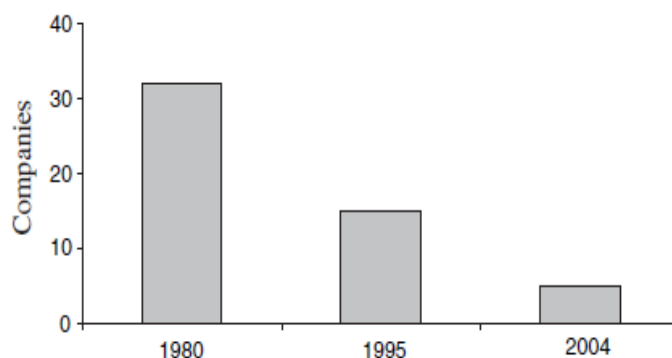


Figura 1: Gráfico mostrando decréscimo de indústrias farmacêuticas interessadas por novos fármacos antimicrobianos (Adaptação de PROJAN e SHLAES, 2004)

De fato, o declínio da produção de antibióticos ao longo dos anos, pela indústria pode ser explicado por vários motivos como: falta de produtividade da indústria, o aumento do tamanho dos ensaios clínicos, o aumento da concorrência dos genéricos e custo dos medicamentos, além de um mercado lotado e confuso. E enquanto muitas (se não a maioria) das grandes empresas de biotecnologia têm saído do campo ou severamente restringida suas pesquisas, outros lhe fizeram um ponto para continuar os seus esforços, citando tanto a necessidade médica não atendida e um grande mercado aparentemente crescente (PROJAN e SHLAES, 2004).

Como consequência, depara-se com a escassez de novos compostos bioativos, com mecanismos de ação diferentes que já existem atualmente. Uma explicação pode ser a prática utilizada pelas grandes indústrias, que, na década de 1970 para 1990 uma grande variedade de antibióticos de uma nova classe de antimicrobianos com novos mecanismos de ação é geralmente seguido por moléculas modificadas e melhoradas da mesma classe, produzindo novos fármacos com largo espectro, obtendo uma maior disponibilidade de medicamentos (THEURETZBACHER, 2009). Como consequência dessa prática, a produção industrial se preocupou mais com a modificação de análogos, pertencentes à mesma classe, em detrimento da preocupação da resistência antimicrobiana. Essa ação culmina na resistência cruzada, onde

moléculas de uma mesma classe de antimicrobianos são inativos contra micro-organismos resistentes.

De fato, a negligência da indústria, aliada ao aumento da pressão dos antibióticos frente a essas cepas infecciosas fez com que ocorresse a evolução natural dos micro-organismos em sentido de “adaptar-se” a esses antibióticos, traduzindo assim em maior custo para tratamento desses pacientes e ineficácia do arsenal terapêutico existente atualmente. Isso se deve principalmente a uso de antibióticos de amplo espectro e largo uso, ocorrendo à forte relação entre uso de medicamentos e resistência (THEURETZBACHER, 2009).

Daí surge à necessidade de produção de novos antibióticos, pelas empresas que ainda se interessam pela produção antimicrobiana. “Antibióticos com foco em bactérias Gram-positivas, incluindo o MRSA (*Staphylococcus aureus* resistentes a metilina), são comercialmente atraentes e incentivam o investimento dos centros industriais como foi demonstrado com o sucesso comercial da linezolida, nos EUA” (THEURETZBACHER, 2009). Este sucesso influenciou ainda mais a percepção positiva do potencial comercial do estreito espectro de antibióticos que alvejam um pequeno, mas clinicamente crítico segmento de mercado.

A partir disso, para atender a necessidade da clínica médica, surge no ano 2000 linezolida (Figura 2), um antibiótico de origem sintética da classe das oxazolidinonas, foi introduzido no mercado farmacêutico em 2001 (PROJAN e SHLAES, 2004).

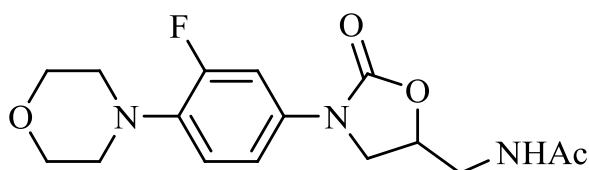


Figura 2: Estrutura da linezolida

Oxazolidinonas se mostram como novos antibióticos capazes de tratar cepas multirresistentes de MRSA, sendo aprovado para fins comerciais no começo do século. No entanto, a velocidade de desenvolvimento de resistência em bactérias cria uma necessidade contínua de novas estruturas de antibióticos, pois já existem relatos de cepas resistentes a esta classe de compostos (BUSH, 2004).

Diante desse quadro alarmante, a química orgânica medicinal ganha importância, na descoberta de novos compostos que apresentem uma maior blindagem frente à resistência, além de parâmetros como segurança e eficácia, amplamente preconizada pela terapêutica.

2.2 CÂNCER

Câncer ou neoplasia maligna pode ser conceituado como um conjunto de doenças, que se caracterizam pelo aumento descontrolado de células em um órgão ou tecido, onde por sua vez nasceram através da perda de controle de processos de diferenciação e controle de crescimento celular, formando tumores de caráter infiltrativo e invasivo (OLIVEIRA e ALVES, 2001; ALMEIDA et al., 2004).

A doença, por sua vez é amplamente discutida em diversos segmentos da ciência, por se tratar uma das doenças crônico degenerativas que causam maior temor na sociedade por carregar um estigma de mortalidade e dor, e ganha este nome, pelo termo que vem do latim *cancer*, que significa caranguejo, pelo aspecto infiltrativo e dificuldade de remoção (ALMEIDA et al., 2004).

“Por se caracterizar, por uma alteração causada em nível de DNA, o surgimento de tumores desse tipo pode ser ao acaso ou através de exposição do organismo a substâncias ou elementos presentes no ambiente, chamados de carcinógenos.” (LOUREIRO et al., 2002).

Esse assunto ganha importante destaque pelo fato do grande aumento do número de casos no decorrer dos anos. Segundo recente relatório da agência internacional para pesquisa em câncer, pertencente a organização mundial de saúde (IARC/OMS), o impacto do câncer no mundo praticamente dobrou em 30 anos. Estimativas projetam cerca de doze milhões de novos casos e sete milhões de óbitos. Dentre os óbitos estimados ocorridos no mundo, os mais incidentes foram: pulmão (1,52 milhão) mama (1,29 milhão), cólon e reto (1,15 milhão).

As principais razões que contribuem para tal quadro são: crescimento populacional, associado ao estilo de vida, além de exposição ocupacional a carcinógenos (INCA, 2010).

Em adição, o declínio nos riscos de doenças infecciosas em geral, a melhoria da assistência médica, principalmente no setor de doenças cardiovasculares, e consumo de álcool e tabaco, principalmente em países em desenvolvimento, pode levar ao aumento nas taxas de certos tipos de câncer (BOFFETA & McCORMACK, 2010).

Esse impacto recairá principalmente sobre países em desenvolvimento e emergentes, pois são aqueles que passam por essa parte de transição populacional e envelhecimento da população. A IARC/OMS estimou que, em 2008 cerca de 70% da mortalidade da doença ocorreram nessas localidades (INCA, 2010).

Além disso, estimativas futuras causam certa preocupação para a saúde pública. Da carga global projetada para os próximos 20 anos, está previsto um aumento entre 13,3 a 21,4 milhões de novos casos, principalmente em países em desenvolvimento. “Fatores importantes como histórico familiar, e modificações de estilo de vida como consumo social de tabaco e álcool poderiam influenciar ainda mais esse peso.” (BOFFETTA & McCORMACK, 2010; MAI et al., 2011).

No Brasil, estimativas, para o ano de 2010 apontam para a ocorrência de 489.270 novos casos de câncer, sendo o mais prevalente o de próstata e pulmão no sexo masculino e mama e colo do útero para o sexo feminino. Estima-se que o câncer de pele do tipo não melanoma (114 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata (52 mil), mama feminina (49 mil), cólon e reto (28 mil), pulmão (28 mil), estômago (21 mil) e colo do útero (18 mil) (Figura 3), sendo a incidência maior nas principais capitais do país, além das regiões mais desenvolvidas (Sudeste e Sul) (INCA, 2010).

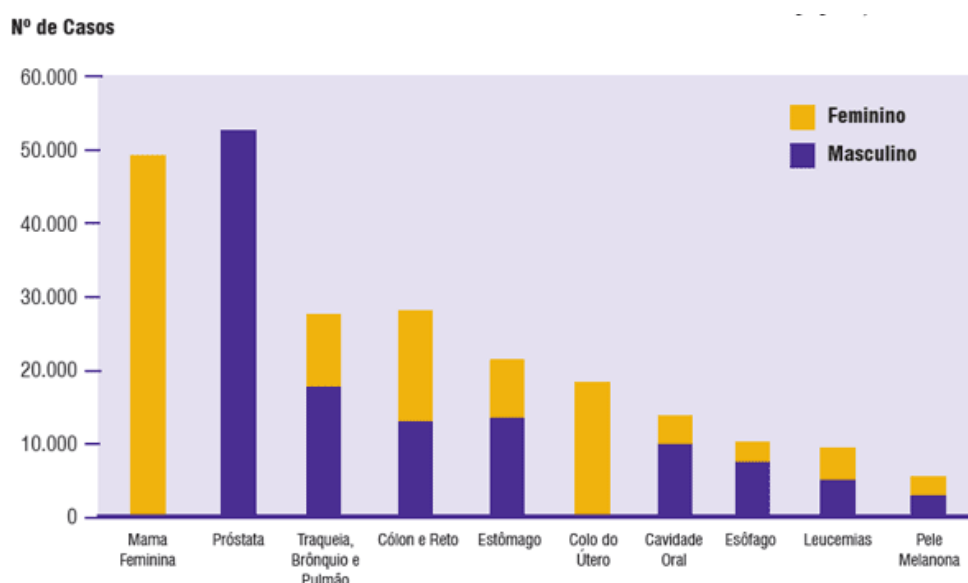


Figura 3: Tipos de Câncer mais estimados para 2010. Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCA)

Do ponto de vista bioquímico, as neoplasias surgem através de alterações em nível de DNA, em genes denominados protooncogenes, onde em uma célula normal encontram-se inativos. Quando um carcinógeno ou um agente ou fator externo provoca alguma alteração, ocorre a conversão em oncogenes que por sua vez são responsáveis pela transformação dessas células normais em células malignas (Figura 4), ou tumorais (ALMEIDA et al., 2004; SPENCER et al., 2001)

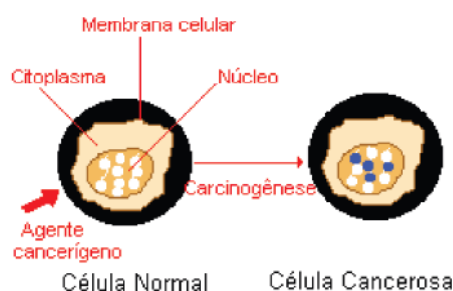


Figura 4: Conversão de célula normal em maligna (Adaptado de ALMEIDA et al., 2004)

A partir daí se inicia o processo de multiplicação dessas células dentro de um órgão ou tecido no organismo, utilizando, para o crescimento dessa massa, todos os nutrientes necessários para o funcionamento do órgão. “Com o crescente aumento dessa tumor, ocorre a indução de formação de novos vasos sanguíneos com a função de nutrição da massa recém formada, processo este chamado de angiogênese.” (LOUREIRO et al., 2002). “Pedacinhos da neoplasia, pode se desprender, podendo se instalar em outros órgãos ou tecidos, com capacidade de indução de crescimento de uma nova massa tumoral, processo esse chamado de metástase.” (ALMEIDA et al., 2004).

Baseado nos dados epidemiológicos mostrados é preciso de um investimento maciço, por parte da ciência e tecnologia para abastecer a clínica médica especializada para um combate efetivo a doença. “Atualmente, para o tratamento das neoplasias, se faz necessário procedimento como cirurgia, radioterapia e quimioterapia,” (ALMEIDA et al., 2004; LOUREIRO et al., 2001; OLIVEIRA & ALVES, 2002). Porém esse último procedimento, se torna muito nocivo ao paciente, pois nem sempre se encontra a dose ideal para tratar o maior número de células possível sem causar reações adversas ao paciente (SANTOS, 2003)

Em adição, relata-se que um dos fatores que atrapalham o sucesso da quimioterapia é o fato de resistência, por parte das células tumorais, aos fármacos utilizados. “Tal processo é responsável pelo insucesso ao tratamento de 90% de casos de câncer metastático” (HUBER et al., 2010).

Este fenômeno de resistência a múltiplos fármacos pode estar relacionado a uma série de fatores desconhecidos pela ciência. Os principais são o transporte do fármaco através da membrana plasmática, alteração nas enzimas-alvo, alteração no metabolismo do fármaco, aumento na reparação do DNA e incapacidade para sofrer apoptose. (BERGMAN, 2003; STAVROVSKAYA e STROMSKAYA, 2008; HUBER et al., 2010).

Diante do exposto, é compreensível a importante necessidade busca de novos compostos bioativos para o tratamento do câncer, e mais uma vez, as 4-tiazolidinonas se mostram como uma importante estrutura com atividade anticâncer. Descrição de diferentes estruturas contendo o anel 4-tiazolidinona contendo esta atividade é notável em diferentes trabalhos (VERMA & SARAF, 2007).

“Apesar dos avanços nas pesquisas, e descobrimento de vários fármacos com aumento de cura de algumas malignidades, em países desenvolvidos e também em desenvolvimento, o câncer ainda é a segunda causa de morte nesses países (ROSTOM, 2006).” Com isso, aumenta a necessidade de descobrimento de novos compostos que apresentem uma menor resistência, além de uma maior chance de cura.

2.3 4-TIAZOLIDINONAS

Dentre os novos compostos bioativos de interesse para a Química Medicinal, as 4-tiazolidinonas vêm ganhando um importante destaque. Do ponto de vista da IUPAC, são conceituadas como classe de compostos derivados da tiazolidina, onde consiste em um anel de cinco membros contendo dois heteroátomos: um átomo de enxofre presente na posição 1, um átomo de nitrogênio na posição 3 e um grupo carbonila na posição 4, podendo apresentar diversos grupos químicos em geral como substituintes nas posições 2, 3 e 5 (Figura 5) (SINGH et al., 1981; PANICO et al., 1993; LIESEN et al., 2008).

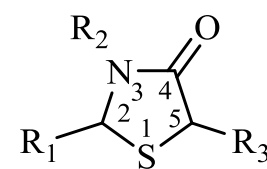
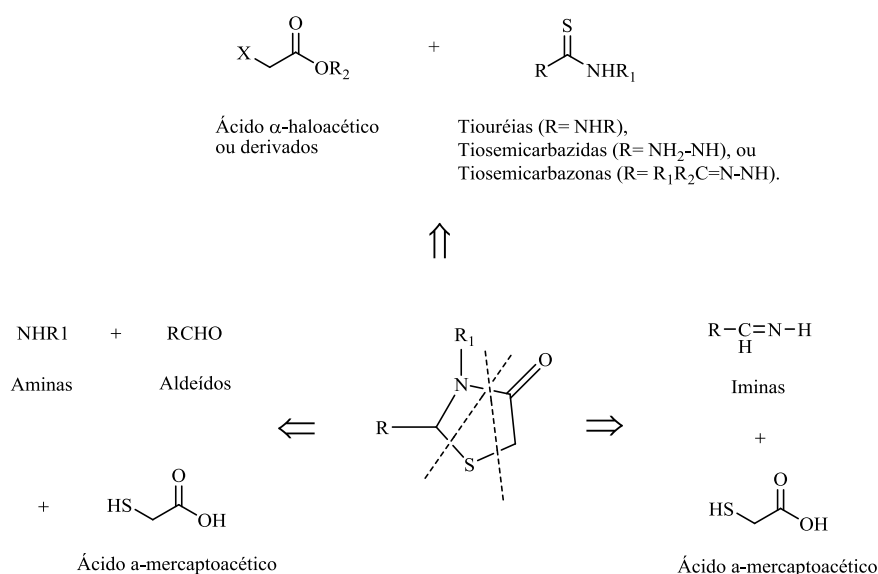


Figura 5: Estrutura geral das 4-Tiazolidinonas

“Do ponto de vista biológico, 4-tiazolidinonas representam uma classe de compostos de grande interesse científico, pois apresentam uma gama de atividades, tais como antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária, antirretroviral, anti-inflamatória e analgésica, antitumoral, dentre outras.” (LIESEN et al., 2008).

2.3.1 QUÍMICA DAS 4-TIAZOLIDINONAS

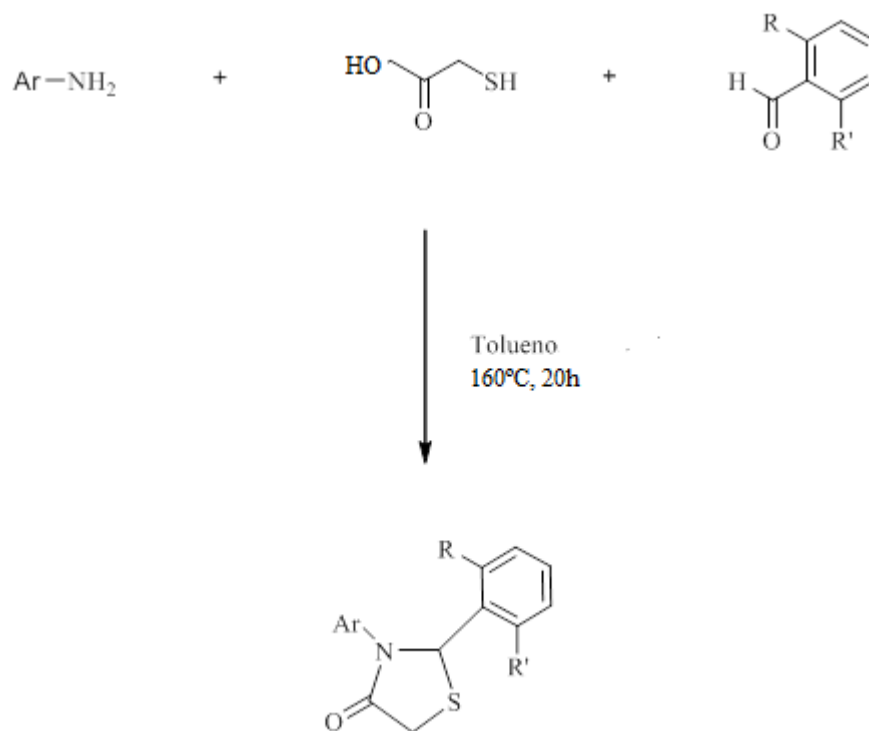
Na literatura, existem várias metodologias para síntese das 4-tiazolidinonas. Mas de um modo geral, podemos resumir que para a produção dessas moléculas é necessário uma amida, um composto carbonilado e um mercaptoácido, podendo ser feita em duas etapas, sendo a primeira com uma reação entre amina e o composto carbonilado, formando imina ou em um processo *one-pot* de três componentes. Além disso, outras formas de obtenção são descritas, utilizando ácido haloacéticos, derivados tiouréia, aciltiossemicarbazidas ou tiossemicarbazonas, como também ciclização entre tioamida e anidrido maleico ou acetilenodicarboxilato de metila (LIESEN et al., 2008). Uma visão geral dessas metodologias é apresentada no Esquema 1.



Esquema 1: Rotas sintéticas de formação das 4-Tiazolidinonas (Adaptado de LIESEN et al. 2008)

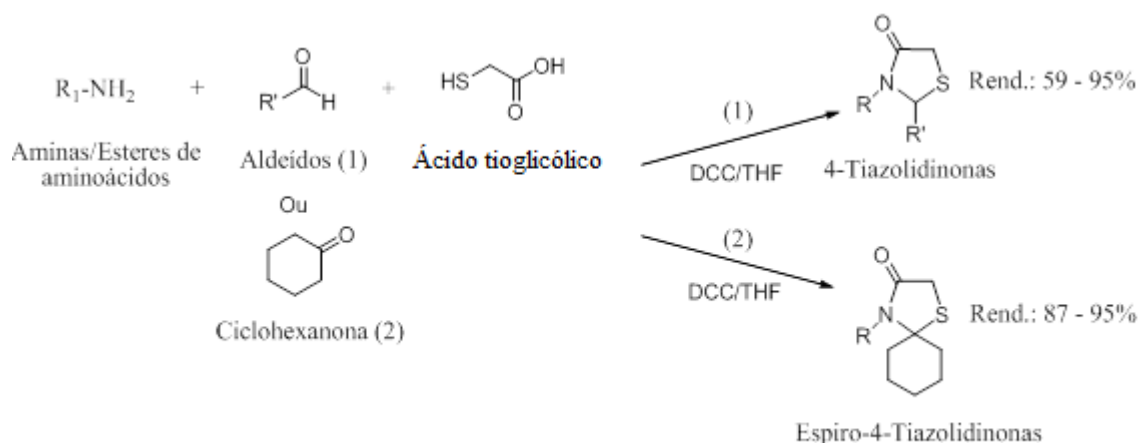
2.3.1.1 Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de reações envolvendo mercaptoácidos

As reações envolvendo ácidos mercaptoacéticos, com aminas primárias ou aminoácidos e compostos carbonilados em uma condensação *one pot*, produz 4-tiazolidinonas dissustituídos na posição 2 e 3, como mostra trabalho desenvolvido por Barreca et al. (2001) (Esquema 2).



Esquema 2: Síntese de derivados 4-Tiazolidinonas por condensação “one pot”(Adaptado de Barreca et al. 2001)

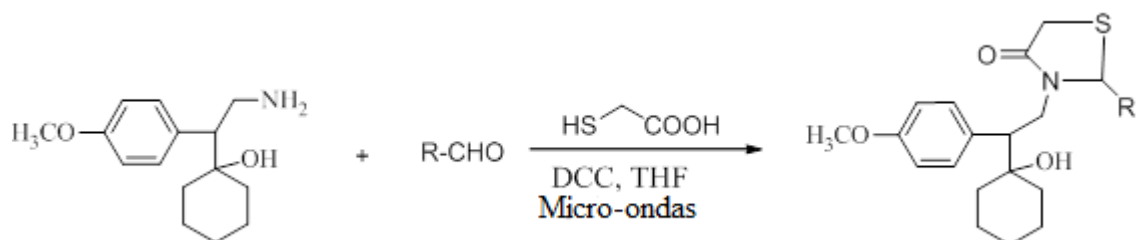
Srivastava et al. (2002) utilizaram como solvente o tetraidrofurano (THF) a 0°C e dicicloexilcarbodiimida (DCC) como sistema de acoplamento, para formação do anel tiazolidinonico (Esquema 3):



Esquema 3: Síntese de derivados 4-tiazolidinonas com o sistema THF/DCC

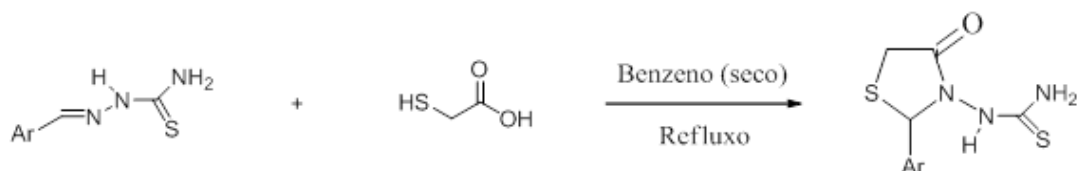
É importante dizer que durante a reação a DCC é transformada em dicicloexiluréia (DCU) que pode ser facilmente removida por filtração, uma vez que a DCU é completamente insolúvel em THF (Tetrahidrofurano). Dentre várias contribuições deste trabalho, é importante mencionar que a velocidade de formação do produto independe da concentração de quaisquer reagentes presentes neste esquema, mas que pelo fato de apresentar a DCC como sistema acoplado em meio THF mostrou maiores rendimentos, em relação ao trabalho anterior.

Kavitha et al. (2006) por sua vez desenvolveram uma metodologia, onde a síntese assistida por microondas de novos compostos em comparação com o método convencional oferece mais vantagens, tais como tempo de reação reduzido (45 - 60s), de baixo custo, simplicidade de processamento, redução da poluição e de alto rendimento. Os rendimentos estavam na faixa de 65-70% e 80-90% para o método convencional e técnicas de micro-ondas, respectivamente, com mais de 98% de pureza (Esquema 4).



Esquema 4: Síntese de 4-tiazolidinonas pela metodologia de micro-ondas

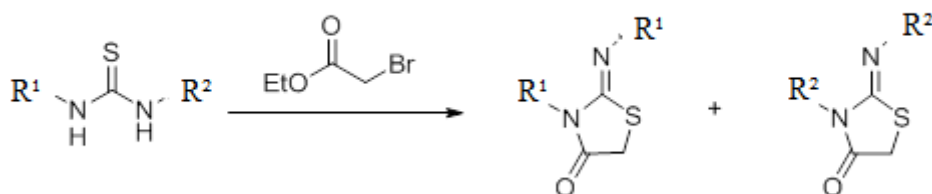
El-Gendy et al (1990) desenvolveram uma metodologia, onde o ácido α -mercaptoacético reage com tiossemicarbazonas, utilizando benzeno seco como meio reacional, levando a formação de 3-tioureido-4-tiazolidinonas (Esquema 5).



Esquema 5: Síntese de derivados 4-tiazolidinonas a partir de tiossemicarbazonas

2.3.1.2 Síntese de 4-Tiazolidinonas a partir de ácidos α -haloacéticos e derivados

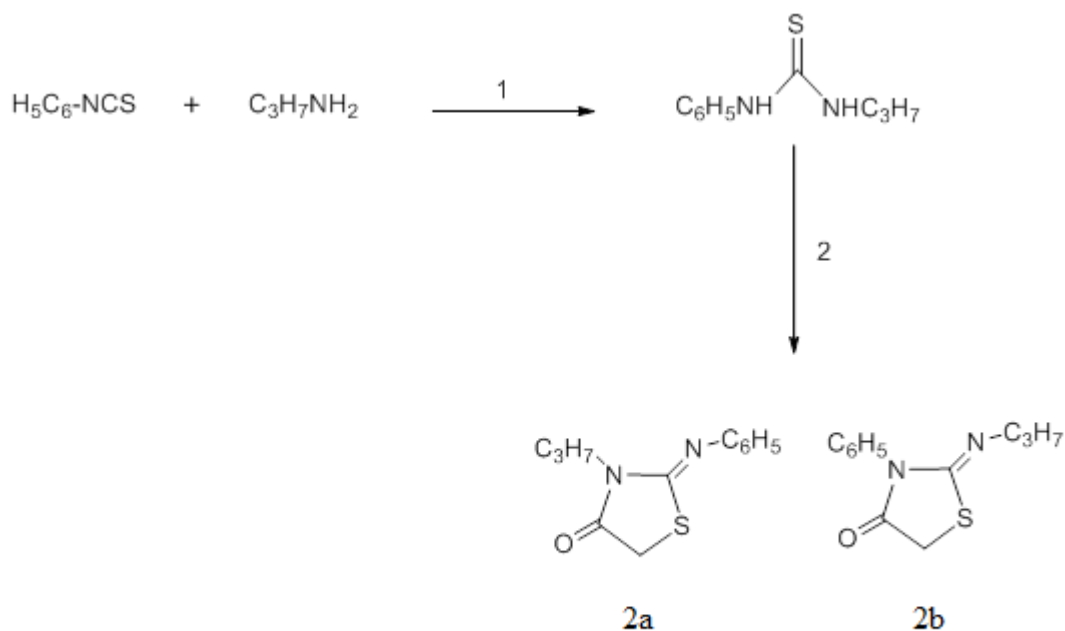
Laurent et al. (2004) demonstraram a síntese de derivados 3-(heteroaril)-imino-4-tiazolidinonas a partir de tiouréias substituídas e ácidos α -haloacéticos, conforme Esquema 6:



Esquema 6: Síntese de derivados de 4-tiazolidinonas a partir de ácidos α -haloacéticos

Nesse trabalho, foram utilizados tiouréias substituídas com o objetivo de promover a ciclização com os ácidos, em solvente polar (etanol), sob-refluxo e utilização de base como acetato de sódio anidro, tendo por objetivo estabilizar o grupo imino, que surge como intermediário na reação. Um imprevisto nessa metodologia é o uso de tiouréias assimétricas (1,3 dissustituídas, onde $R1 \neq R2$), onde ocorreria a formação de dois regioisômeros (Esquema 6), sendo estas controladas por fatores eletrônicos, como por exemplo, a presença de substituintes eletroatratores ligados ao nitrogênio do grupo imino das 4-tiazolidinonas.

Ottana et al.(2005), desenvolveram uma rota sintética de formação de iminotiazolidinonas, utilizando tioureias substituídas (estas sintetizadas a partir de aminas com isotiocianatos) com derivados de ácido α -haloacéticos (Esquema 7).

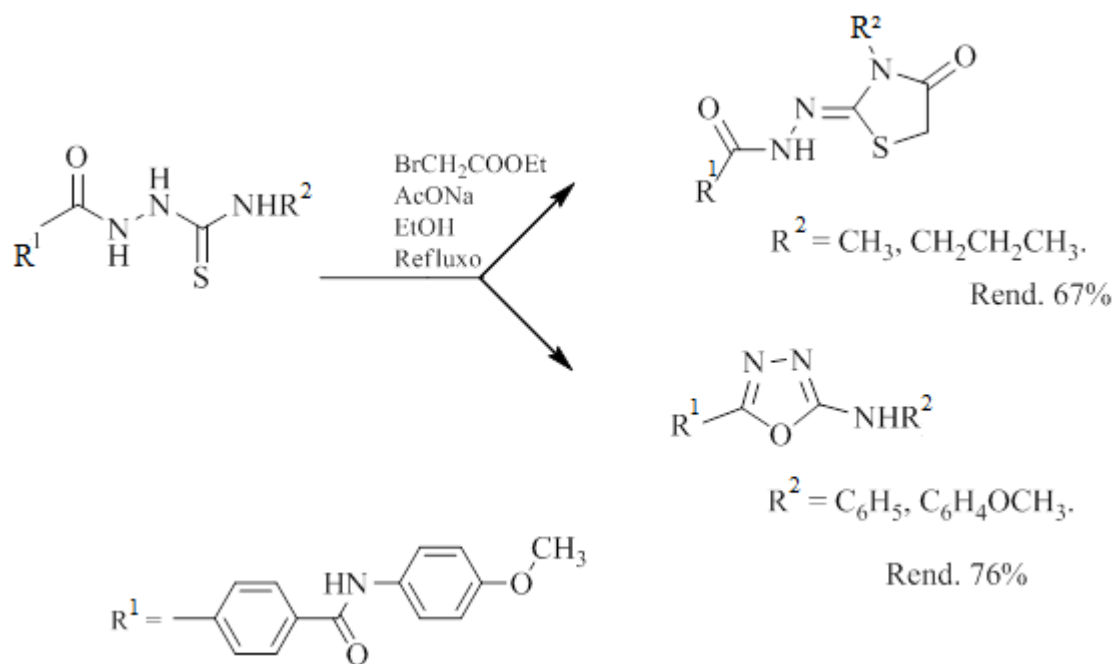


(1) Et_3N , CHCl_3 , 4 h; (2) ClCH_2COCl , Et. N , CHCl_3 , 12 h.

Esquema 7: Síntese de iminotiazolidinonas a partir de tioureias e derivados de ácido α -haloacéticos

Nessa descrição, ocorreu à formação de dois regioisômeros (2a e 2b), de acordo com o trabalho anterior. Concluiu-se também que a natureza do solvente é primordial para determinar a regioseletividade da reação.

Em trabalho similar, Küçükgül et al. (2002 e 2006) promoveram a síntese de derivados iminotiazolidínicos a partir de derivados de ácidos α -haloacéticos, diferenciando dos demais, pelo uso de aciltiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas (Esquema 8).



Esquema 8: Síntese de tiazolidinonas a partir de aciltiossemicarbazidas

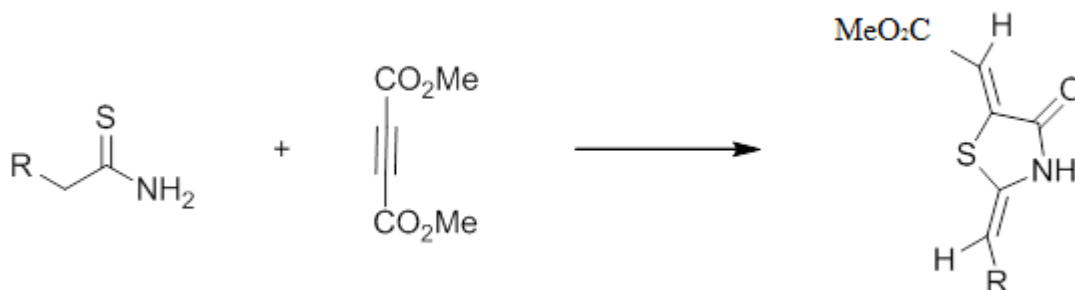
A importante contribuição deste trabalho foi a tentativa de se utilizar grupos volumosos ligados as aciltiossemicarbazidas, obtendo 1,3,4 oxadiazóis. Isso pode ser explicado através do fato de o mecanismo envolver duas etapas: a primeira consiste em uma S-alkilação a partir da forma tiol e a segunda, na formação do heterociclo, com a perda de etanol, que é favorecida pela presença de um grupo pouco volumoso (ex.: metil) em N-4, formando 4- tiazolidinonas ou com a perda de mercaptoacetato de etila, que é favorecida pela presença de um grupo volumoso em N-4, formando 1,3,4-oxadiazóis, conforme esquema mostrado anteriormente.

2.3.1.3 Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de tioamida e anidrido maléico ou acetilenodicarboxilato de dimetila

Outra estratégia interessante descrita na literatura é a utilização de compostos com a função tioamida, como a tiossemicarbazona, com compostos que apresentam a função carbonila e que sejam α,β -insaturados, como acetilenodicarboxilato de dimetila (DMAD) ou anidrido maléico.

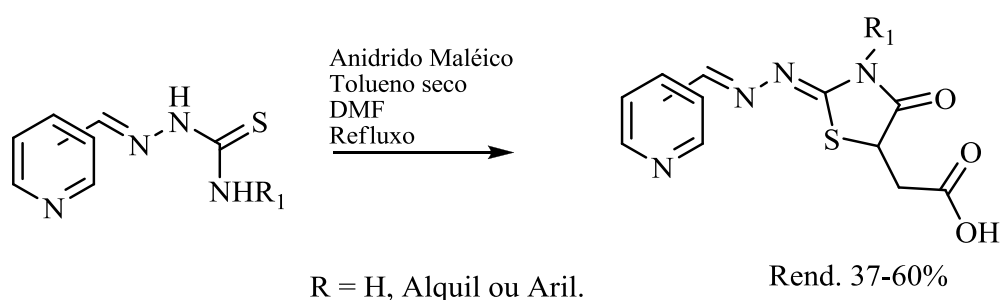
Berseneva et. al (1998) descreveram a síntese de novos compostos 2-imino-5-metoxicarbonil-4-tiazolidinonas (Esquema 9), apesar do fato de que a condensação de

tiouréias com o DMAD é conhecido por ser um método conveniente para preparar derivados malontioamida, que são estrutura análoga as tioureias.



Esquema 9: condensação de tiouréias com o DMAD, formando novas 4-tiazolidinonas

Em trabalho recente em nosso grupo de pesquisa, Verçoza et al. (2009) obtiveram novos derivados com a função ácida na posição 5 do anel tiazolidinônico a partir de reação entre tiossemicarbazonas substituídas e o anidrido maléico, utilizando tolueno seco como solvente, em condições de refluxo (Esquema 10). Nesse caso aplica-se a reação de adição do tipo tia-Michael, onde o anidrido funciona como acceptor de Michael.



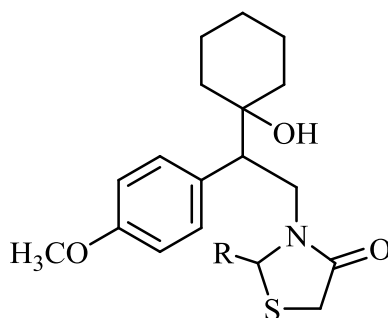
Esquema 10: Síntese de compostos tiazolidinônicos seguindo a reação de tia-Michael

2.3.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA DAS 4-TIAZOLIDINONAS

Embora o anel 4-tiazolidinônico por si só, não apresente nenhuma atividade biológica, compostos bioativos contendo este anel, são de grande interesse para a química medicinal e a

indústria farmacêutica por apresentar uma grande variedade de atividades biológicas (LIESEN et al. 2008). Segundo trabalhos descritos na literatura (VERMA et al., 2008) “as 4-tiazolidinonas são encontradas em vários compostos naturais e fármacos sintéticos. De fato, modificações estruturais na posição 2, 3 e 5 no anel tiazolidinônico nos fornecem alterações tanto no ponto de vista físico-químico, bem como na diversidade das atividades biológicas.”

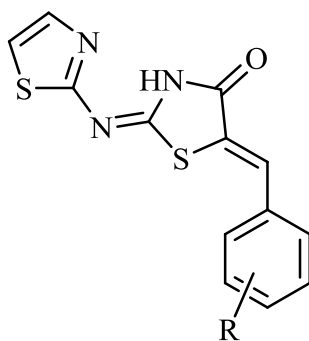
Em trabalho realizado por Kavitha et al. (2006), demonstrou-se que 4-tiazolidinonas contendo o grupo (1-[2-amino-1-(4-metoxi-fenil)-etil]-cicloexanol) apresentavam excelentes atividades antifúngica e antimicrobiana frente à microorganismos *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma*. Os compostos citados no trabalho (Figura 6) apresentaram menor concentração inibitória mínima em relação aos fármacos de referência, como estreptomicina e nistatina.



R = Aril ou Heteroaril

Figura 6: Derivados 4-tiazolidinona com atividade antimicrobiana e antifúngica (Adaptado de Kavitha et al. 2006)

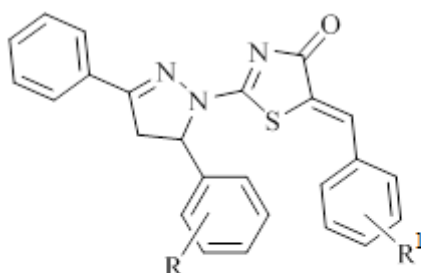
Vicini et al. (2006) por sua vez avaliaram a atividade antimicrobiana de compostos 4-tiazolidinonas e derivados, que por sua vez apresentam acoplados um radical benzilideno na posição 5. Nesse trabalho foi evidenciado que os derivados 5-benzilideno-4-tiazolidinonas mostraram importante atividade em comparação à ampicilina. Além disso, a presença do radical benzilideno produziu efeito positivo no incremento da atividade frente a diferentes cepas bacterianas Gram positivas e negativas (Figura 7).



R = OH, OCH₃, NO₂ ou Cl

Figura 7: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antimicrobiana (adaptado de Vicini et al., 2006)

Havrylyuk et al. (2009) em seu trabalho, sintetizaram compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas com o objetivo de analisar atividade antitumoral frente a diferentes linhagens de células. Os compostos avaliados (Figura 7) potentes inibidores de crescimento de células tumorais, sendo alguns mostrando seletividade para determinada linhagem celular.



R = OH e OMe.
R¹ = Br, Cl, OH, OMe, NO₂ e N(CH₃)₂.

Figura 8: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antitumoral (Adaptado de Havrylyuk et al., 2006)

Em Adição, em trabalho realizado por Zhou et al. (2008), identificou-se, através de análise de relação estrutura-atividade, compostos que tem boa seletividade frente à células de câncer de pulmão, inclusive diante de células resistentes a paclitaxel, mostrando baixa toxicidade às células humanas normais (Figura 9).

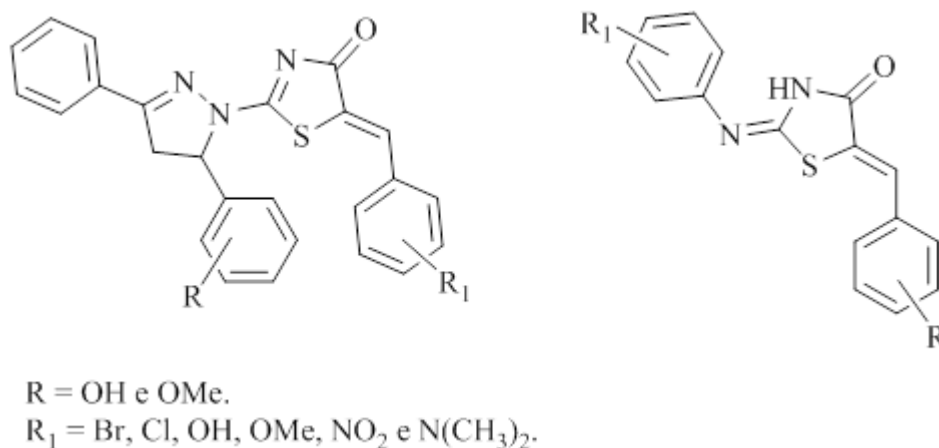


Figura 9: Derivados 4-Tiazolidinonas com atividade frente à câncer de pulmão (Adaptado de Zhou et al., 2008)

Goel et al. (1999) descreveram ação de 4-tiazolidinonas 2,3-substituídas em atividade antiedematoso, em comparação à fenilbutazona (Figura 10a). Em outro trabalho, Knutsen et al. (2007) apresentaram atividade analgésica de compostos 2-aryl-tiazolidinonas, sendo estas atuando como bloqueadores seletivos de canais de cálcio tipo-N (Figura 10b).

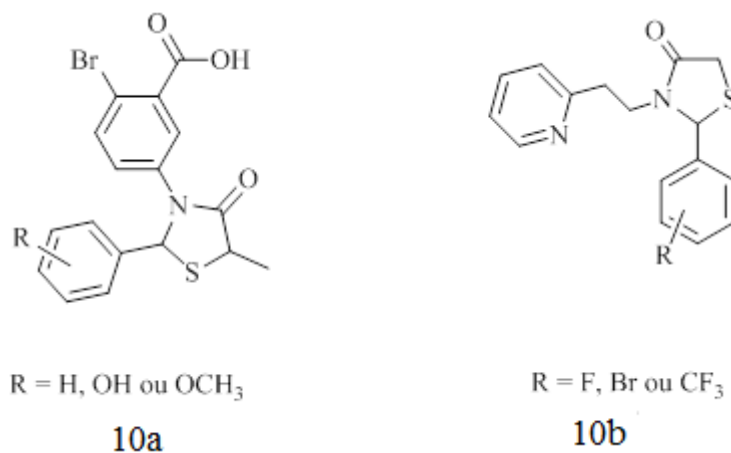


Figura 10: Derivados 4-tiazolidinonas com atividade antiedematoso

Em nosso grupo de pesquisa, existem diversos trabalhos onde se exploram diferentes atividades das 4-tiazolidinonas. Tenório et al. (2005) demonstraram a potente atividade anti-*T. gondii* para 4-tiazolidinonas contendo a função ácida na posição 5, como também uma função arilhidrazona substituída na posição 2 do anel tiazolidinônico (Figura 11a) Aquino et al. (2008) descreveram a ação efetiva anti-*Toxoplasma gondii* de novos compostos 4-tiazolidinonas (Figura 11b) algumas moléculas mostraram-se mais eficaz que a hidroxiuréia (droga de referência).

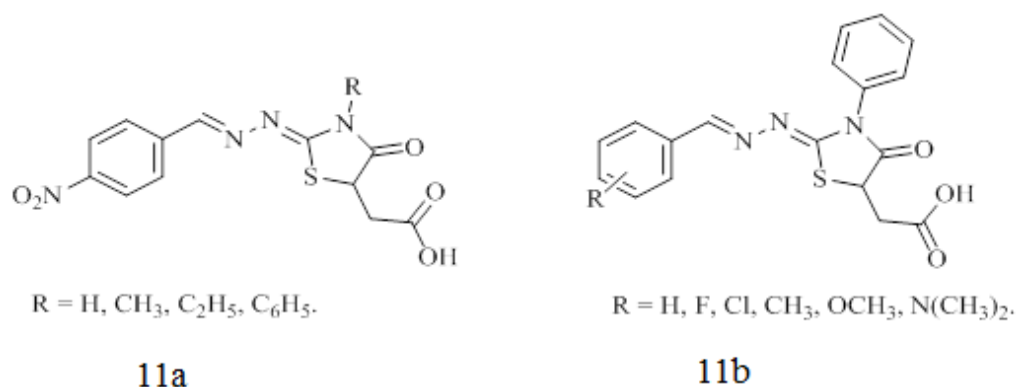


Figura 11: derivados 4-tiazolidinonas que apresentaram atividade frente ao *Toxoplasma gondii*

Verçoza et al. (2009) sintetizaram e testaram a atividade de compostos 4-tiazolidinonas com uma porção ácida na posição 5 do anel tiazolidínico e N-substituídas frente a algumas bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos (Figura 12). Para esta série, o radical alquil na posição N-3 foi importante na capacidade de inibição do crescimento de alguns micro-organismos.

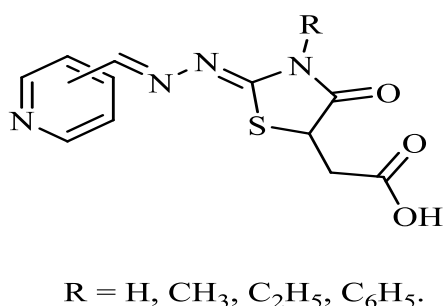


Figura 12: Derivados 4-Tiazolidinonas que apresentaram atividade antimicrobiana e antifúngica

Corroborando com essa ideia, Feitoza et al. 2012, em nosso grupo de pesquisa, sintetizaram compostos 5-benzilideno-tiazolidinonas com atividade excelente frente a linhagens tumorais de carcinoma pulmonar (NCL-H-292). Os compostos que apresentaram melhor atividade, apresentavam fragmento para-dimetilaminobenzilideno, descrito como requisito estrutural essencial para atividade anticâncer contra células de pulmão. (figura 13)

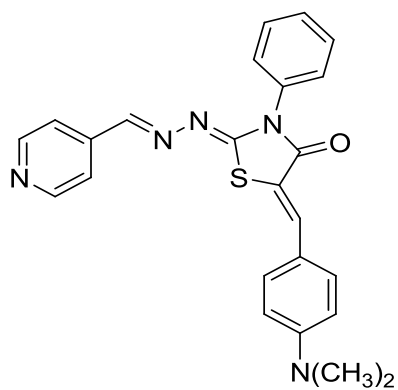


Figura 13: derivado 4 tiazolidinona com atividade antineoplasica (adaptado de feitoza et al., 2012)

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Partindo do princípio que as 4-tiazolidinonas apresentam um amplo espectro de atividades biológicas e que são compostos de fácil obtenção, com baixo custo e elevados rendimentos, objetivamos para este trabalho a síntese, caracterização e posterior avaliação *in vitro* das suas propriedades antimicrobianas e citotóxicas.

As moléculas propostas apresentam grupos doadores e aceptores de elétrons ligados a porção benzilideno ligado à posição 5 do anel tiazolidinônico, como também a fixação de radicais metila, etila e fenila na porção N-3 das 4-tiazolidinonas (Figura 14).

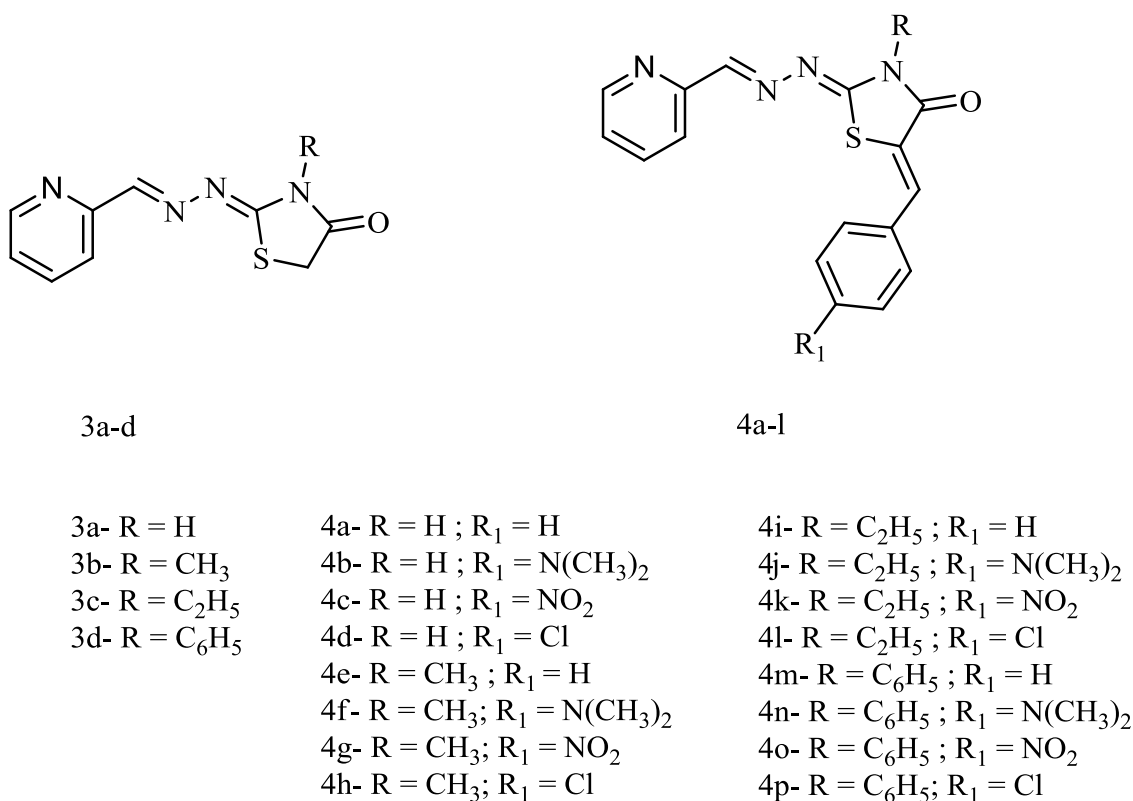


Figura 14: Estruturas dos compostos 4-tiazolidinonas planejados para este trabalho

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

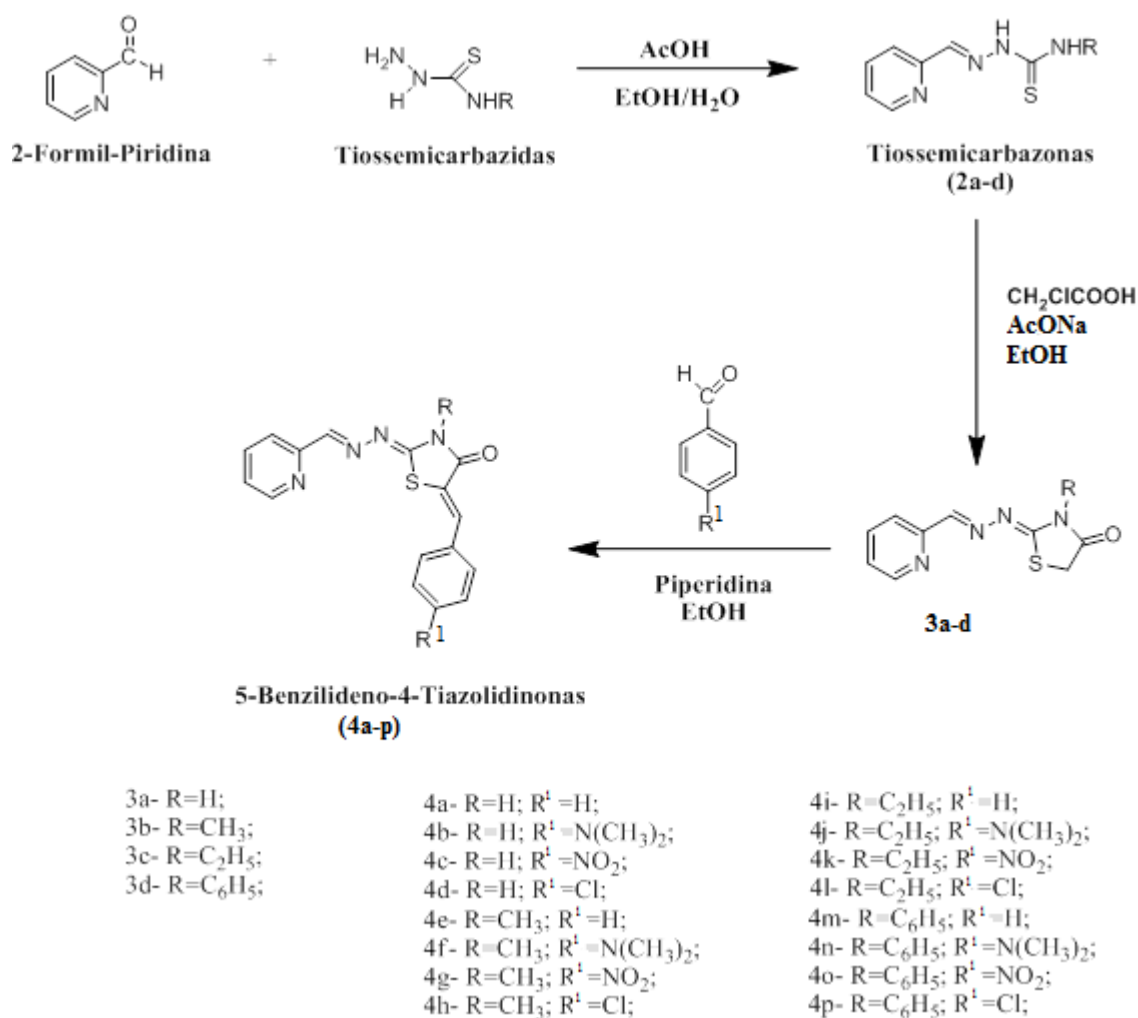
- Sintetizar tiosemicarbazonas (**2a-d**) a partir da reação entre tiosemicarbazidas não substituídas obtidas industrialmente e substituídas com 2-formil-piridina;
- Sintetizar 4-tiazolidinonas (**3a-d**) a partir da condensação de tiosemicarbazonas não substituídas e substituídas com ácido cloroacético;
- Sintetizar compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**4a-p**), através de condensação das 4-tiazolidinonas e aldeídos aromáticos não substituídos e substituídos;
- Determinar as propriedades físico-químicas e caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados através dos métodos convencionais de elucidação molecular, como IV, HRMS, e RMN ^1H e ^{13}C ;
- Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana frente à bactérias e fungos dos compostos 4-tiazolidinonas e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas sintetizados;
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* diante de células tumorais, frente as linhagens tumorais: HEp-2 (carcinoma de traquéia humano), e HT-29 (adenocarcinoma de cólon).

Resultados e Discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DAS SÉRIES 4-TIAZOLIDINONA 3A-D E 4A-P

O esquema a seguir, ilustra a rota sintética empregada para a obtenção de novas estruturas 4-tiazolidinonas e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas planejadas para o presente trabalho (Esquema 11).



Esquema 11: Rota Sintética Programada para obtenção de 4-Tiazolidinonas e Derivados

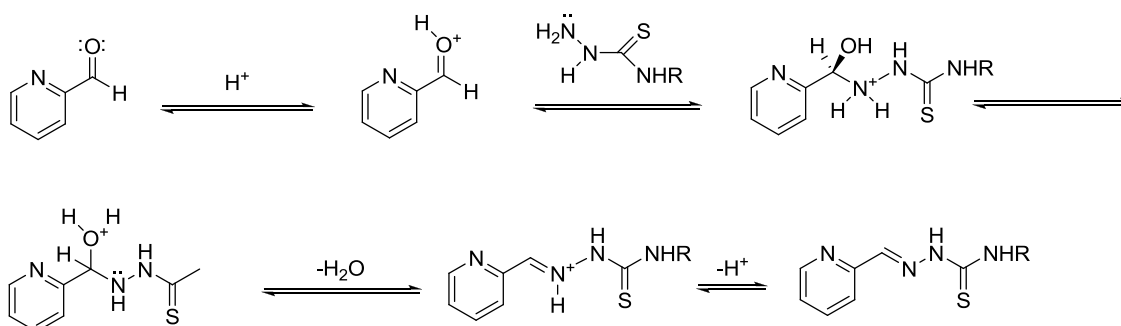
4.2 METODOLOGIAS SINTÉTICAS E MECANISMOS REACIONAIS

4.2.1 OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS (2A-D)

Para a síntese das tiossemicarbazonas, foram utilizadas as metodologias convencionais descritas na literatura (GRAMMATICAKIS, 1956; MENDES et al., 2001; BERALDO et al., 2001). Nesta etapa foram utilizadas quantidades equimolares de formil-piridinas e tiossemicarbazidas, obtidas comercialmente, onde por sua vez foram submetidos à agitação magnética e refluxo.

A formação das tiossemicarbazonas é favorecida pelo caráter nucleofílico do nitrogênio N₁ das tiossemicarbazidas (COSTA, 2003). Além disso, estas reações são aceleradas por catálise ácida, apresentando rendimentos satisfatórios (TENORIO et al., 2005).

O mecanismo de formação das tiossemicarbazonas (Esquema 12) inicia-se com a protonação da carbonila do 2-piridino-carboxaldeído, promovendo a formação do íon oxônio. A formação desse intermediário é importante, pois torna a carbonila mais susceptível ao ataque nucleofílico do nitrogênio da posição N-1 da tiossemicarbazida, que através de um processo bimolecular, proporciona a formação de um intermediário hemiaminal N-protonado. Por último, ocorre uma rápida transferência de próton do nitrogênio para o oxigênio (prototropismo), com consequente desidratação e posterior neutralização, promovendo um deslocamento do equilíbrio para a formação de iminas correspondentes (SMITH & MARCH, 2001; CAREY & SUNDBERG, 2007)



Esquema 12: Mecanismo de formação das tiossemicarbazonas da série 2a-d

Segundo relatos na literatura, as tiossemicarbazonas formadas podem apresentar configurações *Z* ou *E*, dependendo do tipo de substituinte presente no aldeído utilizado (KARABATSOS et al., 1964). Na síntese de tiossemicarbazonas feita por nosso grupo de pesquisa, observou-se o aparecimento de uma única mancha na placa de CCD, evidenciando assim a presença de apenas uma configuração. Em trabalho realizado por Tenório et al.(2005), verificou-se, através de análise de vários espectros de tiossemicarbazonas, que não há mudança de deslocamento ou de aparecimento de sinais diferentes para o hidrogênio azometínico, indicando a formação de uma das configurações. Diante desses fatos, pode-se sugerir que foram obtidas preferencialmente na configuração *E*, a qual é termodinamicamente mais estável (OTA et al., 1998).

A análise dos espectros de IV tem por objetivo identificar as principais bandas de absorção referentes aos principais grupos característicos dos compostos desta série. Os espectros apresentaram bandas de absorção na região de $3235 - 3467\text{ cm}^{-1}$, as quais foram atribuídas às frequências de estiramento assimétrico e simétrico da função NH_2 , bandas na frequência entre 3129 e 3165 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação N-H hidrazínico (HOLLA et al., 2003, SANTHAKUMARI et al., 2010). Além disso, as bandas de absorção relativas ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{N}$ foram observadas nas frequências de 1588 e 1591 cm^{-1} (THIRUMURUGAN et al., 2006) e presença da banda $\text{C}=\text{S}$ entre 1500 e 1700 cm^{-1} , indicando a função tiocarbonila das tiossemicarbazonas sintetizadas (TARASCONI et al., 2000).

Estas bandas são exemplificadas na Figura 15, a qual apresenta o espectro referente à tiossemicarbazona **2a**.

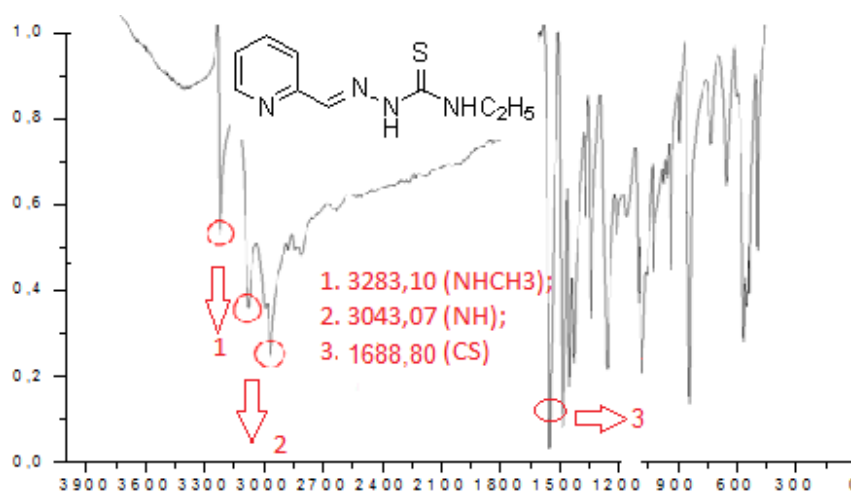
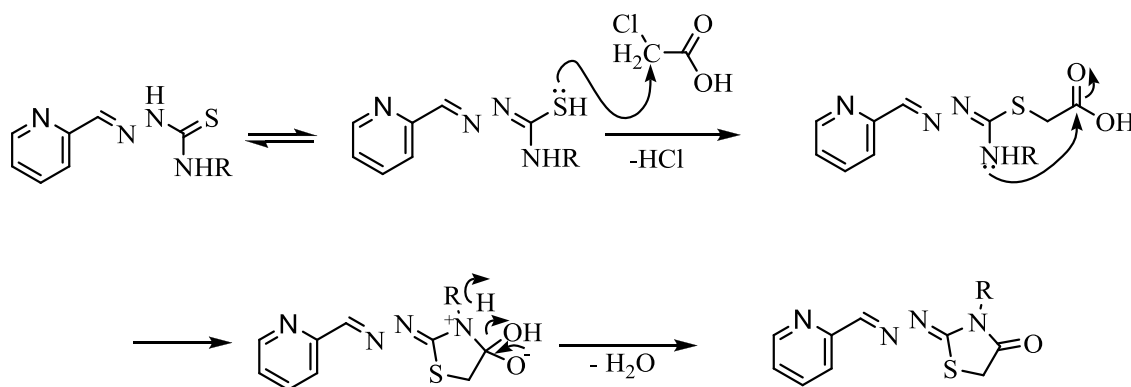


Figura 15: Espectro de IV referente à tiossemicarbazona **2c**

4.2.2 OBTENÇÃO DE 2-[(2-PIRIDINIL-METILENO)-HIDRAZONO]-4-TIAZOLIDINONAS (3A-D)

Como foi observado anteriormente, para a obtenção das 4-tiazolidinonas da série **3a-d** foram obtidos através da reação entre as tiossemicarbazonas sintetizadas previamente com ácido cloroacético, catalisada por acetato de sódio anidro. Nessa reação, destacamos a importância do grupo imino, pois é bastante susceptível a hidrólise ácida (OTTANÀ et al., 2005). Ao final de cada reação, os compostos foram lavados com solvente em temperatura ambiente, fornecendo assim compostos puros.

De acordo com trabalhos descritos na literatura, o mecanismo reacional proposto para esta reação, se inicia pela condensação do ácido cloroacético com o átomo de enxofre (que por sua vez apresenta-se na forma tiol da tiossemicarbazona), caracterizando uma S-alquilação. Posteriormente, ocorre um ataque intramolecular por parte do par de elétrons livres do nitrogênio na carbonila do ácido cloroacético, com perda de uma molécula de H₂O, formando o anel heterocíclico não substituído na posição C-5 (Esquema 13) (JOLLY & SHARMA, 1990).



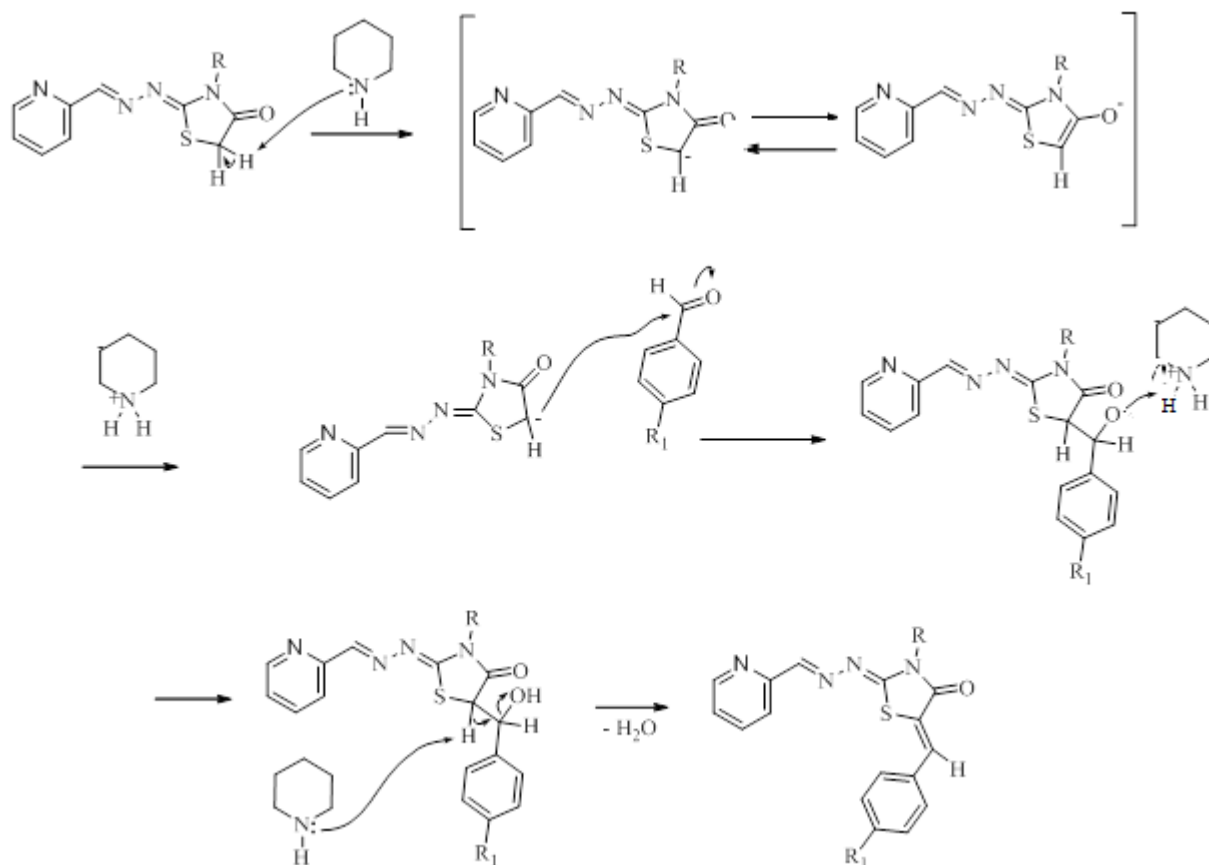
Esquema 13. Mecanismo de reação geral para obtenção das 4-tiazolidinonas da série **3a-d**.

4.2.3 OBTENÇÃO DE 2-[2-PIRIDINIL-METILENO]-5-BENZILIDENO)-4-TIAZOLIDINONAS (4A-P)

Segundo relatos da literatura (BROWN, 1961, SINGH et al., 1980, LIESEN et al., 2008), “diversos reagentes podem ser utilizados na promoção da condensação aldólica entre o grupo metileno do anel 4-tiazolidinonas com o grupo carbonila de aldeídos e cetonas, como a piperidina em solução etanólica, amônia e cloreto de amônio em etanol e o acetato de sódio anidro em ácido acético.”

Os compostos desta série (**4a-p**) foram obtidos a partir dos compostos 4-tiazolidinonas não substituídos na posição 5 do anel, onde foram submetidos a uma condensação com aldeídos, através do uso de piperidina em meio etanólico (OTANNA et al. 2005). Processos simples de purificação como lavagem com metanol forneceram compostos com rendimento entre 44 e 65%.

“O mecanismo desta reação relaciona a propriedade ácida do grupo metileno na posição 5 do anel 4-tiazolidinona, que por sua vez, reage com aldeído e cetonas em reação do tipo Knoevenagel.” (LIESEN et al., 2008). O processo inicia-se com a formação de um ânion enolato no anel, através do tratamento com a piperidina (comportando-se como base). O carbânion formado no anel é estabilizado pela carbonila, pois esta exerce um efeito elétron-atrator na posição adjacente ao grupo metileno, além de grupos elétron atrator na posição 2 do anel (SINGH et al., 1980, LIESEN et al., 2008) e o átomo de enxofre, que exerce efeito retirador, contribuindo assim para estabilização do enolato. Em seguida, ocorre um ataque nucleofílico do carbânion ao carbono da função aldeído, com posterior eliminação de água leva a formação do benzilideno na posição 5 do anel.(Esquema 14)



Esquema 14: Mecanismo da reação de síntese da 5-benzilideno-4-tiazolidinona **4a-p**

4.2.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS TIAZOLIDINÔNICOS (3A-D, 4A-P)

Para todas 4-tiazolidinonas sintetizadas, os espectros de IV evidenciaram duas bandas de absorção, geralmente de forte intensidade, entre $1657\text{--}1493\text{ cm}^{-1}$, atribuídos ao estiramento dos grupos $\text{C}=\text{N}$ presentes na posição 2 do anel e no grupo arilhidrazona (ERGENÇ et al., 1999). Em adição, apresentaram-se também bandas entre $1721\text{--}1695\text{ cm}^{-1}$, referentes às bandas de amida I do anel 4-tiazolidinona, como também bandas entre $1246\text{--}1104\text{ cm}^{-1}$, referentes ao grupo $\text{N}=\text{N}=\text{C}$ e $1088\text{--}990\text{ cm}^{-1}$, associado ao grupo $\text{C}-\text{S}$. Além disso, foram constatadas bandas de absorção entre 1398 e 1246 cm^{-1} , reportando a estiramento do grupo NCS, evidenciando assim o fechamento do anel dos compostos das séries **3a-d** e **4a-p** através da síntese a partir das respectivas tiossemicarbazonas (ÇAPAN et al., 1999; ULUSOY et al., 2002; EL-GENDY et al., 1990).

Em relação às bandas de absorção da carbonila, nos compostos da série **3a-d** (Tabela 1) aparecem entre 1709-1721 cm^{-1} . Em relação aos compostos da série **4a-p** (Tabela 2) as bandas se manifestam entre 1694-1712 cm^{-1} . Esta diferença de absorção se explica por um efeito batocrômico, que ocorre devido a uma conjugação da carbonila dos compostos desta série (**4a-p**) com a dupla ligação C=C exocítica, e esse efeito é responsável pelo enfraquecimento da ligação entre C-O (VICINI et al., 2006; KUÇUKGUZEL et al., 2006). Em adição, o estiramento referente a esta ligação foi caracterizado por bandas que aparecem entre 1533-1599 cm^{-1}

As principais bandas de absorção observadas para as 4-tiazolidinonas, e suas referidas intensidades, são mostradas nas Tabelas 5 e 6. As Figuras 16 e 17 ilustram, respectivamente, os espectros de IV dos compostos **3c** e **4n**.

Tabela 1: Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (**3a-d**).

Compostos	C=O (v)	C=N (v)	NCS (v)	N-N=C (v)	CS (v)
3a	1709	1627 e 1566	1292	1246	1029
3b	1717	1620 e 1552	1298	1118	1050
3c	1721	1657 e 1551	1326	1242	1088
3d	1721	1612 e 1540	1383	1240	1041

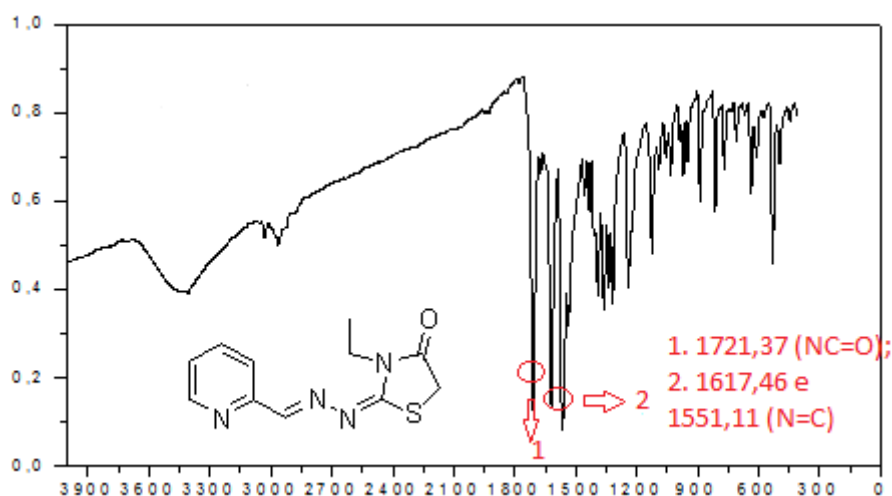


Figura 16: Espectro de IV para o derivado 4-tiazolidinona **3c** (pastilha de KBr)

Tabela 2: Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (**4a-p**).

Compostos	C=O (v)	C=N (v)	C=C(v)	NCS (v)	N-N=C (v)	C-S (v)
4a	1712	1648 e 1558	1595	1337	1200	1005
4b	1694	1625 e 1525	1583	1294	1214	1004
4c	1702	1618 e 1513	1599	1337	1104	999
4d	1711	1646 e 1546	1590	1335	1089	1010
4e	1709	1626 e 1560	1590	1373	1123	1025
4f	1694	1597 e 1525	1555	1372	1199	1015
4g	1704	1626 e 1559	1596	1342	1129	1047
4h	1705	1622 e 1552	1590	1335	1129	990
4i	1699	1625 e 1510	1555	1353	1127	991
4j	1695	1620 e 1543	1584	1347	1196	1043
4k	1707	1623 e 1511	1553	1337	1236	1030
4l	1706	1623 e 1555	1585	1398	1241	1000
4m	1708	1619 e 1498	1533	1379	1240	1045
4n	1697	1594 e 1494	1546	1328	1163	1069
4o	1715	1625 e 1518	1558	1345	1237	1100
4p	1715	1623 e 1493	1545	1331	1237	1008

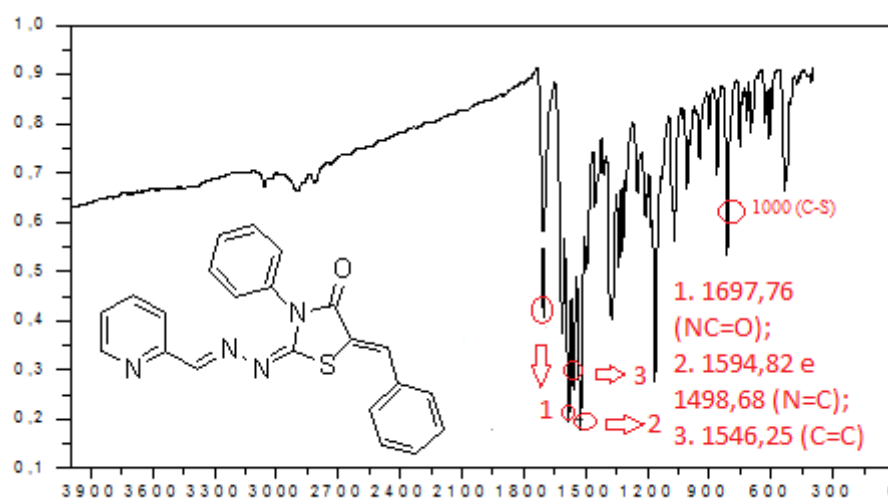


Figura 17: Espectro de IV para o derivado 5-benzilideno-4-tiazolidinona **4l** (pastilha de KBr).

Na espectroscopia de RMN ^1H dos compostos pertencentes à série **3a-d**, a formação do anel 4-tiazolidinona foi constatada através da presença de um singlete entre 3,71-3,98 ppm, referindo-se ao grupo metilínico $-\text{CH}_2$ (ENGENÇ et al., 1999). Esse sinal está atribuído a dois hidrogênios, e evidencia-se que estão em um mesmo ambiente químico (Figura 18). Os hidrogênios referentes ao grupo $\text{CH}=\text{N}$ para esta série são observados na região entre 8,32-8,63 ppm (Tabela 3).

Tabela 3: Principais deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ^1H para as 4-tiazolidinonas (**3a-d**).

Compostos	CH_2-	$\text{CH}=\text{N}$	Outros
3a	3,92	8,32	12,06 (N-H)
3b	3,71	8,43	3,23 (CH_3)
3c	3,79	8,63	3,93 (N- CH_2), 1,29 (CH_3)
3d	3,98	8,36	7,29-7,46 (N-Ar)

Em relação aos espectros de RMN ^1H para os compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**4a-p**), os hidrogênios pertencentes ao grupo $\text{CH}=\text{N}$ apresentaram deslocamento químico semelhante aos compostos de partida descritos anteriormente (série **3a-d**), localizando-se entre 8,27-8,55 ppm (Tabela 4), além disso, o desaparecimento dos singletos relacionados ao grupo metileno na posição 5 do anel 4-tiazolidinona (série **3a-d**), bem como o aparecimento de um singlete entre 7,63 a 7,81 ppm, que se correlaciona ao hidrogênio do grupo benzilideno, ratifica a estrutura dos derivados da série **4a-p**. (Figura 1

Tabela 4: Principais deslocamentos químicos (ppm) observados nos espectros de RMN ^1H para as 4-tiazolidinonas (**4a–p**).

Composto	CH=N	HC=C	Outros
4a	8,52	7,66	-
4b	8,40	7,78	12,18 (N-H), 3,05 (N(CH ₃) ₂)
4c	8,63	7,67	8,36 e 8,28 (Ar-NO ₂)
4d	8,51	7,66	12,45 (N-H)
4e	8,56	7,75	3,48 (N-CH ₃)
4f	8,54	7,67	3,45 (N-CH ₃), 3,04 (N(CH ₃) ₂)
4g	8,59	7,73	8,10 e 7,76 (Ar-NO ₂), 3,52 (N-CH ₃)
4h	8,56	7,68	3,48 (N-CH ₃)
4i	8,64	7,75	4,08 (N-CH ₂), 1,36 (CH ₃)
4j	8,54	7,67	4,08 (N-CH ₂), 3,05 (N(CH ₃) ₂),
4k	8,55	7,71	8,14 e 7,79 (Ar-NO ₂), 4,08 (N-CH ₂) 1,37 (CH ₃)
4l	8,53	7,63	4,06 (N-CH ₂), 1,34 (CH ₃)
4m	8,30	7,81	7,54 (N-Ar)
4n	8,27	7,68	7,56 (N-Ar)
4o	8,33	7,73	8,42 e 8,03 (Ar-NO ₂)
4p	8,31	7,76	7,67 e 7,49 (Ar-NO ₂)

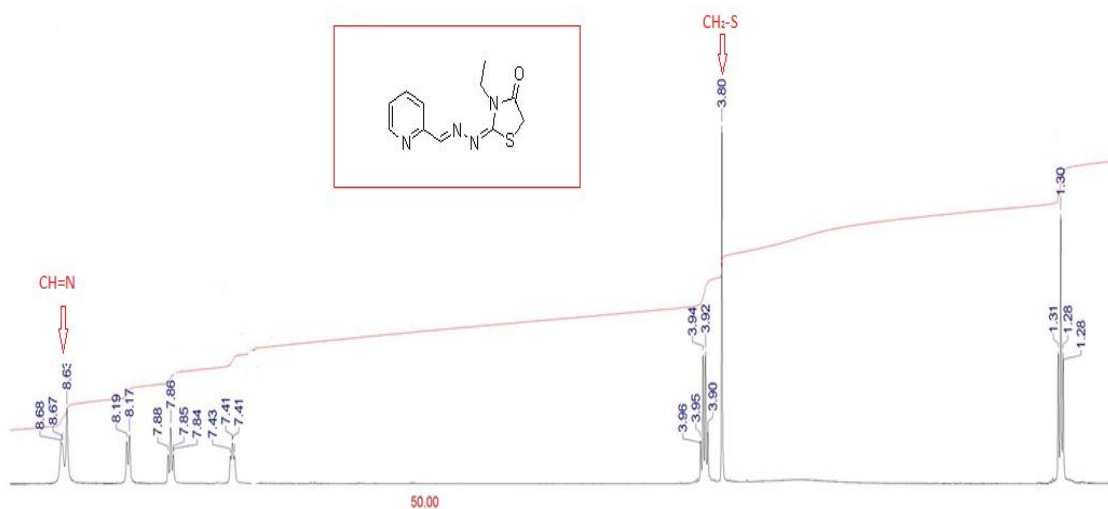


Figura 18: Espectro de RMN ^1H para a 4-tiazolidinona **3c** (CDCl_3 ; 400 MHz), ilustrando os singletos referentes aos grupos metileno e azometínico.

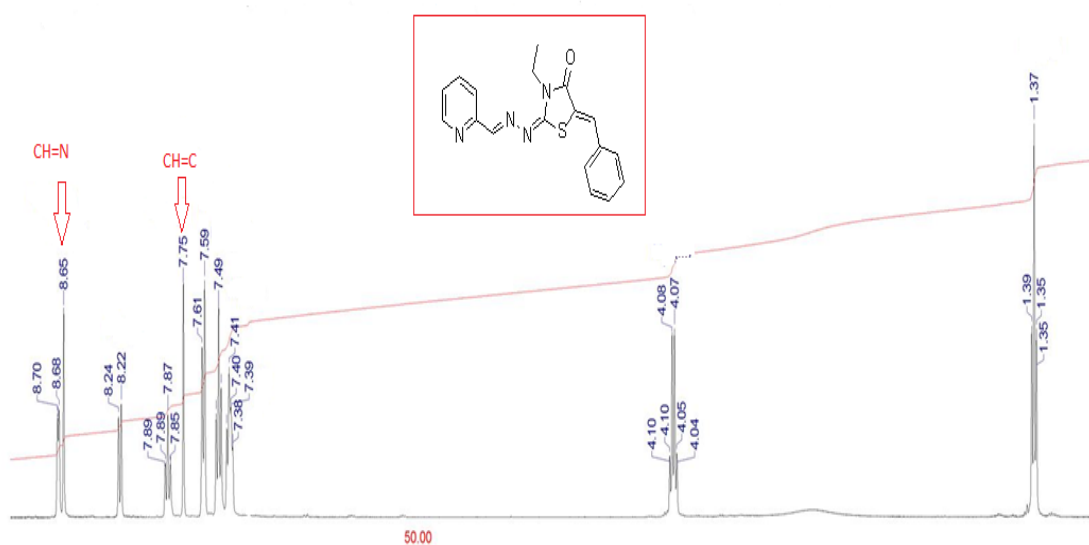


Figura 19: Espectro de RMN ^1H para o derivado 5-benzilideno-4-tiazolidinona **4i** (CDCl_3 ; 400 MHz), ilustrando principalmente o singlete referente hidrogênio vinilídênico.

A síntese de compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas, produzidos pela reação de condensação de 4-tiazolidinonas com benzaldeídos, conduz, em tese, a duas configurações diastereoisoméricas *E* e *Z* (figura 20). Esta configuração pode ser determinada através de métodos espectroscópicos (RMN ^1H e ^{13}C) e cristalografia de raios-X (LIESEN et al., 2008)

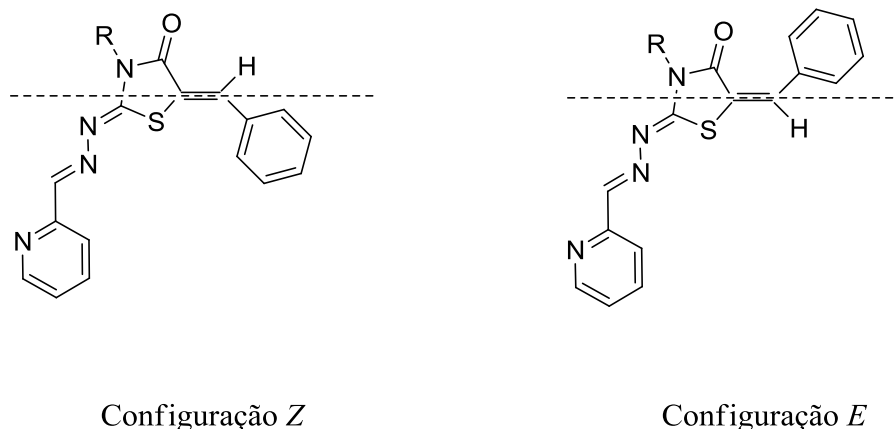


Figura 20: Estruturas teóricas dos diastereoisômeros Z e E para as 4-tiazolidinonas da série **4a-p**

Existem vários relatos na literatura, que descrevem a configuração formada após a reação entre as 4-tiazolidinonas com aldeídos aromáticos, conduzindo a formação de derivados α,β – insaturados.

Bruno *et al.* (2002), descreveram o tipo de configuração existente na ligação dupla exocíclica em derivados 5-arileno-2,4-tiazolidinadiona, através de técnicas de difração de raios x e métodos espectroscópicos. Segundo os autores, todos os espectros dos compostos que apresentavam configuração do tipo Z, sofreria influência de deslocamento químico no próton benzilidênico em presença de $\text{Eu}(\text{fod})_3$, o que não ocorreria com os compostos com configuração E. A contribuição principal desse trabalho foi a determinação do sinal do próton de configuração Z (único detectado no trabalho), apresentando deslocamento químico entre 7,72-7,97 ppm.

Baseado no trabalho descrito anteriormente, as contribuições foram utilizadas posteriormente por Ottana *et al.* (2005) e Vicini *et al.* (2006) na síntese de 5-arilideno-2-imino-4-tiazolidinonas e 5-arilideno-2-tiazolilimino-4-tiazolidinonas, obtidos a partir de reações de derivados 2-imino-4-tiazolidinonas com aldeídos aromáticos (Figura 21). Todas as moléculas sintetizadas no trabalho citado apresentaram deslocamentos químicos relacionados ao próton benzilidênico variando entre 7,63-7,97 ppm, caracterizando isômeros de configuração Z.

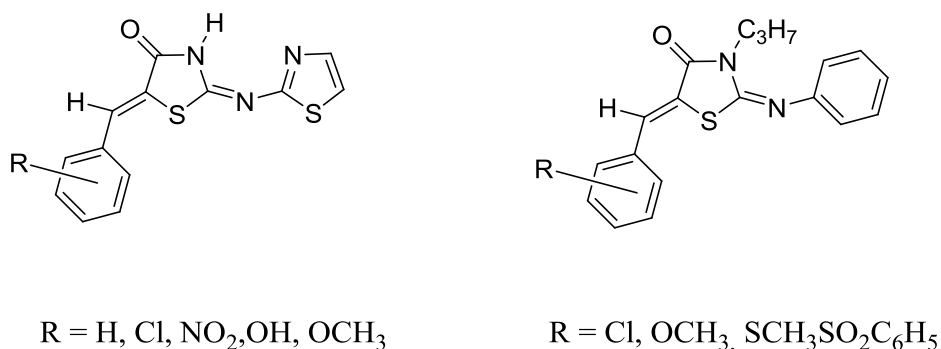


Figura 21: Compostos sintetizados no trabalho de Vicini *et al.* 2006

De acordo com os trabalhos descritos anteriormente, em nosso grupo de pesquisa, Aquino (2007) determinou a configuração do próton benzilidênico dos derivados 5-benzilideno-4-tiazolidinonas, baseando-se na análise dos espectros de RMN 1H . Em conformidade aos trabalhos anteriores, todas as moléculas sintetizadas foram atribuídas à configuração *Z* para o hidrogênio citado, porém um deslocamento químico maior foi demonstrado, pelo fato de haver um maior efeito de desblindagem da carbonila, na posição 4 em relação ao enxofre, na posição 1.

Em relação ao presente estudo, a síntese de novos compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas **4a-p** nos forneceu espectros de RMN de 1H , com hidrogênios benzilidênicos apresentando-se na faixa entre 7,63-7,81 (Tabela 4), confirmando a configuração *Z* das moléculas sintetizadas, em conformidade com as informações colhidas nos trabalhos anteriores.

Os espectros de RMN de ^{13}C das 4-tiazolidinonas pertencentes às séries em estudo apresentaram deslocamento químico referente aos grupos $NC=O$, imino ($C=N$) e $C=N$, sendo este referente a função azometina apresentando-se na faixa de 165,88-174,04, 159,90-167,20 e 156,02-160,17, respectivamente (Tabela 5). Para os compostos pertencentes à série **3a-d**, os espectros apresentaram deslocamento químico entre 32,48-38,99, referente ao grupo CH_2 (Figura 20). É importante ressaltar que a falta de solubilidade dos compostos **4a-d** e **4m-p** em solventes apropriados inviabilizou a realização dos espectros de RMN ^{13}C em solução.

Tabela 5: Principais deslocamentos químicos encontrados no RMN de ^{13}C

Composto	C=O	C=N	CH=C	S-CH ₂	<u>CH</u> =C	CH= <u>C</u>
3a	174,04	167,20	156,02	32,99	-	-
3b	172,06	166,15	157,69	32,43	-	-
3c	171,78	166,14	156,52	38,84	-	-
3d	171,69	165,77	159,26	32,48	-	-
4e	166,93	161,61	159,31	-	133,89	131,11
4f	167,48	162,59	158,30	-	132,25	132,11
4g	166,25	160,29	160,17	-	148,40	140,10
4h	166,72	161,15	159,52	-	135,79	132,37
4i	166,60	161,65	157,65	-	133,92	133,11
4j	167,22	161,93	158,13	-	132,16	131,88
4k	165,88	159,90	159,63	-	147,46	140,12
4l	166,33	160,46	159,22	-	135,60	132,38

Para os compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas, os espectros apresentam deslocamento químico na faixa entre 132,16-148,40 e 131,11-140,12 ppm, referentes aos átomo de carbono exo e endocíclicos da dupla ligação benzilidênica, respectivamente.

Para todos os compostos 4-tiazolidinonas sintetizados as massas moleculares foram determinadas pela Espectroscopia de Massas de alta resolução (HRMS). Os valores das massas moleculares obtidos foram confirmatórios para determinação de todas as moléculas sintetizadas.

Avaliação Biológica dos derivados 4- Tiazolidinônicos

5 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DOS DERIVADOS 4-TIAZOLIDINONAS

5.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A avaliação da atividade antimicrobiana para as 4-tiazolidinonas sintetizadas (**3a-d** e **4a-p**) foi realizada através do método de difusão em disco, sendo este realizado em triplicata, conforme mencionado na metodologia de Bauer-Kirby (1966). Este teste possui um caráter qualitativo, pois evidenciamos se os compostos sintetizados apresentam atividade frente a diferentes espécies de micro-organismos. Verificamos nessa etapa a zona mínima de inibição (ZMI), sendo esta dada em mm, utilizando-se DMSO como controle negativo. Em seguida, os compostos que apresentaram halo igual ou superior a 16 mm foram submetidos à determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

Os valores da ZMI obtidos no teste em disco para os compostos testados são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Halos em milímetros (mm) referentes a atividade antimicrobiana dos compostos **3a-d** e **4a-p**.

Compostos	Sa	Bs	Ec	Pa	Kp	Ms	Ca	Cc	Mf	Na	Fm
3a	14	14	15	12	10	20	17	-	-	-	20
3b	11	8	-	-	-	12	16	-	-	-	-
4c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-
4e	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4f	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4g	9	10	-	-	-	10	-	-	-	-	-
4h	9	10	-	-	-	11	-	-	-	-	-
4i	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4j	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4k	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4l	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : Não possui sensibilidade ou apresenta halo de inibição ou ZMI menor que 7mm; NT: não testado; Sa: *Staphylococcus aureus*, Bs: *Bacillus subtilis*, Ec: *Escherichia coli*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Kb: *Klebsiella pneumoniae*, Ms: *Mycobacterium smegmatis*, Ca: *Candida albicans*, Ck: *Candida krusei*, Mf: *Malassezia Furfur*, An: *Aspergillus niger*, Fm: *Fusarium moniliforme*.

O composto **3a** apresentou atividade significativa frente a *M. smegmatis*, *C. albicans* e *F. moniliforme*. No entanto, existem relatos na literatura onde descreve a atividade antimicrobiana desse composto. Em adição, o composto **3b** apresentou halo significativo frente a *C. albicans*. Os demais compostos, apresentaram halos menor que 8mm, ou seja, insignificantes, diante dos microorganismos estudados.

Os compostos que apresentaram halos iguais ou superiores a 16 mm foram submetidos ao teste de concentração inibitória mínima (CIM). A CIM foi realizada segundo determinação do *National Commitee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) com pequenas alterações (NCCLS, 1992, 1993) (Tabela 7).

Tabela 7: Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Mínima Bacteriostática (CMB) e Concentração Mínima Fungistática (CMF) dos compostos 4-tiazolidinona selecionados

3a			
Micro-organismos	CIM	CMB	CMF
<i>M. smegmatis</i>	> 500 µg/mL	-	-
<i>F. moniliforme</i>	< 31 µg/mL	-	-
<i>C. albicans</i>	31 µg/mL	-	62 µg/mL
3b			
Micro-organismos	CMI	CMB	CMF
<i>C. albicans</i>	500 µg/mL	-	250 µg/mL
Composto de referência 1 : rifampicina			
Micro-organismo	CMI	CMB	
<i>M. Smegmatis</i>	125 µg/mL	-	
Composto de Referência 2 : nistatina			
Micro-organismo	CMI	CMF	
<i>C. albicans</i>	62 µg/mL	-	
<i>F. Moniliforme</i>	62 µg/mL	-	

Nesse trabalho foram observadas duas modificações estruturais nas moléculas sintetizadas, a variação de um substituinte na posição N-3 e a incorporação de um grupo benzilideno na posição 5 da estrutura 4-tiazolidinona.

Relatos na literatura demonstram a importância da alteração dessas posições no anel 4-tiazolidinona parecem ser importantes para as propriedades biológicas desses compostos.

Vicini *et al.* (2006), mostraram a importância do radical benzilideno na posição 5 do anel tiazolidinônico para a atividade antimicrobiana descrito para esta série. No trabalho citado foi pesquisada a atividade antimicrobiana dos compostos substituídos nessa posição frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e leveduras. Os compostos que apresentaram o radical benzilideno, apresentaram excelente atividade somente para cepas Gram-positivas, não apresentando boa atividade diante dos outros tipos de micro-organismos. Em adição, a promoção de benzilideno para com o grupo cloro apresentava melhor atividade, em relação aos outros radicais (Figura 22).

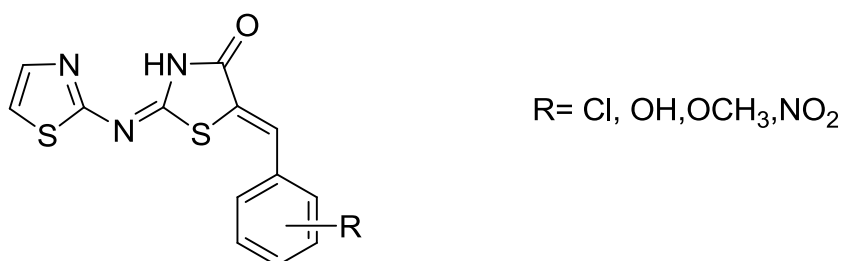


Figura 22: Composto 5-benzilideno tiazolidinona utilizado no trabalho de Vicini *et al.* 2006

No presente trabalho, observamos que a série com grupamento 5-benzilideno (**4a-p**), não apresentou incremento da atividade antimicrobiana, como sugeriu trabalho de Vicini *et al.* (2006). De fato, observa-se que os compostos que apresentaram melhor atividade foram aqueles que não têm o anel 4-tiazolidinona substituído na posição 5 (série **3a-d**).

Em nosso grupo de pesquisa, Verçozza *et al.* (2008) discutiram a importância de um grupo doador e aceptor de elétrons na posição N-3 do anel 4-tiazolidinona para o incremento da atividade antimicrobiana (Figura 23). No trabalho citado, a série sintetizada foi testada diante de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*; *Klesbsiela pneumoniae*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida krusei*; *Candida albicans*; *Malassezia furfur*.

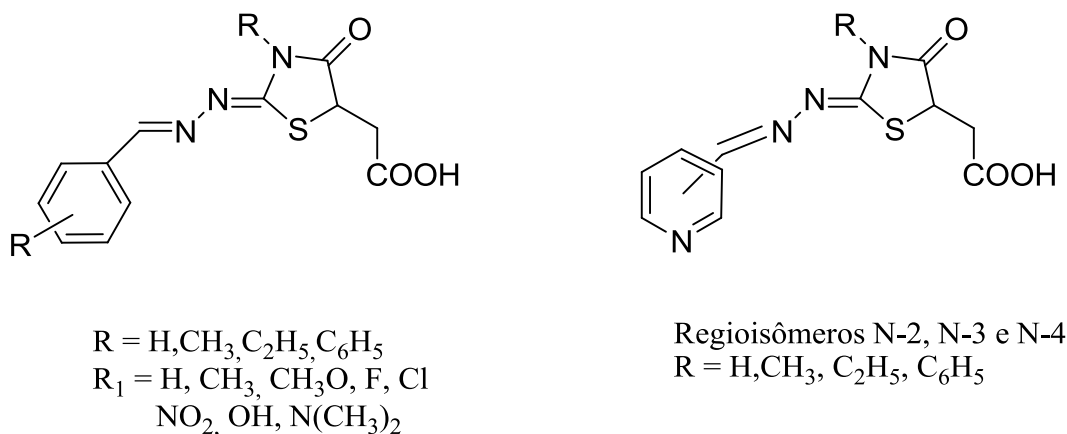


Figura 23: Compostos sintetizados por Verçoza *et al*, 2008 para avaliação da atividade antimicrobiana.

Tal trabalho concluiu que a presença do grupo fenila na posição 3 do anel 4-tiazolidinona não são ativos contra os microrganismos testados, sendo assim sua presença não contribui para a atividade antimicrobiana. No entanto, foi verificado que a posição do nitrogênio no heterociclo piridina poderia influenciar na atividade antibacteriana dos compostos estudados.

Em trabalho realizado em nosso grupo de pesquisa, Feitoza *et al.*, 2012 utilizando as idéias dos autores citados anteriormente constatou que a presença do benzilideno na posição 5 do anel 4-tiazolidinona apresentou efeito negativo na atividade antimicrobiana. Além disso, a presença de um grupo doador em N-3 não é suficientemente comprobatória para eficácia da série.

Em concordância com Feitoza *et. al.*, 2012, o presente trabalho confirmou que a presença do radical benzilideno e a presença de grupos doadores e aceptores de elétrons não contribuíram de forma significativa para a atividade antimicrobiana, devido à baixa solubilidade dos produtos obtidos.

5.2 ATIVIDADE CITOTÓXICA

A avaliação da citotoxicidade dos compostos sintetizados envolveu a utilização de células tumorais humanas. As linhagens tumorais utilizadas foram: HEP-2 (Carcinoma Laríngeo Humano), e HT-29 (Adenocarcinoma de colo humano). Os resultados foram obtidos

através do percentual de inibição do crescimento celular (%) das amostras em duas linhagens tumorais testadas nas doses de 25 µg/mL (Tabela 8).

Tabela 8: Percentual de inibição do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais testadas nas doses de 25 µg/mL

Amostra	HEP-2		HT-29	
	%	Intervalo	%	Intervalo
3a	78,8	0,7	62,6	7,2
3b	82,1	0,8	82,4	4,0
3c	10,6	9,7	19,8	0,7
3d	42,2	6,2	40,5	0,2
4a	0,0	0,0	31,4	5,3
4b	82,1	0,7	88,4	1,1
4c	79,2	1,5	60,6	0,7
4d	0,0	0,0	51,3	2,4
4e	20,2	2,5	45,2	1,2
4f	0,0	0,0	0,0	0,0
4g	83,4	0,0	77,6	2,1
4h	80,7	1,3	77,8	0,2
4i	0,3	10,9	0,0	0,0
4j	0,0	0,0	0,0	0,0
4k	8,7	5,2	54,7	0,3
4l	0,0	0,0	22,7	5,8
4m	0,0	0,0	22,0	6,7
4n	0,0	0,0	0,0	0,0
4o	0,0	0,0	0,0	0,0
4p	0,0	3,4	37,4	5,8

Os compostos que apresentaram excelente atividade de inibição de crescimento celular, foram submetidos à determinação da Concentração que causa 50% de inibição (CL_{50}) do crescimento e intervalo de confiança (IC).

Os compostos **3a**, **3b**, **4b**, **4c**, **4g** e **4h** apresentaram excelente atividade de inibição celular, sendo estes submetidos à determinação da CL_{50} , utilizando-se o fármaco doxorrubicina e etoposídeo como referência (Tabela 9).

Tabela 9: Valores de CL_{50} e intervalo de confiança após 72 h de incubação.

Compostos	HEP-2	HT-29
3a	1,6	3,6
	0,8 – 3,2	2,8 – 4,5
3b	0,5	2,4
	0.07 - 3.1	2.0 - 2.8
4b	0,7	14,7
	0,4 – 1,2	11,9 – 18,3
4c	0,5	20,4
	0,2 – 1,1	16,4 – 25,3
4g	13,2	3,5
	9.6 - 18.3	2.9 - 4.1
4h	8,7	NT
	5.7 - 13.2	
Doxorrubicina	NT	0,4
		0.3 - 0.5
Etoposídeo	6,1	NT
	5,91 - 6,29	

Valores de CI_{50} e intervalo de confiança (IC) que foram determinados a partir de regressão não-linear utilizando o programa SigmaPlot versão 11. NT = não testado

Em trabalhos relatados na literatura, Zhou *et al.* (2008) demonstraram a importância do fragmento benzilideno, presente na posição 5 do anel como sendo essencial para atividade anticâncer contra células de pulmão.

Em concordância, Feitoza *et al.* (2012) desenvolveram um composto (Figura 24) que revelou uma excelente atividade do composto frente a células do tipo NCI-H292 (obtidas de carcinoma mucoepidermóide de pulmão). O derivado 5-benzilideno-4-tiazolidinona apresentou $CI_{50} = 1,38 \mu\text{g/mL}$, o que coloca este composto em condições comparáveis ao metotrexato ($IC_{50} = 1,25 \mu\text{g/mL}$), utilizado como fármaco de referência. Os compostos com melhor atividade no trabalho citado foram aqueles que apresentaram a porção *para*-dimetilaminobenzilideno como elemento importante para uma excelente atividade para essa linhagem de células especificamente.

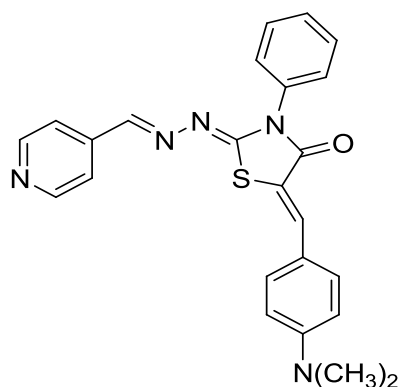


Figura 24: Composto 5-benzilideno-4-tiazolidinona com atividade antineoplásica

Observamos que os compostos **3a**, **3b**, **4b** e **4c** apresentaram excelentes resultados, apresentando valores ($CI_{50} = 1,6 \mu\text{g/mL}$), ($CI_{50} = 0,5 \mu\text{g/mL}$), ($CI_{50} = 0,7 \mu\text{g/mL}$) e ($CI_{50} = 0,5 \mu\text{g/mL}$), reduzindo significantemente o crescimento de linhagens tumorais, sendo este efeito mais pronunciado nas linhagens HEP-2. Os compostos apresentaram melhores resultados quando comparados com o etoposídeo ($CI_{50} = 6,63 \mu\text{g/mL}$). Em adição, os compostos **4b** e **4c** apresentaram melhor atividade em relação ao seu precursor **3a**, indicando assim a presença do radical benzilideno como sendo importante para a atividade citotóxica observada nesta série.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho sintetizamos uma série de compostos pertencentes à classe das 4-tiazolidinonas, utilizando metodologias eficientes e obtenção com rendimentos entre (44-87%). Todos os compostos foram caracterizados por suas propriedades físico-químicas e por métodos espectroscópicos (IV, RMN ^1H e ^{13}C) e espectrométrico (HRMS/IE). Alguns compostos não apresentaram solubilidades satisfatórias em solventes apropriados para a realização dos espectros de RMN ^{13}C .

Para as atividades antimicrobianas e antineoplásica foram testados os compostos intermediários **3a-d** e os compostos finais **4a-p**. O composto **3a** apresentou considerável atividade antibiótica frente a *M. smegmatis*, *C. albicans* e *F. moniliforme* e o composto **3b** apresentou atividade frente a *C. albicans*. Dentre os compostos testados para a série **4a-p**, foi verificado que a porção benzilideno na posição 5 do anel 4-tiazolidinona não contribuiu o suficiente para a atividade antimicrobiana. No entanto, são necessários estudos da relação estrutura-atividade para obtenção de compostos 4-tiazolidinonas com atividade antimicrobiana eficaz.

A atividade citotóxica dos compostos testados evidenciou que o composto **3a** e **3b** mostraram-se eficazes contra todas as linhagens celulares testadas, apresentando valores de CI_{50} superior ao do etoposídeo, utilizado como fármaco de referência. Em adição, os compostos 5-benzilideno pertencentes a série **4a-p**, os compostos **4b**, **4c**, **4g** e **4h** também apresentaram boa atividade, com valores de CI_{50} superior ao do composto de referência. Entretanto, se torna necessário um estudo mais aprofundado na análise da relação estrutura-atividade para obtenção de compostos 4-tiazolidinonas com atividade antineoplásica eficaz.

Os resultados deste trabalho celebram o potencial no âmbito de compostos potencialmente promissores para o tratamento do câncer. Neste contexto, criam-se perspectivas para a realização síntese de novos derivados 4-tiazolidinonas com o objetivo de reforçar o arsenal terapêutico existente atualmente.

7 MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 PARTE EXPERIMENTAL

7.1.1 CROMATOGRAFIAS

As cromatografias em camada delgada foram desenvolvidas através das placas de sílica gel 60 F₂₅₄ da MERCK de 0,25 mm de espessura. As leituras das mesmas foram realizadas através de radiação de ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254 nm.

7.1.2 DETERMINAÇÃO DE PONTO DE FUSÃO

Os pontos de fusão foram medidos no equipamento QUILMES Q.340.23, em tubos capilares imersos em banho de silicone.

7.1.3 ESPECTROSCOPIAS DE IV, MS, RMN ¹H E RMN ¹³C

A Espectros de IV foram realizadas em um de espectrofotômetro BRUKER IFS-66, através da produção discos de KBr e posterior leitura.

A espectrometria de massa de Alta resolução (HRMS) foram obtidos por impacto de elétrons 70eV em um aparelho IT TOF Shimadzu.

Os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos em um equipamento UNITYplus-300 MHz-VARIAN e UNITYplus-400 MHz-VARIAN, utilizando-se CDCl₃ e DMSO-d₆ como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em ppm, utilizando tetrametilsilano como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hz, e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: s – singleto, d – dubleto, t – tripleto, m – multipeto.

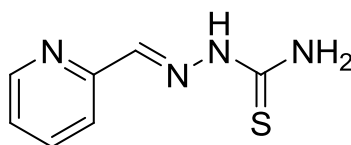
7. 2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

7.2.1 PROCEDIMENTO GERAL DE OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS NÃO SUBSTITUÍDAS E SUBSTITUÍDAS (2A-D)

As tiossemicarbazonas foram sintetizadas a partir da reação de quantidades equimolares de tiossemicarbazidas substituídas e não substituídas com 2-piridino-carboxaldeído em presença de quantidades catalíticas de ácido acético, em meio hidroalcoólico. A mistura reacional foi submetida a refluxo por um período de 1 a 4 horas. As reações foram monitoradas por CCD. Ao termino da reação, a mistura foi submetido a resfriamento em geladeira e posterior filtração através de funil sinterizado e lavados com metanol.

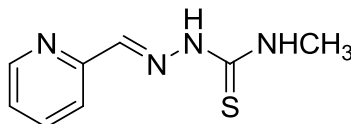
7.2.2 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS PARA 2-FORMIL-PIRIDINO-TIOSSEMICARBAZONAS SUBSTITUÍDAS E NÃO SUBSTITUÍDAS (2A-D)

2-Formil-Piridino-Tiossemicarbazona (2a)



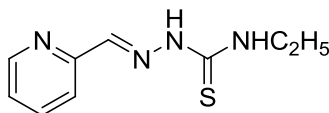
- Aspecto: Sólido amarelo âmbar;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 91%; PF: 253 °C; Rf: 0,5 (Acetato de etila/Hexano 6:4);
- $PF_{\text{literat.}} = 253\text{-}254^{\circ}\text{C}$ (Mendes et al., 2001);
- IV ($\nu\text{ cm}^{-1}$ KBr): 3434 (NH_2), 3156 (Ar-H), 1524 ($\text{C}=\text{N}$), 1110 ($\text{C}=\text{S}$);

2-Formil-Piridino-N(4)-metil-Tiossemicarbazona (2b)



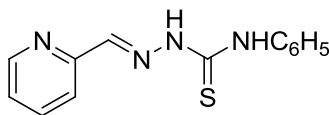
- Aspecto: Sólido bege claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 90%; PF: 238°C; R_f: 0,5 (Acetato de Etila/Hexano 7:3);
- PF _{literat.} = 238-239 °C (Beraldo et al., 2001);
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3287 (NHCH₃), 3055 (Ar-H), 1527 (C=N), 1109 (C=S);

2-Formil-Piridino-N(4)-etil-Tiossemicarbazona (2c)



- Aspecto: Sólido castanho-claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 92%; PF: 228 °C; R_f: 0,5 (Acetato de Etila/Hexano 8:2);
- PF _{literat.} = 228-229 °C (Beraldo et al., 2001);
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3283 (NHC₂H₅), 3043 (Ar-H), 1537 (C=N), 1088 (C=S);

2-Formil-Piridino-N(4)-fenil-Tiossemicarbazona (2d)



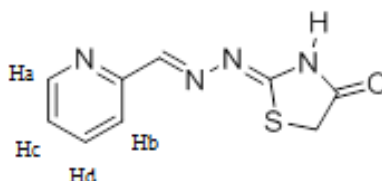
- Aspecto: Sólido Róseo;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 90%; PF: 200 °C; R_f: 0,5 (Acetato de Etila/Hexano 6:4);
- PF _{literat.} = 200 °C (Grammaticakis, 1956);
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3306 (NHC₆H₅), 2948 (Ar-H), 1550 (C=N), 1189 (C=S);

7.2.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DE 4-TIAZOLIDINONAS (3A-D)

Uma solução contendo quantidades equimolares de Tiossemicarbazonas (**2a-d**), ácido cloroacético, e acetato de sódio anidro em etanol foi submetida à agitação e refluxo por 8-24h, A reação foi monitorada por CCD. A mistura é submetida à refrigeração e posterior filtração do precipitado em funil sinterizado, onde por sua vez foi lavado com metanol.

7.2.4 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROSCÓPICOS PARA 4-TIAZOLIDINONAS (3A-D)

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-4-tiazolidinona (3a)

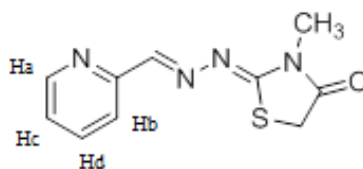


F.M.: C₉H₈N₄OS

P.M.: 220 g/mol

- Aspecto: Sólido Branco;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 78%; PF: 270°C; R_f: 0,55 (Acetato de Etila/Hexano 6:4;
- PF_{Literat.} = 271°C (Buu-Hoi et al., 1954)
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1709 (C=O), 1627 e 1566 (C=N), 1292 (NCS), 1246 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 220,0419 ; Obtido: 220,0378;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 12,06 (s, 1H, N-H), 8,32 (s, 1H, CH=N); Piridina: 8,63 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha); 7,96 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb) 7,88 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc), 7,43 (t, 1H, J = 8,0Hz, Hd), 3,92 (s, 2H, CH₂);
- RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz / ppm): δ 174,04 (C=O), 167,20 (N=C), 156,02 (CH=N), 152,71 (Cq-Ar, Piridina), 149,47 (CH- Ar), 136,64 (CH-Ar, Piridina), 124,57 (CH-Ar, Piridina), 120,54 (CH-Ar, Piridina), 32,99 (CH₂);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-metil)-4-tiazolidinona (3b)

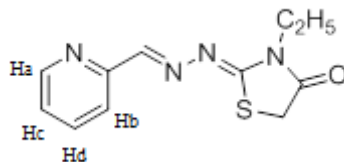


F.M: C₁₀H₁₀N₄OS

P.M: 234 g/mol

- Aspecto: Sólido Cinza;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 77%; PF: 157°C; R_f: 0,55 (Acetato de Etila/Hexano 7:3);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1717 (NC=O), 1620 e 1552 (N=C), 1298 (NCS), 1118 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 234,0575; Obtido: 234,0560;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 8,43 (s, 1H, CH=N), Piridina: 8,58 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha) 8,03 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb), 7,70 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc), 7,26 (t, 1H, J = 8,0Hz, Hd), 3,71 (s, 2H, CH₂), 3,23 (s, 3H, CH₃);
- RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz): δ 172,06 (C=O), 166,14 (N=C), 157,69 (CH=N), 152,81 (Cq-Ar, Piridina), 148,88 (CH- Ar, piridina), 137,09 (CH-Ar, Piridina), 124,84 (CH-Ar, Piridina), 121,73 (CH-Ar, Piridina), 32,42 (CH₂), 29,91 (CH₃);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-etil)-4-tiazolidinona (3c)

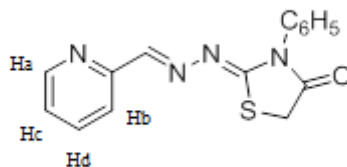


F.M.: C₁₁H₁₂N₄OS

P.M.: 248 g/mol

- Aspecto: Sólido Cinza-claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 83%; PF: 131 °C; R_f: 0,5 (Acetato de Etila/Hexano 6:4);
- IV FT (v cm⁻¹ KBr): 1721 (C=O), 1657 e 1551 (N=C), 1326 (NCS), 1242 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 248,0732 ;Obtido: 248,0522;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,63 (s, 1H, CH=N); Piridina: 8,66 (d, 2H, *J* = 8,2 Hz, Ha); 8,18 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, Hb); 7,86 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, Hc); 7,40 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz, Hd), 3,93 (m, 2H, *J* = 7,2 Hz); 3,79 (s, 2H, CH₂); 1,29 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz);
- RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 171,78 (C=O), 166,14 (C=N), 156,52 (CH=N), 152,62 (Cq- Ar, Piridina), 147, 86 (CH-Ar, Piridina), 137,95 (CH-Ar, Piridina), 124,88 (CH-Ar, Piridina), 121, 90 (CH-Ar, Piridina), 38,84 (N-CH₂), 32,54 (S-CH₂), 12,55 (CH₃);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-fenil)-4-tiazolidinona (3d)



F.M.: C₁₅H₁₂N₄OS

P.M.: 296 g/mol

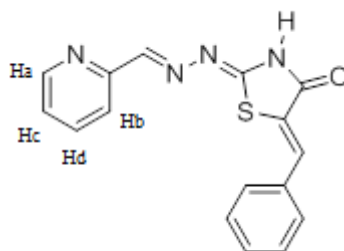
- Aspecto: Sólido Branco;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 87%; P.F.: 252 °C; R_f: 0,5 (Acetato de Etila/Hexano 1:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1721 (C=O), 1612 e 1540 (N=C), 1383 (NCS), 1240 (N=N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 296,0732; Obtido: 296,0501;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ , 8,36 (s, 1H, CH=N), 7,46 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH-Ar), 7,38 (d, 2H, J = 7,2 Hz, CH-Ar), 7,29 (t, 1H, J = 7,2 Hz, CH-Ar), 3,98 (s, 2H, CH₂), Piridina: 8,63 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha), 8,09 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb), 7,73 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc), 7,53 (t, 1H, J = 8,0Hz, Hd);
- RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 171,69 (C=O); 165,77 (C=N); 159,26 (CH=N); 153,31 (Cq-Ar, Piridina); 149,68 (CH-Ar, Piridina); 136,34 (Cq-Ar); 134, 33 (Cq-Ar); 129,38 (CH-Ar); 129,15 (CH-Ar); 127,72 (CH-Ar, Piridina), 124,58 (CH-Ar, Piridina), 121,53 (CH-Ar, Piridina), 32,48 (CH₂);

7.2.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DE 2-[(2-PIRIDINOMETILENO)-HIDRAZONO]-5-BENZILIDENO-4-TIAZOLIDINONAS (4A-P)

Em um balão de 50 ml, foram adicionados quantidades equimolares de 4-Tiazolidinona (3a-d) previamente sintetizada e aldeído aromático, além de 5 gotas de Piperidina e etanol. A mistura reacional foi submetida à agitação e refluxo até o termino da reação, onde foi monitorada por CCD. O procedimento durou entre 4-28 horas, onde a solução final foi submetida a resfriamento e posterior filtração em funil sinterizado e lavado com metanol.

7.2.6 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E ESPECTROMÉTRICOS DOS COMPOSTOS 2-[(2-PIRIDINOMETILENO)-HIDRAZONO]-5-BENZILIDENO-4-TIAZOLIDINONAS (4A-P)

2-[(2-piridinil-metileno)-hidrazono]-5-benzilideno-4-tiazolidinona (4a)



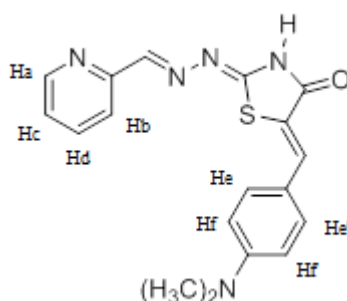
F.M.: C₁₆H₁₂N₄OS

P.M.: 308 g/mol

- Aspecto Sólido Amarelo-claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 63%; P.F.: 273 °C; R_f: 0,5 (Hexano/Acetato de Etila 4:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1712 (C=O), 1648 e 1558 (N=C), 1595 (C=C), 1337 (NCS), 1200 (N-N-C);

- HRMS(EI⁺) : Calculada: 308,0732; Obtido: 308,0536;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,52 (s, 1H, CH=N), 7,66 (s, 1H, HC=C), 7,50-7,60 (m, 5H, Ar-H); Piridina: 8,83 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, Ha), 8,50 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, Hb), 7,91 (t, 1H, *J* = 6,3 Hz, Hc); 7,56 (t, 1H, *J* = 6,3 Hz, Hd).

2-[(4-piridinil-metileno)-hidrazono]-5-*p*-dimetilamino-benzilideno-4-tiazolidinona (4b)

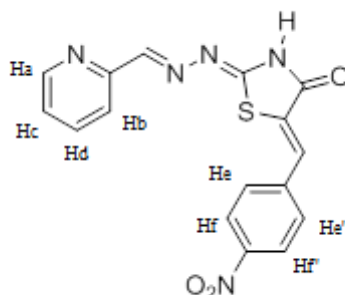


F.M.: C₁₈H₁₇N₅OS

P.M.: 351 g/mol

- Aspecto: Sólido Amarelo-avermelhado;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 56%; P.F.: 255 °C; R_f: 0,6 Hexano/Acetato de Etila 4:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1694 (C=O), 1625 e 1525 (N=C), 1583(C=C), 1294 (NCS), 1214 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 351,1154 ; Obtido: 351,0903;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 12,18 (s, 1H, N-H), 8,40 (s, 1H, CH=N), 7,78 (s, 1H, HC=C), 7,45 (d, 2H, *J* = 6,0 Hz, Ar-H, He, He'), 6,9 (d, 2H, Ar-H, *J* = 6,0 Hz, Hf, Hf'), Piridina: 8,67 (d, 1H, *J* = 6,4 Hz, Ha) 8,07 (d, 1H, *J* = 6,4 Hz, Hb), 7,93 (t, 1H, *J* = 6,4 Hz, Hc); 7,64 (t, 1H, *J* = 6,4 Hz, Hd), 3,05 (s, 6H);

2-[(4-piridinil-metileno)-hidrazono]-5-p-nitro-benzilideno-4-tiazolidinona (4c)

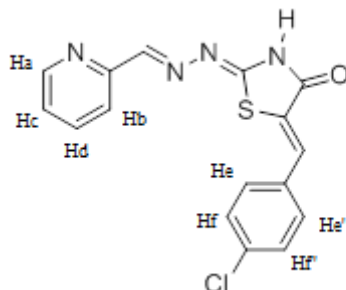


F.M.: C₁₆H₁₁N₅O₃S

P.M.: 353 g/mol

- Aspecto: Sólido Amarelo-escuro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 46%; P.F.: 262 °C ;R_f: 0,55 (Hexano/Acetato de Etila 4:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1702 (C=O), 1618 e 1513 (N=C), 1599 (C=C), 1337 (NCS), 1104 (N-N=C);
- HRMS(EI+) : Calculada: 353,0583; Obtido: 353,0346;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) : δ 11,10 (s, 1H, N-H), 8,63 (s, 1H, CH=N), 8,36 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, Hf = Hf'), 8,28 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, He = He' , 7,67 (s, 1H, HC=C), Piridina: 8,82 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, Ha), 8,09 (d, 1H, $J = 6,0$ Hz, Hb), 7,92 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz, Hc); 7,41 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz, Hd);

2-[(4-piridinil-metileno)hidrazono]-5-*p*-cloro-benzilideno-4 tiazolidinona (4d)

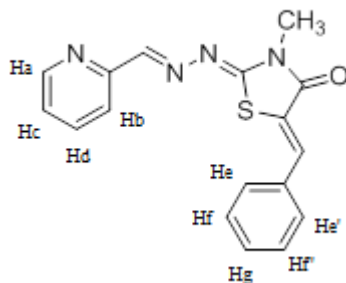


F.M.: C₁₆H₁₁ClN₄OS

P.M.: 342 g/mol

- Aspecto: Sólido verde escuro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 45%; P.F.: 240 °C; R_f: 0,63 (Hexano/Acetato de Etila 4:1);
- IV FT (v cm⁻¹ KBr): 1711 (C=O), 1646 e 1546 (N=C), 1590 (C=C), 1335 (NCS), 1089 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 342,0342 ; Obtido: 342,0256;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 12,45 (N-H), 8,51 (s, 1H, CH=N), 7,86 (d, 2H, *J* = 7,2 Hz, H_f = H_{f'}), 7,66 (s, 1H, HC=C), 7,59 (d, 2H, *J* = 7,2 Hz, H_e = H_{e'}), Piridina: 8,82 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, H_a) 8,06 (d, 1H, *J* = 6,0 Hz, H_b), 7,92 (t, 1H, *J* = 6,0 Hz, H_c), 7,40 (t, 1H, *J* = 6,0 Hz, H_d);

2-[(4-piridinil-metileno)-hidrazono]-(3-metil)-5-benzilideno-4 tiazolidinona (4e)

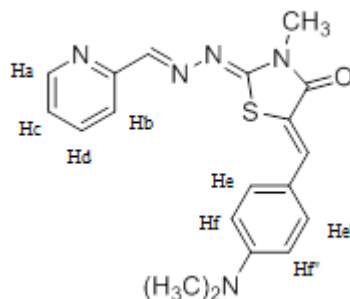


F.M.: C₁₇H₁₄N₄OS

P.M.: 322 g/mol

- Aspecto: Sólido amarelo;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 44%; P.F.: 196 °C; R_f: 0,6 (Hexano/Acetato de Etila 7:3)
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1709 (C=O), 1626 e 1560 (N=C), 1590 (C=C), 1373 (NCS), 1123 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 322,0888; Obtido: 322,0859;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,56 (s, 1H, CH=N), 7,75 (s, 1H, HC=C), 7,61 (d, 2H, J = 7,2 Hz, He = He'), 7,40 (t, 2H, J = 7,2 Hz, Hf = Hf'), 7,32 (t, 1H, J = 7,2 Hz, Hg), 3,48 (s, 3H, CH₃); Piridina: 8,68 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha); 8,18 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb); 7,80 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc); 7,48 (t, 1H, J = 8,0Hz, Hd);
- RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 166,93 (C=O), 161,61 (C=N), 159,31 (CH=N), 153,29 (Cq- Ar, piridina), 149,78 (CH- Piridina), 136,39 (CH-Piridina), 133,89 (CH=C), 131,11 (CH=C), 130,14 (Cq- Ar, piridina), 129,83 (CH-Ar), 129,06 (CH-Ar), 124,68 (CH- Piridina), 121,82 (CH- Piridina); 29,99 (CH₃);

7 2-[(2-piridinil-metileno)-hidrazono]-(3-metil)-5(p-dimetilaminobenzilideno)-4-tiazolidinona (4f)

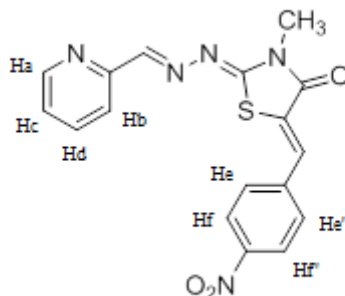


F.M.: C₁₉H₁₉N₅OS

P.M.: 365 g/mol

- Aspecto: Amarelo avermelhado
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 65%; P.F.: 230 °C; R_f: 0,55 (Hexano/Acetato de Etila 7:3);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1694 (C=O), 1597 e 1525 (N=C), 1555 (C=C), 1372 (NCS), 1199 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 365,1319; Obtido: 365,1086;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,54 (s, 1H, CH=N), 7,67 (s, 1H, HC=C), 7,50 (d, 2H, J = 8,0 Hz, He = He'), 6,73 (d, 2H, J = 8,0 Hz, Hf = Hf'), 3,45 (s, 3H, CH₃), 3,04 (s, 6H, CH₃); Piridina: 8,67 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha); 8,18 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb); 7,76 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc); 7,30 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hd);
- RMN ¹³C (CDCl₃ 100 MHz / ppm): δ 167,48 (C=O), 162,59 (C=N), 158,30 (CH=N), 153,56 (Cq- Ar, piridina) 151,12 (Cq-Ar-N), 149,67 (CH-Ar, Piridina) 136,26 (Cq- Ar, piridina), 132,25 (CH=C), 132,11 (CH=C), 124,42 (Cq- Ar, Piridina) 121,58 (Cq- Ar, Piridina) 115,09 (Cq-Ar), 111,87 (Cq-Ar), 111,01 (Cq-Ar), 40,00 (CH₃), 29,77 (CH₃);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-metil)-5(*p*-nitro-benzilideno)-4-tiazolidinona (4g)

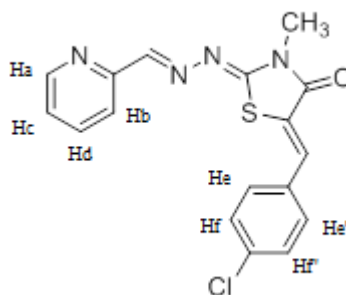


F.M.: C₁₇H₁₃N₅O₃S

P.M.: 367 g/mol

- Aspecto: Sólido Amarelo-Claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 63%; P.F.: 260 °C; R_f: 0,45 (Hexano/Acetato de Etila 7:3);
- IV FT (v cm⁻¹ KBr): 1704 (C=O), 1626 e 1559 (N=C), 1596 (C=C), 1342 (NCS), 1129 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 367,0739; Obtido: 367,0535;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,59 (s, 1H, CH=N), 8,1 (d, 2H, J = 8,0 Hz, Hf = Hf'), 7,76 (d, 2H, J = 8,0 Hz, He = He'), 7,73 (s, 1H, HC=C), 3,52 (s, 3H, CH₃); Piridina: 8,70 (d, 1H, J = 8,0 Hz, piridina); 8,35 (d, 1H, J = 8,0 Hz, piridina); 7,83 (t, 1H, J = 8,0 Hz, piridina), 7,36 (t, 1H, J = 8,0 Hz);
- RMN ¹³C (CDCl₃ 100 MHz): δ 166,25 (C=O); 160,29 (C=N); 160,17 (CH=C), 152,97 (Cq-Ar, Piridina), 149,852 (CH-Ar, Piridina), 148,40 (CH=C), 140,10 (CH=C); 136,50 (CH-Ar, Piridina); 130,49 (Cq-Ar), 127,73 (Cq-Ar), 126,62 (CH-Ar), 124,97 (CH-Ar), 124,27 (CH-Ar, Piridina), 121,865 (CH-Ar).

2-[(2-piridinil-metileno)-hidrazono]-(3-metil)-5(*p*-cloro-benzilideno)-4-tiazolidinona (4h)

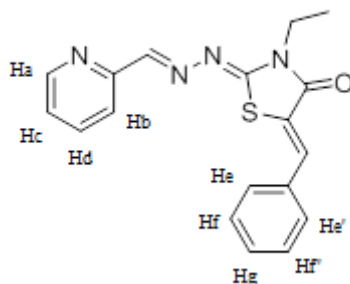


F.M.: C₁₇H₁₃ClN₄OS

P.M.: 356g/mol

- Aspecto: Sólido Bege;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 53,2%; P.F.: 225 °C; R_f: 0,48 (Hexano/Acetato de Etila 7:3)
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1705 (C=O), 1622 e 1552 (N=C), 1590(C=C), 1335 (NCS), 1129 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 356,0499; Obtido: 356,0119;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,56 (s, 1H, CH=N), 7,68 (s, 1H, HC=C), 7,53 (d, 2H, J = 8,4Hz, CH-Ar, H_f = H_{f'}); 7,45 (d, 2H, J = 8,4Hz, CH-Ar, H_e = H_{e'}), 3,48 (s, 3H, CH₃); Piridina: 8,69 (d, 1H, J = 8Hz, H_a), 8,16 (d, 1H, J = 8Hz, H_b), 7,78 (t, 1H, J = 8Hz, H_c); 7,33 (t, 1H, J = 8,0 Hz, H_d);
- RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 166,72 (C=O); 161,15 (C=N); 159,52 (CH=N), 153,18 (C_q-Ar, Piridina), 149,82 (CH-Ar, Piridina), 136,40 (CH-Ar, Piridina), 135,79 (CH=C), 132,37 (CH=C), 131,22 (C_q-Ar), 129,56 (C_q-Ar), 129,35 (CH-Ar), 124,76 (CH-Ar), 122,51 (CH-Ar, Piridina), 121,76 (CH-Ar, Piridina), 30,06 (CH₃);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-etil)-5-benzilideno-4-tiazolidinona (4i)

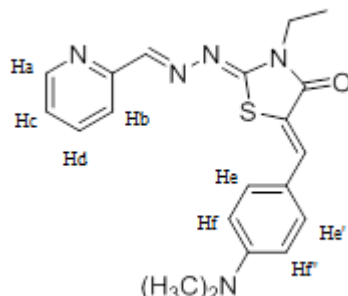


F.M.: C₁₈H₁₆N₄OS

P.M.: 336 g/mol

- Aspecto: Amarelo Âmbar
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 59%; P.F.: 155 °C; R_f: 0,5 (Hexano/Acetato 3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1699 (C=O), 1625 e 1510 (N=C), 1555 (C=C), 1353 (NCS), 1127 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 336,1045; Obtido: 336,0875;
- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,64 (s, 1H, CH=N), 7,75 (s, 1H, HC=C), 7,59 (d, 2H, J = 8,4 Hz, CH-Ar, He = He'), 7,40 (s, 1H, J = 8,4 Hz, CH-Ar, Hg), 7,38 (d, 2H, J = 8,4 Hz, CH-Ar, Hf = Hf'); 4,08 (t, J = 7,0 Hz 2H, CH₂), 1,36 (t, J = 7,0 Hz, 3H, CH₃); Piridina: 8,69 (d, 1H, J = 8Hz, Ha), 8,23 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb), 7,86 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc), 7,48 (s, 1H, J = 8,0 Hz, Hd);
- RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 166,60 (C=O); 161,65 (C=N); 157,65 (CH=N), 152,62 (Cq-Ar, Piridina), 148,602 (CH-Ar, Piridina), 137,43 (CH-Ar, Piridina), 133,92 (CH=C), 131,11 (CH=C), 130,12 (Cq-Ar), 129,81 (CH-Ar), 129,06 (CH-Ar), 124,86 (CH-Ar, Piridina), 121,97 (CH-Ar, Piridina), 38,90 (CH₂), 12,82 (CH₃);

[(2-piridinil-metileno)-hidrazono]-(3-etil)-5(p-dimetilamino-benzilideno)-4-tiazolidinona (4j)

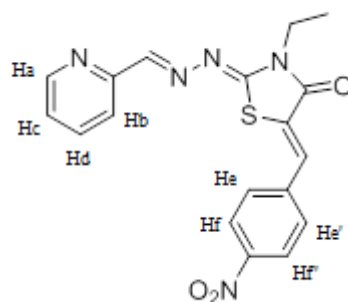


F.M.: C₂₀H₂₁N₅OS

P.M.: 379 g/mol

- Aspecto: Amarelo-avermelhado;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 60,1%; P.F.: 216 °C; R_f: 0,6 (Hexano/Acetato de Etila 3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1695 (C=O), 1620 e 1543 (N=C), 1584 (C=C), 1347 (NCS), 1196 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 379,1467; Obtido: 379,1192;
- RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,54 (s, 1H, CH=N), 7,67 (s, 1H, HC=C), 7,51 (d, 2H, J = 8,0 Hz, CH-Ar, He = He'), 6,76 (d, 2H, J = 8,0 Hz, CH-Ar, Hf = Hf'), Piridina: 8,67 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Ha), 8,18 (d, 2H, J = 8,0 Hz, Hb), 7,30 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc); 7,77 (t, 2H, J = 8,0 Hz, Hd), 4,08 (m, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂), 3,05 (s, 6H, (CH₃)₂), 1,35 (t, 3H, J = 7,2 Hz, (CH₃));
- RMN ¹³C (CDCl₃ 100 MHz): δ 167,22 (C=O); 161,93 (C=N); 158,13 (CH=C); 153,64 (Cq-Ar, Piridina); 151,08 (Cq-Ar), 149,68 (Cq-Ar, Piridina), 136,27 (Cq-Ar, Piridina), 132,16 (CH=C), 131,88 (CH=C), 124,38 (Cq-Ar, Piridina), 121,56 (Cq-Ar, Piridina), 115,46 (Cq-Ar), 111,89 (CH-Ar); 40,03 (CH₂), 38,56 (CH₃)₂, 12,82 (CH₃).

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-etil)-5(p-nitro-benzilideno)-4-tiazolidinona (4k)

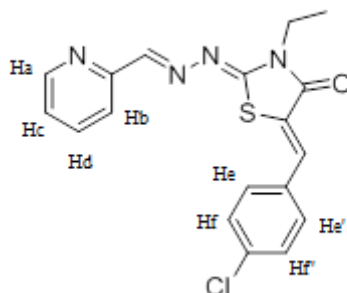


F.M.: C₁₈H₁₅N₅O₃

P.M.: 381 g/mol

- Aspecto: Amarelo-Claro
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 65%; P.F.: 235 °C; R_f: 0,5 (Hexano/Acetato de Etila 3:1)
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1707 (C=O), 1623 e 1511 (N=C) 1553 (C=C), 1337 (NCS), 1236 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 381,0896; Obtido: 381,0626;
- RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,55 (s, 1H, CH=N); 8,14 (d, 2H, J = 8,0 Hz, CH-Ar, H_f = H_{f'}), 7,79 (t, 2H, J = 8,0 Hz, CH-Ar, H_e = H_{e'}) 7,71 (s, 1H, HC=C), 4,08 (q, 2H, J = 7,2 Hz); 1,37 (t, 3H, J = 7,2 Hz); Piridina: 8,68 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_a); 8,31 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_b); 7,72 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_c), 7,34 (t, 1H, J = 8,0 Hz, H_d);
- RMN ¹³C (CDCl₃ 100 MHz): δ 165,88 (C=O), 159,90 (C=N), 159,63 (CH=N), 152,97 (C_q-Ar, Piridina), 149,85 (CH-Ar, Piridina), 147,46 (CH=C), 140,12 (CH=C), 136,41 (CH-Ar), 130,41 (C_q-Ar), 127,43 (C_q-Ar), 126,85 (CH-Ar), 124,86 (CH-Ar), 124,01 (CH-Ar, Piridina), 121,74 (CH-Ar, Piridina), 39,16 (CH₃), 12,77 (CH₂);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-etil)-5(p-cloro benzilideno)-4-tiazolidinona (4l)

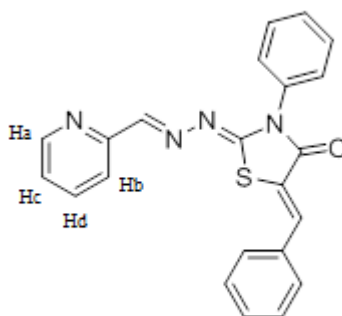


F.M.: C₁₈H₁₅ClN₄OS

P.M.: 370,5 g/mol

- Aspecto: Sólido Bege;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 54,5%; P.F.: 218 °C; R_f: 0,55
Hexano/Acetato de Etila (3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1706 (C=O), 1623 e 1555 (N=C), 1585 (C=C), 1398 (NCS), 1241 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 370,0655; Obtido: 370,0391;
- RMN ¹H (CDCl₃ 400 MHz): δ 8,53 (s, 1H, CH=N), 7,63 (s, 1H, HC=C) 7,49 (d, 2H, J = 7,6 Hz, CH-Ar, H_f = H_{f'}), 7,40 (d, 2H, J = 7,6 Hz, CH-Ar, He = He'), 4,06 (m, J = 7,2 Hz, 2H), 1,34 (t, J = 7,2 Hz, 3H); Piridina: 8,67 (d, 2H, J = 8,0 Hz, Ha); 8,14 (d, 1H, J = 8,0 Hz, Hb), 7,78 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hc), 7,30 (t, 1H, J = 8,0 Hz, Hd);
- RMN ¹³C (CDCl₃ 100 MHz): δ 166,33 (C=O), 160,46 (C=N), 159,22 (CH=N), 153,18 (Cq-Ar, Piridina), 149,74 (CH-Ar), 136,31 (CH-Ar), 135,60 (CH=C), 132,38 (CH=C), 131,37 (Cq-Ar), 129,26 (Cq-Ar), 129,21 (Cq-Ar), 124,63 (Cq-Ar), 122,72 (Cq-Ar, Piridina), 121,641 (Cq-Ar, Piridina), 38,86 (CH₂), 12,76 (CH₃);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-fenil)-5-benzilideno-4-tiazolidinona (4m)

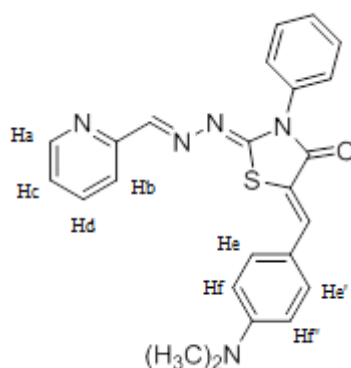


F.M.: C₂₂H₁₆N₄OS

P.M.: 384g/mol

- Aspecto: Amarelo-claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 54,5%; P.F.: 208 °C; R_f: 0,6 Hexano/Acetato de Etila (3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1708 (C=O), 1619 e 1498 (N=C), 1533 (C=C), 1379 (NCS), 1240 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 384,1045; Obtido: 384,0886;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,30 (s, 1H, CH=N), 7,69 (s, 1H, HC=C), 7,45-7,55 (m, 10H, Ar-CH); Piridina: 8,66 (d, 1H, J=6,0 Hz, Ha), 8,06 (d, 1H, J = 6,0 Hz, Hb), 7,94 (t, 1H, J = 6,0 Hz, Hc), 7,73 (t, 1H, J = 6,0 Hz, Hd);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-fenil)-5(p-dimetilamino-benzilideno)-4-tiazolidinona (4n)

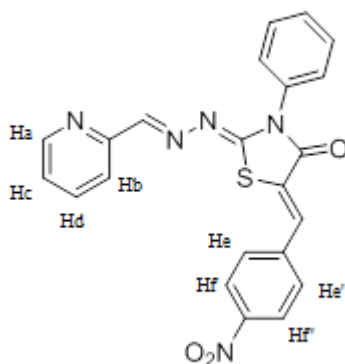


F.M.: C₂₄H₂₁N₅OS

P.M.: 427 g/mol

- Aspecto: Amarelo-avermelhado;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 55%; P.F. 271 °C; R_f: 0,5 (Hexano/Acetato de Etila 3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1697 (C=O), 1594 e 1494 (N=C), 1546 (C=C), 1328 (NCS), 1163 (N-N=C), 1069 (CS);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 427,1467; Obtido: 427,1288;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz / ppm): δ 8,27 (s, 1H, CH=N), 7,68 (s, 1H, HC=C), 7,46-7,58 (m, 5H, CH-Ar), 7,48 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH-Ar, He = He'), 6,90 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH-Ar, Hf = Hf'), 3,04 (s, 6H); 8,66 (d, 1H, J = 6,0 Hz, Ha); 8,08 (d, 1H, J = 6,0Hz, Hb), 7,96 (t, 1H, J = 6,0Hz, Hc), 7,50 (s, 1H, J = 6,0 Hz, Hd);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]-(3-fenil)-5(p-nitro-benzilideno)-4-tiazolidinona (4o)

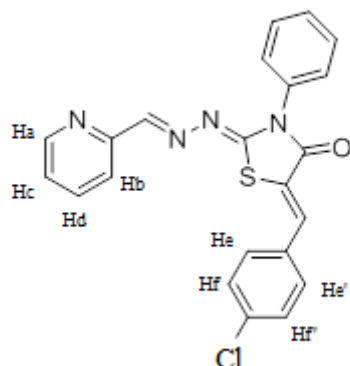


F.M.: C₂₂H₁₅N₅O₃S

P.M.: 429 g/mol

- Aspecto: Amarelo escuro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 55,2%; P.F.: 282 °C; R_f: 0,45 (Hexano/Acetato de Etila 3:1)
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (N-C=O), 1625 e 1518 (N=C), 1558 (C=C), 1345 (NCS), 1237 (N-N=C), 1100 (CS);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 429,0896; Obtido: 429,0711;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,42 (d, 2H, J = 9,0 Hz, Hf = Hf'), 8,33 (s, 1H, CH=N), 8,03 (d, 2H, J = 9,0 Hz, He = He'), 7,73 (s, 1H, HC=C); 7,40-7,52 (m, 5H, CH-Ar) Piridina : 8,69 (d, 1H, J = 6,0 Hz, Ha); 8,09 (d, 1H, J = 6,0 Hz, Hb); 7,96 (t, 1H, J = 6,0 Hz, Hc), 7,57 (t, 1H, J = 6,0 Hz, Hd);

2-[(2-piridinil-metileno)hidrazono]]-(3-fenil)-5(*p*-cloro-benzilideno)-4-tiazolidinona (4p)



F.M.: C₂₂H₁₅ClN₄OS

P.M.: 418,5 g/mol

- Aspecto: Bege-claro;
- Dados Físico-Químicos: Rendimento: 59%; P.F.: 255 °C; R_f: 0,55 (Hexano/Acetato de Etila 3:1);
- IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (C=O), 1623 e 1493 (N=C), 1545 (C=C), 1331 (NCS), 1237 (N-N=C);
- HRMS(EI⁺) : Calculada: 418,0655; Obtido: 418,0498;
- RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 8,31 (s, 1H, CH=N), 7,76 (s, 1H, HC=C), 7,67 (d, 2H, *J* = 9,0 Hz, H_f = H_{f'}), 7,54 – 7,58 (m, 5H, CH-Ar), 7,49 (d, 2H, *J* = 9,0 Hz, H_e = H_{e'}). Piridina: 8,67 (d, 1H, *J* = 6,6 Hz, H_a), 8,08 (d, 1H, *J* = 6,6 Hz, H_b), 7,95 (t, 1H, *J* = 6,6 Hz, H_c), 7,79 (t, 1H, *J* = 6,6 Hz, H_d);

7.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

7.3.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi determinada para os compostos 4-tiazolidinonas (**3a-d**) e compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**4a-p**) diante de bactérias e fungos.

Micro-organismos testados e padronização dos inóculos

Para os ensaios antimicrobianos foram utilizados diferentes espécies de bactérias e fungos cedidos pela coleção de microorganismos do departamento de antibióticos (UFPEDA). A relação dos microorganismos testados estão listados no quadro 1:

Bactérias Gram-positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA 02) <i>Bacillus subtilis</i> (UFPEDA 86)
Bactérias Gram-negativas	<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA 224) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFPEDA 416) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (UFPEDA 396)
Bactérias álcool-ácido resistentes	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (UFPEDA 71)
Fungos	<i>Candida albicans</i> (UFPEDA 1007) <i>Candida Krusei</i> (UFPEDA 1002) <i>Malassezia Furfur</i> (UFPEDA 1320) <i>Aspergillus Niger</i> (UFPEDA 2003) <i>Fusarium moniliforme</i> (UFPEDA 2456)

Quadro 1: Espécies de bactérias e fungos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana para os compostos sintetizados.

Os meios de cultura usados para inoculação foram o Agar Nutritivo (AN), Saborand (SAB) e Infusão Coração Cérebro (BHI). A Incubação foi realizada entre 30-37 °C por 24-48 horas, sendo que as suspensões de micro-organismos foram padronizadas através da escala de MacFarland com turbidez correspondente a 0,5, o que corresponde a 10⁸ unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL).

Determinação da Atividade Antimicrobiana

Os ensaios microbiológicos foram realizados através da metodologia de Difusão em Disco em meio Sólido, sendo esta realizada em triplicata (BAUER ET AL, 1966).

As soluções foram preparadas na concentração de 5mg/mL de DMSO para cada composto testado. A partir destas, foram retirados 50 µL e colocados em discos de papel, resultando em uma concentração final de 125 µg/disco. Estes foram colocados em Placa de Petri contendo os meios de cultura previamente semeado com micro-organismos testes. As Placas foram incubadas a 37 °C (Bactérias) ou 30°C (Fungos) por 24-48 horas. Para controle negativo foram utilizados discos umedecidos com DMSO.

Os resultados foram avaliados através das medias aritméticas dos halos de inibição ou Zona Média de Inibição (ZMI), expressas em milímetros, onde os compostos que apresentaram halo maior ou igual a 16 milímetros foram selecionados para os ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CMI). As drogas utilizadas como referência foram Ampicilina e Rifampicina (Antibacterianos), e Nistatina (Antifungico), sendo estes utilizados na concentração de 125µg/disco.

Os valores da CMI foram determinados em meio sólido através do semeio em placas de Agar utilizando diferentes concentrações dos compostos testados. Desta forma os meios com diferentes concentrações do composto (500µg/mL, 250µg/mL, 125µg/mL, 62µg/mL, 31µg/mL) com o objetivo de pesquisar da menor concentração que apresente inibição do crescimento do microrganismo. A determinação da atividade antimicrobiana foi feita dentro das normas estabelecidas pelo National Commitee for Clinical Laboratory Standards com pequenas alterações (NCCLS, 1992; NCCLS, 1993).

7.3.2 ATIVIDADE DE CITOTOXICIDADE

Este teste objetiva avaliar o potencial de citotoxicidade de substancias puras, extratos, frações e subfrações *in vitro* diante de duas linhagens de células tumorais. Este procedimento faz parte de um screening inicial para determinar o potencial antitumoral destas amostras.

As linhagens tumorais utilizadas neste teste foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, As células foram isoladas em DMEM - Dulbecco's Modified Eagle Medium (GIBCO) com 10% de soro fetal bovino (GIBCO), 1% de solução de antibiótico (penicilina 1000UI/mL e estreptomicina 250mg/mL) e 1% de L-glutamina 200Mm (EAGLE, 1955).

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT baseia-se numa análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolio (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula.

As células foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

De acordo com protocolo seguido pelo programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), existe uma escala de intensidade para avaliação do potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição) com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%) (SHOEMAKER, 2006).

Os compostos que apresentaram excelente atividade (inibição de crescimento entre 70 a 100%) foram avaliados posteriormente para a pesquisa do valor da concentração mínima para inibição de 50% de crescimento (IC₅₀), utilizando-se composto de referência (Doxorrubicina).

Referências

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. L.; LEITAO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo celular específicos e ciclo celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n 1, p. 118-129, 2005.
- BARRECA, M. L. et al. Discovery of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as potent anti-HIV-1 agents. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 1793, 2001.
- BARREIRO, E. J. Sobre a Química dos remédios, dos Fármacos e dos medicamentos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 4-9, 2001.
- BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, v. 25, p. 6B, 1172-1180, 2002.
- BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing by Standadized Single Disk Method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-395, 1966.
- BERALDO, H. et al. Crystal structures and IR, NMR and UV spectra of 4-formyl-and 4-acetylpyridine *N*(4)ethyl- and *N*(4)-ethylthiosemicarbazones. **Journal of Molecular Structure**, v. 559, p. 99-106, 2001.
- BERGMAN, P. J. Mechanism of anticancer drug resistance. **Veterinary Clinics Small Animal**, v. 33, p. 651-667, 2003.
- BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, 4: 14-19, 1996.
- BERSENEVA, V. S. et al. Synthesis of Novel Thiazolidin-4-ones by Reaction of Malonthioamide Derivatives with Dimethyl Acetylenedicarboxylate. **Journal of the Chemical Society Perkin Transactions**, v. 1, p. 2133-2136, 1998.
- BRICKNER, S. J. et al. Synthesis and Antibacterial Activity of U-100592 and U-100766, Two Oxazolidinone Antibacterial Agents for the Potential Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Positive Bacterial Infections. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 673-679, 1996.
- BRUNO, G.; et al. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of 5-Arylidene-2,4-thiazolidinediones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 1077-1084, 2002.
- BUSH, K. Antibacterial drug discovery in the 21st century. **Clinical Microbiology and Infection**, v.10 S. 4, p. 10-17, 2004.
- BUU-HOI, N. P.; XUONG, N. D.; BINON, F. Thiosemicarbazones and 4-oxo-2-thiazolin-2-ylhydrazones. **Journal of the Chemical Society**, p. 713-716, 1954.

BYARUGABA, D. K. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 24, p. 105–110, 2004.

ÇAPAN, G. et al. New 6-Phenylimidazo[2,1-b]thiazole Derivatives: Synthesis and Antifungal Activity. **Monatshefte Für Chemie**, v. 130, p. 1399-1407, 1999.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms**. 5. ed. New York: Springer, 2007. 1199 p.

CHU, D. T. W.; PLATTNER, J. J.; KATZ, L. New directions in antibacterial research. **Journal Medicinal Chemistry**, v.39, n 20, p. 3853-3874, 1996.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. **Substâncias Carboniladas e seus Derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2003. 411 p.

EL-GENDY, Z; ABDEL-RAHMAN, R.M.; FAWZY, M. M. Biologically active thiazolidinone. Part II. Synthesis and Fungitoxicities of Isolated and Fused Thiazolidinones Derived from Thiosemicarbazones. **Journal of Indian Chemical Society**, v. 67, p. 927-929, 1990.

ERGENÇ, N. et al. Hypnotic Activity of New 4-Thiazolidinone and 2-Thioxo-4,5-imidazolidinedione Derivatives. **Archiv der Pharmazie**, v. 332, p. 343-347, 1999.

FEITOZA, D. et al. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of 5-Benzilydene-2-[(pyridine-4-ylmetilene)hidrazono]-thiazolidin-4-one and 2-[(pyridine-4-ylmetilene)hidrazono]- thiazolidin-4-one derivatives, **Química Nova**. Disponível em: <[HTTP://quimicanova.sbq.org.br/qn/prelo_QN_artigos.htm](http://quimicanova.sbq.org.br/qn/prelo_QN_artigos.htm).> Acesso em: 1 fev. 2012.

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

GOULD, I. M. Antibiotic resistance: the perfect storm. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, 2009.

GOULD, I. M. Who's winning the war? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, 2008.

GRAMMATICAKIS, P. The ultraviolet and visible absorption of pyridine derivatives. II. α -, β - and γ - pyridinecarboxaldehydes and their nitrogen derivatives. **Bulletin de la Societe Chimique de France**, p. 109-119, 1956.

HARRIS, C. R.; THORARENSEN, A. Advances in the Discovery of novel antibacterial agents during the year 2002. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, p. 2213-2243, 2004.

HAVRYLYUK, D. et al. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.44, p. 1396–1404, 2009.

HOLLA, B. S. et al. Synthesis of Some New 2,4-Disubstituted Thiazoles as Possible Antibacterial and Anti-inflammatory Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, p. 313-318, 2003.

HUBER, P. C.; MARUIAMA, C. H.; ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-p, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, v. 33, p. 10, 2148-2154, 2010.

JOLLY, V. S.; SHARMA, K. P. Studies on Aryl Thiosemicarbazones and 2-Oxo-thiazolin-2-yl Hydrazones. **Journal of Indian Chemical Society**, v. 67, p. 412-413, 1990.

KARABATSOS, G. J. et al. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance. 8. Ring-substituted Phenylhydrazonessemicarbazones + Thiosemicarbazones. **Journal of American Chemical Society**, v. 86, p. 3351-3358, 1964.

KAVITHA, C. V. et al. Synthesis of new bioactive venlafaxine analogs: Novel thiazolidin-4-ones as antimicrobials. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 2290, 2006.

KAYANGE, N. et al. Predictors of positive blood culture and deaths among neonates with suspected neonatal sepsis in a tertiary hospital, Mwanza- Tanzania. **BMC Pediatrics**, 10:39, 2010.

KNUTSEN, L. J. S. et al. Synthesis and SAR of novel 2-arylthiazolidinones as selective analgesic N-type calcium channel blockers. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 662-667, 2007.

KUÇUKGUZEL, S. G. et al. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisal hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 353-3539, 2006.

KUÇUKGUZEL, S. G. et al. Synthesis, characterization and biological activity of novel 4-thiazolidinones, 1,3,4-oxadiazoles and some related compounds. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 197-206, 2002.

LAURENT, D. R. et al. Regioselective synthesis of 3-(heteroaryl)-iminothiazolidin-4-ones. **Tetrahedron Letters**, v. 45, p. 1907-1910, 2004.

LIESESN, A. P. J. et al. Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica das 4-thiazolidinonas. **Química Nova**, v. 31, p. 369-376, 2008.

LOUREIRO, A. P. M.; DI MASCIO, P.; MEDEIROS, M. H. G. Formação de Adutos Exocíclicos com bases de DNA: Implicações em mutagênese e carcinogênese. **Química Nova**, v. 25, n 5, p. 777-793, 2002.

MAI, P. L. et al. Confirmation of Family Cancer History Reported in a Population-Based Survey. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 103, issue 10, p. 788-797, 2011.

McCORMACK, V.A.; BOFFETTA, P. Today's lifestyles, tomorrow's cancers: trends in lifestyle risk factors for cancer in low- and middle-income countries. **Annals of Oncology**, v. 22, p. 2349-2357, 2011.

MENDES, I.C. et al. Structural and spectral studies of thiosemicarbazones derived from 3- and 4-formylpyridine and 3- and 4-acetylpyridine. **Journal of Molecular Structure**, v. 559, p. 355-360, 2001.

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

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 3. ed. Villanova, PA: NCCLS publication, 1993. **Approved Standard**

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Proposed Standard. **NCCLS Document M27-P**, Villanova, PA, 1992.

NIELSEN, S. F. et al. Cationic Chalcone Antibiotics. Design, Synthesis, and Mechanism of Action. **Journal of medicinal chemistry**, v. 48, p. 2667-2677, 2005.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: Uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25 n 6, p. 976-984, 2002.

OTA, A. T. et al. Modeling of the interconversion between Z and E isomeric forms of pyridine-2-formyl thiosemicarbazone. **Journal of Molecular Structure: Theochem**, v. 451, p. 269-275, 1998.

OTTANÁ, R. et al. 5-arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 3, p. 4243-4252, 2005.

PANICO, R.; POWELL, W. H.; RICHER, J. C. **IUPAC – Nomenclature of organic compounds**, London, ed. Blackwell, p. 105, 1993.

PROJAN, S. J.; SHLAES, D. M. Antibacterial drug discovery: is it all downhill from here? **Clinical Microbiology and Infection**, v.10 S. 4, p. 18-22, 2004.

ROSTON, S. A. F. Synthesis and in vitro antitumor evaluation of some indeno[1,2-c]pyrazol(in)es substituted with sulfonamide, sulfonylurea(-thiourea) pharmacophores, and some derived thiazole ring systems. **Bioorganic Medicinal & Chemistry**, v. 14, n.19, p. 6475-6485, 2006.

SANTHAKUMARI, R. et al. Synthesis and spectral characterization of acetophenone thiosemicarbazone—A nonlinear optical material. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 76, n. 3-4, p. 369-375, 2010.

SANTOS, N. P. **Nanocápsulas de PLGA contendo ácido úsnico de *Cladonia substellata* com potencial ação antitumoral.**, 2003. 124 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

SILVEIRA, G. et al. Estratégias utilizadas no combate as infecções bacterianas. **Química Nova**, v.29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SINGH, S. P.; PARMAR, S. S.; RAMAN, K. Chemistry and Biological Activity of Thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 81, p. 175-203, 1981.

SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 82 p.1107-1112, 1990.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 5. ed. New York: Wiley Inter-Science, 2001.

SPENCE, R. A. J.; JONHATON, P. G. **Oncology**. Oxford University Press. v. 1-14, p. 121-122, 2001.

STEFANI, S. Emergence of Multi-Drug Resistance Gram-Positive Bacteria and New Active Antibiotics. **Current Medicinal Chemistry – Anti-infective Agents**, v.4, p. 235-257, 2005.

STAVROVSKAYA, A. A.; STROMSKAYA, T. P. Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells. **Biochemistry**, v. 73, p. 598-604, 2008.

SRIVASTAVA, T.; HAQ, W.; KATTI, S. B. Carbodiimide Mediated Synthesis of 4-Thiazolidinones by One-pot Three-component Condensation. **Tetrahedron**, v. 58, p. 7619-7624, 2002.

TARASCONI, P. et al. Synthesis, Spectroscopic Characterization and Biological Properties of New Natural Aldehydes Thiosemicarbazones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 157-162, 2000.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, p. 281-301, 2000.

TENORIO, R. P. et al. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their *in vitro* anti-*Toxoplasma gondii* activity. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p 2575-2578, 2005.

TENORIO, R. P. et al. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, p. 1030-1037, 2005.

THEURETZBACHER, U. Future antibiotics scenarios: is the tide starting to turn? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, p. 15–20, 2009.

THIRUMURUGAN, R. et al. 2,4-Dimethoxyphenylsemicarbazones with anticonvulsant activity against three animal models of seizures: Synthesis and pharmacological evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 9, p. 3106–3112, 2006.

VERÇOZA, G. L. et al. Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novas 4-tiazolidinonas obtidas a partir de formilpiridina tiossemicarbazonas. **Química Nova**, v. 32, n.6, p. 1405-1410, 2009

VERMA, A.; SARAF, S. K.; 4-Thiazolidinone e a biologically active scaffold. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.43, p. 897-905, 2008.

VICINI, P. et al. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel 2-Thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 3859-3864, 2006.

ZHOU, H. et al. Design, Synthesis, Cytoselective Toxicity, Structure–Activity Relationships, and Pharmacophore of Thiazolidinone Derivatives Targeting Drug-Resistant Lung Cancer Cells **Journal Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 1242-1251, 2008.