

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



TESE DE DOUTORADO

Síntese e Avaliação das Atividades Anti-*Toxoplasma gondii* e Antimicrobiana de Benzaldeído 4-Fenil-3-tiossemicarbazonas e Derivados 2[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos

Thiago Mendonça de Aquino

Recife, 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



TESE DE DOUTORADO

Síntese e Avaliação das Atividades Anti-*Toxoplasma gondii* e Antimicrobiana de Benzaldeído 4-Fenil-3-tiossemicarbazonas e Derivados 2[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos

Tese Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas como Parte dos Requisitos para a Obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas – Área de Concentração: Síntese e Planejamento de Fármacos

Orientador: Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes

Co-orientador: Prof. Dr. José Gildo de Lima

Colaborador: Prof. Dr. Edésio José Tenório de Melo (UENF-RJ)

Thiago Mendonça de Aquino

Recife, 2007



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Reitor

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

Vice-Reitor

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

José Thadeu Pinheiro

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Prof.^a Jane Sheila Higino

Vice-chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Samuel Daniel de Souza Filho

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Prof. Pedro Rolim Neto

Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Prof.^a Beat Saegesser Santos



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

Recife, 20 de dezembro de 2007.

Defesa de Tese de Doutorado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 20 de dezembro de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Alexandre Góes

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Julianna F. C. de Albuquerque

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Antonio José Alves (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Antonio José Alves

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Mônica C. P. A. Albuquerque (Deptº de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE)

Assinatura: Mônica C. P. A. Albuquerque

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Glícia Maria Torres Calazans Mota (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE)

Assinatura: Glícia M. T. Calazans

Este trabalho é dedicado à minha esposa Isabel Wanick, pelo amor, respeito e apoio em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me concedido simplesmente a oportunidade de viver.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio e incentivo.

À minha esposa Isabel Wanick, pelo carinho, preocupação e presença amiga durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre Góes, por me aceitar como orientador, pela dedicação na transmissão dos ensinamentos acadêmicos, e principalmente pela amizade.

Ao Prof. Dr. Gildo Lima, por sempre está à disposição com idéias e sugestões para a realização deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, em especial à Prof^a. Dr^a. Elba Lúcia, Prof. Dr. Antônio Rodolfo, Prof. Dr. Antônio Alves, Prof^a Dr^a. Cláudia Sampaio e Prof. Dr^a. Jane Sheila, pelos ensinamentos que contribuíram para meu crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Edésio Melo e Prof^a. Dr^a. Janete Magali, bem como suas equipes de trabalho, pela realização dos ensaios biológicos.

Aos integrantes da Central Analítica, em especial Eliete, Ricardo e Priscila, pela dedicação na realização dos experimentos espectroscópicos.

Aos amigos de sempre, em especial Francisco Jaime, André Liesen, Arquimedes Monteiro, Danilo Lins, Valderes Almeida, João Eudes e Rômulo Pinto.

À CAPES e CNPq, pelo suporte financeiro.

A todos não mencionados, que de alguma maneira, contribuíram de forma direta ou indireta na finalização deste trabalho.

“A ABERTURA DO TRONCO –
Momento de liberdade interior quando o
espírito está aberto & o universo infinito
revelado e a alma se deixa vaguear
deslumbrada & confusa à procura aqui
& ali de mestres e amigos.”

(James Douglas Morrison)

SUMÁRIO

| | |
|---|--------------|
| LISTAS DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES..... | xi |
| LISTA DE FIGURAS..... | xiii |
| LISTA DE ESQUEMAS..... | xv |
| LISTA DE TABELAS..... | xviii |
| LISTA DE QUADROS..... | xiv |
| RESUMO..... | xx |
| ABSTRACT..... | xxi |
| 1. Introdução e Revisão da Literatura..... | 1 |
| 1.1 Introdução..... | 2 |
| 1.2 Revisão da Literatura..... | 5 |
| 1.2.1 Toxoplasmose..... | 5 |
| 1.2.2 Tiossemicarbazonas..... | 7 |
| 1.2.2.1 Estrutura Geral e Estratégias de Síntese de Tiossemicarbazonas..... | 7 |
| 1.2.2.1.1 Obtenção Direta de Tiossemicarbazonas a Partir de Tiossemicarbazidas.... | 9 |
| 1.2.2.1.2 Obtenção Indireta de Tiossemicarbazonas Através da Preparação Prévia de Tiossemicarbazidas..... | 11 |
| 1.2.2.2 Atividades Biológicas das Tiossemicarbazonas..... | 13 |
| 1.2.3 4-Tiazolidinonas..... | 14 |
| 1.2.3.1 Estrutura Geral e Estratégias de Síntese de 4-Tiazolidinonas..... | 14 |
| 1.2.3.1.1 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir de Ácidos α -Haloacéticos e Derivados com Tiouréia, Tiossemicarbazidas e Tiossemicarbazonas..... | 15 |
| 1.2.3.1.2 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir do Ácido α -Mercaptoacético..... | 18 |
| 1.2.3.1.3 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir de Tioamidas e o Acetilenodocarboxilato de Metila ou Anidrido Maléico..... | 19 |
| 1.2.3.2 Atividades Biológicas das 4-Tiazolidinonas..... | 20 |
| 2 Objetivos..... | 22 |
| 2.1. Objetivo Geral..... | 23 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 24 |
| 3 Material e Métodos..... | 25 |
| 3.1 Parte Experimental..... | 26 |
| 3.1.1 Cromatografias..... | 26 |
| 3.1.2 Pontos de Fusão..... | 26 |
| 3.1.3 Espectroscopias de IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C | 26 |
| 3.1.4 Reagentes e Solventes..... | 27 |
| 3.1.5 Equipamentos..... | 27 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2 Procedimentos Experimentais..... | 28 |
| 3.2.1 Procedimento Geral para Obtenção de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)..... | 28 |
| 3.2.2 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)..... | 28 |
| 3.2.3 Procedimento Geral para Obtenção de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)..... | 39 |
| 3.2.4 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)..... | 39 |
| 3.2.5 Procedimento Geral para Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)..... | 51 |
| 3.2.6 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)..... | 52 |
| 3.2.7 Procedimento Geral para Obtenção de 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)..... | 63 |
| 3.2.8 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)..... | 63 |
| 3.2.9 Procedimento para Obtenção do 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)..... | 76 |
| 3.2.10 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)..... | 76 |
| 3.3. Atividades Biológicas..... | 77 |
| 3.3.1 Determinação da Atividade Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 77 |
| 3.3.2 Atividade Antimicrobiana..... | 78 |
| 3.3.2.1 Microrganismos Testados e Padronização dos Inóculos..... | 78 |
| 3.3.2.2 Meios de Cultura..... | 79 |
| 3.3.2.2.1 Ensaio em Meio Sólido..... | 79 |
| 3.3.2.2.2 Ensaio em Meio Líquido..... | 79 |
| 3.3.2.3 Determinação da Atividade Antimicrobiana..... | 79 |
| 4 Resultados e Discussão..... | 81 |
| 4.1 Esquema Geral de Síntese..... | 82 |
| 4.2 Metodologias Sintéticas e Mecanismos Reacionais..... | 82 |
| 4.2.1 Obtenção de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)..... | 82 |
| 4.2.2 Obtenção de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)..... | 85 |
| 4.2.3 Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)..... | 88 |

| | |
|--|------------|
| 4.2.4 Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)..... | 89 |
| 4.2.5 Obtenção do 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)..... | 93 |
| 4.3 Caracterização Estrutural..... | 94 |
| 4.3.1 Caracterização Estrutural de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)..... | 94 |
| 4.3.2 Caracterização Estrutural dos Derivados Tiazolidinônicos (3a-p, 4a-p, 5a-p)..... | 99 |
| 4.3.3 Determinação da Configuração da Dupla Ligação Benzilidênica para as 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p) | 114 |
| 4.4 Atividade Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 119 |
| 4.5 Atividade Antimicrobiana..... | 127 |
| 5 Conclusão e Perspectivas..... | 136 |
| 6 Referências Bibliográficas..... | 139 |
| 7 Apêndice..... | 156 |
| 8 Anexos..... | 167 |

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

| | |
|---------------------------|--|
| AcOH | Ácido acético |
| AcONa | Acetato de sódio |
| AIDS | Síndrome da imunodeficiência adquirida |
| Ar | Aromático |
| ATTC | American Type Culture Collection |
| CCD | Cromatografia em camada delgada |
| CDCl₃ | Clorofórmio deuterado |
| CI₅₀ | Concentração inibitória cinquenta por cento |
| CMB | Concentração mínima bactericida |
| CMF | Concentração mínima fungicida |
| CMI | Concentração mínima inibitória |
| Cq | Carbono quaternário |
| DCC | Dicicloexilcarbodiimida |
| DMAD | Acetilenodicarboxilato de dimetila |
| DMF | Dimetilformamida |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DMSO-d₆ | Dimetilsulfóxido deuterado |
| DNA | Ácido deoxiribonucléico |
| DP | Desvio padrão |
| eq. | Equivalente |
| EtOH | Etanol |
| FSC | Soro fetal bovino |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana |
| HSV | Vírus da herpes simples |
| HU | Hidroxiuréia |
| IMUR | Instituto de micologia da Universidade do Recife |
| IV | Infravermelho |
| J | Constante de acoplamento |
| LUMO | Orbital molecular vazio de mais baixa energia |
| MeOH | Metanol |
| MHz | Megahertz |
| mL | Millilitro |
| mM | Milimolar |
| MS | Espectrometria de massas |
| nm | Nanômetro |

| | |
|---------------------------|--|
| PBS | Solução tamponada de fosfato |
| PF | Ponto de fusão |
| ppm | Partes por milhão |
| R_f | Razão de frente |
| RMN ¹³C | Ressonância magnética nuclear de carbono 13 |
| RMN ¹H | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio |
| RR | Ribonucleotídeo redutase |
| RT | Transcriptase reversa |
| SIDA | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |
| SUL | Sulfadiazina |
| THF | Tetraidrofurano |
| UFC | Unidade formadora de colônia |
| UFPEDA | Sigla – Coleção de cultura do Departamento de Antibióticos da UFPE |
| UV | Ultravioleta |
| ZMI | Zona média de inibição |
| λ | Comprimento de onda |
| δ | Deformação angular |
| ν | Estiramento |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|------------|
| Figura 1 Estruturas químicas de fármacos ativos contra o <i>T. gondii</i> | 3 |
| Figura 2. Estruturas químicas da hidroxiuréia, tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas e compostos contendo os núcleos 4-tiazolidinona e 1,3,4-tiadiazol ativos contra o <i>T. gondii</i> intracelular | 4 |
| Figura 3. Forma Taquizoíta do parasito <i>T. gondii</i> | 6 |
| Figura 4. Ciclo de infecção do <i>T. gondii</i> através de transfusões sanguíneas, transplante de órgãos, ingestão de alimentos contaminados e transmissão congênita..... | 7 |
| Figura 5. Estruturas químicas de tiossemicarbazonas com potenciais atividades antitumoral, Antiviral e antiprotozoária..... | 14 |
| Figura 6. Estrutura química do anel 4-tiazolidinona, evidenciando a presença dos heteroátomos nas posições 1 e 3 do anel, e da carbonila na posição 4..... | 15 |
| Figura 7. Estruturas químicas de 4-tiazolidinonas com atividades antiprotozoária, antiviral, antibiótica e antiinflamatória..... | 21 |
| Figura 8. Estruturas químicas planejadas de tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas para exploração das atividades antibiótica e anti- <i>T. gondii</i> | 23 |
| Figura 9. Estrutura da tiossemicarbazona utilizada por Rômulo (2005) em estudo de possível isomerização através de espectros de RMN ¹ H. Em destaque o hidrogênio da função azometina analisado a partir dos espectros obtidos..... | 85 |
| Figura 10. Espectro de IV para a tiossemicarbazona 2a (Pastilhas de KBr)..... | 96 |
| Figura 11. Espectro de RMN ¹ H para a tiossemicarbazona 2e , destacando-se os singletos referentes aos grupos NH hidrazínico e NH aromático (CDCl ₃ ; 300 MHz)..... | 97 |
| Figura 12. Espectro de RMN ¹³ C para tiossemicarbazona 2b , ilustrando as ressonâncias dos átomos de carbono dos grupos azometínico (CH=N) e tiocarbonila (C=S) (CDCl ₃ ; 75,4 MHz)..... | 99 |
| Figura 13. Espectro de IV para a 4-tiazolidinona 3g (Pastilhas de KBr)..... | 102 |
| Figura 14. Espectro de IV para a 4-tiazolidinona 4l (Pastilhas de KBr)..... | 103 |
| Figura 15. Espectro de IV para a 4-tiazolidinona 5b (Pastilhas de KBr)..... | 103 |
| Figura 16. Espectro de RMN ¹ H para a 4-tiazolidinona 3o (CDCl ₃ ; 300 MHz), destacando-se os acoplamentos (Sistema ABX) dos hidrogênios do grupo acetil..... | 106 |
| Figura 17. Espectro de RMN ¹ H para a 4-tiazolidinona 4o (DMSO-d ₆ ; 300 MHz), ilustrando os singletos referentes aos grupos metoxi e metileno..... | 107 |
| Figura 18. Espectro de RMN ¹ H para a 4-tiazolidinona 5o , destacando-se os dubletos característicos de hidrogênios aromáticos <i>para</i> -substituídos (CDCl ₃ ; 300 MHz)..... | 108 |

| | |
|---|------------|
| Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C para a 4-tiazolidinona 3m , apresentando o sinal relativo à carbonila presente no grupo acetil (DMSO- d_6 ; 75,4 MHz)..... | 110 |
| Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C para a 4-tiazolidinona 4o , destacando o deslocamento assinalado para o grupo CH_2 da posição 5 do anel tiazolidínico (DMSO- d_6 ; 75,4 MHz)..... | 112 |
| Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C para 4-tiazolidinona 5o , apresentando as ressonâncias assinaladas aos átomos de carbono exo e endocíclicos da dupla ligação benzilidênica (DMSO- d_6 ; 75,4 MHz)..... | 113 |
| Figura 22. Estruturas teóricas dos diastereoisômeros <i>Z</i> e <i>E</i> para as 4-tiazolidinonas da série 5a-p | 114 |
| Figura 23. Constantes de acoplamento vicinal ^3J (C-H) em derivados da rodanina e azalactona..... | 115 |
| Figura 24. Constantes de acoplamento vicinal ^3J (C-H) em 4-tiazolidinonas e alquenos substituídos..... | 115 |
| Figura 25. Configurações <i>Z</i> ou <i>E</i> de derivados tiazolidínicos, imidazolidínicos e tiohidantoínicos..... | 116 |
| Figura 26. Deslocamentos químicos de H-6 e C-6 presentes no grupo arilideno dos isômeros <i>Z</i> em derivados 5-arilideno-2,4-tiazolidinadiona..... | 116 |
| Figura 27. Configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e deslocamentos químicos de seus respectivos prótons benzilidênicos..... | 117 |
| Figura 28. Dupleto observado no espectro de RMN ^{13}C C-H acoplado para o composto 5o referente ao carbono da carbonila (C-4) do anel tiazolidínico..... | 119 |
| Figura 29. Perspectiva de novas moléculas com potencial atividade antibacteriana pertencentes à classe de β -lactâmicos penicilâmicos e monobactâmicos, ambas contendo o anel 4-tiazolidinona na cadeia lateral..... | 126 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|--|-----------|
| Esquema 1. Formas tautoméricas tiol e tiona para as tiossemicarbazonas, explicando sua versatilidade como 1,3-dinucleófilos..... | 8 |
| Esquema 2. Análise retrossintética de tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas..... | 9 |
| Esquema 3. Metodologia de obtenção direta de tiossemicarbazonas a partir da reação equimolar de derivados da isatina com tiossemicarbazida contendo quantidades catalíticas de ácido sulfúrico..... | 10 |
| Esquema 4. Obtenção de tiossemicarbazonas contendo o grupo nitro na porção arilhidrazona a partir de reações entre tiossemicarbazidas e benzaldeídos substituídos..... | 10 |
| Esquema 5. Metodologias de obtenção direta de tiossemicarbazonas a partir de reações de hidrazinacarboditilatos de metila e hidrazonas com aminas primárias ou secundárias e isotiocianatos, respectivamente..... | 11 |
| Esquema 6. Métodos de obtenção de tiossemicarbazidas a partir de reações do hidrato de hidrazina com ditiocarbamatos e isotiocianatos em meio etanólico, e com o ácido tiocarbamoiltioglicólico em meio alcalino..... | 12 |
| Esquema 7. Reações de obtenção de tiossemicarbazidas, utilizando-se reações de derivados contendo os grupos amina e azida com dissulfeto de carbono e posteriormente com hidrato de hidrazina..... | 13 |
| Esquema 8. Análise retrossintética de 4-tiazolidinonas..... | 15 |
| Esquema 9. Obtenção de regioisômeros de 2-imino-4-tiazolidinonas a partir de tiouréias substituídas e ácidos α -haloacéticos ou derivados..... | 16 |
| Esquema 10. Reações entre tiossemicarbazonas e ácidos α -haloacéticos ou ésteres de etila α -halogenados levando a formação de 4-tiazolidinonas substituídas ou não na posição 5 do anel..... | 17 |
| Esquema 11. Influência da presença ou não de grupos volumosos em aciltiossemicarbazidas na obtenção de compostos pertencentes as classes de 4-tiazolidinonas ou 1,3,4-oxadiazóis..... | 17 |
| Esquema 12. Reações de condensação de três componentes “one-pot” para a síntese de 4-tiazolidinonas, envolvendo o ácido α -mercaptoacético, aminas primárias e aldeídos substituídos ou ciclohexanona..... | 18 |
| Esquema 13. Síntese de 3-tioureído-4-tiazolidinonas não substituídas na posição 5 do anel a partir de tiossemicarbazonas e ácido α -mercaptoacético..... | 19 |
| Esquema 14. Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de reações de derivados da malontioamida ou tiossemicarbazonas com compostos dicarbonilados α,β -insaturado..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| Esquema 15. Rota de síntese empregada na preparação das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas planejadas..... | 70 |
| Esquema 16. Mecanismo de reação catalizada por ácido a partir do benzaldeído e 4-fenil-tiossemicarbazida para obtenção da tiossemicarbazona (2a)..... | 84 |
| Esquema 17. Mecanismo de adição tia-Michael seguida de aminólise para obtenção das 4-tiazolidinonas da série 3a-p . Em destaque encontra-se o esquema da mesma reação iniciada pela aminólise seguida da adição tia-Michael..... | 87 |
| Esquema 18. Mecanismo de reação geral para obtenção das 4-tiazolidinonas da série 4a-p iniciada por uma S-alkilação a partir da forma tiol das tiossemicarbazonas..... | 89 |
| Esquema 19. Metodologias empregadas na reação de condensação aldólica para a síntese do derivado 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5a)... | 90 |
| Esquema 20. Mecanismo da reação de síntese da 4-tiazolidinona (5a), seguindo o mecanismo de Adição do tipo Michael envolvendo o ânion enolato gerado no anel 4-tiazolidinona e o intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila..... | 92 |
| Esquema 21. Mecanismo da reação de condensação de Knoevenagel para obtenção do intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)..... | 93 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|------------|
| Tabela 1. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)..... | 83 |
| Tabela 2. Propriedades físico-químicas e rendimentos de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos substituídos (3a-p)..... | 86 |
| Tabela 3. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas substituídas (4a-p)..... | 88 |
| Tabela 4. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas substituídas (5a-p)..... | 91 |
| Tabela 5. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as tiossemicarbazonas (2a-p)..... | 95 |
| Tabela 6. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹ H para tiossemicarbazonas da série 2a-p | 97 |
| Tabela 7. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³ C para tiossemicarbazonas da série 2a-p | 98 |
| Tabela 8. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (3a-p)..... | 100 |
| Tabela 9. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (4a-p)..... | 101 |
| Tabela 10. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (5a-p)..... | 102 |
| Tabela 11. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹ H para 4-tiazolidinonas da série 4a-p | 104 |
| Tabela 12. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹ H para as 4-tiazolidinonas da série 3a-p | 105 |
| Tabela 13. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹ H para as 4-tiazolidinonas da série 5a-p | 109 |
| Tabela 14. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³ C para as 4-tiazolidinonas da série 3a-p | 110 |
| Tabela 15. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³ C para as 4-tiazolidinonas da série 4a-p | 111 |
| Tabela 16. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³ C para 4-tiazolidinonas da série 5a-p | 113 |
| Tabela 17. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento vicinal do próton e carbono do grupo CH benzilidênico para as 4-tiazolidinonas da série 5a-p | 118 |

| | |
|---|------------|
| Tabela 18. Efeito das tiossemicarbazonas (2a-p) nas culturas de Células Vero infectadas com <i>T. gondii</i> | 120 |
| Tabela 19. Efeito das 4-tiazolidinonas (3a-p) nas culturas de Células Vero infectadas com <i>T. gondii</i> | 121 |
| Tabela 20. Efeito das tiossemicarbazonas (2a-p) no número médio de parasitos intracelulares..... | 122 |
| Tabela 21. Efeito das 4-tiazolidinonas (3a-p) no número médio de parasitos intracelulares... | 123 |
| Tabela 22. Valores de CI_{50} de tiossemicarbazonas (2a-p) para Células não infectadas, Células infectadas e Parasitos intracelulares..... | 124 |
| Tabela 23. Valores de CI_{50} de 4-tiazolidinonas (3a-p) para Células não infectadas, Células infectadas e Parasitos intracelulares..... | 125 |
| Tabela 24. Efeito das 4-tiazolidinonas (4a-p) nas culturas de Células Vero infectadas com <i>T. gondii</i> e no número médio de parasitos intracelulares..... | 126 |
| Tabela 25. Efeito das 4-tiazolidinonas (5a-p) nas culturas de Células Vero infectadas com <i>T. gondii</i> e no número médio de parasitos intracelulares..... | 127 |
| Tabela 26. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 3a-p frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco..... | 128 |
| Tabela 27. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 4a-p frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco..... | 129 |
| Tabela 28. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 5a-p frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco..... | 130 |
| Tabela 29. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 3a-p frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco..... | 131 |
| Tabela 30. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 4a-p frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco..... | 132 |
| Tabela 31. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 5a-p frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco..... | 133 |
| Tabela 32. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) em $\mu\text{g/mL}$ para as 4-tiazolidinonas selecionadas ($ZMI \geq 18$ mm)..... | 134 |
| Tabela 33. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Fungicida (CMF) em $\mu\text{g/mL}$ para as 4-tiazolidinonas selecionadas ($ZMI \geq 18$ mm)..... | 135 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|-----------|
| Quadro 1. Espécies de bactérias e fungos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana para as três séries de 4-tiazolidinonas sintetizadas..... | 78 |
|--|-----------|

RESUMO

Doenças parasitárias, incluindo a toxoplasmose, afetam milhões de pessoas, sendo assim algumas das mais prevalentes doenças em humanos. A toxoplasmose é causada por um parasito intracelular, *Toxoplasma gondii*, e está associada com severas patologias, como pneumonia e miocardite. Em recentes trabalhos, nosso grupo de pesquisa reportou a síntese e atividade anti-*T. gondii* de tiossemicarbonas e 4-tiazolidinonas substituídas na porção arilhidrazona com o grupo nitro nas posições *orto*, *meta* e *para*. Estes resultados foram pioneiros, devido a inexistência na literatura da ação destas duas classes de compostos no parasito intracelular. Na busca de novas drogas ativas contra o *T. gondii*, bem como apresentando potencial atividade antimicrobiana, desenvolvemos a síntese de uma série de benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbonas e de três séries de seus derivados 2[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos, ambas apresentando substituintes eletroretiradores e eletroatratores na função arilhidrazona. Já as 4-tiazolidinonas ainda se diferenciaram quanto a presença ou ausência de substituintes na posição 5 do anel, sendo eles hidrogênio, acetil e *p*-nitrobenzilideno. Todos os compostos foram submetidos a avaliação *in vitro* de suas atividades anti-*T. gondii*. Apenas os derivados tiazolidinônicos foram submetidos à atividade antimicrobiana. As tiossemicarbonas foram sintetizadas a partir de reações de condensação entre 4-feniltiossemicarbona e benzaldeídos substituídos. Já as 4-tiazolidinonas foram obtidas a partir das tiossemicarbonas, através de reações com o anidrido maléico (aceptor de Michael), cloroacetato de etila e 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila. Após purificação, os compostos finais apresentaram rendimentos entre 36-100%. Todos foram caracterizados por métodos espectroscópicos convencionais (RMN ¹H, RMN ¹³C e IV), os mesmos mostrando-se consistentes com as respectivas estruturas. Alguns derivados tiazolidinônicos contendo o grupo acetil na posição 5 do anel 4-tiazolidinona demonstraram consideráveis atividades antibióticas frente aos microrganismos *M. luteus*, *M. tuberculosis* e *Candida sp.* (IMUR 4249). Em geral, todas as tiossemicarbonas e 4-tiazolidinonas sintetizadas apresentaram excelentes atividades *in vitro* frente ao *T. gondii* intracelular, reduzindo significativamente a porcentagem de células infectadas e o número médio de parasitos intracelulares a partir das concentrações de 1 e 2 mM. Vários compostos apresentaram melhores resultados quando comparados com hidroxauréia e sulfadiazina. A toxicidade para a maioria dos compostos foi mais efetiva contra os parasitos, com valores de CI₅₀ entre 0,05 e 1mM.

Palavras-chave: Tiossemicarbonas, 4-Tiazolidinonas, Atividade antimicrobiana, Anti-*Toxoplasma gondii*.

ABSTRACT

Parasitic diseases, as toxoplasmosis, affect millions of people, and they are responsible for some of the most important and prevalent diseases of humans and domestic animals. These diseases result in considerable morbidity and mortality worldwide, especially in developing countries. The toxoplasmosis is caused by an intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*, and is associated with severe pathologies, including pneumonia, myocarditis and pulmonary necrosis. In recent works, our research group has reported the synthesis and evaluation of anti-*T. gondii* activity of thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones substituted at arylhydrazone moiety with nitro substituents. This paper was pioneer, because of the inexistence of studies in literature involving the action of these two classes of compounds on intracellular parasite. In order to investigate the anti-*T. gondii* and antimicrobial activities of new structural analogues, we describe the synthesis, elucidate the structure and *in vitro* biological activities of new Benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and three series of 2-[(Phenylmethylene)hydrazono]-3-phenyl-4-thiazolidinone-5-substituted, introducing electron-withdrawing or electron-donating substituents at arylhydrazone moiety in both derivatives. The thiosemicarbazones were synthesized by condensation reactions between 4-phenylthiosemicarbazide and substituted benzaldehydes. From thiosemicarbazones were obtained the 4-thiazolidinones, by reactions with maleic anhydride (Michael acceptor), ethyl chloroacetate and ethyl 2-cyano-3[(4-nitro)phenyl]-acetate. All final compounds were purified by recrystallizations, giving yields ranging between 36-100%, and characterized based on their physical, analytical and spectral data (NMR ¹H, NMR ¹³C and IR). These results of antimicrobial activity indicated that some 4-thiazolidinone derivatives with a acethyl substituent at C-5 position of the 4-tiazolidinone ring showed significant activities against *M. luteus*, *M. tuberculosis* and *Candida sp.* (IMUR 4249). All thiossemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives significantly reduced the percentage of infected cells and mean number of tachyzoites per cell in 1 and 2 mM concentration. Various compounds showed best results when compared with hydroxyurea and sulfadiazine. The toxicity of majority compounds was more effective against intracellular parasites, with IC₅₀ values ranging from 0,05 to 1 mM. It can be concluded that thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones provide interesting leads for anti-*T. gondii* drug discovery.

Keywords: Thiosemicarbazone, 4-thiazolidinone, antimicrobial activity, anti-*Toxoplasma gondii* activity

1 Introdução e Revisão da Literatura

1.1 Introdução

Doenças parasitárias, como a toxoplasmose, afetam milhões de pessoas, sendo assim algumas das mais prevalentes doenças em humanos e animais domésticos. Estas doenças resultam em altas taxas de mortalidade e morbidade em todo o mundo, especialmente em países em desenvolvimento, devido a uma maior incidência de pacientes imunocomprometidos, principalmente os que apresentam a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (IWU et al., 1994; BERMAN, 1998; HIRST, STAPLEY, 2000).

A toxoplasmose é causada por um parasito intracelular, *Toxoplasma gondii*, e está associada com severas patologias, incluindo pneumonia, miocardite, necrose pulmonar e severas desordens neurológicas, incluindo retardamento psicomotor ou mental (JACKSON, HUTCHISON, 1989; REMINGTON et al., 1995; BHOPALE, 2003a; BHOPALE, 2003b). Em pacientes imunocomprometidos, a infecção com *T. gondii* pode causar sintomas como febre, cefaléia ou mialgia. Contudo, sérios casos podem resultar em encefalite toxoplásmica (caracterizada por lesões na massa cerebral), apresentando índices de mortalidade excedendo 30% (DANNEMANN et al., 1991; WONG, REMINGTON, 1993).

Atualmente, o tratamento clínico para a toxoplasmose ocorre através do uso isolado ou combinação dos quimioterápicos pirimetamina e sulfadiazina. Porém, esta utilização é limitada, devido a uma alta toxicidade e sérios efeitos colaterais causados ao indivíduo hospedeiro, bem como a ineficiência das drogas em eliminar os parasitos intracelulares (PENA-RODRIGUEZ, 2001; ASPINALL et al., 2002).

Os sítios de ação dos fármacos de escolha no tratamento da toxoplasmose, pirimetamina e sulfadiazina, são as enzimas di-hidrofolato redutase e di-hidropteroato sintase, respectivamente, sendo estas de grande importância na biossíntese do parasito (MCFADDEN et al., 2001). Em cerca de 50% dos casos, o tratamento é interrompido devido à alta toxicidade causada pela sulfadiazina, onde a mesma é substituída pela clindamicina (TORRES et al., 1997). Em neonatos, o tratamento de escolha é realizado utilizando-se a espiramicina, a qual se concentra no tecido placentário, sendo então recomendado para as vinte primeiras

semanas de gravidez, prevenindo assim a toxoplasmose congênita (HOYEN, 2005).

Em alguns casos, o tratamento da infecção por *T. gondii* é auxiliado pela azitromicina ou claritromicina, sendo estes antibióticos macrolídeos semi-sintéticos. Porém, alguns estudos demonstraram que estas drogas não promovem a eliminação dos parasitos a nível cerebral (HOYEN, 2005). A figura abaixo ilustra as estruturas químicas destes fármacos ativos contra *T. gondii* (Figura 1).

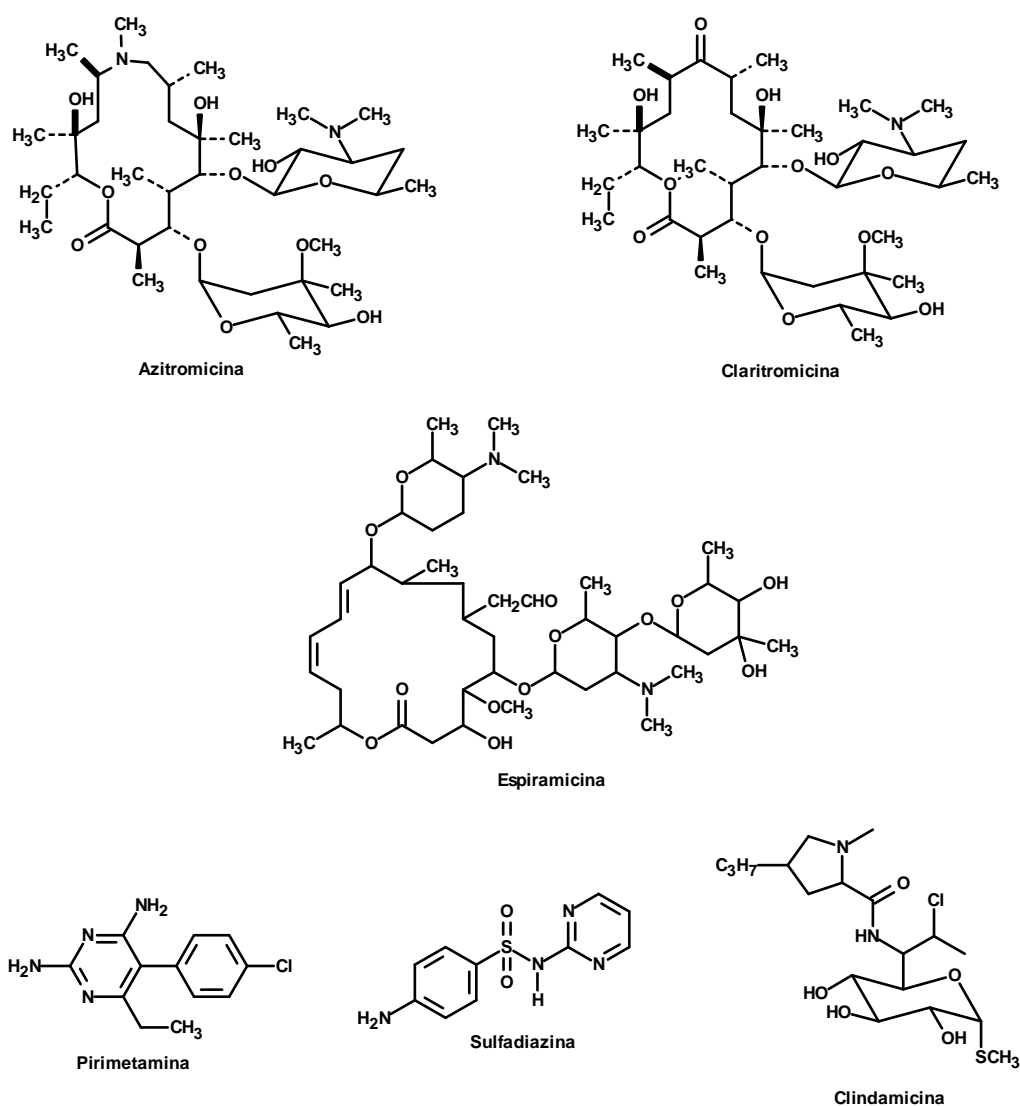


Figura 1. Estruturas químicas de fármacos ativos contra o *T. gondii*.

Em recentes estudos, Melo et al. (2000) e Melo e Beiral (2003) demonstraram a eficácia *in vitro* da hidroxiuréia na eliminação do *T. gondii* em células hospedeiras infectadas. Segundo os autores, o processo ocorreu através da interrupção do ciclo celular do parasito na fase G1/S, inibindo assim a enzima ribonucleotídeo redutase (RR), com conseqüente bloqueio da síntese de DNA (LI et al., 1998).

Mais recentemente, Tenório et al. (2005a) utilizaram a hidroxiuréia como protótipo, e promoveram a síntese de tiossemicarbazonas e derivados 4-tiazolidinonas, ambas apresentando uma subunidade arilhidrazona contendo um grupo nitro, este considerado como parasitóforo (Figura 4). Em outro trabalho, Nascimento (2007) desenvolveu a síntese de aciltiossemicarbazidas e de duas outras classes de derivados contendo os núcleos 4-tiazolidinona e 1,3,4-tiadiazol (Figura 2). Ambos os derivados tiossemicarbazonas, 4-tiazolidinonas, aciltiossemicarbazidas e 1,3,4-tiadiazóis promoveram a redução *in vitro* da percentagem de células infectadas com o *T. gondii*, apresentando uma grande especificidade contra o parasito intracelular.

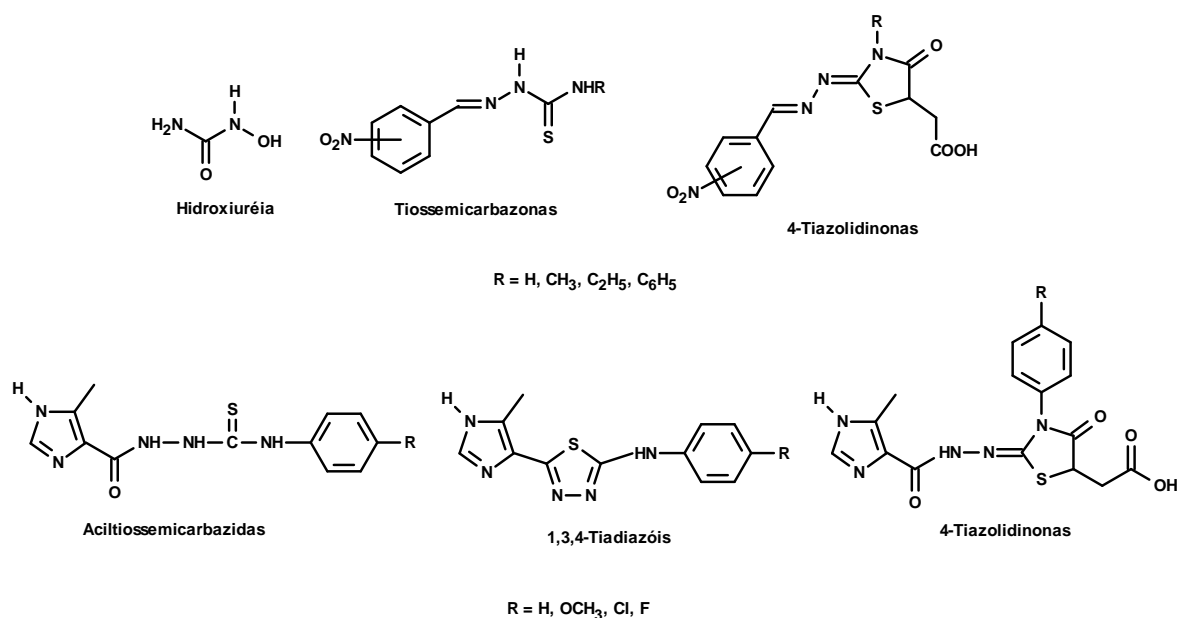


Figura 2. Estruturas químicas da hidroxiuréia, tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas e compostos contendo os núcleos 4-tiazolidinona e 1,3,4-tiadiazol ativos contra o *T. gondii* intracelular.

Outro importante aspecto que vem sendo bastante estudado por pesquisadores é o aumento da resistência a antibióticos, principalmente em populações bacterianas de origem hospitalar. Tal fato se deve ao uso indiscriminado e equivocado destes fármacos, sendo considerado atualmente um dos maiores problemas existente na Saúde Pública. Diversas bactérias, que anteriormente apresentavam sensibilidade às drogas utilizadas nos tratamentos clínicos, passaram a ser resistentes a quase todos os fármacos disponíveis no mercado, tornando-se microrganismos multirresistentes (PITTET, 2002; SHIOMORI et al., 2002; SAKAGAMI, KAJAMURA, 2006).

Como conseqüências, diversos medicamentos apresentam suas eficácias reduzidas, pacientes submetidos ao tratamento com esses fármacos passam mais tempo internados em hospitais, bem como, em alguns casos, torna-se necessário o uso de medicamentos que apresentam maiores efeitos tóxicos para o paciente (PITTET, 2002; SHIOMORI et al., 2002; SAKAGAMI, KAJAMURA, 2006).

Neste contexto atual, torna-se necessário a descoberta de novas drogas contra a infecção pelo *T. gondii*, as quais sejam menos tóxicas, através de uma interação específica com o parasito, bem como compostos candidatos a fármacos antibióticos, os quais sejam eficazes no tratamento de infecções causadas por microrganismos multirresistentes (WERMUTH, 2000; BARREIRO, 2001).

1.2 Revisão da Literatura

1.2.1 Toxoplasmose

A toxoplasmose é causada por um parasito intracelular, *T. gondii*, sendo este um protozoário unicelular pertencente ao filo Apicomplexa, o qual se distribui amplamente em todo o mundo, principalmente em países de clima tropical (GAGNE, 2001; BOOTHROYD, GRIGG, 2002; DEGERLI et al., 2003).

Durante o ciclo de vida do parasito, vários mamíferos podem se comportar como hospedeiros intermediários, sendo que o principal é o homem. Apenas os

animais da família Felidae, gatos domésticos e selvagens, constituem-se como hospedeiros definitivos (NEVES et al., 2000; GAGNE, 2001).

Nos felídeos, o ciclo de vida do parasito pode ser sexuado ou assexuado, onde o primeiro ciclo é responsável pela eliminação de oocistos nas fezes, após os mesmos serem formados no tubo digestivo do hospedeiro definitivo (GAGNE, 2001). Quando os hospedeiros intermediários ingerem os oocistos, ocorre o desenvolvimento da forma aguda da toxoplasmose. Este processo se caracteriza pelo rompimento do oocisto, liberação dos taquizoítos e divisão dos mesmos de forma assexuada no interior das células até o rompimento das mesmas. Por fim, ocorre a invasão por parte dos taquizoítos em outras células, no sangue e em tecidos parenquimatosos (WEBSTER, 2001; GAGNE, 2001). Vale salientar que a multiplicação assexuada do parasito ocorre dentro de vacúolos, chamados de vacúolos parasitóforos, os quais atuam como protetores do parasito contra agressores externos (MELO et al., 2000; NEVES et al., 2000). A figura abaixo ilustra a forma taquizoíta do *T. gondii* (Figura 3).

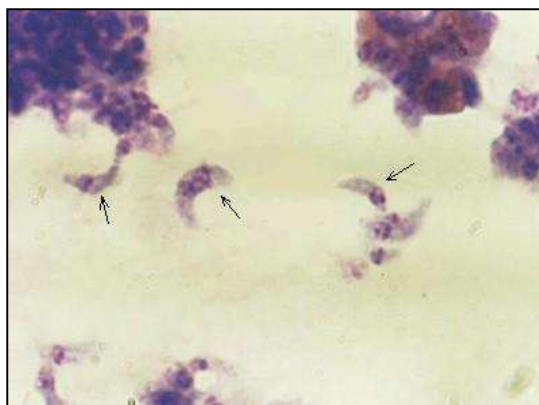


Figura 3. Forma Taquizoíta do parasito *T. gondii*. Fonte: www.ufrgs.br/parasite/Imagensatlas/Protozoa/Toxoplasma.htm (acessada em 23/10/07).

Outras formas de infecção com o *T. gondii* podem ocorrer através de transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos, bem como através da ingestão de produtos de origem vegetal e animal contaminados com oocistos ou a forma cística do parasito, chamada bradizoíta. Esta forma bradizoíta pode se desenvolver para taquizoíta, causando assim um quadro de toxoplasmose aguda

(BONAMETTI et al., 1997; GARCIA et al., 1999; BHOPALE, 2003a). Na figura 4 encontra-se o ciclo infeccioso do *T. gondii*, onde podemos destacar o tipo de infecção congênita, também chamada de transmissão vertical, podendo acarretar má formação fetal e abortos espontâneos (DEGERLI et al., 2003).

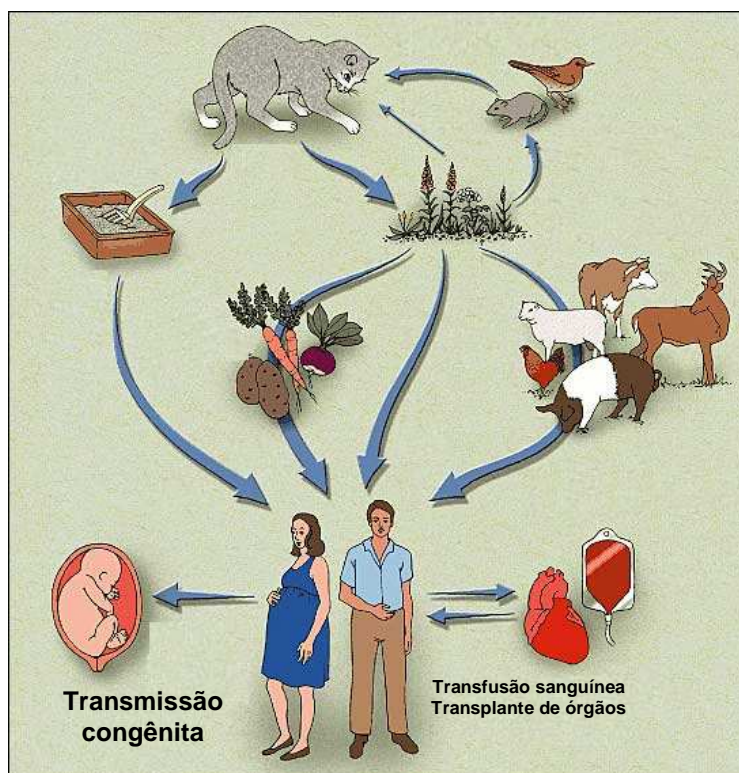


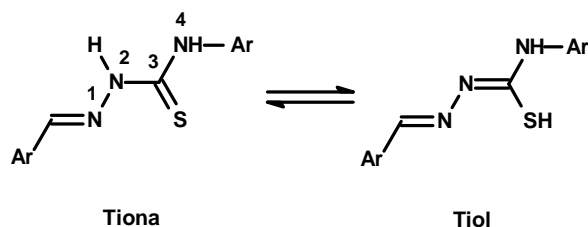
Figura 4. Ciclo de infecção do *T. gondii* através de transfusões sanguíneas, transplante de órgãos, ingestão de alimentos contaminados e transmissão congênita.

1.2.2 Tiossemicarbonas

1.2.2.1 Estrutura Geral e Estratégias de Síntese de Tiossemicarbonas

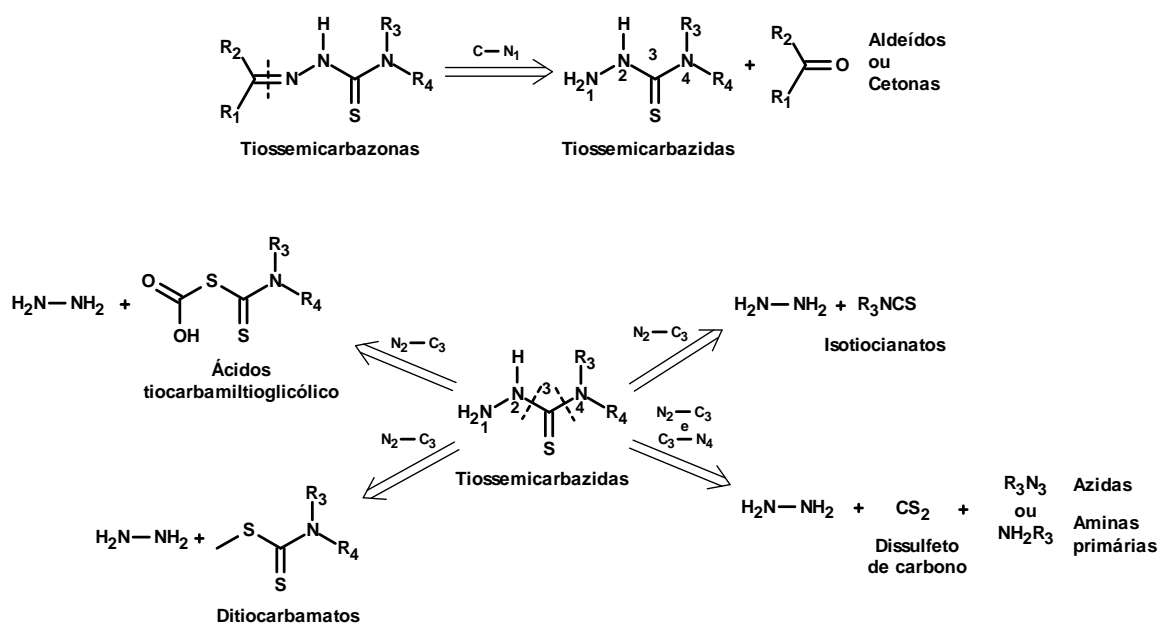
As tiossemicarbonas são moléculas bastante descritas na literatura, as quais apresentam uma estrutura básica $C=N-NH-CS-NHR$. Devido as mesmas apresentarem uma intensa deslocalização eletrônica, podem existir em equilíbrio tautomérico nas formas tiol ou tiona (Esquema 1) (CASAS et al., 2000). A forma tiol explica o fato destas moléculas serem versáteis 1,3-dinucleófilos, os quais

podem sofrer reações de adição com compostos caracterizados como aceptores de Michael, como será descrito posteriormente.



Esquema 1. Formas tautoméricas tiol e tiona para as tiossemicarbazonas, explicando sua versatilidade como 1,3-dinucleófilos.

Existem duas estratégias gerais de síntese para as tiossemicarbazonas: A primeira de forma direta, a partir de reações quimiosseletivas entre tiossemicarbazidas e aldeídos ou cetonas (SARODINICK et al., 2003; HOLLA et al., 2003); a segunda de forma indireta, onde as tiossemicarbazidas são previamente preparadas a partir de reações da hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) com isotiocianatos (PAPASTAIKOUDI et al., 1995; GÜRSOY et al., 1997; DUFFY et al., 2002; LI et al., 2006), ditiocarbamatos (ASHTON et al., 1993), ácidos tiocarbamiltioglicólicos ou dissulfeto de carbono, este último em presença de azidas ou aminas primárias (ASHTON et al., 1993; TENÓRIO et al., 2005b) (Esquema 2). Veremos adiante que a metodologia de síntese indireta foi a de escolha para este trabalho.

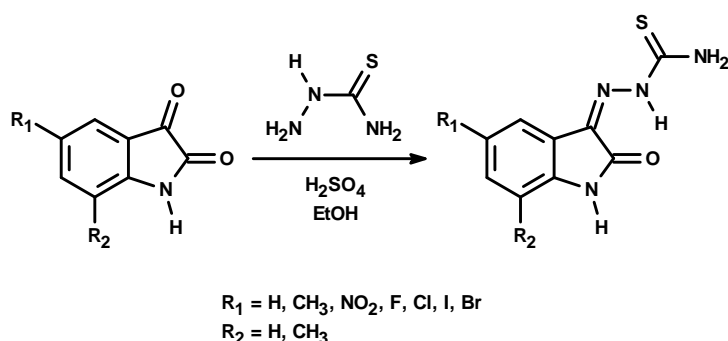


Esquema 2. Análise retrossintética de tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas.

1.2.2.1.1 Obtenção Direta de Tiossemicarbazonas a Partir de Tiossemicarbazidas

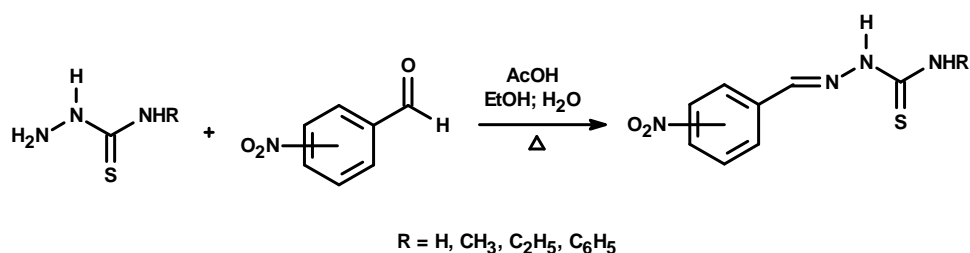
Esta metodologia sintética é realizada utilizando-se quantidades equimolares das tiossemicarbazidas com os derivados carbonilados (aldeídos ou cetonas), em presença de quantidades catalíticas de ácido. Normalmente, estas reações são bastante rápidas, apresentando altos rendimentos (RODRIGUEZ et al., 1998; HOLLA et al., 2003; SARODNICK et al., 2003).

Karah (2002) utilizou este processo na preparação de tiossemicarbazonas a partir de derivados da isatina. As reações foram processadas em solução etanólica, com quantidades catalíticas de ácido sulfúrico concentrado. O autor obteve rendimentos entre 97-99% (Esquema 3).



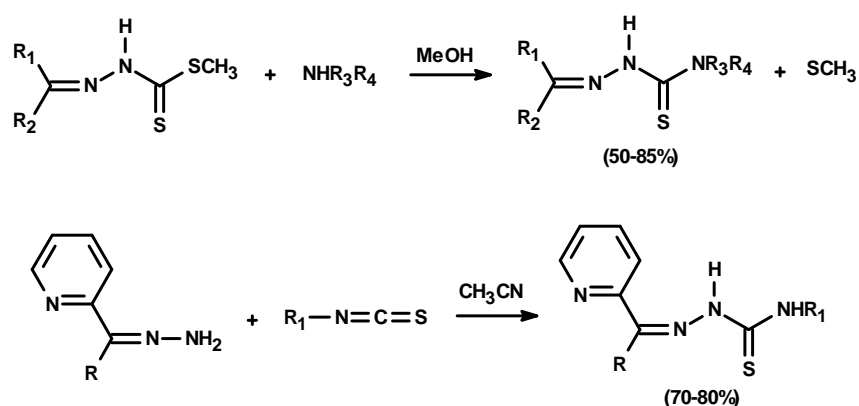
Esquema 3. Metodologia de obtenção direta de tiossemicarbazonas a partir da reação equimolar de derivados da isatina com tiossemicarbazida contendo quantidades catalíticas de ácido sulfúrico.

Como dito anteriormente, Tenório et al. (2005a) promoveram a síntese de tiossemicarbazonas contendo uma porção arilhidrazona substituídas com o grupo nitro. Os compostos foram obtidos a partir de reações entre tiossemicarbazidas substituídas com derivados do benzaldeído, utilizando-se gotas de ácido acético como catalisador (Esquema 4).



Esquema 4. Obtenção de tiossemicarbazonas contendo o grupo nitro na porção arilhidrazona a partir de reações entre tiossemicarbazidas e benzaldeídos substituídos.

Vale salientar o relato na literatura de outras duas metodologias de síntese direta de tiossemicarbazonas (Esquema 5). A primeira ocorre a partir de reação entre hidrazinacarboditíolatos de metila com aminas primárias ou secundárias, onde se observa a formação da tiossemicarbazona e remoção do grupo SCH_3 (KLAYMAN et al., 1991; EASMON et al., 1992). Klayman et al. (1979) e Demilo et al. (1983) reportaram a obtenção direta de tiossemicarbazonas a partir de reação entre isotiocianatos e hidrazonas, estas últimas atuando como nucleófilos.

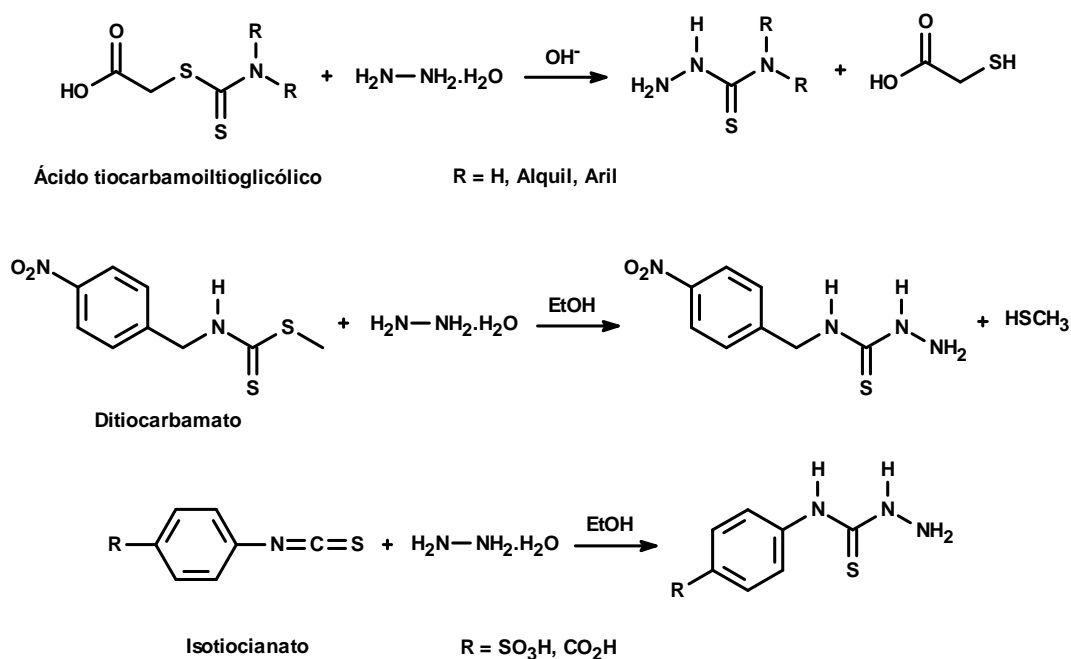


Esquema 5. Metodologias de obtenção direta de tiossemicarbazonas a partir de reações de hidrazinacarboditilatos de metila e hidrazonas com aminas primárias ou secundárias e isotiocianatos, respectivamente.

1.2.2.1.2 Obtenção Indireta de Tiossemicarbazonas Através da Preparação Prévia de Tiossemicarbazidas

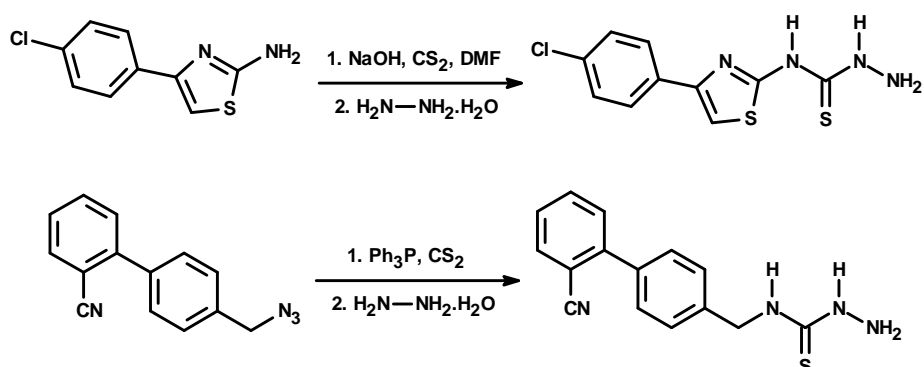
Como mencionado anteriormente, a forma indireta de obtenção de tiossemicarbazonas se dá através da preparação prévia de tiossemicarbazidas, e posterior reações destas com compostos carbonilados.

Em três destas metodologias, hidrato de hidrazina pode sofrer reações com ácido tiocarbamoilglicólico em meio alcalino, bem como com ditiocarbamatos e isotiocianatos em meio etanólico, para formar as respectivas tiossemicarbazidas com rendimentos entre 60-90% (ASHTON et al., 1993; PAPASTAIKOUDI et al., 1995; GÜR SOY et al., 1997; DUFFY et al., 2002; BHARTI et al., 2002). Vale salientar que nas duas primeiras metodologias, ocorre a liberação de ácido tioglicólico e remoção do grupo SCH₃, respectivamente (Esquema 6).



Esquema 6. Métodos de obtenção de tiossemicarbazidas a partir de reações do hidrato de hidrazina com ditiocarbamatos e isotiocianatos em meio etanólico, e com o ácido tiocarbamoiltioglicólico em meio alcalino.

Outras duas metodologias para obtenção de tiossemicarbazidas são reportadas por Pandeya et al. (1999) e Ashton et al. (1993), a partir de compostos contendo os grupos amina e azida (Esquema 7). Ambos foram submetidos à reação inicial com dissulfeto de carbono, onde posteriormente os intermediários formados foram tratados com hidrato de hidrazina para formar as respectivas tiossemicarbazidas.



Esquema 7. Reações de obtenção de tiossemicarbazidas, utilizando-se reações de derivados contendo os grupos amina e azida com dissulfeto de carbono e posteriormente com hidrato de hidrazina.

1.2.2.2 Atividades Biológicas das Tiossemicarbazonas

A alta afinidade pela enzima ribonucleotídeo redutase (RR), bem como a capacidade de formação de quelatos, através da complexação com cátions metálicos, conferem às tiossemicarbazonas diversas atividades biológicas, tornando-as uma classe de grande interesse na descoberta de novos fármacos.

Dentre os potenciais efeitos biológicos apresentados pelas tiossemicarbazonas, podemos destacar as atividades antitumoral, antiviral e antiprotozoária. Genova et al. (2004) comprovaram a ação inibitória do complexo metálico da benzil bis-tiossemicarbazona frente aos vírus da herpes simples (HSV) 1 e 2. Outras moléculas, através de seus complexos metálicos com estanho, apresentaram atividade contra o vírus HIV, por inibição da transcriptase reversa (CASAS et al., 1998) (Figura 5).

Em outro trabalho, Li et al. (1998) sintetizaram um pró-farmaco da 3-aminopiridina-2-carboxialdeído tiossemicarbazona, no intuito de melhorar suas propriedades farmacocinéticas. Segundo outros autores, após bioativação, a tiossemicarbazona final apresenta a propriedade de formar complexos com o ferro e cobre (Figura 5). Estes complexos inativam a enzima ribonucleotídeo redutase (RR), inibindo assim a síntese de DNA em células tumorais M-109 (NIU et al., 1998; FINCH et al., 1999; SAHA, 2002).

Quanto às atividades antiprotozoárias, Bharti et al. (2002) reportaram que tiossemicarbazonas substituídas apresentaram menores valores de CI_{50} frente à *Trichomonas vaginalis* e *Entamoeba histolytica*, quando comparadas com o metronidazol (fármaco de referência) (Figura 5). Outras atividades como antitripanossoma, leishmanicida e amoebicida também são relatadas para quelatos formados entre tiossemicarbazonas e cátions metálicos (CASERO et al., 1980; DODD et al., 1989; DU et al., 2002; BHARTI et al., 2003). Em outros trabalhos, Tenório et al. (2005a) determinaram a atividade de tiossemicarbazonas frente a células hospedeiras infectadas com *T. gondii* (Figura 5).

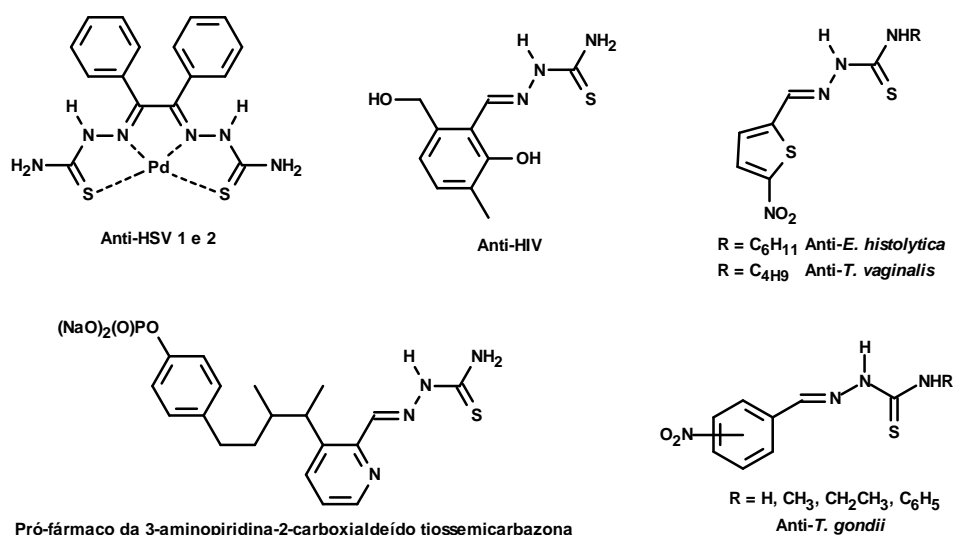


Figura 5. Estruturas químicas de tiossemicarbazonas com potenciais atividades antitumoral, antiviral e antiprotozoária.

1.2.3 4-Tiazolidinonas

1.2.3.1 Estrutura Geral e Estratégias de Síntese de 4-Tiazolidinonas

Compostos inclusos na classe das 4-tiazolidinonas podem ser considerados como derivados da tiazolidina (Figura 6). Os mesmos são constituídos de uma anel de 5 membros, contendo um átomo de enxofre e um átomo de nitrogênio nas posições 1 e 3, respectivamente, uma carbonila na posição 4, bem como podendo

apresentar diversos substituintes nas posições 2, 3 e 5 (SINGH et al., 1981; PANICO, et al., 1993).

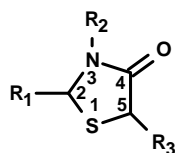
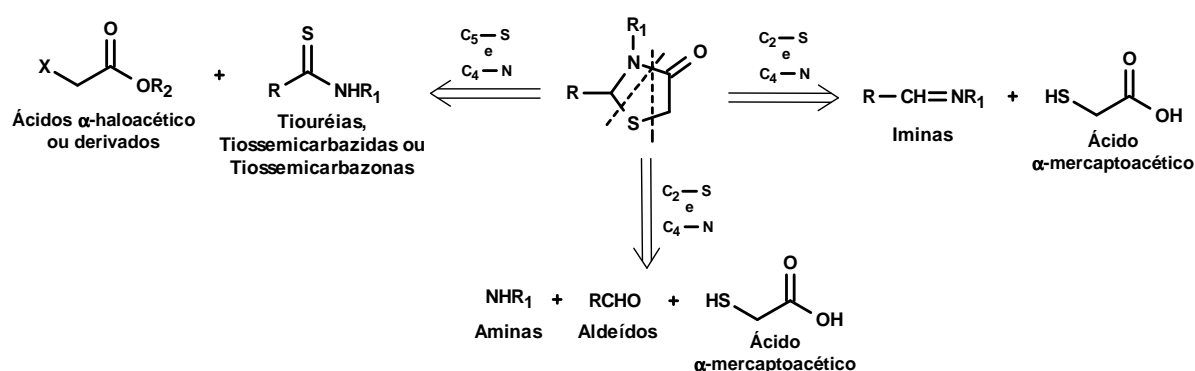


Figura 6. Estrutura química do anel 4-tiazolidinona, evidenciando a presença dos heteroátomos nas posições 1 e 3 do anel, e da carbonila na posição 4.

Dentre as metodologias descritas na literatura para a síntese destes compostos, podemos citar: reações entre ácidos α -haloacéticos e derivados com tiouréias, aciltiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas; Reações entre o ácido α -mercaptopoacético e iminas, ou aminas juntamente com aldeídos (Esquema 8); e metodologias a partir de tioamidas (incluindo as tiossemicarbazonas) e o anidrido maléico ou acetilenodocarboxilato de metila (EL-GENDY et al., 1990; TENÓRIO et al., 2005a; KÜÇÜKGÜZEL et al., 2002 e 2006).



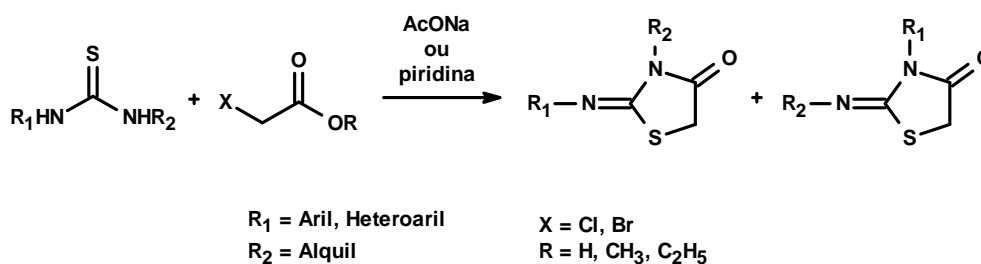
Esquema 8. Análise retrossintética de 4-tiazolidinonas.

1.2.3.1.1 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir de Ácidos α -Haloacéticos e Derivados com Tiouréia, Tiossemicarbazidas e Tiossemicarbazonas

Ottanà et al. (2005) desenvolveram a síntese de 2-imino-4-tiazolidinonas a partir de reações de tiouréias substituídas com os ácidos α -cloroacético e α -

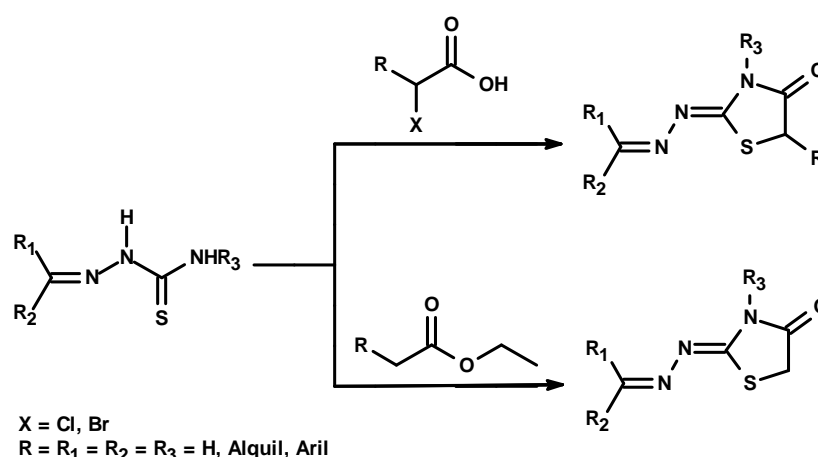
bromoacético ou derivados destes (Esquema 9). Estas reações foram processadas em presença de bases como acetato de sódio anidro ou piridina, evitando assim uma possível hidrólise ácida do grupo imino formado. Esta metodologia leva à formação de 4-tiazolidinonas não substituídas na posição 5 do anel tiazolidínico.

Os mesmos autores ainda relataram que a utilização de tiouréias assimétricas ($R_1 \neq R_2$) levava a formação de regioisômeros, onde a regioseletividade das reações eram controladas pela presença de substituintes eletroatratores ligados ao nitrogênio do grupo imino das 4-tiazolidinonas formadas (Esquema 9).



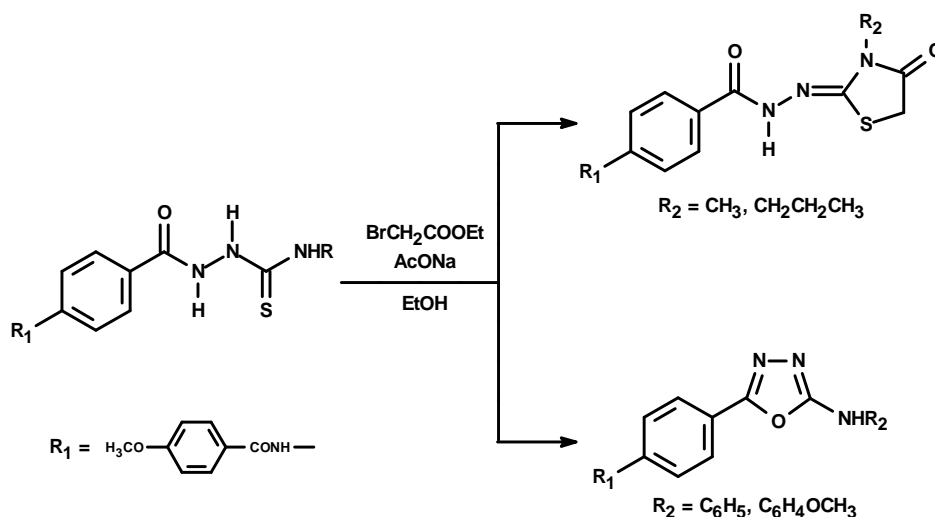
Esquema 9. Obtenção de regioisômeros de 2-imino-4-tiazolidinonas a partir de tiouréias substituídas e ácidos α -haloacéticos ou derivados.

Diversos trabalhos são reportados na literatura sobre a obtenção de 4-tiazolidinonas a partir de reações entre aciltiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas com ácidos α -haloacéticos ou seus derivados. Jolly e Sharma (1990) promoveram a reação de tiossemicarbazonas com ácidos carboxílicos α -halogenados substituídos, tornando-se uma fácil metodologia para a obtenção de 4-tiazolidinonas substituídas na posição 5 com grupos alquila ou arila (Esquema 10). Os mesmos autores ainda demonstraram que a utilização de ésteres de etila α -halogenados levavam a formação de compostos contendo o mesmo anel 4-tiazolidinona não substituído na posição 5.



Esquema 10. Reações entre tiossemicarbazonas e ácidos α -haloacéticos ou ésteres de etila α -halogenados levando a formação de 4-tiazolidinonas substituídas ou não na posição 5 do anel.

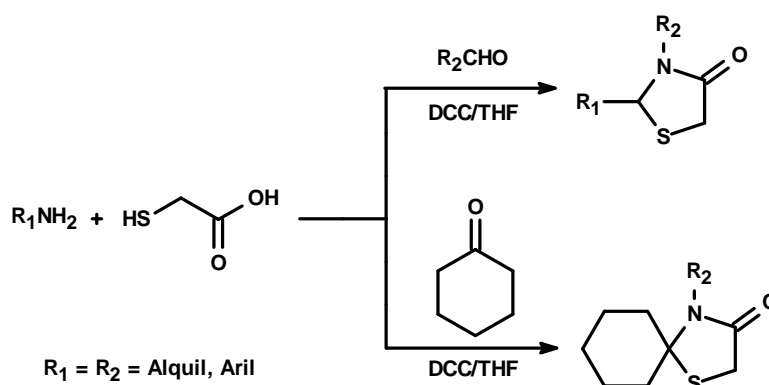
Em outros trabalhos, Küçükgül et al. (2002 e 2006) obtiveram 2-imino-4-tiazolidinonas a partir da condensação envolvendo α -bromoacetato de etila e aciltiossemicarbazidas substituídas na posição 4 com grupos pouco volumosos (Esquema 11). Porém, a presença de grupos como fenila, *p*-metoxifenila ou ciclohexila (grupos volumosos) levaram a formação de derivados 1,3,4-oxadiazóis, com a perda de mercaptoacetato de etila.



Esquema 11. Influência da presença ou não de grupos volumosos em aciltiossemicarbazidas na obtenção de compostos pertencentes as classes de 4-tiazolidinonas ou 1,3,4-oxadiazóis.

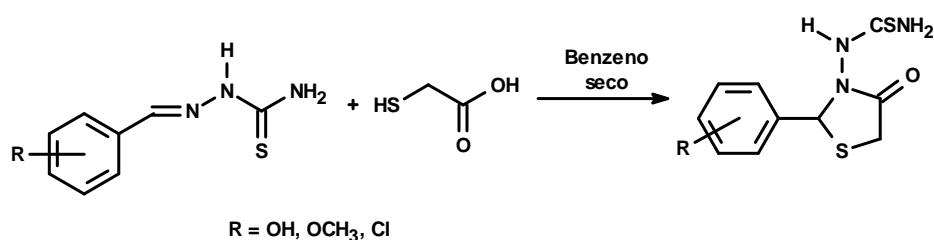
1.2.3.1.2 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir do Ácido α -Mercaptoacético

O ácido α -mercaptoacético pode sofrer reações com ésteres de aminoácidos ou aminas primárias, juntamente com aldeídos, promovendo a síntese de 4-tiazolidinonas substituídas nas posições 2 e 3 do anel (BARRECA et al., 2001; BARRECA et al., 2002; BARRECA et al., 2003; RAO et al., 2004; GUDUDURU, 2004). Tais reações são denominadas condensações de três componentes “one-pot”, onde as substâncias reagem diretamente em um único momento, ou seja, no mesmo balão de reação. Esta metodologia foi utilizada por Srivastava et al. (2002), onde aminas primárias, ácido mercaptoacético e aldeídos substituídos ou ciclohexanona foram submetidos a reação em presença de DCC (este atuando como agente condensante). Os produtos finais apresentaram rendimentos entre 54-95% (Esquema 12).



Esquema 12. Reações de condensação de três componentes “one-pot” para a síntese de 4-tiazolidinonas, envolvendo o ácido α -mercaptoacético, aminas primárias e aldeídos substituídos ou ciclohexanona.

Como citado anteriormente, o ácido α -mercaptoacético também pode ser submetido à reação com iminas (incluindo as tiossemicarbazonas), obtendo-se assim 3-tioureído-4-tiazolidinonas não substituídas na posição 5 do anel (Esquema 13) (El-Gendy et al., 1990).

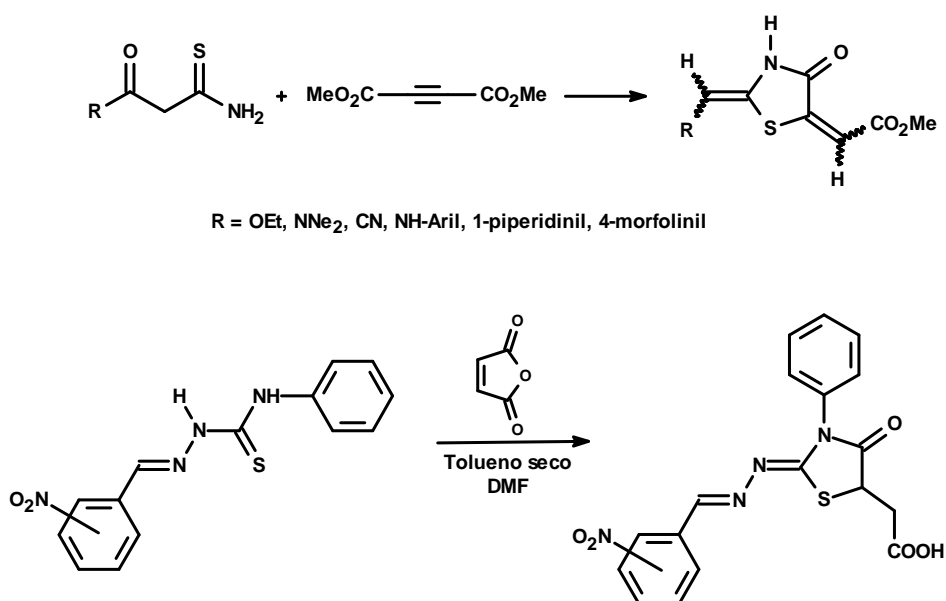


Esquema 13. Síntese de 3-tioureído-4-tiazolidinonas não substituídas na posição 5 do anel a partir de tiossemicarbazonas e ácido α -mercaptoacético.

1.2.3.1.3 Obtenção de 4-Tiazolidinonas a Partir de Tioamidas e o Acetilenodicarboxilato de Metila ou Anidrido Maléico

De acordo com Berseneva et al. (1998), derivados da malontioamida (compostos contendo uma função tioamida) podem formar o anel 4-tiazolidinona, a partir de reação com acetilenodicarboxilato de metila (DMAD), este último sendo um composto dicarbonilado α,β -insaturado (Esquema 14). Os compostos finais foram obtidos como diversos produtos isoméricos, devido à presença de duas duplas ligações carbono-carbono exocíclicas.

Mais recentemente, Tenório et al. (2005a) obtiveram 4-tiazolidinonas a partir de reações do tipo Michael entre tiossemicarbazonas contendo uma função arilhidrazona e o anidrido maléico, este atuando como acceptor de Michael (Esquema 12). Esta metodologia possui grande utilidade quando se deseja obter derivados tiazolidinônicos contendo um grupo acetil na posição 5 do anel (MCLEAN, WILSON, 1939; BROWN, 1961).



Esquema 14. Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de reações de derivados da malontioamida ou tiossemicarbazonas com compostos dicarbonilados α,β -insaturado.

1.2.3.2 Atividades Biológicas das 4-Tiazolidinonas

Compostos contendo o anel 4-tiazolidinona possuem um grande interesse científico, devido ao extenso espectro de atividades biológicas que os mesmos possuem. Kavitha et al. (2006) demonstraram que 4-tiazolidinonas contendo o grupo (1-[2-amino-1-(4-metoxi-fenil)-etil]-cicloexanol) possuem atividades significantes frente à cepas bacterianas e de fungos como *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma*, respectivamente. Os compostos apresentaram menores valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI) quando comparadas com drogas padrões como estreptomicina e nistatina (Figura 7).

De acordo com vários autores, diversos compostos não nucleosídeos contendo o anel 4-tiazolidinona apresentam uma potencial atividade inibitória da enzima transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana tipo I (RT-HIV-1) (BARRECA et al., 2001; BARRECA et al., 2002; BARRECA et al., 2003; RAO et al., 2004; RAWAL et al., 2005). Alguns dos derivados tiazolidinônicos estudados demonstraram uma maior seletividade e menor citotoxicidade quando comparados

com drogas de referência, como derivados benzimidazóis (potentes supressores da RT-HIV-1) (Figura 7).

Goel et al. (1999) reportaram uma excepcional redução do edema em ratos induzido por carragenina pela ação de 4-tiazolidinonas 2,3-substituídas, quando comparadas com a fenilbutazona. Em outros trabalhos, Allen et al. (2004) demonstraram que derivados tiazolidinônicos 2,3,5-trissubstituídos possuem ação antiinflamatória, por ação antagonista dos receptores CCR4, responsáveis pela migração de células T ao local da inflamação (Figura 7).

Em 2005, Tenório et al. (2005a) demonstrou que 4-tiazolidinonas contendo uma função ácida na posição 5, bem como uma função arilhidrazona substituída na posição 2 do anel tiazolidinônico (Figura 7) possui potente atividade anti-*T. gondii*. Estes, da mesma forma que seus precursores (tiossemicarbazonas), atuam contra o parasito intracelular, através da ação inibitória sobre a enzima ribonucleotídeo redutase (RR).

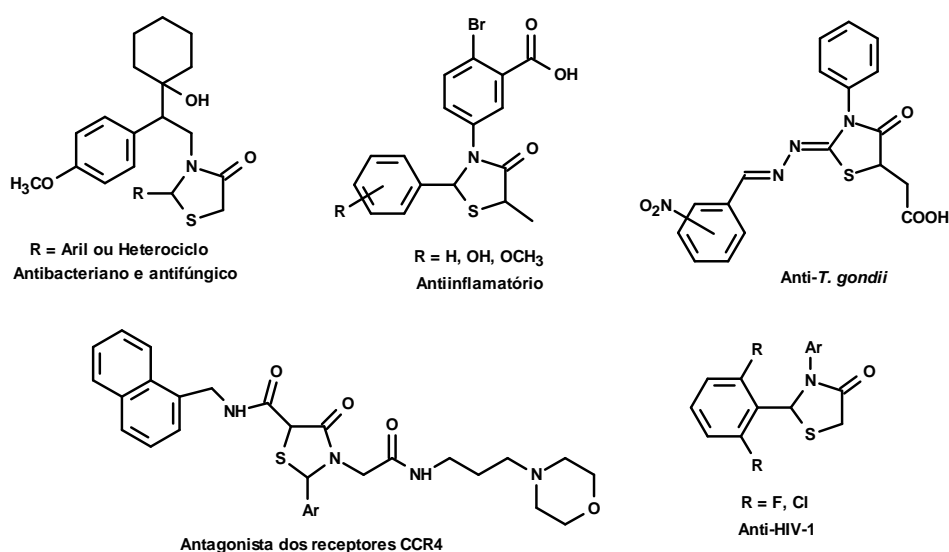
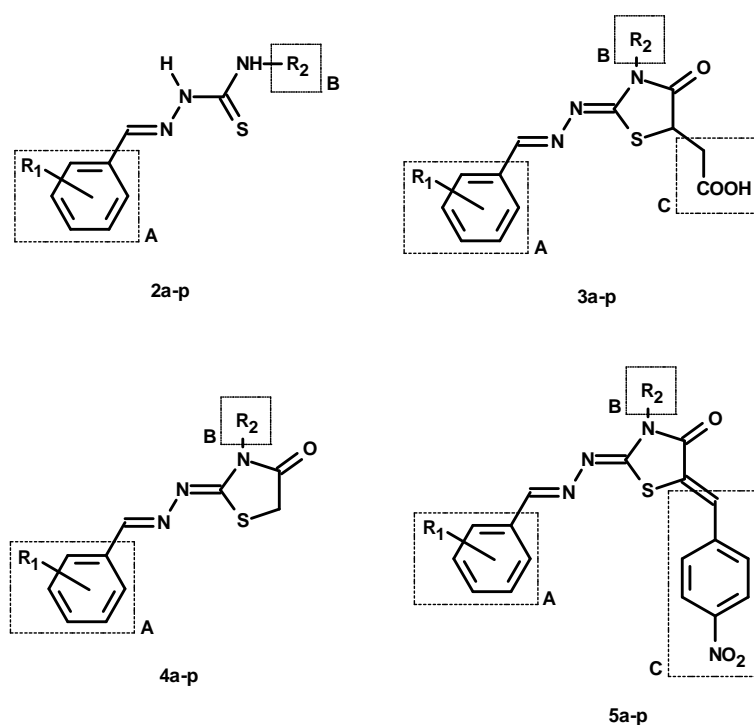


Figura 7. Estruturas químicas de 4-tiazolidinonas com atividades antiprotozoária, antiviral, antibiótica e antiinflamatória.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Tendo em vista o grande potencial terapêutico apresentado pelas classes de tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas, bem como o conhecimento de métodos eficazes de síntese para ambas, foi objetivado neste trabalho a síntese e caracterização estrutural de novas moléculas inclusas nestas duas classes de compostos, bem como a exploração *in vitro* de suas atividades anti-*T. gondii* e antimicrobiana (Figura 8). Ambas as séries de moléculas propostas apresentam substituintes eletroretiradores e eletrodoadores na porção arilhidrazona (Figura 8 A), bem como a fixação do grupo fenila nas posições *N*-4 e *N*-3 das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas, respectivamente (Figura 8 B). Em adição, os derivados tiazolidinônicos ainda diferem entre si quanto a presença ou não dos grupos acetil e *p*-nitrobenzilideno na posição 5 do anel (Figura 8 C).



a: R₁ = H, b: R₁ = 4-Cl, c: R₁ = 2,4-diCl, d: R₁ = 3,4-diCl, e: R₁ = 3-CH₃, f: R₁ = 2-F, g: R₁ = 4-F, h: R₁ = 3-OCH₃-4-OH, i: R₁ = 4-N(CH₃)₂, j: R₁ = 3-Cl, k: R₁ = 4-CH₃, l: R₁ = 3-OCH₃, m: R₁ = 4-OCH₃, n: R₁ = 2,4-diOCH₃, o: R₁ = 3,4,5-triOCH₃, p: R₁ = 3,5-di-*t*-but-4-OH

R₂ = Fenil

Figura 8. Estruturas químicas planejadas de tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas para exploração das atividades antibiótica e anti-*T. gondii*.

2.2 Objetivos Específicos

- Síntese de uma série de tiossemicarbazonas a partir de reações de condensação entre benzaldeídos substituídos e 4-fenil-tiossemicarbazida (previamente prepara a partir de fenilisotiocianato e hidrazina);
- Síntese de 4-tiazolidinonas a partir de reações de adição do tipo Michael e condensação das tiossemicarbazonas formadas com o anidrido maléico e cloroacetato de etila, respectivamente, e posterior reação com o 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila;
- Determinação das propriedades físico-químicas e caracterização estrutural dos compostos sintetizados utilizando métodos espectroscópicos convencionais (RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV);
- Determinação da configuração da dupla ligação exocíclica de uma das séries de 4-tiazolidinonas (**5a-p**), a partir dos espectros de RMN ^{13}C C-H acoplados;
- Avaliação *in vitro* da atividade anti-*T. gondii* das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas sintetizadas;
- Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana das 4-tiazolidinonas obtidas frente a fungos e bactérias, através dos métodos de difusão em disco e Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Mínima Bactericida (CMB) e Concentração Mínima Fungicida (CMF).

3 Material e Métodos

3 Material e Métodos

3.1 Parte Experimental

3.1.1 Cromatografias

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

3.1.2 Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram medidos no equipamento BÜCHI-535, em tubos capilares imersos em banho de silicone.

3.1.3 Espectroscopias de IV, RMN ¹H e RMN ¹³C

Os espectros de IV foram obtidos em espectrofotômetro BRUKER IFS-66, em discos de KBr.

Os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos em um equipamento UNITYplus-300 MHz-VARIAN, utilizando-se CDCl₃ e DMSO-d₆ como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados 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, dd – duplo dubleto, t – tripleto, m – multiplete.

3.1.4 Reagentes e Solventes

| | |
|------------------------------------|--|
| 4-Fenil-tiossemicarbazida | Cloranfenicol |
| Benzaldeídos substituídos | Rifampicina |
| Anidrido maléico | Nistatina |
| Sulfato de sódio anidro | Água destilada |
| Cloroacetato de etila | Etanol absoluto |
| Piperidina | Ácido acético glacial |
| Acetato de sódio anidro | tolueno |
| Cloreto de amônio | Dimetil formamida (DMF) |
| Cianoacetato de etila | Acetato de etila |
| Solução Ringer | Metanol |
| Solução tamponada de fosfato (PBS) | Amônia |
| Meio 199 | Hexano |
| Soro fetal bovino (FSC) | Diclorometano |
| Fixador de Bouin | Clorofórmio |
| Giemsa | Clorofórmio deuterado (CDCl ₃) |
| Meio Tryptic Soy | Dimetil sulfóxido |
| Meio Nutriente | Dimetil sulfóxido deuterado (DMSO-d ₆) |
| Meio Sabouraud | Benzeno |

3.1.5 Equipamentos

| | |
|------------------------|----------------------------------|
| Bomba de vácuo | Placas de agitação e aquecimento |
| Estufa | Vidraria geral |
| Evaporador rotativo | Capela com exaustão |
| Balança analítica | Freezer |
| Balança semi-analítica | |

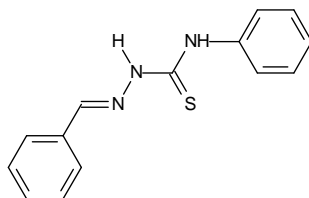
3.2 Procedimentos Experimentais

3.2.1 Procedimento Geral para Obtenção de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)

A uma solução contendo 0,0119 moles de 4-fenil-tiossemicarbazida (1) em 11 mL de água destilada e 22 mL de etanol, foram adicionados 0,0125 moles (1,05 eq.) dos benzaldeídos requeridos e 0,55 mL de ácido acético glacial. A mistura foi agitada sob temperatura de refluxo por 1 h, onde o término da reação foi confirmado por CCD. Em seguida, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente, e o precipitado obtido foi coletado em funil sinterizado e lavado com etanol e água destilada.

3.2.2 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)

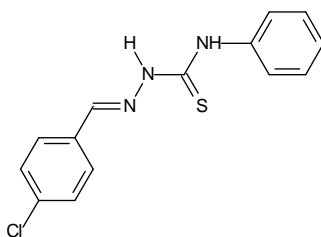
3.2.2.1 Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2a)



- Sólido branco; Rendimento: 91%; PF: 193-195°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3297 e 3158 (NH), 1540 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1265 e 1198 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 10,47 (s, 1H, NH), 9,22 (s, 1H, NH-Ar), 8,00 (s, 1H, CH=N), 7,65-7,68 (m, 4H, Ar-H), 7,40-7,45 (m, 5H, Ar-H), 7,29-7,30 (m, 1H, Ar-H)

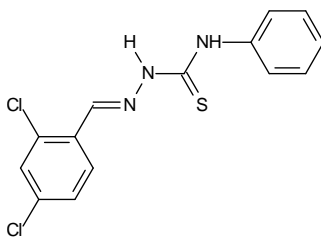
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,8 (C=S), 142,8 (CH=N), 137,7 (Cq Ar), 132,9 (Cq Ar), 130,7 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 127,4 (CH Ar), 126,2 (CH Ar), 124,5 (CH Ar)

3.2.2.2 4-Clorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2b)



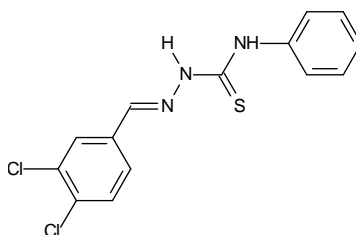
- Sólido branco; Rendimento: 92%; PF: 199-201°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 3305 e 3134 (NH), 1537 (C=N), 1445 (N-CS-N), 1265 e 1194 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 10,21 (s, 1H, NH), 9,16 (s, 1H, NH-Ar), 7,92 (s, 1H, CH=N), 7,60-7,66 (m, 4H, Ar-H), 7,38-7,45 (m, 4H, Ar-H), 7,26-7,30 (m, 1H, Ar-H)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,7 (C=S), 141,6 (CH=N), 137,5 (Cq Ar), 136,6 (Cq Ar), 131,4 (Cq Ar), 129,2 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,5 (CH Ar), 126,4 (CH Ar), 124,7 (CH Ar)

3.2.2.3 2,4-Diclorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2c)



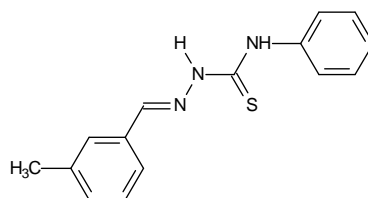
- Sólido branco; Rendimento: 91%; PF: 186-187°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3251 e 3142 (NH), 1537 (C=N), 1439 (N-CS-N), 1262 e 1199 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 10,33 (s, 1H, NH), 9,15 (s, 1H, NH-Ar), 8,32 (s, 1H, CH=N), 7,87 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,65 (dd, 1H, J = 8,4, 1,5 Hz, Ar-H), 7,66 (s, 1H, Ar-H), 7,38-7,43 (m, 3H, Ar-H), 7,23-7,30 (m, 2H, Ar-H)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 175,8 (C=S), 138,5 (CH=N), 137,5 (Cq Ar), 136,7 (Cq Ar), 135,1 (Cq Ar), 129,9 (CH Ar), 129,2 (Cq Ar), 128,8 (CH Ar), 127,8 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 126,3 (CH Ar), 124,4 (CH Ar)

3.2.2.4 3,4-Diclorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2d)



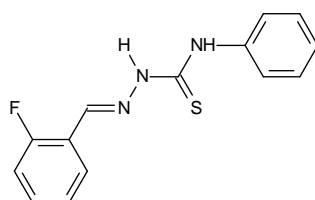
- Sólido branco; Rendimento: 86%; PF: 206-208°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3310 e 3134 (NH), 1545 (C=N), 1466 (N-CS-N), 1268 e 1191 (C=S)
- RMN ¹H (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 11,95 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH-Ar), 8,34 (d, 1H, J = 1,8 Hz, Ar-H), 8,11 (s, 1H, CH=N), 7,81 (dd, 1H, J = 8,4, 1,8 Hz, Ar-H), 7,67 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,20-7,53 (m, 5H, Ar-H)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 175,6 (C=S), 142,0 (CH=N), 133,3 (Cq Ar), 132,7 (Cq Ar), 131,9 (Cq Ar), 131,4 (Cq Ar), 130,8 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 127,9 (CH Ar), 125,5 (CH Ar), 125,3 (CH Ar)

3.2.2.5 3-Metilbenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2e)



- Sólido branco; Rendimento: 89,5%; PF: 165-166°C; R_f: 0,55 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3297 e 3147 (NH), 1540 (C=N), 1444 (N-CS-N), 1265 e 1202 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 10,05 (s, 1H, NH), 9,21 (s, 1H, NH-Ar), 7,91 (s, 1H, CH=N), 7,67 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,40-7,49 (m, 4H, Ar-H), 7,23-7,34 (m, 3H, Ar-H), 2,39 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 175,6 (C=S), 143,4 (CH=N), 138,6 (Cq Ar), 137,7 (Cq Ar), 132,9 (Cq Ar), 131,5 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 127,9 (CH Ar), 126,2 (CH Ar), 124,7 (CH Ar), 21,2 (CH₃)

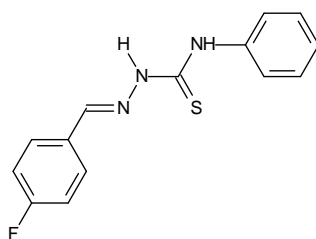
3.2.2.6 2-Fluorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2f)



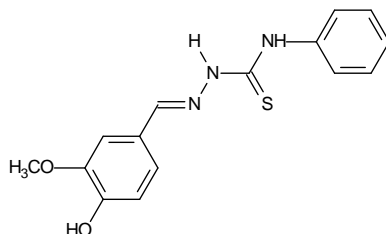
- Sólido branco; Rendimento: 93%; PF: 181-182°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3297 e 3165 (NH), 1535 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1263 e 1198 (C=S)

- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 10,40 (s, 1H, NH), 9,22 (s, 1H, NH-Ar), 8,19 (s, 1H, CH=N), 7,85 (t, 1H, J = 7.2 Hz, Ar-H), 7,66 (d, 2H, J = 7,8 Hz, Ar-H), 7,38 (t, 3H, J = 7,8 Hz, Ar-H), 7,26 (t, 3H, J = 7,2 Hz, Ar-H), 7,19 (t, 3H, J = 7,2 Hz, Ar-H), 7,14 (t, 3H, J = 9,3 Hz, Ar-H)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,6 (C=S), 160,5 (Cq Ar), 136,1 (CH=N), 132,3 (CH Ar), 132,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 126,8 (Cq Ar), 126,2 (CH Ar), 124,5 (CH Ar), 124,4 (CH Ar), 124,3 (Cq Ar), 116,2 (CH Ar)

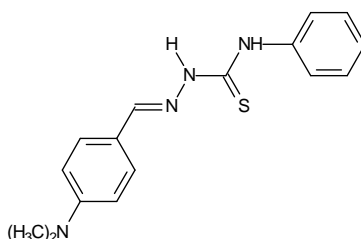
3.2.2.7 4-Fluorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2g)



- Sólido branco; Rendimento: 95%; PF: 178°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 3313 e 3134 (NH), 1548 (C=N), 1447 (N-CS-N), 1230 e 1198 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 10,38 (s, 1H, NH), 9,16 (s, 1H, NH-Ar), 7,96 (s, 1H, CH=N), 7,63-7,70 (m, 4H, Ar-H), 7,39-7,45 (m, 2H, Ar-H), 7,25-7,30 (m, 1H, Ar-H), 7,08-7,14 (t, 2H, J = 7,8 Hz, Ar-H)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,6 (C=S), 165,8 (Cq Ar), 162,4 (Cq Ar), 142,0 (Cq Ar), 137,6 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 126,3 (CH=N), 124,7 (CH Ar), 116,1 (CH Ar)

3.2.2.8 3-Metoxi-4-hidroxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2h)

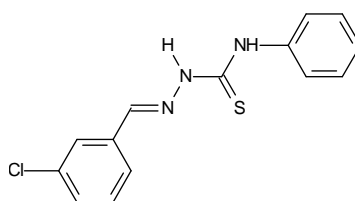
- Sólido branco; Rendimento: 88,5%; PF: 176-177°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3325 e 3166 (NH), 1551 (C=N), 1447 (N-CS-N), 1268 e 1199 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 11,69 (s, 1H, NH), 9,98 (s, 1H, NH-Ar), 9,54 (s, 1H, OH), 8,05 (s, 1H, CH=N), 7,55 (t, 3H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,37 (t, 2H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 7,20 (t, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 6,81 (d, 1H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 3,84 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 175,5 (C=S), 148,3 (Cq Ar), 146,9 (Cq Ar), 143,4 (CH=N), 137,8 (Cq Ar), 128,8 (CH Ar), 126,3 (Cq Ar), 125,3 (CH Ar), 124,8 (CH Ar), 122,8 (CH Ar), 114,6 (CH Ar), 108,2 (CH Ar), 56,1 (OCH₃)

3.2.2.9 4-Dimetilaminobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2i)

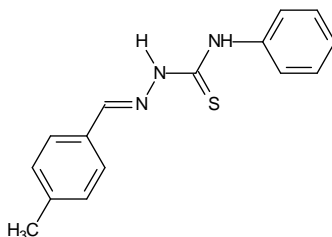
- Sólido amarelo claro; Rendimento: 81,5%; PF: 208-210°C; R_f: 0,60 (hexano/acetato de etila 9,5:0,5)

- IV (ν cm^{-1} KBr): 3325 e 3278 (NH), 1594 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1257 e 1182 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 11,59 (s, 1H, NH), 9,92 (s, 1H, NH-Ar), 8,03 (s, 1H, CH=N), 7,70 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,59 (d, 2H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 7,35 (t, 2H, J = 7,8 Hz, Ar-H), 7,18 (t, 1H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 7,72 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 2,97 (s, 6H, N(CH $_3$) $_2$)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 174,8 (C=S), 151,5 (Cq Ar), 143,9 (CH=N), 139,2 (Cq Ar), 129,0 (CH Ar), 127,9 (CH Ar), 125,5 (CH Ar), 125,0 (CH Ar), 121,1 (Cq Ar), 111,6 (CH Ar), 39,7 (CH $_3$)

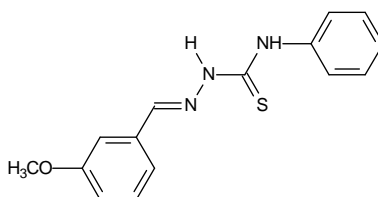
3.2.2.10 3-Clorobenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2j)



- Sólido branco; Rendimento: 96%; PF: 194-195°C; R $_f$: 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 3297 e 3139 (NH), 1551 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1265 e 1194 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 11,93 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH-Ar), 8,18 (s, 1H, Ar-H), 8,13 (s, 1H, CH=N), 7,74 (m, 1H, Ar-H), 7,52 (m, 2H, Ar-H), 7,40 (m, 4H, Ar-H), 7,22 (m, 1H, Ar-H)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 176,3 (C=S), 141,7 (CH=N), 139,0 (Cq Ar), 136,3 (Cq Ar), 133,7 (Cq Ar), 130,4 (CH Ar), 129,6 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 127,0 (CH Ar), 126,4 (CH Ar), 126,1 (CH Ar), 125,5 (CH Ar)

3.2.2.11 4-Metilbenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2k)

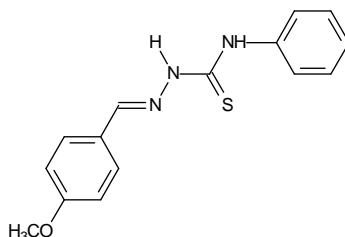
- Sólido branco; Rendimento: 77,5%; PF: 189-190°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3297 e 3142 (NH), 1548 (C=N), 1439 (N-CS-N), 1260 e 1198 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 10,19 (s, 1H, NH), 9,21 (s, 1H, NH-Ar), 7,93 (s, 1H, CH=N), 7,66 (dt, 2H, J = 1,2, 8,1 Hz, Ar-H), 7,57 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,42 (dt, 2H, J = 1,5, 6,6 Hz, Ar-H), 7,27 (dt, 2H, J = 1,2, 8,1 Hz, Ar-H), 7,22 (d, 1H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 2,39 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 175,6 (C=S), 143,2 (CH=N), 141,2 (Cq Ar), 137,7 (Cq Ar), 130,2 (Cq Ar), 129,6 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 127,4 (CH Ar), 126,2 (CH Ar), 124,6 (CH Ar)

3.2.2.12 3-Metoxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2l)

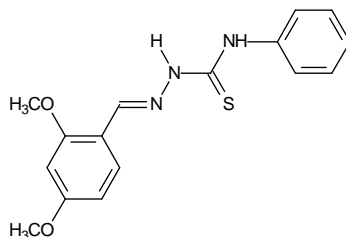
- Sólido branco; Rendimento: 94%; PF: 154°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3325 e 3155 (NH), 1545 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1276 e 1194 (C=S)

- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 10,75 (s, 1H, NH), 9,21 (s, 1H, NH-Ar), 7,98 (s, 1H, CH=N), 7,65 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,42 (t, 2H, J = 7,8 Hz, Ar-H), 7,20-7,35 (m, 4H, Ar-H), 6,97 (dt, 1H, J = 1,2, 8,1 Hz, Ar-H), 3,84 (s, 3H, OCH_3)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,7 (C=S), 159,8 (Cq Ar), 143,0 (CH=N), 137,6 (Cq Ar), 134,3 (Cq Ar), 129,9 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 126,3 (CH Ar), 124,7 (CH Ar), 120,4 (CH Ar), 116,6 (CH Ar), 111,9 (CH Ar), 55,3 (OCH_3)

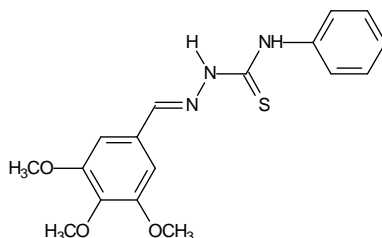
3.2.2.13 4-Metoxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2m)



- Sólido branco; Rendimento: 94%; PF: 178-179°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr): 3325 e 3145 (NH), 1543 (C=N), 1447 (N-CS-N), 1249 e 1198 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 9,89 (s, 1H, NH), 9,18 (s, 1H, NH-Ar), 7,87 (s, 1H, CH=N), 7,64 (dt, 4H, J = 2,1, 9 Hz, Ar-H), 7,41 (dt, 2H, J = 2,1, 7,2 Hz, Ar-H), 7,25 (dt, 1H, J = 1,5, 7,2 Hz, Ar-H), 6,93 (dt, 2H, J = 1,8, 7,8 Hz, Ar-H), 3,85 (s, 3H, OCH_3)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,4 (C=S), 161,7 (Cq Ar), 142,9 (CH=N), 137,8 (Cq Ar), 129,1 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 126,1 (CH Ar), 125,5 (Cq Ar), 124,5 (CH Ar), 114,3 (CH Ar), 55,4 (OCH_3)

3.2.2.14 2,4-Dimetoxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2n)

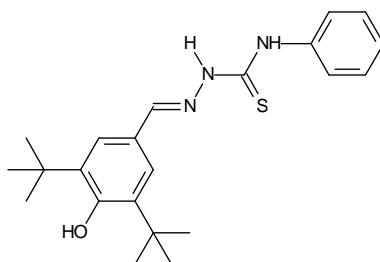
- Sólido amarelo claro; Rendimento: 93,5%; PF: 201-202°C; R_f: 0,40 (hexano/acetato de etila 6:4)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 3309 e 3134 (NH), 1543 (C=N), 1453 (N-CS-N), 1284 e 1206 (C=S)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 11,71 (s, 1H, NH), 10,00 (s, 1H, NH-Ar), 8,43 (s, 1H, CH=N), 8,19 (d, 1H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,57 (d, 2H, J = 7,2 Hz, Ar-H), 7,36 (t, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,19 (t, 1H, J = 7,2 Hz, Ar-H), 6,62 (d, 1H, J = 1,8 Hz, Ar-H), 6,58 (d, 1H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 3,82 (s, 6H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 175,3 (C=S), 162,5 (Cq Ar), 159,3 (Cq Ar), 139,1 (CH=N), 138,6 (Cq Ar), 127,9 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 125,7 (CH Ar), 125,1 (CH Ar), 114,7 (Cq Ar), 106,3 (CH Ar), 97,8 (CH Ar), 55,7 (OCH₃), 55,4 (OCH₃)

3.2.2.15 3,4,5-Trimetoxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2o)

- Sólido amarelo claro; Rendimento: 91%; PF: 161-162°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 1:1)

- IV (ν cm^{-1} KBr): 3299 e 3177 (NH), 1556 (C=N), 1417 (N-CS-N), 1262 e 1191 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 10,31 (s, 1H, NH), 9,13 (s, 1H, NH-Ar), 7,88 (s, 1H, CH=N), 7,63 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,43 (t, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,28 (t, 1H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 6,88 (s, 2H, Ar-H), 3,92 (s, 9H, OCH_3)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,4 (C=S), 153,4 (Cq Ar), 143,6 (CH=N), 140,2 (Cq Ar), 137,6 (Cq Ar), 128,7 (CH Ar), 128,3 (Cq Ar), 126,4 (CH Ar), 125,1 (CH Ar), 104,5 (CH Ar), 60,8 (OCH_3), 56,1 (OCH_3)

3.2.2.16 3,5-bis(1,1-Dimetiletil)-4-hidroxibenzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazona (2p)



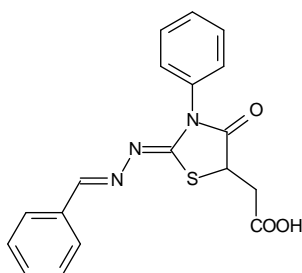
- Sólido amarelo; Rendimento: 100%; PF: 204-205°C; R_f: 0,55 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 3317 e 3137 (NH), 1535 (C=N), 1439 (N-CS-N), 1268 e 1201 (C=S)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 9,68 (s, 1H, NH), 9,17 (s, 1H, NH-Ar), 7,84 (s, 1H, CH=N), 7,67 (dd, 2H, J = 1,5, 8,4 Hz, Ar-H), 7,48 (2, 2H, Ar-H), 7,42 (dt, 2H, J = 1,5, 7,5 Hz, Ar-H), 7,26 (dt, 1H, J = 1,2, 7,8 Hz, Ar-H), 5,56 (s, 1H, OH), 1,45 (s, 18H, CH_3)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 175,2 (C=S), 156,5 (Cq Ar), 144,5 (CH=N), 137,9 (Cq Ar), 136,5 (Cq Ar), 128,8 (CH Ar), 126,1 (CH Ar), 124,7 (CH Ar), 124,5 (CH Ar), 124,2 (Cq Ar), 34,3 (Cq C(CH_3)₃), 30,1 (CH_3)

3.2.3 Procedimento Geral para Obtenção de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)

Uma solução contendo 0,0078 moles da tiossemicarbazona requerida e 0,0352 moles de anidrido maléico (4,5 eq.) em 50 mL de tolueno seco foi agitada sob temperatura de refluxo, e 2 mL de DMF foram adicionados até completa solubilização. A mistura foi agitada nas mesmas condições até o término da reação (5-9 h; acompanhamento por CCD). Após, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, e o produto bruto obtido foi submetido à extração com acetato de etila duas vezes. O combinado orgânico foi tratado com sulfato de sódio anidro e filtrado. Finalmente, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, e o produto puro foi obtido após recristalização em MeOH ou MeOH/H₂O.

3.2.4 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)

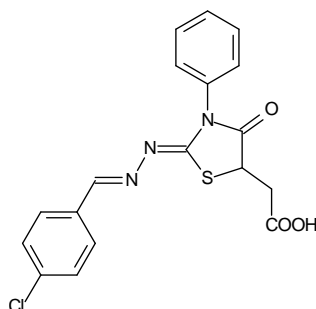
3.2.4.1 Ácido 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acético (3a)



- Sólido branco; Rendimento: 76%; PF: 212-214°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 1:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1707 (C=O), 1621 (NC=O), 1582 e 1555 (C=N), 1344 (NCS), 1252 (N-N=C), 1030 (CS)

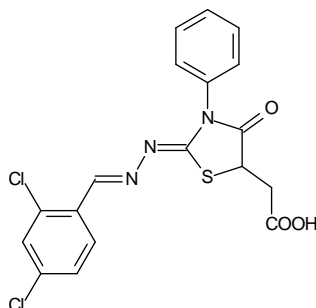
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 12,83 (s largo, 1H, CO_2H), 8,33 (s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 7,74 (dd, 2H, $J = 2,1, 6,6$ Hz, Ar-H), 7,38-7,56 (m, 8H, Ar-H), 4,57 (t, 1H, $J = 6,0$ Hz, CH), 3,13 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,7 (CO_2H), 171,8 ($\text{C}=\text{O}$), 164,8 ($\text{C}=\text{N}$), 157,7 ($\text{CH}=\text{N}$), 135,1 (Cq Ar), 134,0 (Cq Ar), 130,8 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,7 (CH_2)

3.2.4.2 Ácido 2-[(4-cloro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acético (3b)



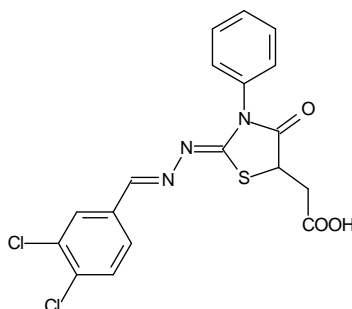
- Sólido branco; Rendimento: 56,5%; PF: 245-247°C; R_f : 0,55 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1721 ($\text{C}=\text{O}$), 1623 ($\text{NC}=\text{O}$), 1575 e 1548 ($\text{C}=\text{N}$), 1341 (NCS), 1248 (N-N=C), 1034 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 12,84 (s largo, 1H, CO_2H), 8,34 (s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 7,74-7,77 (m, 2H, Ar-H), 7,38-7,56 (m, 7H, Ar-H), 4,57 (t, 1H, $J = 5,7$ Hz, CH), 3,13 (d, 2H, $J = 5,7$ Hz, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,7 (CO_2H), 171,8 ($\text{C}=\text{O}$), 165,4 ($\text{C}=\text{N}$), 154,8 ($\text{CH}=\text{N}$), 135,3 (Cq Ar), 135,1 (Cq Ar), 132,9 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,7 (CH_2)

3.2.4.3 Ácido 2-[(2,4-dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3c)



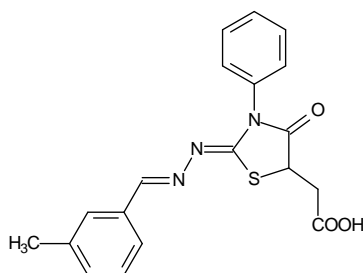
- Sólido branco; Rendimento: 63%; PF: 236-237°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1724 (C=O), 1614 (NC=O), 1565 e 1538 (C=N), 1337 (NCS), 1244 (N-N=C), 1037 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,85 (s largo, 1H, CO₂H), 8,43 (s, 1H, CH=N), 7,98 (d, 1H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,72 (d, 1H, J = 2.1 Hz, Ar-H), 7,38-7,57 (m, 6H, Ar-H), 4,59 (t, 1H, J = 5,8 Hz, CH), 3,13 (d, 2H, J = 5,8 Hz, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ C 173,8 (CO₂H), 171,8 (C=O), 167,0 (C=N), 152,3 (CH=N), 135,9 (Cq Ar), 135,9 (Cq Ar), 134,4 (Cq Ar), 130,1 (Cq Ar), 129,5 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,1 CH Ar), 42,6 (CH), 36,6 (CH₂)

3.2.4.4 Ácido 2-[(3,4-dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3d)



- Sólido branco; Rendimento: 45,5%; PF: 254-256°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1730 (C=O), 1611 (NC=O), 1569 e 1536 (C=N), 1340 (NCS), 1241 (N-N=C), 1033 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,82 (s largo, 1H, CO₂H), 8,34 (s, 1H, CH=N), 7,92 (s, 1H, Ar-H), 7,72 (s, 2H, Ar-H), 7,38-7,56 (m, 5H, Ar-H), 4,59 (t, 1H, J = 6,0 Hz, CH), 3,14 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,8 (CO₂H), 171,8 (C=O), 166,2 (C=N), 155,4 (CH=N), 135,1 (Cq Ar), 134,8 (Cq Ar), 133,0 (Cq Ar), 131,7 (Cq Ar), 131,2 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,1 (CH Ar), 127,2 (CH Ar), 42,6 (CH), 36,6 (CH₂)

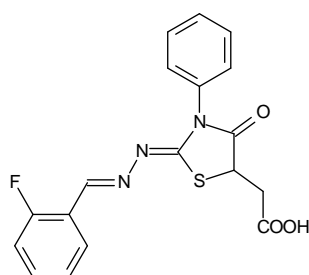
3.2.4.5 Ácido 2-[(3-metil-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3e)



- Sólido branco; Rendimento: 67%; PF: 221-222°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1724 (C=O), 1615 (NC=O), 1582 e 1546 (C=N), 1351 (NCS), 1232 (N-N=C), 1034 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,83 (s largo, 1H, CO₂H), 8,28 (s, 1H, CH=N), 7,25-7,54 (m, 9H, Ar-H), 4,57 (t, 1H, J = 6 Hz, CH), 3,13 (d, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 2,33 (s, 3H, CH₃)

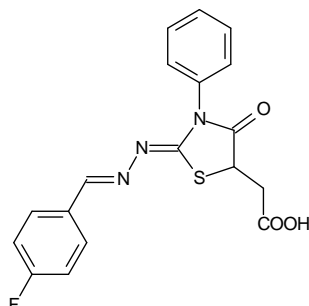
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,7 (CO₂H), 171,8 (C=O), 164,7 (C=N), 157,8 (CH=N), 138,0 (Cq Ar), 135,2 (Cq Ar), 134,0 (Cq Ar), 131,5 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 127,9 (CH Ar), 125,2 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,7 (CH₂), 20,9 (CH₃)

3.2.4.6 Ácido 2-[(2-fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3f)



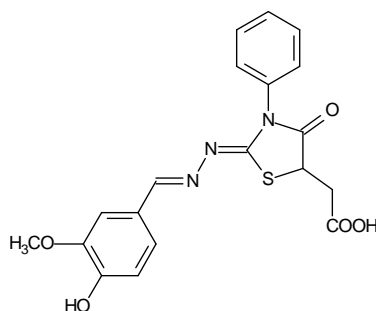
- Sólido amarelo claro; Rendimento: 60%; PF: 217°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 6:4)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1721 (C=O), 1621 (NC=O), 1582 e 1548 (C=N), 1344 (NCS), 1232 (N-N=C), 1034 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 12,85 (s largo, 1H, CO₂H), 8,37 (s, 1H, CH=N), 7,90 (dt, 1H, J = 1,5, 8,4 Hz, Ar-H), 7,43-7,56 (m, 4H, Ar-H), 7,38-7,41 (m, 2H, Ar-H), 7,24-7,31 (m, 2H, Ar-H), 4,58 (t, 1H, J = 6,0 Hz, CH), 3,13 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,8 (CO₂H), 171,8 (C=O), 166,1 (C=N), 162,6 (Cq Ar), 159,2 (CH=N), 150,6 (CH Ar), 135,1 (Cq Ar), 132,9 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,1 (CH Ar), 127,4 (CH Ar), 124,9 (CH Ar), 121,4 (Cq Ar), 42,6 (CH), 36,7 (CH₂)

3.2.4.7 Ácido 2-[(4-fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3g)



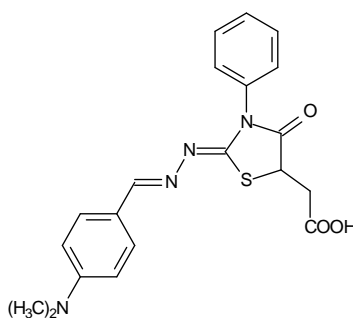
- Sólido branco; Rendimento: 56%; PF: 227-229°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 6:4)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1731 (C=O), 1621 (NC=O), 1592 e 1550 (C=N), 1347 (NCS), 1226 (N-N=C), 1040 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,83 (s largo, 1H, CO₂H), 8,34 (s, 1H, CH=N), 7,80 (dd, 2H, J = 8,7, 5,7 Hz, Ar-H), 7,38-7,56 (m, 5H, Ar-H), 7,29 (t, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 4,57 (t, 1H, J = 6,0 Hz, CH), 3,13 (d, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,7 (CO₂H), 171,8 (C=O), 165,2 (Cq Ar), 164,9 (C=N), 161,9 (Cq Ar), 156,6 (CH=N), 135,2 (Cq Ar), 130,7 (Cq Ar), 130,0 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,7 (CH₂)

3.2.4.8 Ácido 2-[(3-metoxi-4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3h)



- Sólido bege; Rendimento: 44,5%; PF: 219-221°C; R_f: 0,40 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1724 (C=O), 1621 (NC=O), 1592 e 1562 (C=N), 1347 (NCS), 1249 (N-N=C), 1030 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,82 (s largo, 1H, CO₂H), 9,67 (s, 1H, Ar-OH), 8,18 (s, 1H, CH=N), 7,36-7,55 (m, 5H, Ar-H), 7,31 (d, 1H, J = 1,8 Hz, Ar-H), 7,16 (dd, 1H, J = 1,8, 8,1 Hz, Ar-H), 6,83 (d, 1H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 4,55 (t, 1H, J = 5,7, CH), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,13 (d, 2H, J = 5,7, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,7 (CO₂H), 171,8 (C=O), 162,9 (C=N), 157,9 (CH=N), 149,6 (Cq Ar), 147,8 (Cq Ar), 135,3 (Cq Ar), 129,1 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 125,5 (Cq Ar), 122,6 (CH Ar), 115,5 (CH Ar), 110,2 (CH Ar), 55,5 (OCH₃), 42,4 (CH), 36,8 (CH₂)

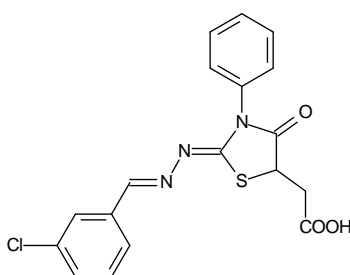
3.2.4.9 Ácido 2-[(4-dimetilamino-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3i)



- Sólido vermelho escuro; Rendimento: 36%; PF: 230-231°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1724 (C=O), 1606 (NC=O), 1529 (C=N), 1360 (NCS), 1239 (N-N=C), 1030 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,82 (s largo, 1H, CO₂H), 8,13 (s, 1H, CH=N), 7,36-7,56 (m, 7H, Ar-H), 6,71 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 4,53 (t, 1H, J = 5,7 Hz, CH), 3,11 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 2,95 (s, 6H, N(CH₃)₂)

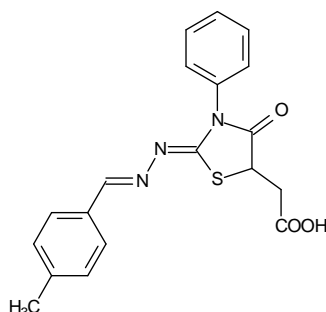
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,6 (CO₂H), 171,8 (C=O), 161,6 (C=N), 157,9 (CH=N), 151,9 (Cq Ar), 135,3 (Cq Ar), 129,2 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 111,6 (CH Ar), 42,4 (CH), 39,7 (N(CH₃)₂), 36,9 (CH₂)

3.2.4.10 Ácido 2-[(3-cloro-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3j)



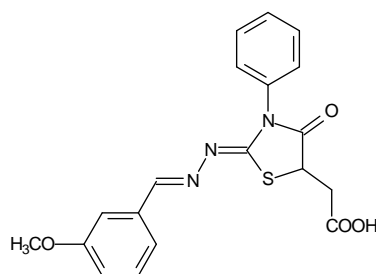
- Sólido bege; Rendimento: 58%; PF: 237-239°C; R_f: 0,55 (hexano/acetato de etila 6:4)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1711 (C=O), 1621 (NC=O), 1573 (C=N), 1341 (NCS), 1258 (N-N=C), 1040 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 12,84 (s largo, 1H, CO₂H), 8,33 (s, 1H, CH=N), 7,69-7,75 (m, 2H, Ar-H), 7,37-7,55 (m, 7H, Ar-H), 4,58 (t, 1H, J = 5,4 Hz, CH), 3,13 (d, 2H, J = 5,4 Hz, CH₂)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,8 (CO₂H), 171,8 (C=O), 168,4 (CH=N), 165,9 (C=N), 136,2 (Cq Ar), 135,1 (Cq Ar), 133,6 (Cq Ar), 130,8 (CH Ar), 130,4 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 127,0 (CH Ar), 126,2 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,7 (CH₂)

3.2.4.11 Ácido 2-[(4-metil-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3k)



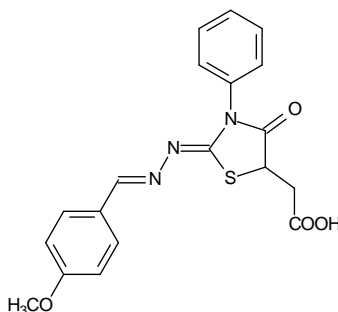
- Sólido branco; Rendimento: 54%; PF: 224-226°C; R_f: 0,40 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1727 (C=O), 1615 (NC=O), 1573 e 1556 (C=N), 1347 (NCS), 1236 (N-N=C), 1034 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,84 (s largo, 1H, CO₂H), 8,27 (s, 1H, CH=N), 7,62 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,36-7,55 (m, 5H, Ar-H), 7,25 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 4,55 (t, 1H, J = 6 Hz, CH), 3,11 (d, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 2,33 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,7 (CO₂H), 171,8 (C=O), 164,3 (C=N), 157,7 (CH=N), 140,8 (Cq Ar), 135,2 (Cq Ar), 131,3 (Cq Ar), 129,4 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 42,5 (CH), 36,8 (CH₂), 21,1 (CH₃)

3.2.4.12 Ácido 2-[(3-metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3l)



- Sólido branco; Rendimento: 57%; PF: 235-237°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1727 (C=O), 1615 (NC=O), 1582 e 1559 (C=N), 1341 (NCS), 1241 (N-N=C), 1030 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,76 (s largo, 1H, CO₂H), 8,28 (s, 1H, CH=N), 7,28-7,55 (m, 8H, Ar-H), 7,01-7,04 (m, 1H, Ar-H), 4,56 (t, 1H, J = 5,7 Hz, CH), 3,78 (s, 3H, OCH₃), 3,13 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,6 (CO₂H), 171,5 (C=O), 164,6 (C=N), 159,4 (Cq Ar), 157,5 (CH=N), 135,3 (Cq Ar), 135,1 (Cq Ar), 129,8 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 120,2 (CH Ar), 116,4 (CH Ar), 112,6 (CH Ar), 55,0 (OCH₃), 42,4 (CH), 36,7 (CH₂)

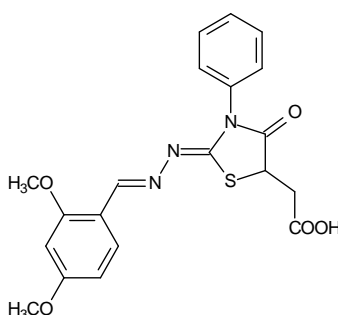
3.2.4.13 Ácido 2-[(4-metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3m)



- Sólido branco; Rendimento: 55,5%; PF: 211-213°C; R_f: 0,55 (hexano/acetato de etila 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1711 (C=O), 1615 (NC=O), 1579 e 1552 (C=N), 1344 (NCS), 1245 (N-N=C), 1024 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,74 (s largo, 1H, CO₂H), 8,24 (s, 1H, CH=N), 7,68 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,37-7,55 (m, 5H, Ar-H), 7,00 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 4,55 (t, 1H, J = 5,4 Hz, CH), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,10 (d, 2H, J = 5,4 Hz, CH₂)

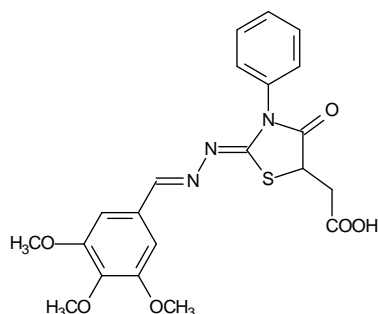
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,5 (CO₂H), 171,5 (C=O), 163,2 (C=N), 161,3 (Cq Ar), 157,2 (CH=N), 135,1 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,5 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 126,6 (Cq Ar), 114,2 (CH Ar), 55,2 (OCH₃), 42,3 (CH), 36,7 (CH₂)

3.2.4.14 Ácido 2-[(2,4-dimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3n)



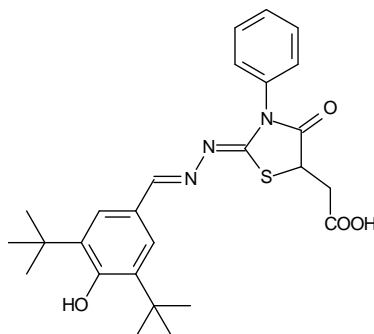
- Sólido branco; Rendimento: 62,5%; PF: 202-203°C; R_f: 0,55 (hexano/acetato de etila 9:1)
- IV (v cm⁻¹ KBr): 1717 (C=O), 1607 (NC=O), 1555 (C=N), 1344 (NCS), 1244 (N-N=C), 1023 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 12,73 (s largo, 1H, CO₂H), 8,37 (s, 1H, CH=N), 7,79 (d, 1H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,36-7,55 (m, 5H, Ar-H), 6,61 (m, 2H, Ar-H), 4,54 (t, 1H, J = 6 Hz, CH), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,10 (d, 2H, J = 6 Hz, CH₂)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 173,4 (CO₂H), 171,5 (C=O), 163,1 (C=N), 162,7 (Cq Ar), 159,6 (Cq Ar), 152,5 (CH=N), 135,1 (Cq Ar), 128,8 (CH Ar), 128,4 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 127,3 (CH Ar), 114,6 (Cq Ar), 106,6 (CH Ar), 98,1 (CH Ar), 55,6 (OCH₃), 55,4 (OCH₃), 42,3 (CH), 36,8 (CH₂)

3.2.4.15 Ácido 2-[(3,4,5-trimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3o)



- Sólido marrom claro; Rendimento: 45%; PF: 119-120°C; R_f: 0,45 (hexano/acetato de etila 3:7)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1724 (C=O), 1615 (NC=O), 1585 e 1559 (C=N), 1354 (NCS), 1239 (N-N=C), 1032 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,80 (s largo, 1H, CO₂H), 8,18 (s, 1H, CH=N), 7,26-7,54 (m, 5H, Ar-H), 6,94 (s, 2H, Ar-H), 4,42 (dd, 1H, J = 3,6, 8,1 Hz, CH), 3,87 (s, 9H, OCH₃), 3,31 (dd, 1H, J = 3,6, 17,7 Hz, CH_{2a}), 3,18 (dd, 1H, J = 8,1, 17,7 Hz, CH_{2b})
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,7 (CO₂H), 171,7 (C=O), 164,1 (C=N), 157,7 (CH=N), 153,1 (Cq Ar), 135,2 (Cq Ar), 129,5 (Cq Ar), 129,0 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 104,9 (CH Ar), 60,1 (OCH₃), 55,8 (OCH₃), 42,5 (CH), 36,6 (CH₂)

3.2.4.16 Ácido 2-[(3,5-bis(1,1-dimetiletil)4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-phenyl-1,3-tiazolidin-5-il acético (3p)



- Sólido branco; Rendimento: 77%; PF: 246-247°C; R_f: 0,50 (hexano/acetato de etila 7,5:2,5)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1730 (C=O), 1615 (NC=O), 1585 (C=N), 1358 (NCS), 1245 (N-N=C), 1030 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 12,81 (s largo, 1H, CO₂H), 8,20 (s, 1H, CH=N), 7,35-7,54 (m, 7H, Ar-H), 4,52 (t, 1H, J = 5,7 Hz, CH), 3,11 (d, 2H, J = 5,7 Hz, CH₂), 1,39 (s, 18H, C(CH₃)₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 173,7 (CO₂H), 171,7 (C=O), 162,7 (C=N), 158,5 (CH=N), 156,7 (Cq Ar), 138,9 (Cq Ar), 135,3 (Cq Ar), 129,0 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 125,4 (Cq Ar), 124,7 (CH Ar), 42,4 (CH), 36,7 (CH₂), 34,4 (Cq C(CH₃)₃), 30,1 (CH₃)

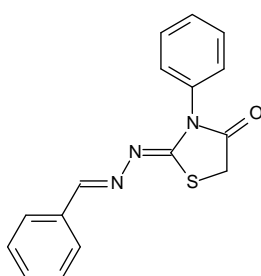
3.2.5 Procedimento Geral para Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)

Em um balão foram adicionados 0,0017 moles da tiossemicarbazona requerida, 0,0019 moles de cloroacetato de etila (1,1 eq.), 0,0069 moles de acetato de sódio anidro (4 eq.) e 25 mL de etanol. A mistura foi agitada nas mesmas condições sob temperatura de refluxo até o término da reação (18-96 h; acompanhamento por CCD). Após, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, o precipitado formado foi

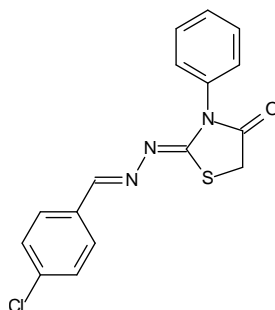
coletado em funil sinterizado, e lavado com etanol e água destilada, ambos os solventes a frio.

3.2.6 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)

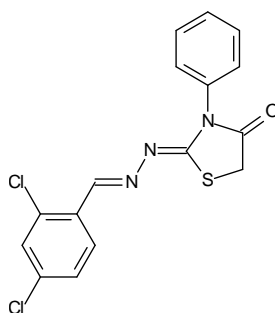
3.2.6.1 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4a)



- Sólido bege claro; Rendimento: 70%; PF: 230-232°C; R_f: 0,35 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1729 (NC=O), 1623 e 1548 (C=N), 1379 (NCS), 1237 (N-N=C), 1037 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,32 (s, 1H, CH=N), 7,74 (m, 2H, Ar-H), 7,38-7,55 (m, 8H, Ar-H), 4,10 (s, 2H, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 164,3 (C=N), 158,9 (CH=N), 134,4 (Cq Ar), 134,0 (Cq Ar), 130,8 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 32,4 (CH₂)

3.2.6.2 2-[(4-Cloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4b)

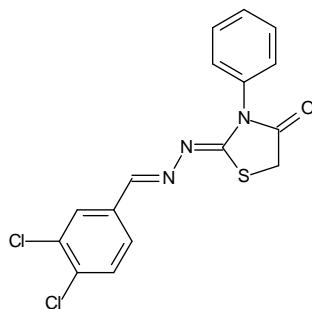
- Sólido bege; Rendimento: 55%; PF: 239-241°C; R_f: 0,40 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1711 (NC=O), 1616 e 1549 (C=N), 1382 (NCS), 1242 (N-N=C), 1032 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8,34 (s, 1H, CH=N), 7,74 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,37-7,55 (m, 7H, Ar-H), 4,11 (s, 2H, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 172,0 (C=O), 166,0 (C=N), 156,6 (CH=N), 135,3 (Cq Ar), 135,0 (Cq Ar), 132,9 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 32,3 (CH₂)

3.2.6.3 Dados para 2-[(2,4-Dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4c)

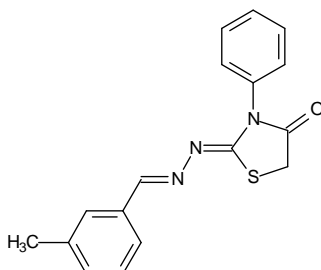
- Sólido amarelo claro; Rendimento: 82%; PF: 258-259°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 7:3)

- IV (ν cm^{-1} KBr): 1730 (NC=O), 1612 e 1535 (C=N), 1384 (NCS), 1241 (N-N=C), 1038 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,63 (s, 1H, CH=N), 8,06 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,26-7,57 (m, 8H, Ar-H), 3,98 (s, 2H, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 172,0 (C=O), 166,9 (C=N), 152,5 (CH=N), 135,7 (Cq Ar), 134,9 (Cq Ar), 134,4 (Cq Ar), 130,1 (Cq Ar), 129,7 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 127,1 (CH Ar), 32,4 (CH_2)

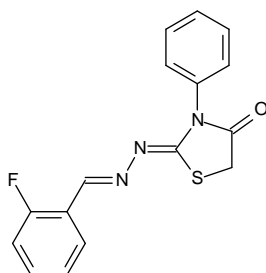
3.2.6.4 2-[(3,4-Dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4d)



- Sólido bege; Rendimento: 59%; PF: 236-238°C; R_f : 0,50 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1717 (NC=O), 1614 e 1556 (C=N), 1384 (NCS), 1247 (N-N=C), 1037 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 8,34 (s, 1H, CH=N), 7,91 (s, 1H, Ar-H), 7,73 (s, 2H, Ar-H), 7,37-7,54 (m, 5H, Ar-H), 4,12 (s, 2H, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 172,0 (C=O), 166,9 (C=N), 155,4 (CH=N), 134,9 (Cq Ar), 134,8 (Cq Ar), 133,0 (Cq Ar), 131,7 (Cq Ar), 131,1 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 127,2 (CH Ar), 32,3 (CH_2)

3.2.6.5 2-[(3-Metil-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4e)

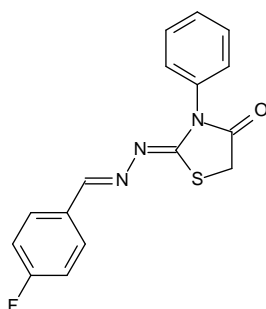
- Sólido branco; Rendimento: 66%; PF: 208-209°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1731 (NC=O), 1616 e 1558 (C=N), 1385 (NCS), 1239 (N-N=C), 1040 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,28 (s, 1H, CH=N), 7,45-7,56 (m, 4H, Ar-H), 7,37 (d, 2H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 7,23-7,33 (m, 3H, Ar-H), 3,98 (s, 2H, CH₂), 2,40 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 164,0 (C=N), 159,1 (CH=N), 138,3 (Cq Ar), 134,3 (Cq Ar), 133,9 (Cq Ar), 131,7 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,4 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 125,5 (CH Ar), 32,4 (CH₂), 21,3 (CH₃)

3.2.6.6 2-[(2-Fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4f)

- Sólido branco; Rendimento: 60%; PF: 234-235°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 8:2)

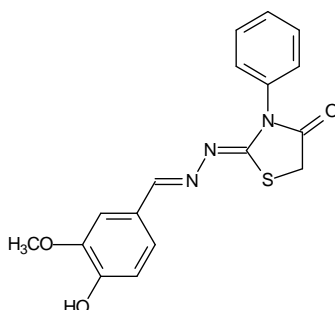
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1730 (NC=O), 1621 e 1551 (C=N), 1387 (NCS), 1236 (N-N=C), 1037 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,57 (s, 1H, CH=N), 8,04 (dt, 1H, J = 1,8, 7,2 Hz, Ar-H), 7,36-7,56 (m, 4H, Ar-H), 7,19 (t, 2H, J = 7,5 Hz, Ar-H), 7,06 (t, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 3,97 (s, 2H, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 173,6 (C=O), 171,7 (C=N), 165,0 (Cq Ar), 163,4 (CH=N), 152,3 (CH Ar), 134,6 (Cq Ar), 132,4 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 127,5 (CH Ar), 124,3 (CH Ar), 121,9 (Cq Ar), 32,4 (CH_2)

3.2.6.7 2-[(4-Fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4g)



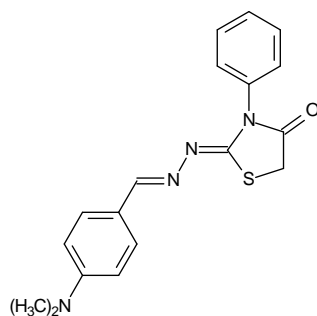
- Sólido branco; Rendimento: 71%; PF: 247-248°C; R_f : 0,50 (diclorometano/hexano 9:1)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1734 (NC=O), 1621 e 1553 (C=N), 1383 (NCS), 1221 (N-N=C), 1036 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,25 (s, 1H, CH=N), 7,72 (dd, 2H, J = 8,7, 5,4 Hz, Ar-H), 7,43-7,56 (m, 3H, Ar-H), 7,36 (dd, 2H, J = 8,4, 1,5 Hz, Ar-H), 7,08 (t, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 3,97 (s, 2H, CH_2)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 171,7 (C=O), 166,0 (C=N), 162,6 (Cq Ar), 167,6 (CH=N), 134,4 (Cq Ar), 130,3 (Cq Ar), 130,0 (CH Ar), 129,9 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 116,0 (CH Ar), 115,7 (CH Ar), 32,4 (CH_2)

3.2.6.8 2-[(3-Metoxi-4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4h)



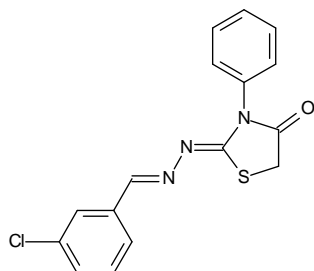
- Sólido branco; Rendimento: 75%; PF: 270-272°C; R_f: 0,40 (diclorometano puro)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1730 (NC=O), 1601 e 1554 (C=N), 1380 (NCS), 1240 (N-N=C), 1031 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 9,71 (s largo, 1H, Ar-OH), 8,17 (s, 1H, CH=N), 7,36-7,54 (m, 5H, Ar-H), 7,31 (d, 1H, J = 1,2 Hz, Ar-H), 7,16 (dd, 1H, J = 1,2, 8,1 Hz, Ar-H), 6,83 (d, 1H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 4,08 (s, 3H, OCH₃), 3,78 (s, 2H, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 171,9 (C=O), 163,6 (C=N), 157,7 (CH=N), 149,7 (Cq Ar), 147,8 (Cq Ar), 135,1 (Cq Ar), 129,0 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,2 (CH Ar), 125,4 (Cq Ar), 122,4 (CH Ar), 115,5 (CH Ar), 110,3 (CH Ar), 55,4 (OCH₃), 32,2 (CH₂)

3.2.6.9 2-[(4-Dimetilamino-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4i)

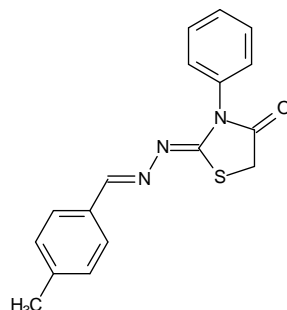


- Sólido verde claro; Rendimento: 77%; PF: 201-202°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1718 (NC=O), 1601 e 1517 (C=N), 1364 (NCS), 1176 (N-N=C), 1064 (CS)
- RMN ¹H (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,18 (s, 1H, CH=N), 7,21-7,71 (m, 5H, Ar-H), 7,60 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 6,67 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H) 3,94 (s, 2H, CH₂), 3,01 (s, 6H, N(CH₃)₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,8 (C=O), 161,4 (C=N), 159,2 (CH=N), 152,0 (Cq Ar), 134,6 (Cq Ar), 129,6 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 121,7 (CH Ar), 111,5 (CH Ar), 40,1 (N(CH₃)₂), 32,4 (CH₂)

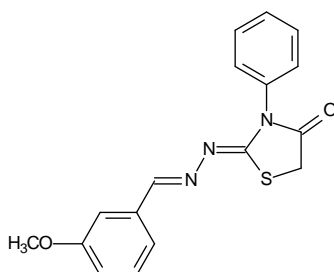
3.2.6.10 2-[(3-Cloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4j)



- Sólido amarelo claro; Rendimento: 58%; PF: 218-220°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1730 (NC=O), 1613 e 1544 (C=N), 1382 (NCS), 1247 (N-N=C), 1041 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,23 (s, 1H, CH=N), 7,74-7,75 (m, 1H, Ar-H), 7,46-7,56 (m, 4H, Ar-H), 7,29-7,40 (m, 4H, Ar-H), 3,97 (s, 2H, CH₂)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 165,2 (CH=N), 157,3 (C=N), 135,8 (Cq Ar), 134,7 (Cq Ar), 134,3 (Cq Ar), 130,7 (CH Ar), 129,9 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 127,4 (CH Ar), 126,4 (CH Ar), 32,4 (CH₂)

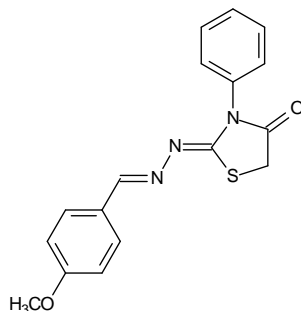
3.2.6.11 2-[(4-Metil-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4k)

- Sólido branco; Rendimento: 72%; PF: 237-238°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 9:1)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1733 (NC=O), 1613 e 1545 (C=N), 1383 (NCS), 1240 (N-N=C), 1045 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,27 (s, 1H, CH=N), 7,63 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,36-7,56 (m, 5H, Ar-H), 7,21 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 3,96 (s, 2H, CH₂), 2,39 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 163,7 (C=N), 158,9 (CH=N), 141,2 (Cq Ar), 134,4 (Cq Ar), 131,3 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 128,0 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 32,4 (CH₂), 21,5 (CH₃)

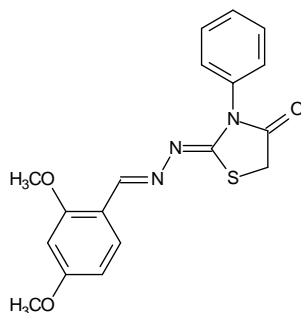
3.2.6.12 2-[(3-Metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4l)

- Sólido amarelo claro; Rendimento: 63%; PF: 233-234°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1731 (NC=O), 1616 e 1546 (C=N), 1348 (NCS), 1240 (N-N=C), 1040 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,26 (s, 1H, CH=N), 7,24-7,55 (m, 8H, Ar-H), 6,95-6,97 (m, 2H, Ar-H) 3,96 (s, 2H, CH₂), 3,84 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 164,4 (C=N), 159,7 (Cq Ar), 158,8 (CH=N), 135,4 (Cq Ar), 134,4 (Cq Ar), 129,6 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 121,2 (CH Ar), 116,9 (CH Ar), 112,2 (CH Ar), 55,2 (OCH₃) 32,4 (CH₂)

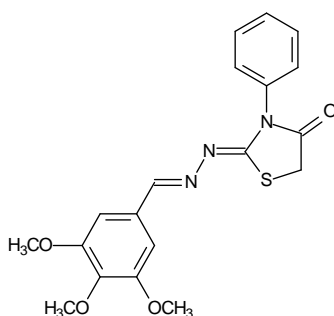
3.2.6.13 2-[(4-Metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4m)



- Sólido bege claro; Rendimento: 72%; PF: 227-228°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 6:4)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (NC=O), 1614 e 1558 (C=N), 1382 (NCS), 1248 (N-N=C), 1025 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,23 (s, 1H, CH=N), 7,35-7,69 (m, 7H, Ar-H), 6,91 (d, 2H, J = 7,5 Hz, Ar-H) 3,95 (s, 2H, CH₂), 3,84 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,7 (C=O), 163,1 (C=N), 161,8 (Cq Ar), 158,5 (CH=N), 134,5 (Cq Ar), 129,7 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 126,8 (Cq Ar), 114,1 (CH Ar), 55,3 (OCH₃), 32,4 (CH₂)

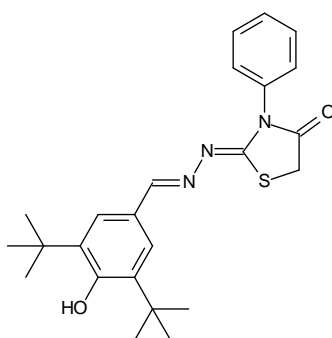
3.2.6.14 2-[(2,4-Dimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4n)

- Sólido laranja; Rendimento: 50%; PF: 202-203°C; R_f: 0,40 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1711 (NC=O), 1608 e 1546 (C=N), 1381 (NCS), 1243 (N-N=C), 1028 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,16 (s, 1H, CH=N), 7,98 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar-H); 7,35-7,54 (m, 4H, Ar-H), 6,53 (dd, 1H, J = 8,7, 1,8 Hz, Ar-H), 6,45 (t, 1H, J = 2,4 Hz, Ar-H), 6,40 (d, 1H, J = 2,4 Hz, Ar-H) 3,94 (s, 1H, CH_{2a}), 3,85 (s, 1H, CH_{2b}), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,77 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 171,8 (C=O), 163,2 (C=N), 162,2 (CH=N), 160,0 (Cq Ar), 154,7 (Cq Ar), 134,5 (Cq Ar), 129,2 (CH Ar), 128,8 (CH Ar), 128,6 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 124,1 (CH Ar), 115,7 (Cq Ar), 105,6 (CH Ar), 97,8 (CH Ar), 55,4 (OCH₃), 32,4 (CH₂)

3.2.6.15 2-[(3,4,5-Trimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4o)

- Sólido amarelo; Rendimento: 57%; PF: 186-187°C; R_f : 0,40 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1734 (NC=O), 1617 e 1549 (C=N), 1358 (NCS), 1236 (N-N=C), 1002 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,19 (s, 1H, CH=N), 7,26-7,54 (m, 5H, Ar-H), 6,96 (s, 2H, Ar-H), 3,95 (s, 2H, CH_2), 3,88 (s, 6H, OCH_3), 3,88 (s, 3H, OCH_3)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 171,6 (C=O), 163,8 (C=N), 158,5 (CH=N), 153,3 (Cq Ar), 140,5 (Cq Ar), 134,4 (Cq Ar), 129,4 (Cq Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 105,0 (CH Ar), 60,9 (OCH_3), 56,0 (OCH_3), 32,4 (CH_2)

3.2.6.16 2-[(3,5-bis(1,1-Dimetiletil)4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (4p)



- Sólido verde claro; Rendimento: 86%; PF: 163-164°C; R_f : 0,40 (clorofórmio puro)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1727 (NC=O), 1619 e 1591 (C=N), 1380 (NCS), 1241 (N-N=C), 1027 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,23 (s, 1H, CH=N), 7,36-7,57 (m, 7H, Ar-H), 3,94 (s, 2H, CH_2), 1,46 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$)

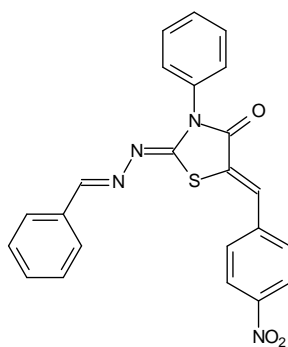
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 171,8 (C=O), 162,6 (C=N), 159,4 (CH=N), 156,5 (Cq Ar), 136,1 (Cq Ar), 134,5 (Cq Ar), 129,2 (Cq Ar), 128,9 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 125,4 (CH Ar), 125,3 (CH Ar), 34,2 (Cq C(CH₃)₃), 32,4 (CH₂), 30,0 (CH₃)

3.2.7 Procedimento Geral para Obtenção de 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)

Em um balão foram adicionados 0,3389 mmoles da 4-tiazolidinona requerida, 0,3389 mmoles de 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (1 eq.), 5 gotas de piperidina e 10 mL de etanol. A mistura foi agitada nas mesmas condições sob temperatura de refluxo até o término da reação (0,5-1,5 h; acompanhamento por CCD). Após, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, o precipitado formado foi coletado em funil sinterizado, e lavado com etanol e água destilada, ambos os solventes a frio.

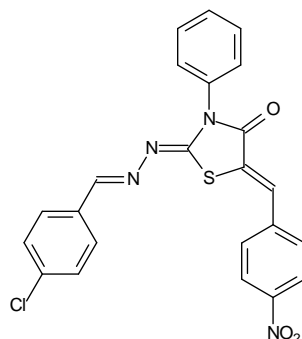
3.2.8 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)

3.2.8.1 2-[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5a)



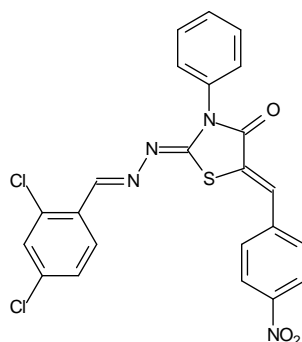
- Sólido amarelo; Rendimento: 69%; PF: 201-202°C; R_f: 0,55 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (NC=O), 1624 e 1553 (C=N), 1583 (C=C), 1347 (NCS), 1238 (N-N=C), 1069 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,39 (s, 1H, CH=N), 8,36 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,81 (s, 1H, CH=C), 7,79 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,44-7,59 (m, 10H, Ar-H)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 165,9 (C=O), 160,2 (C=N), 158,9 (CH=N), 147,5 (CH=C), 140,1 (CH=C), 134,1 (Cq Ar), 133,6 (Cq Ar), 131,3 (CH Ar), 130,5 (CH Ar), 129,4 (CH Ar), 129,2 (CH Ar), 128,7 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 127,9 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 126,5 (Cq Ar), 124,2 (Cq Ar)

3.2.8.2 2-[(4-Cloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5b)



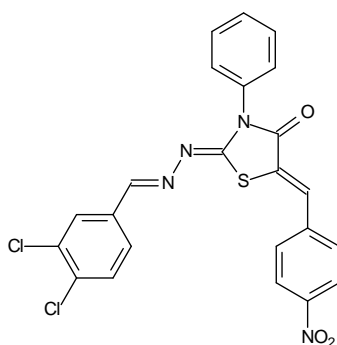
- Sólido amarelo; Rendimento: 88%; PF: 270-272°C; R_f: 0,55 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (NC=O), 1624 e 1550 (C=N), 1575 (C=C), 1344 (NCS), 1241 (N-N=C), 1086 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8,47 (s, 1H, CH=N), 8,38 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,98 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,88 (s, 1H, CH=C), 7,83 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,54-7,59 (m, 7H, Ar-H)

3.2.8.3 2-[(2,4-Dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5c)



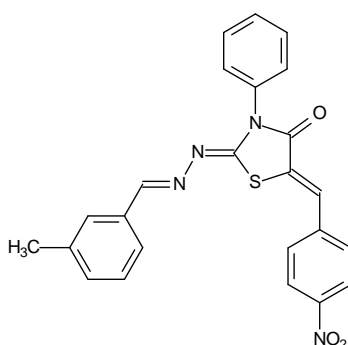
- Sólido amarelo; Rendimento: 73%; PF: 293-294°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1715 (NC=O), 1616 e 1561 (C=N), 1587 (C=C), 1344 (NCS), 1238 (N-N=C), 1049 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,39 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 8,33 (s, 1H, CH=N), 7,83 (s, 1H, CH=C), 7,80 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,50-7,62 (m, 5H, Ar-H), 7,35-7,48 (m, 3H, Ar-H)

3.2.8.4 2-[(3,4-Dicloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5d)



- Sólido amarelo; Rendimento: 75%; PF: 329-330°C; R_f: 0,65 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1714 (NC=O), 1621 e 1517 (C=N), 1572 (C=C), 1341 (NCS), 1238 (N-N=C), 1028 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8,47 (s, 1H, CH=N), 8,39 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,99 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,99 (d, 1H, J = 1,8 Hz, Ar-H), 7,89 (s, 1H, CH=C), 7,80 (d, 1H, J = 1,8 Hz, Ar-H), 7,76 (s, 1H, Ar-H), 7,48-7,60 (m, 5H, Ar-H)

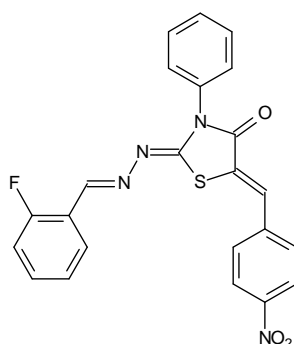
3.2.8.5 2-[(3-Metil-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5e)



- Sólido amarelo; Rendimento: 70%; PF: 256-257°C; R_f: 0,55 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1717 (NC=O), 1602 e 1559 (C=N), 1583 (C=C), 1333 (NCS), 1249 (N-N=C), 1062 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,36 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H), 8,35 (s, 1H, CH=N), 7,80 (s, 1H, CH=C), 7,78 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H), 7,45-7,59 (m, 6H, Ar-H), 7,29-7,36 (m, 3H, Ar-H), 2,42 (s, 3H, CH₃)

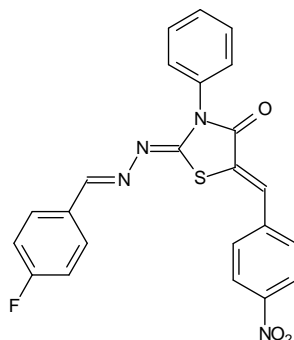
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 165,8 (C=O), 160,5 (C=N), 161,5 (Cq Ar), 158,6 (CH=N), 147,4 ($\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), 140,1 (CH= $\underline{\text{C}}$), 138,5 (Cq Ar), 134,1 (Cq Ar), 133,5 (Cq Ar), 133,2 (CH Ar), 130,5 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,2 (Cq Ar), 128,7 (CH Ar), 128,6 (Cq Ar), 127,8 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 126,5 (CH Ar), 125,6 (CH Ar), 124,2 (CH Ar), 21,3 (CH_3)

3.2.8.6 2-[(2-Fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5f)



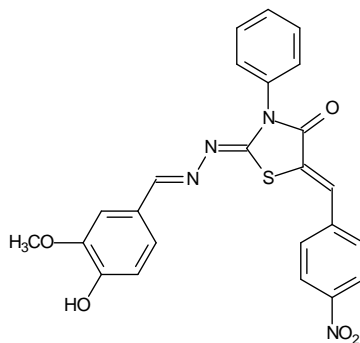
- Sólido amarelo; Rendimento: 77%; PF: 263-264°C; R_f : 0,60 (diclorometano/hexano 8:2)
- IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr): 1714 (NC=O), 1621 e 1551 (C=N), 1589 (C=C), 1341 (NCS), 1230 (N-N=C), 1058 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 8,51 (s, 1H, CH=N), 8,39 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 7,98 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 7,89 (s, 1H, CH=C), 7,55-7,58 (m, 5H, Ar-H), 7,28-7,37 (m, 2H, Ar-H)

3.2.8.7 2-[(4-Fluoro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5g)



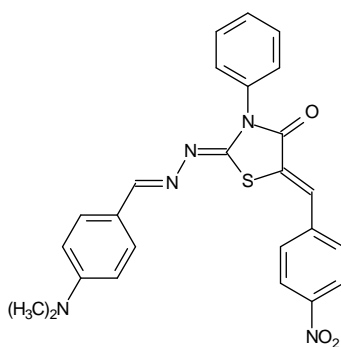
- Sólido amarelo; Rendimento: 89%; PF: 254-256°C; R_f: 0,40 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1714 (NC=O), 1625 e 1559 (C=N), 1593 (C=C), 1341 (NCS), 1228 (N-N=C), 1062 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,37 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H), 8,35 (s, 1H, CH=N), 7,76-7,82 (m, 5H, Ar-H, CH=C), 7,49-7,59 (m, 5H, Ar-H), 7,13 (t, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 165,8 (C=O), 163,0 (C=N), 161,5 (Cq Ar), 158,9 (CH=N), 147,6 (CH=C), 140,1 (CH=C), 134,2 (Cq Ar), 130,5 (Cq Ar), 130,4 (CH Ar), 129,4 (CH Ar), 127,9 (Cq Ar), 127,7 (CH Ar), 126,5 (CH Ar), 124,3 (CH Ar), 116,2 (CH Ar), 115,9 (CH Ar)

3.2.8.8 2-[(3-Metoxi-4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5h)



- Sólido laranja; Rendimento: 75%; PF: 243-244°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1714 (NC=O), 1621 e 1564 (C=N), 1594 (C=C), 1381 (NCS), 1252 (N-N=C), 1028 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 9,78 (s largo, 1H, Ar-OH), 8,35 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 8,30 (s, 1H, CH=N), 7,96 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,83 (s, 1H, CH=C), 7,36-7,54 (m, 6H, Ar-H), 7,28 (d, 1H, J = 7,8 Hz, Ar-H), 6,87 (d, 1H, J = 7,8 Hz, Ar-H) 3,83 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d₆): 165,3 (C=O), 159,6 (C=N), 157,4 (CH=N), 150,2 (Cq Ar), 147,8 (Cq Ar), 147,0 (CH=C), 140,0 (CH=C), 134,7 (Cq Ar), 130,0 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 127,1 (Cq Ar), 126,5 (Cq Ar), 124,9 (CH Ar), 124,3 (CH Ar), 122,6 (CH Ar), 115,7 (CH Ar), 111,5 (CH Ar), 55,7 (OCH₃)

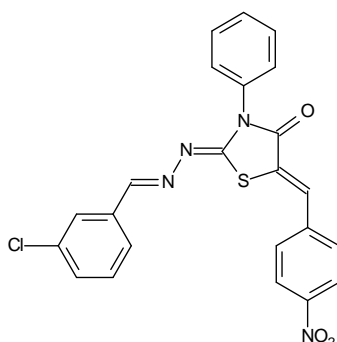
3.2.8.9 2-[(4-Dimetilamino-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)-metileno-4-tiazolidinona (5i)



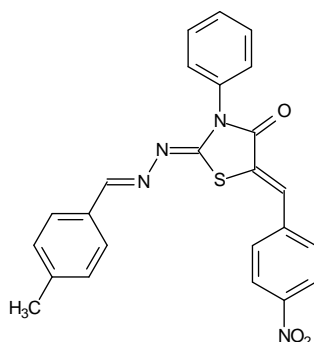
- Sólido roxo; Rendimento: 70%; PF: 240-241°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 8:2)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1708 (NC=O), 1602 e 1521 (C=N), 1341 (NCS), 1238 (N-N=C), 1066 (CS)

- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,35 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 8,27 (s, 1H, CH=N), 7,79 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 7,77 (s, 1H, CH=C), 7,66 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 7,44-7,58 (m, 5H, Ar-H), 6,70 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 3,05 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 166,0 (C=O), 160,3 (C=N), 155,9 (CH=N), 152,4 (Cq Ar), 147,3 (CH=C), 140,4 (CH=C), 134,3 (Cq Ar), 130,5 (CH Ar), 130,0 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,0 (Cq Ar), 127,7 (CH Ar), 127,1 (Cq Ar), 124,2 (CH Ar), 121,2 (Cq Ar), 111,5 (CH Ar), 40,1 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

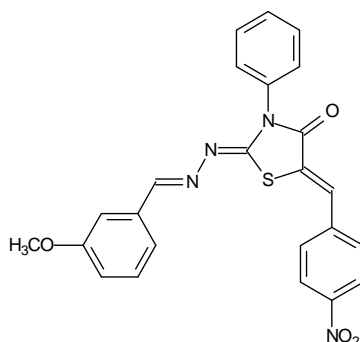
3.2.8.10 2-[(3-Cloro-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5j)



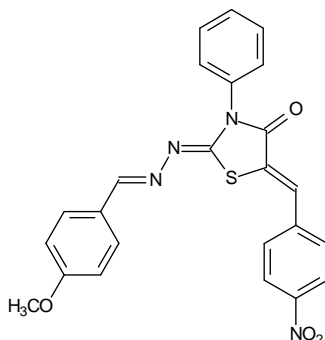
- Sólido amarelo; Rendimento: 88%; PF: 250-251°C; R_f : 0,55 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm^{-1} KBr): 1714 (NC=O), 1621 e 1551 (C=N), 1575 (C=C), 1346 (NCS), 1241 (N-N=C), 1066 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 8,49 (s, 1H, CH=N), 8,40 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, Ar-H), 8,01 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, Ar-H), 7,91 (s, 1H, CH=C), 7,79-7,83 (m, 3H, Ar-H), 7,53-7,55 (m, 6H, Ar-H)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, DMSO-d_6): δ 165,4 (C=O), 160,3 (C=N), 158,3 (CH=N), 147,2 (CH=C), 139,9 (CH=C), 135,7 (Cq Ar), 134,6 (Cq Ar), 133,7 (Cq Ar), 131,0 (CH Ar), 129,2 (Cq Ar), 128,3 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 127,5 (CH Ar), 126,5 (Cq Ar), 126,1 (CH Ar), 124,4 (CH Ar)

3.2.8.11 2-[(4-Metil-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5k)

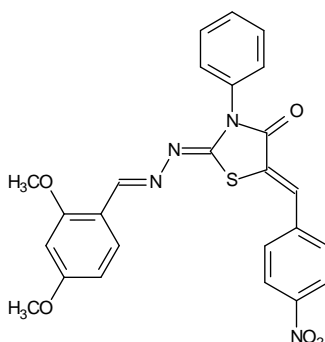
- Sólido amarelo; Rendimento: 75%; PF: 276-277°C; R_f: 0,55 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1722 (NC=O), 1618 e 1551 (C=N), 1578 (C=C), 1341 (NCS), 1241 (N-N=C), 1066 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,37 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H), 8,36 (s, 1H, CH=N), 7,81 (s, 1H, CH=C), 7,79 (d, 2H, J = 9 Hz, Ar-H), 7,69 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,45-7,60 (m, 5H, Ar-H), 7,26 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 2,42 (s, 3H, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): δ 165,9 (C=O), 160,2 (C=N), 158,3 (CH=N), 147,4 (CH=C), 141,9 (CH=C), 140,1 (Cq Ar), 134,2 (Cq Ar), 130,9 (Cq Ar), 130,5 (CH Ar), 129,5 (CH Ar), 129,3 (Cq Ar), 129,2 (CH Ar), 128,3 (CH Ar), 127,7 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 126,6 (Cq Ar), 124,2 (CH Ar), 21,6 (CH₃)

3.2.8.12 2-[(3-Metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5I)

- Sólido amarelo; Rendimento: 78%; PF: 249°C; R_f: 0,50 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1714 (NC=O), 1625 e 1586 (C=N), 1562 (C=C), 1337 (NCS), 1249 (N-N=C), 1031 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,36 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 8,34 (s, 1H, CH=N), 7,81 (s, 1H, CH=C), 7,78 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,34-7,59 (m, 8H, Ar-H), 7,00-7,02 (m, 1H, Ar-H), 3,81 (s, 3H, OCH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): 165,8 (C=O), 160,1 (C=N), 159,8 (CH=N), 159,1 (Cq Ar), 147,5 (CH=C), 141,0 (CH=C), 135,0 (Cq Ar), 134,2 (Cq Ar), 130,5 (CH Ar), 129,8 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,2 (Cq Ar), 127,9 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 126,5 (Cq Ar), 124,3 (CH Ar), 121,3 (CH Ar), 116,7 (CH Ar), 113,3 (CH Ar), 55,4 (OCH₃)

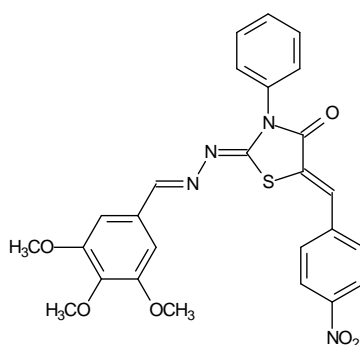
3.2.8.13 2-[(4-Metoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5m)

- Sólido laranja; Rendimento: 87%; PF: 257-258°C; R_f: 0,60 (diclorometano puro)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1716 (NC=O), 1613 e 1517 (C=N), 1583 (C=C), 1343 (NCS), 1246 (N-N=C), 1028 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8,39 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 8,38 (s, 1H, CH=N), 7,98 (d, 2H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,86 (s, 1H, CH=C), 7,77 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 7,51-7,60 (m, 5H, Ar-H), 7,04 (d, 2H, J = 8,1 Hz, Ar-H), 3,82 (s, 3H, OCH₃)

3.2.8.14 2-[(2,4-Dimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5n)

- Sólido laranja; Rendimento: 70%; PF: 270-272°C; R_f: 0,45 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1714 (NC=O), 1611 e 1553 (C=N), 1510 (C=C), 1338 (NCS), 1235 (N-N=C), 1032 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, DMSO-d₆): δ 8,49 (s, 1H, CH=N), 8,38 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,97 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,88 (d, 1H, J = 8,4 Hz, Ar-H), 7,85 (s, 1H, CH=C), 7,50-7,56 (m, 5H, Ar-H), 7,64-7,67 (m, 2H, Ar-H), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃)

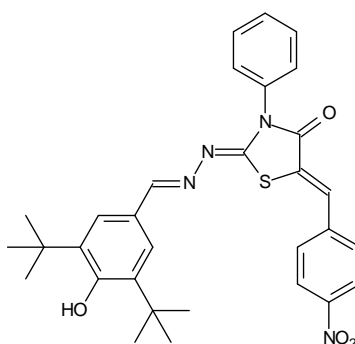
3.2.8.15 2-[(3,4,5-Trimetoxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)-metileno-4-tiazolidinona (5o)



- Sólido laranja; Rendimento: 77%; PF: 243-245°C; R_f: 0,40 (diclorometano puro)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 1717 (NC=O), 1617 e 1551 (C=N), 1583 (C=C), 1345 (NCS), 1238 (N-N=C), 1062 (CS)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,34 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 8,28 (s, 1H, CH=N), 7,81 (s, 1H, CH=C), 7,77 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 7,43-7,58 (m, 5H, Ar-H), 7,00 (s, 2H, Ar-H), 3,93 (s, 6H, OCH₃), 3,91 (s, 3H, OCH₃)

- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 165,7 (C=O), 160,2 (C=N), 157,9 (CH=N), 153,4 (Cq Ar), 147,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), 141,0 (CH= $\underline{\text{C}}$), 140,1 (Cq Ar), 134,1 (Cq Ar), 130,4 (CH Ar), 129,3 (Cq Ar), 129,2 (CH Ar), 128,9 (CH Ar), 127,9 (Cq Ar), 127,6 (CH Ar), 126,4 (Cq Ar), 124,2 (CH Ar), 105,5 (CH Ar), 60,9 (OCH_3), 56,2 (OCH_3)

3.2.8.16 2-[(3,5-bis(1,1-Dimetiletil)4-hidroxi-fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (5p)

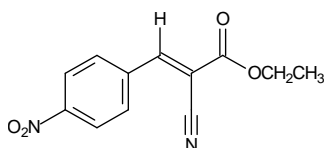


- Sólido amarelo; Rendimento: 64%; PF: 279-280°C; R_f : 0,43 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV ($\nu \text{ cm}^{-1}$ KBr): 1715 (NC=O), 1619 e 1516 (C=N), 1588 (C=C), 1342 (NCS), 1243 (N-N=C), 1063 (CS)
- RMN ^1H (300 MHz, ppm, CDCl_3): δ 8,34 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 8,32 (s, 1H, CH=N), 7,79 (s, 1H, CH=C), 7,78 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar-H), 7,45-7,60 (m, 7H, Ar-H), 1,48 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$)
- RMN ^{13}C (75,4 MHz, ppm, CDCl_3): δ 165,9 (C=O), 160,9 (C=N), 157,0 (CH=N), 156,9 (Cq Ar), 147,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$), 140,3 (CH= $\underline{\text{C}}$), 136,3 (Cq Ar), 134,2 (Cq Ar), 130,4 (CH Ar), 129,3 (CH Ar), 129,1 (CH Ar), 127,6 (CH Ar), 127,3 (Cq Ar), 126,9 (CH Ar), 125,6 (CH Ar), 125,0 (Cq Ar), 124,2 (CH Ar), 34,3 (Cq $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 30,0 (CH_3)

3.2.9 Procedimento para Obtenção do 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)

Em um balão foram adicionados 1 g (6,6172 mmoles) de *p*-nitrobenzaldeído, 1,4180 g (1 eq.) de cianoacetato de etila, 5 gotas de piperidina e 40 mL de benzeno. A mistura foi agitada a 110°C por 24 h, com remoção de água formada utilizando-se aparelho de Dean Stark. Em seguida, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e posteriormente em banho de gelo. Por fim, os cristais formados foram coletados em funil sinterizado e lavados com hexano a frio.

3.2.10 Dados Físico-químicos e Espectroscópicos para 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)



- Cristais marrons claro; Rendimento: 64%; PF: 168-169°C; R_f : 0,54 (diclorometano/hexano 7:3)
- IV (ν cm⁻¹ KBr): 2224 (CN), 1718 (C=O), 1592 (C=C), 1515 e 1344 (Ar-NO₂)
- RMN ¹H (300 MHz, ppm, CDCl₃): δ 8,33 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 8,29 (s, 1H, CH=C), 8,12 (d, 2H, J = 8,7 Hz, Ar-H), 4,41 (q, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂), 1,40 (t, 3H, J = 7,2 Hz, CH₃)
- RMN ¹³C (75,4 MHz, ppm, CDCl₃): 161,3 (C=O), 151,7 (CH=C), 149,6 (Cq Ar), 136,8 (Cq Ar), 131,4 (CH Ar), 124,6 (CH Ar), 114,4 (C≡N), 107,2 (CH=C), 63,3 (CH₂), 14,0 (CH₃)

3.3 Atividades Biológicas

3.3.1 Determinação da Atividade Anti-*Toxoplasma gondii*

Taquizoítas de *T. gondii* da linhagem virulenta RH foram mantidos por passagem intraperitoneal em camundongo Swiss, e coletados em solução Ringer a pH 7,2, 48 h após a infecção. Células Vero (fibroblastos de rim de macaco de floresta africana) foram incubadas com os taquizoítas de *T. gondii* (relação parasito/hospedeiro 5:1) por 1 h, lavadas duas vezes com solução salina tamponada de fosfato (PBS), para remoção dos parasitos extracelulares, e incubadas por 24 h a 37 °C, na presença de meio 199 contendo soro fetal bovino (FSC) a 5% (MELO et al., 2000; MELO, BEIRAL, 2003).

As células infectadas com o *T. gondii* foram incubadas com as tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas por 24 h, nas concentrações de 0,1, 1, 2, 5, 8 e 20 mM. Os compostos analisados foram adicionados às células infectadas durante intensa profileração do parasito. As culturas infectadas foram lavadas 3 vezes com PBS, fixadas com o fixador de Bouin, coradas com Giemsa e observadas em microscópio óptico (objetiva 63x). As percentagens de células infectadas e do número médio de parasitos intracelulares foram determinadas através do exame de no mínimo 400 células. Hidroxiuréia e sulfadiazina foram utilizadas como drogas de referência. Análise estatística foi realizada utilizando-se o teste t de Student, e valores de $p < 0,05$ foram considerados como significativos (MELO et al., 2000; MELO, BEIRAL, 2003).

Os valores de IC_{50} para células infectadas e parasitos intracelulares de todos os compostos analisados foram obtidos após 24 h de exposição, onde as concentrações utilizadas dos compostos variaram de 0,01 a 30 mM. Este último ensaio foi realizado em triplicata, através de uma regressão não linear utilizando-se o teste de exclusão com azul Trypan (MELO et al., 2000; MELO, BEIRAL, 2003).

3.3.2 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi determinada apenas para as moléculas pertencentes à classe das 4-tiazolidinonas, pelo fato da série de tiossemicarbazonas sintetizada anteriormente por nosso grupo de pesquisa não apresentar atividades significantes frente a diversas espécies de fungos e bactérias.

3.3.2.1 Microrganismos Testados e Padronização dos Inóculos

As espécies de bactérias e fungos utilizadas no ensaio antimicrobiano foram obtidas a partir das coleções do Departamento de Antibióticos e Instituto de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. Os microorganismos testados estão listados no quadro abaixo (Quadro 1).

Quadro 1. Espécies de bactérias e fungos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana para as três séries de 4-tiazolidinonas sintetizadas.

| | |
|------------------------------------|--|
| Bactérias Gram-positivas | <i>Staphylococcus aureus</i> (ATTC 6538) <i>Bacillus subtilis</i> (UFPEDA 16) <i>Micrococcus luteus</i> (ATTC 2225) <i>Streptococcus faecalis</i> (ATTC 6057) |
| Bactérias Gram-negativas | <i>Escherichia coli</i> (ATTC 25922) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATTC 29665) |
| Bactérias álcool-ácido resistentes | <i>Mycobacterium smegmatis</i> (UFPEDA 71) <i>Mycobacterium phlei</i> (UFPEDA 70) <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (UFPEDA 82) |
| Fungos leveduriformes | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> (UFPEDA 1012) <i>Candida sp.</i> (IMUR 720) <i>Candida sp.</i> (IMUR 1224) <i>Candida sp.</i> (IMUR 4249) <i>Candida albicans</i> (UFPEDA 1007) |

As culturas foram inoculadas em meio Mueller-Hinton e Sabouraud, e incubadas entre 30-37°C por 24-48 h. As suspensões dos microrganismos testes foram padronizadas através da escala de MacFarland, cuja turbidez foi correspondente ao tubo 0,5 da escala, equivalente a 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC/mL).

3.3.2.2 Meios de Cultura

3.3.2.2.1 Ensaios em Meio Sólido

- Tryptic Soy Agar e Agar Nutriente para bactérias
- Agar Sabouraud para fungos

3.3.2.2.2 Ensaios em Meio Líquido

- Tryptic Soy Broth e Nutriente Broth para bactérias
- Sabouraud para fungos

3.3.2.3 Determinação da Atividade Antimicrobiana

Os ensaios preliminares de atividades antibacteriana e antifúngica foram realizados em triplicata, utilizando-se a metodologia de Difusão em Disco em meio sólido (BAUER et al, 1966).

Soluções na concentração de 10 mg/mL foram preparadas para cada molécula analisada. Discos de papel foram impregnados com 30 µL das soluções recém-preparadas, resultando numa concentração final de 300 µg/disco. Os mesmos foram depositados sobre placas de Petri contendo os meios de cultura previamente semeados com os microrganismos testados, e inoculados a 37 °C (bactérias) ou 30 °C (fungos) por 24-48 h. Discos previamente umedecidos com DMSO foram utilizados como controle negativo.

Os resultados foram analisados através das médias aritméticas dos halos de inibição, expressas em milímetros, sendo designadas como Zonas Médias de Inibição (ZMI). Cloranfenicol e rifampicina (como antibacterianos), e nistatina

(como antifúngico) foram utilizadas como drogas de referência, sendo estas analisadas na concentração de 100 µg/disco. Os compostos que apresentaram ZMI maior ou igual a 18 milímetros foram selecionados para os ensaios de CMI, CMB e CMF em meio líquido.

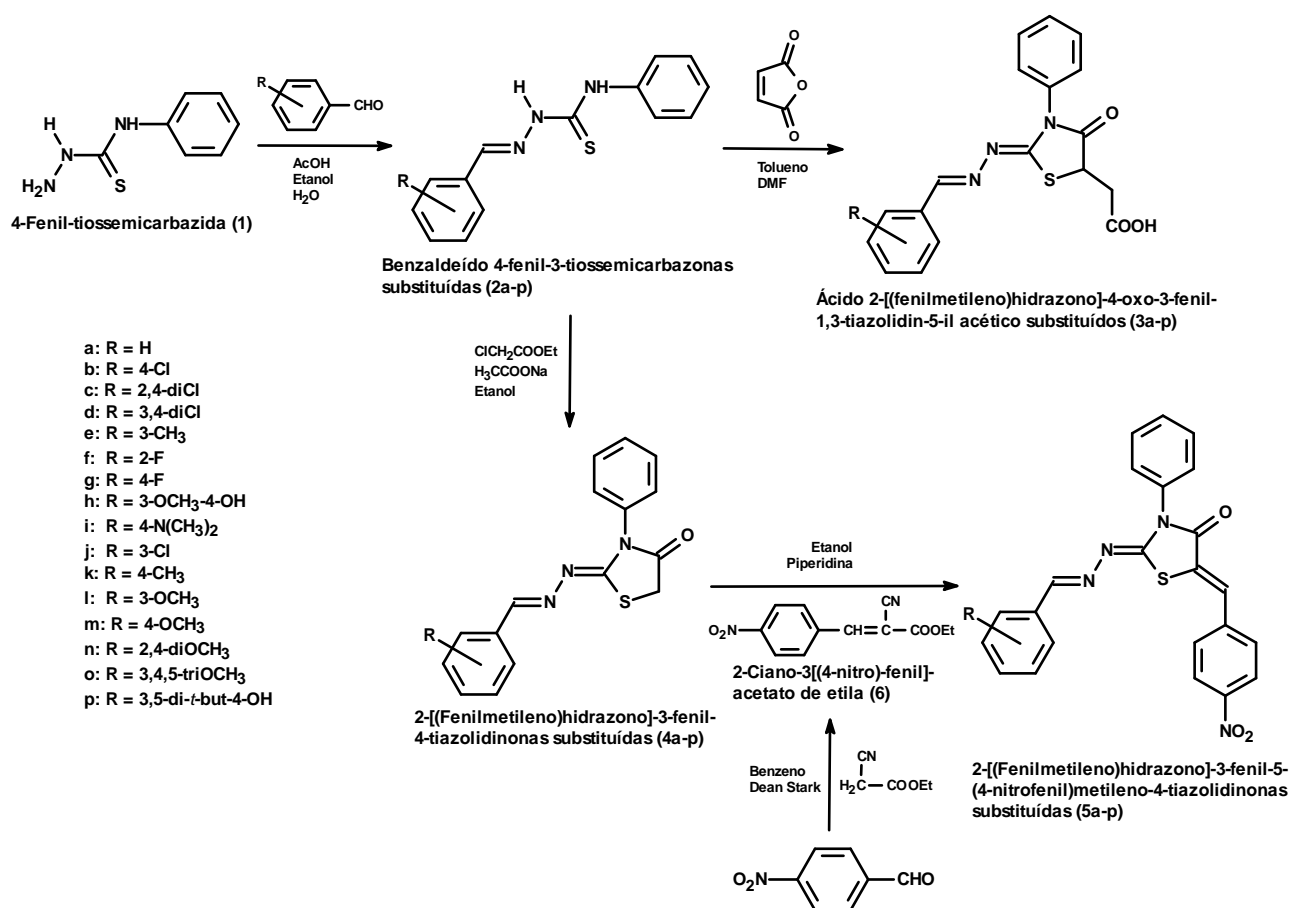
Para os ensaios em meio líquido, a partir da solução estoque (10 mg/mL) para cada composto selecionado, diluições foram preparadas, obtendo-se concentrações que variaram entre 10 e 220 µg/mL para as 4-tiazolidinonas da série **3a-p**, e entre 50 e 800 µg/mL para as 4-tiazolilidonas das séries **4a-p** e **5a-p**. Estas concentrações foram adicionadas aos tubos teste contendo os meios de cultura, e posteriormente as suspensões dos microrganismos foram inoculadas. Para o controle positivo, foram preparados tubos contendo apenas o meio de cultura e a suspensão do microrganismo. Tubos contendo o meio de cultura, a suspensão do microrganismo e o solvente DMSO foram utilizados como controle negativo.

Os tubos foram incubados a 37 °C (bactérias) ou 30 °C (fungos) por 24-48 h, e examinados quanto a presença ou ausência de crescimento dos microorganismos. Os valores de CMI foram determinados a partir da menor concentração onde os tubos testes permaneceram limpos, indicando que o crescimento bacteriano ou fúngico foi completamente inibido. Os valores de CMB e CMF foram medidos através da inoculação em meio sólido dos caldos utilizados no ensaio de CMI que continham soluções em que não se havia detectado a olho nu crescimento do microrganismo teste. As atividades bactericida e fungicida foram consideradas como sendo as menores concentrações nos tubos teste onde não se detectou o crescimento microbiano. Os valores de CMI, CMB e CMF foram expressos em µg/mL. Os ensaios em meio líquido foram realizados de acordo com as instruções do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) com pequenas alterações (NCCLS, 1992; NCCLS, 1993).

4 Resultados e Discussão

4.1 Esquema Geral de Síntese

O esquema abaixo apresenta a rota de síntese empregada na obtenção das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas planejadas (Esquema 15).



Esquema 15. Rota de síntese empregada na preparação das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas planejadas.

4.2 Metodologias Sintéticas e Mecanismos Reacionais

4.2.1 Obtenção de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)

As tiossemicarbazonas foram obtidas a partir de reações entre 4-fenil-tiossemicarbazida e um pequeno excesso (1,05 eq.) dos respectivos benzaldeídos

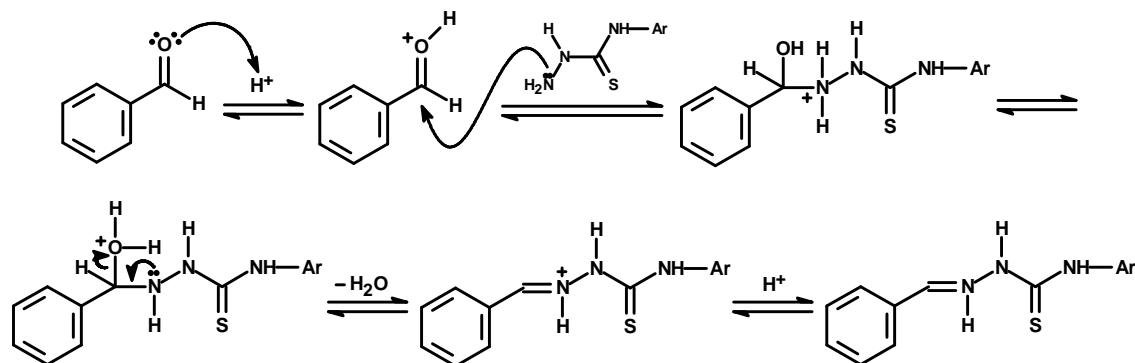
substituídos, sendo o par de elétrons não-compartilhado no átomo de nitrogênio responsável pelo caráter nucleofílico do primeiro composto (COSTA, 2003). Neste trabalho, estas reações foram realizadas em meio hidroalcoólico, e aceleradas por catálise ácida (Esquema 16). A tabela abaixo apresenta as propriedades físico-químicas de todas as tiossemicarbazonas sintetizadas, onde as reações apresentaram rendimentos bastante satisfatórios (77,5-100%) (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p).

| | Rend. (%) | PF °C | Caracterização | R _f / eluente |
|-----------|--------------|---------|----------------------|------------------------------------|
| 2a | 91 | 193-195 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2) |
| 2b | 92 | 199-201 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2) |
| 2c | 91 | 186-187 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2) |
| 2d | 86 | 206-208 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 2e | 89,5 | 165-166 | Sólido branco | 0,55 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 2f | 93 | 181-182 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 8:2) |
| 2g | 95 | 178 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 2h | 88,5 | 176-177 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2i | 81,5 | 208-210 | Sólido amarelo claro | 0,60 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2j | 96 | 194-195 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2k | 77,5 | 189-190 | Sólido branco | 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2l | 94 | 154 | Sólido branco | 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2m | 94 | 178-179 | Sólido branco | 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 2n | 93,5 | 201-202 | Sólido amarelo claro | 0,40 (hexano/acetato de etila 6:4) |
| 2o | 91 | 161-162 | Sólido amarelo claro | 0,50 (hexano/acetato de etila 1:1) |
| 2p | 100 | 204-205 | Sólido amarelo | 0,55 (hexano/acetato de etila 9:1) |

O mecanismo de formação a partir da 4-fenil-tiossemicarbazida inicia-se pela protonação da carbonila do benzaldeído, levando a formação do íon oxônico. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do nitrogênio da posição 1 da tiossemicarbazida, através de um processo bimolecular, gerando o intermediário hemiaminal N-protonado correspondente. Por fim, uma rápida transferência de próton do nitrogênio para o oxigênio (prototropismo), seguida de uma desidratação e posterior neutralização, desloca o equilíbrio para a formação da função imina

(Esquema 16) (SMITH, MARCH, 2001; COSTA, 2003; CAREY, SUNDBERG, 2007).



Esquema 16. Mecanismo de reação catalizada por ácido a partir do benzaldeído e 4-feniltiossemicarbazida para obtenção da tiossemicarbazona (**2a**).

De acordo com Karabatsos et al. (1964), as tiossemicarbazonas sintetizadas a partir de uma amina primária podem ser obtidas nas configurações *Z* ou *E*, dependendo do substituinte do aldeído utilizado. Em recente trabalho, Tenório (2005c) desenvolveu um estudo, através da obtenção de espectros de RMN ¹H de uma tiossemicarbazona com estrutura análoga as da série **2a-p**, contendo um substituinte nitro na posição *para* da função arilhidrazona (Figura 9). Neste estudo, o autor variou o tempo de obtenção dos espectros (0 h, 25 min., 1 h e 48 h), no intuito de analisar a ocorrência ou não de uma isomerização do composto em questão, através da observação do comportamento do sinal para o hidrogênio azometínico. Como resultados, não foram observadas mudanças de deslocamento (8,11 ppm) ou aparecimento de outros sinais referentes ao mesmo hidrogênio. Como em nossos experimentos de síntese das tiossemicarbazonas só foi observada a presença de uma única mancha nas cromatografias em camada delgada (CCD), podemos sugerir que ambas foram obtidas preferencialmente na configuração *E* (TEMPERINI et al., 1995; OTA et al., 1998).

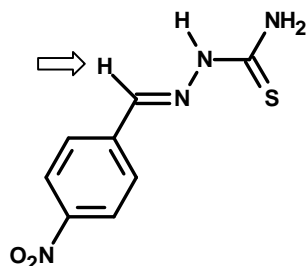


Figura 9. Estrutura da tiossemicarbazona utilizada por Tenório (2005) em estudo de possível isomerização através de espectros de RMN ^1H . Em destaque o hidrogênio da função azometina analisado a partir dos espectros obtidos.

4.2.2 Obtenção de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos Substituídos (3a-p)

Esta série de 4-tiazolidinonas foi sintetizada a partir de reações entre as tiossemicarbazonas recém preparadas e o anidrido maléico (4,5 eq.), em presença de tolueno seco e pequena quantidade de DMF para uma completa solubilização do meio reacional. Após purificação por recristalização em solventes apropriados, as reação apresentaram rendimentos entre 36-77%. As propriedades físico-químicas e rendimentos de todas as moléculas da série em questão encontram-se na tabela 2.

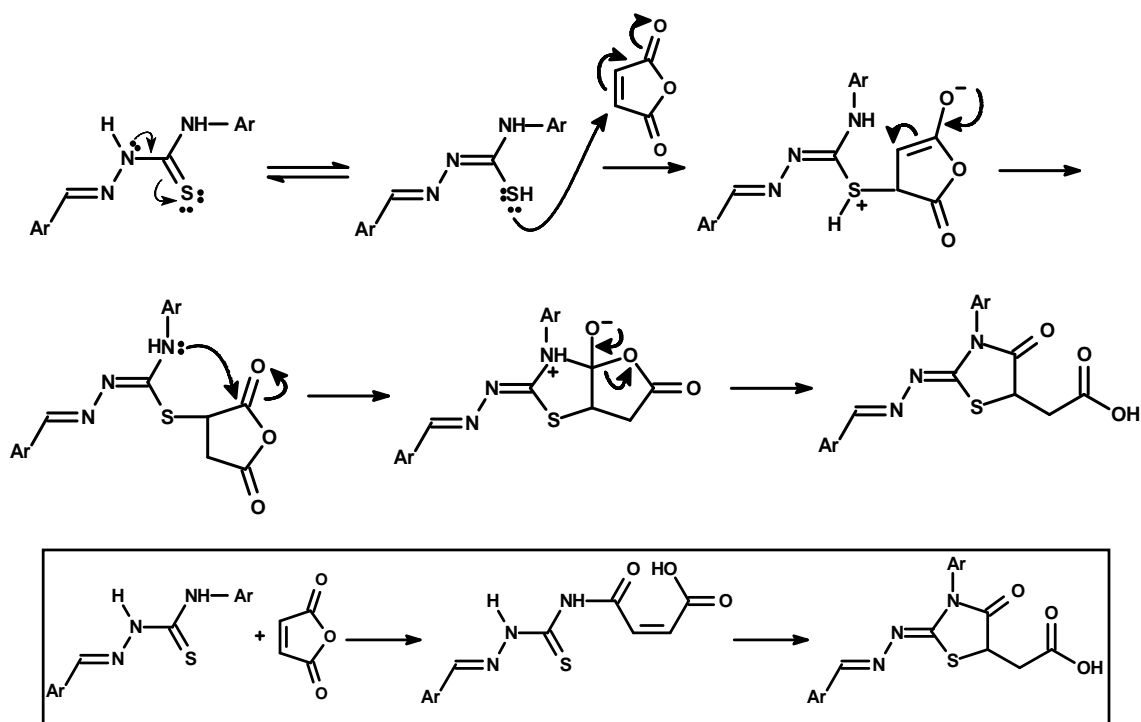
Devido à deslocalização de um par de elétrons dos dois diferentes nitrogênios adjacentes ao grupo tiocarbonila das tiossemicarbazonas, estas podem existir na forma de tiol, caracterizando-as como compostos versáteis 1,3-dinucleófilos. De acordo com Balasubramaniyan et al. (1990) e Augustin e Kohler (1976), estes compostos podem reagir com o anidrido maléico e seus derivados, ambos se comportando como aceptor de Michael, devido à reatividade dos mesmos frente às tiossemicarbazonas em questão (Esquema 17).

Tabela 2. Propriedades físico-químicas e rendimentos de Ácidos 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-4-oxo-3-fenil-1,3-tiazolidin-5-il acéticos substituídos (**3a-p**).

| | Rend. (%) | PF °C | Caracterização | R _f / eluente |
|-----------|--------------|---------|-------------------------------------|--|
| 3a | 76 | 212-214 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 1:1) |
| 3b | 56,5 | 245-247 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3c | 63 | 236-237 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3d | 45,5 | 254-256 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3e | 67 | 221-222 | Sólido branco ^b | 0,55 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 3f | 60 | 217 | Sólido amarelo claro ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 6:4) |
| 3g | 56 | 227-229 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 6:4) |
| 3h | 44,5 | 219-221 | Sólido bege ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3i | 36 | 230-231 | Sólido vermelho escuro ^b | 0,60 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3j | 58 | 237-239 | Sólido bege ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 6:4) |
| 3k | 54 | 224-226 | Sólido branco ^b | 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 3l | 57 | 235-237 | Sólido branco ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3m | 55,5 | 211-213 | Sólido branco ^b | 0,45 (hexano/acetato de etila 7:3) |
| 3n | 62,5 | 202-203 | Sólido branco ^b | 0,40 (hexano/acetato de etila 9:1) |
| 3o | 45 | 119-120 | Sólido marrom claro ^b | 0,50 (hexano/acetato de etila 3:7) |
| 3p | 77 | 246-247 | Sólido branco ^a | 0,55 (hexano/acetato de etila 7,5:2,5) |

^a Recristalização em MeOH; ^b Recristalização em MeOH/H₂O

O mecanismo reacional pode ser visualizado por duas direções: aminólise inicial em uma das carbonilas seguida de adição tia-Michael no carbono α ; ou inicial adição tia-Michael em um dos carbonos da função C=C seguida de aminólise na carbonila adjacente (BALASUBRAMANIYAN et al., 1990). O esquema abaixo ilustra o mecanismo pela segunda direção descrita, bem como a mesma etapa de síntese através do mecanismo iniciado pela aminólise (Esquema 17).



Esquema 17. Mecanismo de adição tia-Michael seguida de aminólise para obtenção das 4-tiazolidinonas da série **3a-p**. Em destaque encontra-se o esquema da mesma reação iniciada pela aminólise seguida da adição tia-Michael.

De início, ocorre o ataque por um par de elétrons do enxofre do grupo tiocarbonila a qualquer um dos carbonos do sistema α,β -insaturado do anidrido maléico, por este apresentar um maior coeficiente do orbital LUMO do sistema insaturado. No caso das tiossemicarbazonas, o nucleófilo se trata de um átomo grande (enxofre), favorecendo a adição 1,4 (adição conjugada). Este fato é devido a uma minimização das repulsões eletrônicas entre o nucleófilo e a região de alta densidade eletrônica ao redor do átomo de oxigênio do acceptor no estado de transição. Em seguida, ocorre uma protonação do enolato intermediário formado, seguida de uma aminólise, o qual leva a formação do anel 4-tiazolidinona com uma função acetil na posição 5 (SMITH, MARCH, 2001; COSTA, 2003; CAREY, SUNDBERG, 2007).

4.2.3 Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas Substituídas (4a-p)

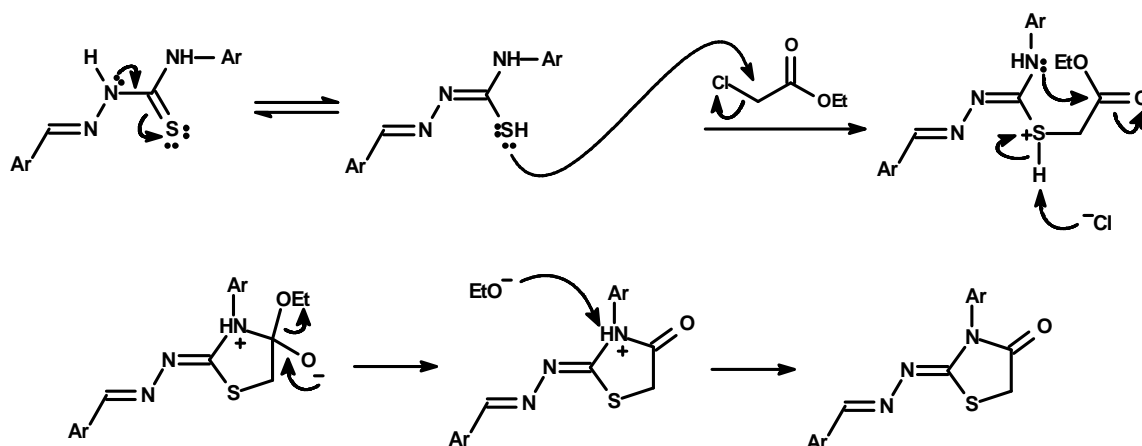
As 4-tiazolidinonas da série **4a-p** foram obtidas a partir de reações das respectivas tiossemicarbazonas com cloroacetato de etila, em presença de acetato de sódio anidro, devido ao grupo imino ser bastante susceptível à hidrólise ácida (OTTANÀ et al., 2005). Ao final das reações, uma lavagem dos precipitados formados com solventes a frio forneceu os compostos com purezas e rendimentos satisfatórias, como descrito na tabela abaixo (Tabela 3).

Tabela 3. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinonas substituídas (**4a-p**).

| | Rend. (%) | PF °C | Caracterização | R _f / eluente |
|-----------|--------------|---------|----------------------|--|
| 4a | 70 | 230-232 | Sólido bege claro | 0,35 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4b | 55 | 239-241 | Sólido bege | 0,40 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4c | 82 | 258-259 | Sólido amarelo claro | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4d | 59 | 236-238 | Sólido bege | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4e | 66 | 208-209 | Sólido branco | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4f | 60 | 234-235 | Sólido branco | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 8:2) |
| 4g | 71 | 247-248 | Sólido branco | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 9:1) |
| 4h | 75 | 270-272 | Sólido branco | 0,40 (CH ₂ Cl ₂) |
| 4i | 77 | 201-202 | Sólido verde claro | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 8:2) |
| 4j | 58 | 218-220 | Sólido amarelo claro | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 9:1) |
| 4k | 72 | 237-238 | Sólido branco | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 9:1) |
| 4l | 63 | 233-234 | Sólido amarelo claro | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4m | 72 | 227-228 | Sólido bege claro | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 6:4) |
| 4n | 50 | 202-203 | Sólido laranja | 0,40 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4o | 57 | 186-187 | Sólido amarelo | 0,40 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 4p | 86 | 163-164 | Sólido verde claro | 0,40 (clorofórmio) |

O mecanismo se inicia pela condensação do cloroacetato de etila com o átomo de enxofre (S-alquilação) a partir da forma tiol, como descrito anteriormente na síntese da série **3a-p**. Em seguida, ocorre um ataque intramolecular por parte do par de elétrons livre do nitrogênio na carbonila da função éster, seguido de

perda de etanol, o qual leva a formação do heterociclo não substituído na posição C-5 (Esquema 18) (JOLLY et al., 1990; ALVES et al., 1993; GÜRSOY et al., 1997; ABBADY et al., 2003).

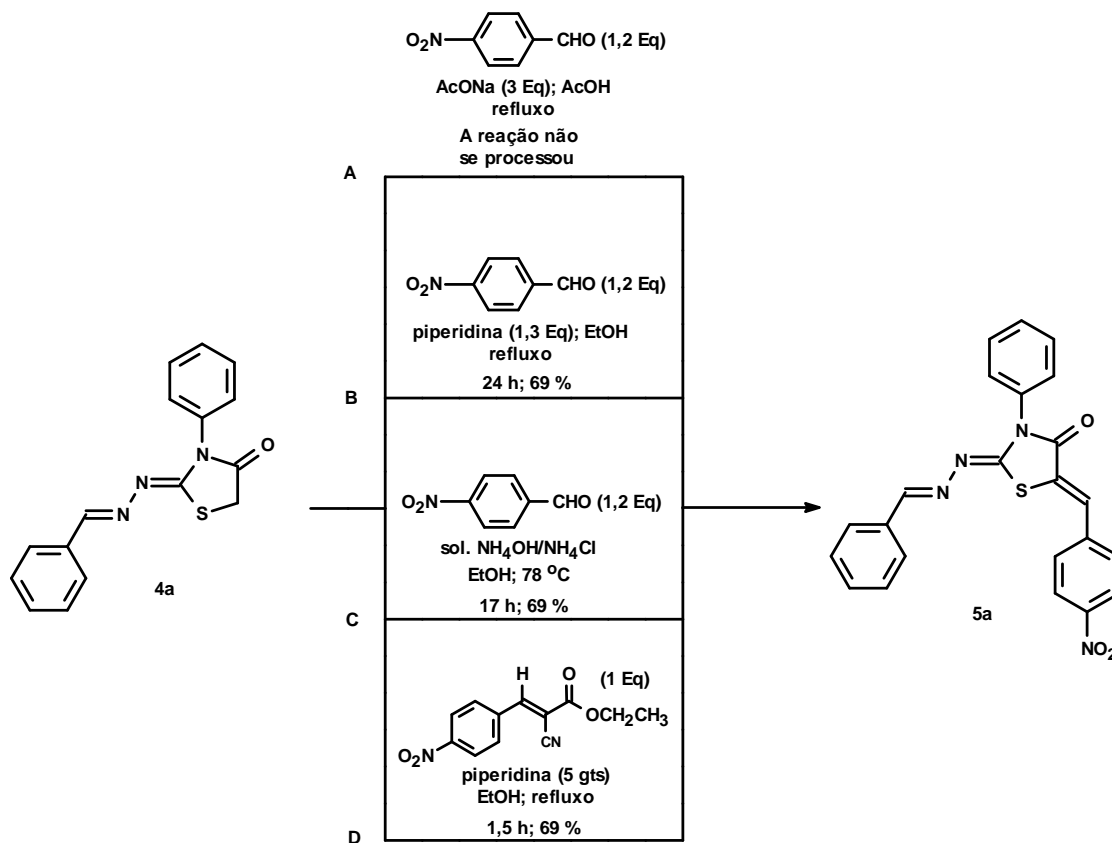


Esquema 18. Mecanismo de reação geral para obtenção das 4-tiazolidinonas da série **4a-p** iniciada por uma S-alkilação a partir da forma tiol das tiossemicarbazonas.

4.2.4 Obtenção de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (**5a-p**)

De acordo com artigo de revisão publicado por Brown (1961), diversos agentes condensantes podem ser utilizados na reação de condensação aldólica entre o grupo metileno do anel 4-tiazolidinona com o grupo carbonila de aldeídos ou cetonas, dentre eles acetato de sódio anidro em ácido acético, amônia e cloreto de amônio em etanol, e piperidina também em solução etanólica. Em adição, de acordo com Daboun et al. (1982), esta mesma reação pode ser realizada a partir da reação do anel 4-tiazolidinona com 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila, utilizando-se piperidina como agente condensante. Com isso, o procedimento descrito anteriormente para a síntese da série **5a-p** foi escolhido através da comparação entre quatro metodologias distintas, na introdução do grupo *p*-nitro-benzilideno na posição 5 em 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona (**4a**). Foram levados em consideração os tempos de reação e respectivos

rendimentos para cada metodologia. Os resultados encontram-se na figura a seguir (Esquema 19).



Esquema 19. Metodologias empregadas na reação de condensação aldólica para a síntese do derivado 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinona (**5a**).

Analisando os resultados obtidos, a metodologia D, na qual foi utilizado o intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila, apresentou rendimentos semelhantes com os métodos B e C (ambos utilizando-se *p*-nitrobenzaldeído), porém com tempo de reação bem menor, sendo então o procedimento escolhido. Em adição, até um total de 72 h de experimento a reação não se processou utilizando-se acetato de sódio como base (procedimento A).

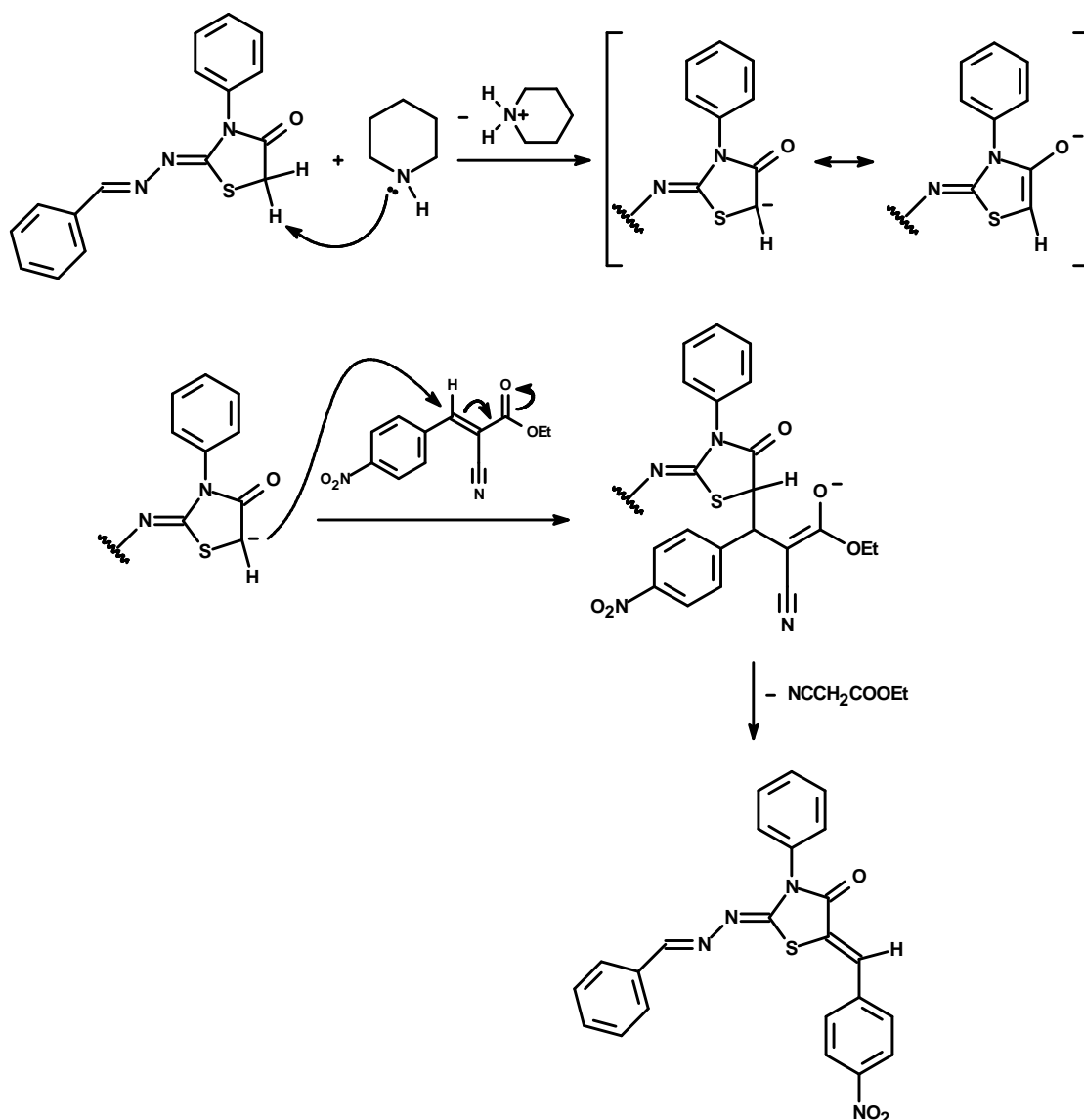
As 4-tiazolidinonas da série **5a-p** foram obtidas a partir dos derivados tiazolidinônicos não substituídos na posição 5 do anel, seguindo o mecanismo de Adição do tipo Michael. De maneira análoga, processos simples de purificação forneceram os compostos em questão com purezas satisfatórias e rendimentos

entre 64-89%. Suas propriedades físico-químicas e rendimentos individuais estão descritos na tabela 4.

Tabela 4. Propriedades físico-químicas e rendimentos de 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas substituídas (**5a-p**).

| | Rend. (%) | PF °C | Caracterização | R _f / eluente |
|-----------|--------------|---------|----------------|--|
| 5a | 69 | 201-202 | Sólido amarelo | 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5b | 88 | 270-272 | Sólido amarelo | 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5c | 73 | 293-294 | Sólido amarelo | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5d | 75 | 329-330 | Sólido amarelo | 0,65 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5e | 70 | 256-257 | Sólido amarelo | 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5f | 77 | 263-264 | Sólido amarelo | 0,60 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 8:2) |
| 5g | 89 | 254-256 | Sólido amarelo | 0,40 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5h | 75 | 243-244 | Sólido laranja | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 8:2) |
| 5i | 70 | 240-241 | Sólido roxo | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 8:2) |
| 5j | 88 | 250-251 | Sólido amarelo | 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5k | 75 | 276-277 | Sólido amarelo | 0,55 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5l | 78 | 249 | Sólido amarelo | 0,50 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5m | 87 | 257-258 | Sólido laranja | 0,60 (CH ₂ Cl ₂) |
| 5n | 70 | 270-272 | Sólido laranja | 0,45 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |
| 5o | 77 | 243-245 | Sólido laranja | 0,40 (CH ₂ Cl ₂) |
| 5p | 64 | 279-280 | Sólido amarelo | 0,43 (CH ₂ Cl ₂ /hexano 7:3) |

A reação é bastante semelhante aquela descrita para a síntese da série **3a-p**, e se processa através da adição-1,4 de um grupo metileno ativo ao intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila, este contendo uma carbonila α,β -insaturada, formando-se então uma dupla ligação carbono-carbono exo na posição 5 do anel 4-tiazolidinona (DABOUN et al., 1982). O esquema 20 ilustra o mecanismo reacional de obtenção do composto **5a**.



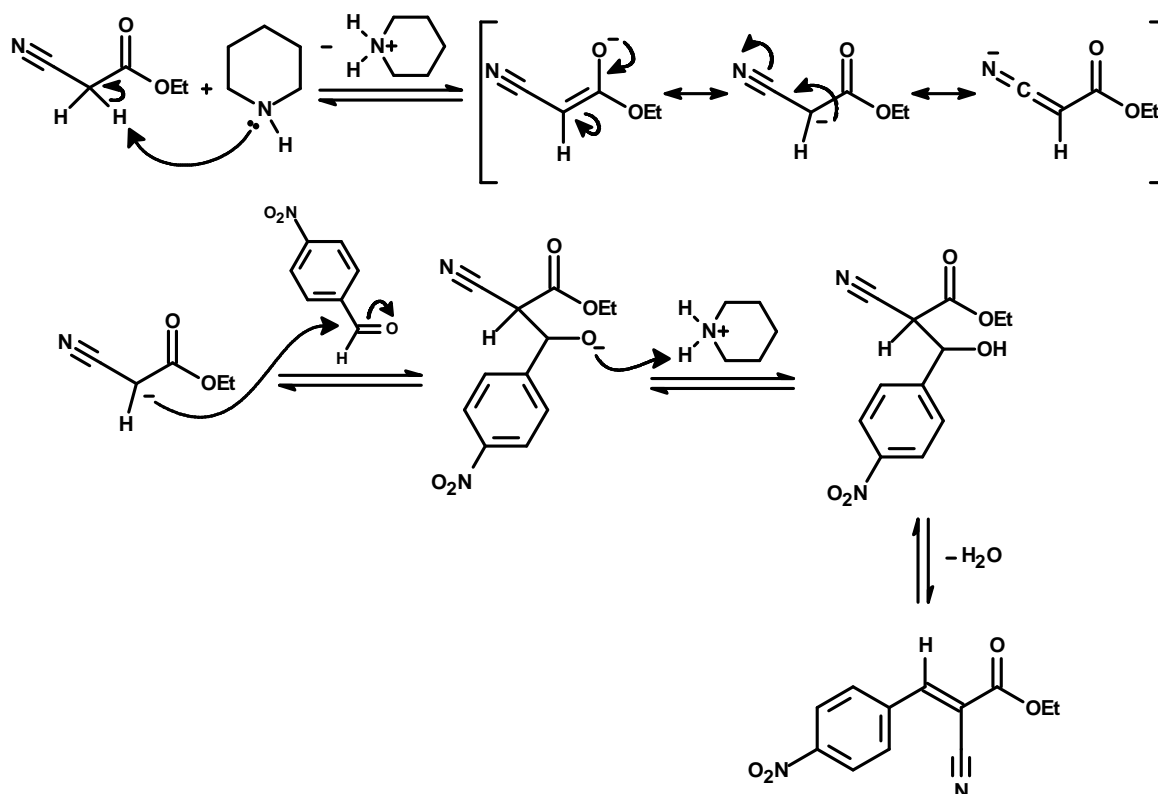
Esquema 20. Mecanismo da reação de síntese da 4-tiazolidinona (**5a**), seguindo o mecanismo de Adição do tipo Michael envolvendo o ânion enolato gerado no anel 4-tiazolidinona e o intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila.

Inicialmente, Um ânion enolato é gerado no anel 4-tiazolidinona, através do tratamento com uma base, no caso a piperidina. A formação do enolato é facilitada devido ao efeito retirador de elétrons da carbonila presente na posição 4 do anel. Em seguida, ocorre um ataque do carbânion ao carbono β do 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila, fornecendo um novo enolato intermediário, o qual por

eliminação do éster, leva a formação do grupo *p*-nitrobenzilideno na posição 5 do anel (SMITH, MARCH, 2001).

4.2.5 Obtenção do 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6)

O mecanismo para a obtenção do intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila envolve uma reação de condensação de Knoevenagel (Esquema 21). Tal reação se processa a partir de compostos contendo um grupo metileno ácido, os quais reagem com aldeídos ou cetonas, na presença de bases orgânicas como catalisadores, fornecendo produtos α,β -insaturados (COPE, 1937; PROUT, 1963).



Esquema 21. Mecanismo da reação de condensação de Knoevenagel para obtenção do intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila (6).

Inicialmente, ocorre uma ionização do grupo metileno do cianoacetato de etila, com formação do enolato, através da ação da piperidina que atua como

base. Após, o enolato formado se adiciona à carbonila do *p*-nitro-benzaldeído, seguido de uma desidratação do álcool formado e conseqüente formação do éster insaturado (COPE et al., 1941; LIMA, 1992; SMITH, MARCH, 2001; YADAV, 2004).

Os dados espectroscópicos obtidos referentes ao intermediário 2-Ciano-3[(4-nitro)-fenil]-acetato de etila foram comparados com resultados já descritos na literatura, comprovando assim a estrutura do mesmo (PROUT et al., 1963).

4.3 Caracterização Estrutural

4.3.1 Caracterização Estrutural de Benzaldeído 4-fenil-3-tiossemicarbazonas Substituídas (2a-p)

As principais bandas de absorção nos espectros de IV para as tiossemicarbazonas estão descritas na tabela abaixo (Tabela 5). Podemos observar que cada composto apresentou duas bandas de absorção em torno de $3334-3125\text{ cm}^{-1}$, referentes ao estiramento (ν) dos grupos N-H hidrazínico e NH-Ar (SILVA et al., 1998; KÜÇÜKGÜZEL, 2006). Em adição, fortes bandas de estiramento entre $1594-1535\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas ao estiramento (ν) da ligação C=N, e bandas de absorção estendendo-se de aproximadamente $1466-1417\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas ao estiramento (ν) do grupo N-CS-N (ALVES et al., 1993; ERGENÇ et al., 1999; Abbady et al., 2003).

Tabela 5. Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as tiossemicarbazonas (**2a-p**).

| | NH (ν) | C=N (ν) | N-CS-N (ν) | C=S (ν) |
|-----------|---------------------|---------------|------------------|---------------------|
| 2a | 3297 (m) e 3158 (m) | 1540 (F) | 1442 (m) | 1265 (m) e 1198 (m) |
| 2b | 3305 (m) e 3134 (m) | 1537 (F) | 1445 (m) | 1265 (m) e 1194 (F) |
| 2c | 3251 (m) e 3142 (m) | 1537 (F) | 1439 (m) | 1262 (m) e 1199 (m) |
| 2d | 3310 (m) e 3134 (m) | 1545 (F) | 1466 (m) | 1268 (m) e 1191 (m) |
| 2e | 3297 (m) e 3147 (m) | 1540 (F) | 1444 (m) | 1265 (m) e 1202 (m) |
| 2f | 3297 (m) e 3165 (m) | 1535 (F) | 1442 (m) | 1263 (m) e 1198 (m) |
| 2g | 3313 (m) e 3134 (m) | 1548 (F) | 1447 (m) | 1230 (m) e 1198 (m) |
| 2h | 3325 (m) e 3166 (m) | 1551 (F) | 1447 (m) | 1268 (m) e 1199 (m) |
| 2i | 3325 (m) e 3278 (m) | 1594 (F) | 1442 (m) | 1257 (m) e 1182 (m) |
| 2j | 3297 (m) e 3139 (m) | 1551 (F) | 1442 (m) | 1265 (m) e 1194 (m) |
| 2k | 3297 (m) e 3142 (m) | 1548 (F) | 1439 (m) | 1260 (m) e 1198 (m) |
| 2l | 3325 (m) e 3155 (m) | 1545 (F) | 1442 (m) | 1276 (F) e 1194 (m) |
| 2m | 3325 (m) e 3145 (m) | 1543 (F) | 1447 (m) | 1249 (F) e 1198 (m) |
| 2n | 3309 (m) e 3134 (m) | 1543 (F) | 1453 (m) | 1284 (F) e 1206 (F) |
| 2o | 3299 (m) e 3177 (m) | 1556 (F) | 1417 (m) | 1262 (m) e 1191 (m) |
| 2p | 3317 (m) e 3137 (m) | 1535 (F) | 1439 (m) | 1268 (m) e 1201 (m) |

F= forte; m= média

A presença de bandas em 1284-1182 cm^{-1} , referentes ao estiramento (ν) do grupo C=S evidenciam a predominância das tiossemicarbazonas na forma tautomérica tiona (BHARTI et al., 2002; KÜÇÜKGÜZEL, 2006; BONDE, GAIKWAD, 2004). A figura 10 apresenta o espectro de IV para o composto **2a**.

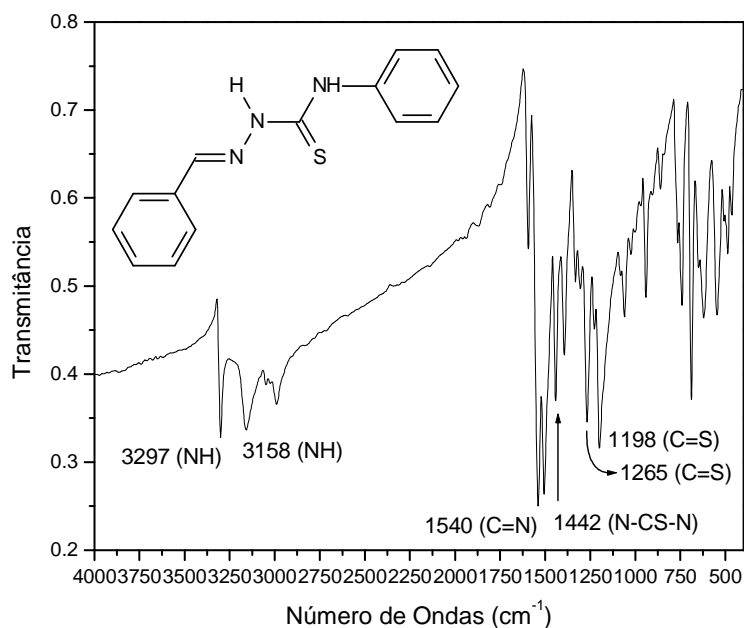
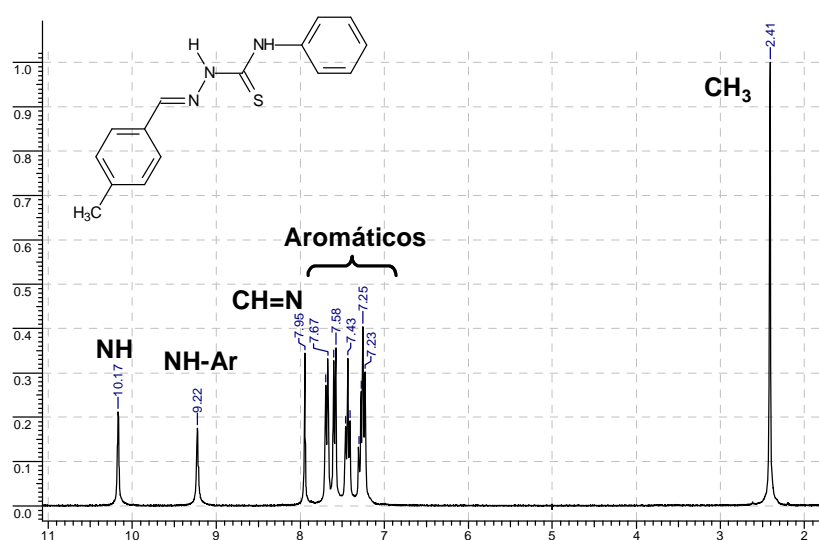


Figura 10. Espectro de IV para a tiossemicarbazona **2a** (Pastilhas de KBr).

Nos espectros de RMN ¹H, os singletos presentes entre 9,89–11,95 e 9,13–10,25 ppm foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos NH hidrazínico e NH aromático, respectivamente. Já para o hidrogênio característico da função azometina, o deslocamento químico apareceu em campo mais alto, com valores entre 7,84–8,43 ppm. Em todas as substâncias, os hidrogênios aromáticos apareceram entre 6,58–8,34 ppm (ÇAPAN et al., 1999; TENÓRIO et al., 2005a). Para uma melhor visualização, a tabela 6 apresenta os principais deslocamentos químicos dos espectros de RMN ¹H para as tiossemicarbazonas obtidas, e a figura 11 ilustra o espectro para o composto **2e**.

Tabela 6. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para tiossemicarbazonas da série **2a-p**.

| | NH | NH-Ar | CH=N | Outros |
|-----------|-------|-------|------|--|
| 2a | 10,47 | 9,22 | 8,00 | |
| 2b | 10,21 | 9,16 | 7,92 | |
| 2c | 10,33 | 9,15 | 8,32 | |
| 2d | 11,95 | 10,25 | 8,11 | |
| 2e | 10,05 | 9,21 | 7,91 | 2,39 (CH ₃) |
| 2f | 10,40 | 9,22 | 8,19 | |
| 2g | 10,38 | 9,16 | 7,96 | |
| 2h | 11,69 | 9,98 | 8,05 | 9,54 (OH) e 3,84 (OCH ₃) |
| 2i | 11,59 | 9,92 | 8,03 | 2,97 (N(CH ₃) ₂) |
| 2j | 11,93 | 10,25 | 8,13 | |
| 2k | 10,19 | 9,21 | 7,93 | 2,39 (CH ₃) |
| 2l | 10,75 | 9,21 | 7,98 | 3,84 (OCH ₃) |
| 2m | 9,89 | 9,18 | 7,87 | 3,85 (OCH ₃) |
| 2n | 11,71 | 10,00 | 8,43 | 3,82 (OCH ₃) |
| 2o | 10,31 | 9,13 | 7,88 | 3,92 (OCH ₃) |
| 2p | 9,68 | 9,17 | 7,84 | 5,56 (OH) e 1,45 (CH ₃) |

**Figura 11.** Espectro de RMN ^1H para a tiossemicarbazona **2e**, destacando-se os singletos referentes aos grupos NH hidrazínico e NH aromático (CDCl₃; 300 MHz).

Como descrito na tabela 7, os principais picos observados nos espectros de RMN ^{13}C foram relativos à ressonância dos átomos de carbono dos grupos azometínico e tiocarbonila, onde os mesmos apareceram entre 174,8-176,3 e 126,3-144,5 ppm, respectivamente. Em adição, os carbonos aromáticos apareceram entre 165,8-104,5 ppm (TENÓRIO et al., 2005a). A figura 12 ilustra o espectro de RMN ^{13}C para o composto **2b** (Figura 12).

Tabela 7. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C para tiossemicarbazonas da série **2a-p**.

| | C=S | CH=N | Outros |
|-----------|------------|-------------|---|
| 2a | 175,8 | 142,8 | |
| 2b | 175,7 | 141,6 | |
| 2c | 175,8 | 138,5 | |
| 2d | 175,6 | 142,0 | |
| 2e | 175,6 | 143,4 | 21,2 (CH ₃) |
| 2f | 175,6 | 136,1 | |
| 2g | 175,6 | 126,3 | |
| 2h | 175,5 | 143,4 | 56,1 (OCH ₃) |
| 2i | 174,8 | 143,9 | 39,7 (CH ₃) |
| 2j | 176,3 | 141,7 | |
| 2k | 175,6 | 143,2 | |
| 2l | 175,7 | 143,0 | 55,3 (OCH ₃) |
| 2m | 175,4 | 142,9 | 55,4 (OCH ₃) |
| 2n | 175,3 | 139,1 | 55,4 (OCH ₃) |
| 2o | 175,4 | 143,6 | 60,8 e 56,1 (OCH ₃) |
| 2p | 175,2 | 144,5 | 34,3 (<u>C</u> (CH ₃) ₃) e 30,1 (CH ₃) |

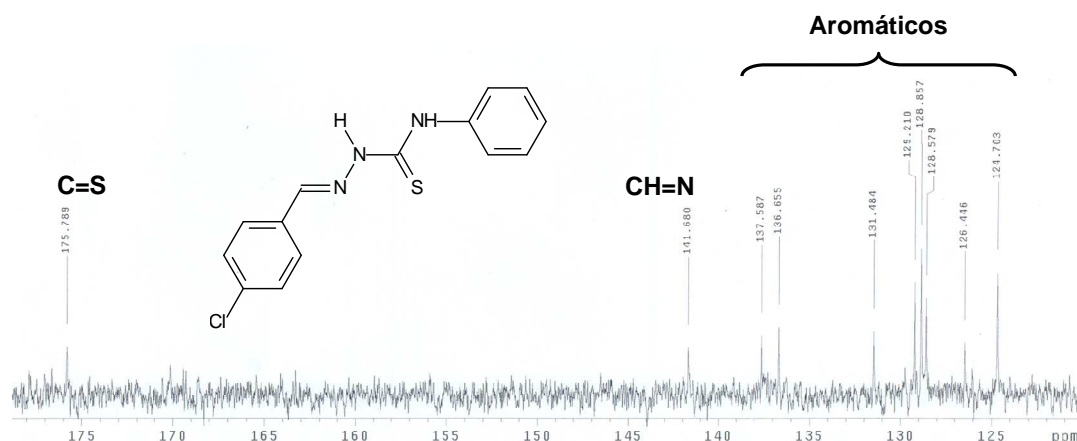


Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C para tiossemicarbazona **2b**, ilustrando as ressonâncias dos átomos de carbono dos grupos azometínico ($\text{CH}=\text{N}$) e tiocarbonila ($\text{C}=\text{S}$) (CDCl_3 ; 75,4 MHz).

4.3.2 Caracterização Estrutural dos Derivados Tiazolidinônicos (3a-p, 4a-p, 5a-p)

Para todas as 4-tiazolidinonas sintetizadas, os espectros de IV apresentaram duas bandas de absorção entre $1625\text{-}1516\text{ cm}^{-1}$, geralmente de fortes intensidades, referentes ao estiramento dos grupos $\text{C}=\text{N}$ presentes na posição 2 do anel e no grupo arilhidrazona (ERGENÇ et al., 1999). Ocorreram também fortes absorções entre $1733\text{-}1607\text{ cm}^{-1}$ associadas com as bandas de amida I no anel tiazolidínico, bem como bandas de entre $1258\text{-}1221$ e $1086\text{-}1002\text{ cm}^{-1}$ referentes ao estiramento dos grupos $\text{N}=\text{C}$ e CS , respectivamente. Em adição, bandas de várias absorções entre $1360\text{-}1337\text{ cm}^{-1}$, características de vibração angular do grupo NCS , promoveram uma confirmação evidente do fechamento do anel dos compostos das séries **3a-p** e **4a-p** através da síntese a partir das respectivas tiossemicarbazonas (ÇAPAN et al., 1999; ULUSOY et al., 2002; EL-GENDY et al., 1990).

Os compostos da série **3a-p** demonstraram fortes bandas de absorção entre $1731\text{-}1707\text{ cm}^{-1}$, características de vibração de estiramento para a carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do grupo acetil. As bandas de absorção da carbonila nas 4-tiazolidinonas não substituída na posição 5 (**4a-p**) apareceram entre $1711\text{-}1734\text{ cm}^{-1}$. Já nos

derivados *p*-nitrobenzilidênicos (**5a-p**), as bandas para a mesma carbonila apareceram entre 1708-1722 cm^{-1} (VICINI et al., 2006; KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006). Em geral, este pequeno efeito batocrômico ocorreu devido a conjugação da carbonila destes últimos compostos com a dupla ligação C=C exocíclica, a qual enfraquece a ligação C-O. Por fim, o estiramento referente a esta dupla ligação carbono-carbono foi caracterizado pelas bandas que apareceram entre 1641-1594 cm^{-1} .

As principais bandas de absorção presentes nos espectros de IV para todas as 4-tiazolidinonas, bem como suas respectivas intensidades, estão descritas nas tabelas 8-10. Já as figuras abaixo ilustram os espectros de pelo menos um composto para cada uma das séries dos derivados tiazolidinônicos (Figuras 13-15).

Tabela 8. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (**3a-p**).

| | C=O (v) | NC=O (v) | C=N (v) | NCS (δ) | N-N=C (v) | CS (v) |
|-----------|----------|----------|---------------------|------------------|-----------|----------|
| 3a | 1707 (F) | 1621 (F) | 1582 (F) e 1555 (F) | 1344 (m) | 1252 (m) | 1030 (f) |
| 3b | 1721 (F) | 1623 (F) | 1575 (F) e 1548 (F) | 1341 (m) | 1248 (m) | 1034 (f) |
| 3c | 1724 (F) | 1614 (F) | 1565 (m) e 1538 (F) | 1337 (m) | 1244 (m) | 1037 (f) |
| 3d | 1730 (F) | 1611 (F) | 1569 (F) e 1536 (F) | 1340 (m) | 1241 (F) | 1033 (f) |
| 3e | 1724 (F) | 1615 (F) | 1582 (F) e 1546 (F) | 1351 (m) | 1232 (F) | 1034 (f) |
| 3f | 1721 (F) | 1621 (F) | 1582 (F) e 1548 (F) | 1344 (m) | 1232 (F) | 1034 (f) |
| 3g | 1731 (F) | 1621 (F) | 1592 (F) e 1550 (F) | 1347 (f) | 1226 (F) | 1040 (f) |
| 3h | 1724 (F) | 1621 (F) | 1592 (F) e 1562 (F) | 1347 (m) | 1249 (m) | 1030 (f) |
| 3i | 1724 (F) | 1606 (F) | 1529 (m) | 1360 (m) | 1239 (m) | 1030 (f) |
| 3j | 1711 (F) | 1621 (F) | 1573 (F) | 1341 (m) | 1258 (m) | 1040 (f) |
| 3k | 1727 (F) | 1615 (F) | 1573 (F) e 1556 (F) | 1347 (m) | 1236 (m) | 1034 (f) |
| 3l | 1727 (F) | 1615 (F) | 1582 (F) e 1559 (m) | 1341 (m) | 1241 (F) | 1030 (f) |
| 3m | 1711 (F) | 1615 (F) | 1579 (F) e 1552 (F) | 1344 (m) | 1245 (F) | 1024 (f) |
| 3n | 1717 (F) | 1607 (F) | 1555 (F) | 1344 (m) | 1244 (F) | 1023 (f) |
| 3o | 1724 (F) | 1615 (F) | 1585 (F) e 1559 (m) | 1354 (m) | 1239 (F) | 1005 (f) |
| 3p | 1730 (F) | 1615 (F) | 1585 (F) | 1358 (m) | 1245 (F) | 1030 (f) |

F= forte; m= média; f=fraca

Tabela 9. Principais frequências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (**4a-p**).

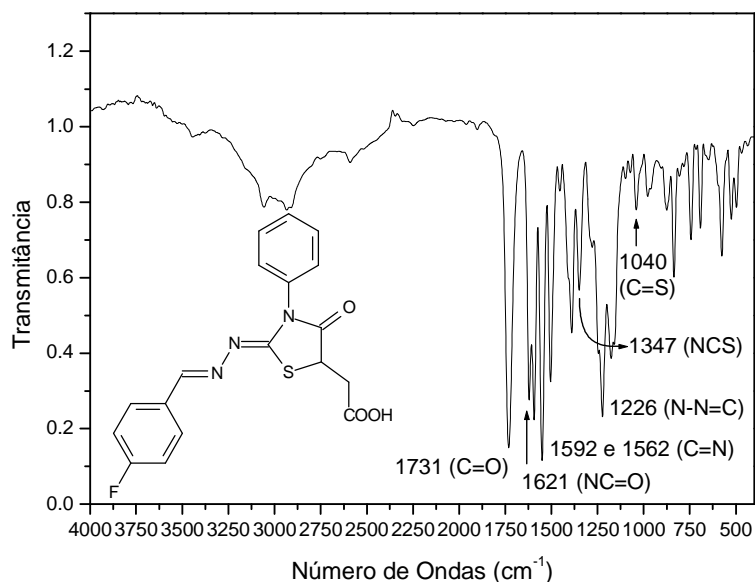
| | NC=O (v) | C=N (v) | NCS (δ) | N-N=C (v) | CS (v) |
|-----------|-----------------|---------------------|----------------------------------|------------------|---------------|
| 4a | 1729 (F) | 1623 (F) e 1548 (F) | 1379 (m) | 1237 (m) | 1037 (f) |
| 4b | 1711 (F) | 1616 (F) e 1549 (F) | 1382 (m) | 1242 (F) | 1032 (f) |
| 4c | 1730 (F) | 1612 (F) e 1535 (F) | 1384 (m) | 1241 (m) | 1038 (f) |
| 4d | 1717 (F) | 1614 (F) e 1556 (F) | 1384 (m) | 1247 (F) | 1037 (f) |
| 4e | 1731 (F) | 1616 (F) e 1558 (F) | 1385 (m) | 1239 (F) | 1040 (f) |
| 4f | 1730 (F) | 1621 (F) e 1551 (F) | 1387 (m) | 1236 (F) | 1037 (f) |
| 4g | 1734 (F) | 1621 (F) e 1553 (F) | 1383 (m) | 1221 (F) | 1036 (f) |
| 4h | 1730 (F) | 1601 (F) e 1554 (F) | 1380 (m) | 1240 (F) | 1031 (f) |
| 4i | 1718 (F) | 1601 (F) e 1517 (F) | 1364 (F) | 1176 (F) | 1064 (m) |
| 4j | 1730 (F) | 1613 (F) e 1544 (F) | 1382 (m) | 1247 (m) | 1041 (f) |
| 4k | 1733 (F) | 1613 (F) e 1545 (F) | 1383 (m) | 1240 (F) | 1045 (f) |
| 4l | 1731 (F) | 1616 (F) e 1546 (F) | 1348 (F) | 1240 (F) | 1040 (f) |
| 4m | 1715 (F) | 1614 (F) e 1558 (F) | 1382 (F) | 1248 (F) | 1025 (f) |
| 4n | 1711 (F) | 1608 (F) e 1546 (F) | 1381 (m) | 1243 (F) | 1028 (f) |
| 4o | 1734 (F) | 1617 (F) e 1549 (m) | 1358 (m) | 1236 (F) | 1002 (f) |
| 4p | 1727 (F) | 1619 (F) e 1591 (F) | 1380 (m) | 1241 (m) | 1027 (f) |

F= forte; m= média; f=fraca

Tabela 10. Principais freqüências de absorção observadas nos espectros de IV para as 4-tiazolidinonas (**5a-p**).

| | NC=O (ν) | C=N (ν) | C=C (ν) | NCS (δ) | N-N=C (ν) | CS (ν) |
|-----------|----------------|---------------------|---------------|------------------|-----------------|--------------|
| 5a | 1715 (F) | 1624 (m) e 1553 (m) | 1583 (m) | 1347 (F) | 1238 (m) | 1069 (f) |
| 5b | 1715 (F) | 1624 (F) e 1550 (m) | 1575 (F) | 1344 (F) | 1241 (m) | 1086 (f) |
| 5c | 1715 (F) | 1616 (F) e 1561 (m) | 1587 (m) | 1344 (F) | 1238 (m) | 1049 (f) |
| 5d | 1714 (F) | 1621 (F) e 1517 (F) | 1572 (F) | 1341 (F) | 1238 (m) | 1028 (f) |
| 5e | 1717 (F) | 1602 (F) e 1559 (m) | 1583 (m) | 1333 (F) | 1249 (m) | 1062 (f) |
| 5f | 1714 (F) | 1621 (F) e 1551 (m) | 1589 (F) | 1341 (F) | 1230 (m) | 1058 (f) |
| 5g | 1714 (F) | 1625 (F) e 1559 (m) | 1593 (F) | 1341 (F) | 1228 (m) | 1062 (f) |
| 5h | 1714 (F) | 1621 (F) e 1564 (F) | 1594 (F) | 1381 (F) | 1252 (F) | 1028 (f) |
| 5i | 1708 (F) | 1602 (F) e 1521 (m) | 1541 (F) | 1337 (F) | 1238 (m) | 1066 (f) |
| 5j | 1714 (F) | 1621 (F) e 1551 (m) | 1575 (m) | 1346 (F) | 1241 (m) | 1066 (f) |
| 5k | 1722 (F) | 1618 (F) e 1551 (F) | 1578 (F) | 1341 (F) | 1241 (F) | 1066 (f) |
| 5l | 1714 (F) | 1625 (F) e 1586 (m) | 1562 (m) | 1337 (F) | 1249 (F) | 1031 (f) |
| 5m | 1716 (F) | 1613 (F) e 1517 (F) | 1583 (F) | 1343 (F) | 1246 (F) | 1028 (f) |
| 5n | 1714 (F) | 1611 (F) e 1553 (m) | 1554 (F) | 1338 (F) | 1235 (F) | 1032 (f) |
| 5o | 1717 (F) | 1617 (F) e 1551 (m) | 1583 (F) | 1345 (F) | 1238 (F) | 1062 (f) |
| 5p | 1715 (F) | 1619 (F) e 1516 (m) | 1588 (F) | 1342 (F) | 1243 (m) | 1063 (f) |

F= forte; m= média; f=fraca

**Figura 13.** Espectro de IV para a 4-tiazolidinona **3g** (Pastilhas de KBr).

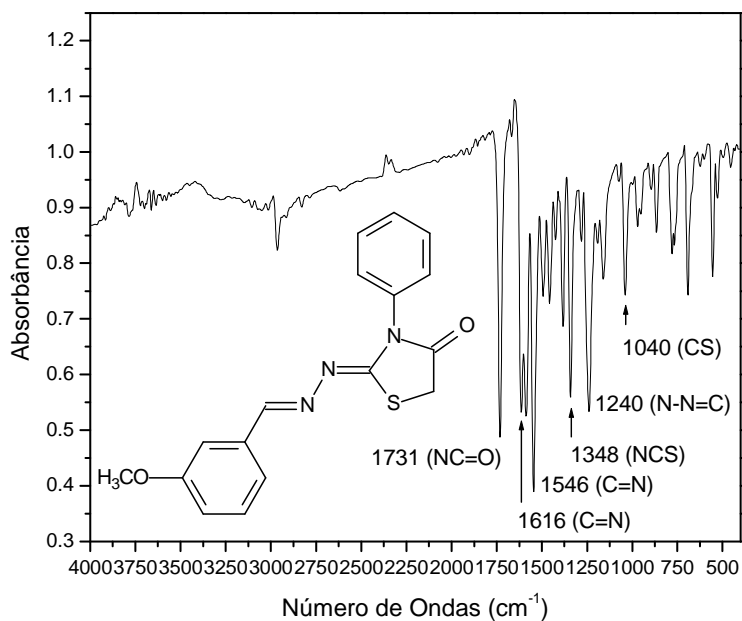


Figura 14. Espectro de IV para a 4-tiazolidinona **4I** (Pastilhas de KBr).

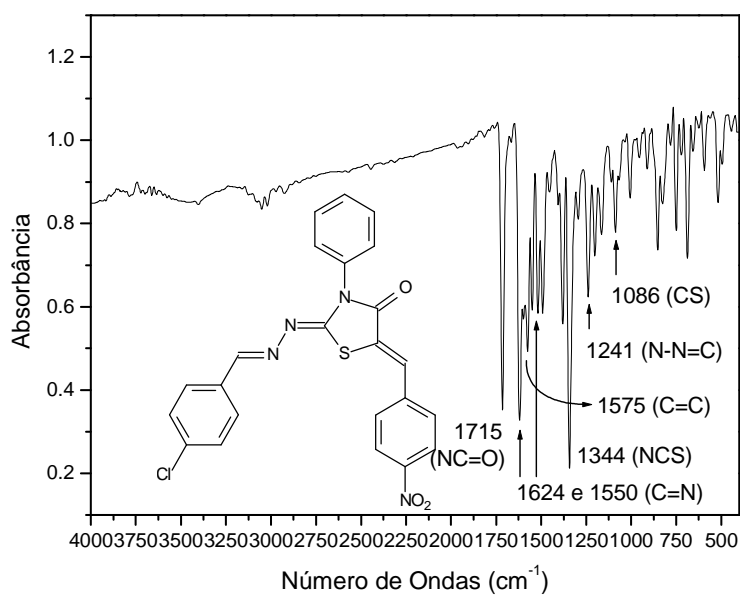


Figura 15. Espectro de IV para a 4-tiazolidinona **5b** (Pastilhas de KBr).

Nos espectros de RMN ^1H , o desaparecimento dos singletos referentes aos grupos NH e NH-Ar das tiossemicarbazonas, bem como a presença de sinais entre 3,78-4,12 ppm, atribuídos ao grupo SCH_2 , confirmaram a estrutura das 4-tiazolidinonas da série **4a-p** (ERGENÇ et al., 1999). Vale salientar que para o composto **4n**, foi observado o aparecimento de dois singletos (3,85 e 3,94 ppm), indicando que os dois hidrogênios encontram-se em ambientes químicos diferentes (Tabela 11).

Tabela 11. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para 4-tiazolidinonas da série **4a-p**.

| | CH=N | CH ₂ | Outros |
|-----------|------|-----------------|--|
| 4a | 8,32 | 4,10 | |
| 4b | 8,34 | 4,11 | |
| 4c | 8,63 | 3,98 | |
| 4d | 8,34 | 4,12 | |
| 4e | 8,28 | 3,98 | 2,40 (CH ₃) |
| 4f | 8,57 | 3,97 | |
| 4g | 8,25 | 3,97 | |
| 4h | 8,17 | 3,78 | 4,08 (OCH ₃) e 9,71 (Ar-OH) |
| 4i | 8,18 | 3,94 | 3,01 (N(CH ₃) ₂) |
| 4j | 8,23 | 3,97 | |
| 4k | 8,27 | 3,96 | 2,39 (CH ₃) |
| 4l | 8,26 | 3,96 | 3,84 (OCH ₃) |
| 4m | 8,23 | 3,95 | 3,84 (OCH ₃) |
| 4n | 8,16 | 3,94; 3,85 | 3,83 e 3,77 (OCH ₃) |
| 4o | 8,19 | 3,95 | 3,88 e 3,88 (OCH ₃) |
| 4p | 8,23 | 3,94 | 1,46 (C(CH ₃) ₃) |

Já para os derivados tiazolidinônicos da série **3a-p**, sinais característicos do grupo SCH do anel tiazolidínico apareceram como um tripleto ou duplo dubleto (Sistema ABX) entre 4.42-4.59 ppm, devido a um acoplamento com os hidrogênios metilênicos do grupo acetil, os quais foram identificados como um dubleto ou dois duplos dubletos entre 3,10-3,31 ppm (BALASUBRAMANIYAN et al., 1990). Estes mesmos compostos apresentaram um singleto largo entre 12,73-12,85 ppm

referente ao hidrogênio presente na função ácida (TENÓRIO et al., 2005a) (Tabela 12).

Tabela 12. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para as 4-tiazolidinonas da série **3a-p**.

| | COOH | CH=N | SCH | CH ₂ | Outros |
|-----------|-------|------|------|-----------------|--|
| 3a | 12,83 | 8,33 | 4,57 | 3,13 | |
| 3b | 12,84 | 8,34 | 4,57 | 3,13 | |
| 3c | 12,85 | 8,43 | 4,59 | 3,13 | |
| 3d | 12,82 | 8,34 | 4,59 | 3,14 | |
| 3e | 12,83 | 8,28 | 4,57 | 3,13 | 2,33 (CH ₃) |
| 3f | 12,85 | 8,37 | 4,58 | 3,13 | |
| 3g | 12,83 | 8,34 | 4,57 | 3,13 | |
| 3h | 12,82 | 8,18 | 4,55 | 3,13 | 3,79 (OCH ₃) e 9,67 (Ar-OH) |
| 3i | 12,82 | 8,13 | 4,53 | 3,11 | 2,95 (N(CH ₃) ₂) |
| 3j | 12,84 | 8,33 | 4,58 | 3,13 | |
| 3k | 12,84 | 8,27 | 4,55 | 3,11 | 2,33 (CH ₃) |
| 3l | 12,76 | 8,28 | 4,56 | 3,13 | 3,78 (OCH ₃) |
| 3m | 12,74 | 8,24 | 4,55 | 3,10 | 3,80 (OCH ₃) |
| 3n | 12,73 | 8,37 | 4,54 | 3,10 | 3,81 e 3,79 (OCH ₃) |
| 3o | 12,80 | 8,18 | 4,42 | 3,31 e 3,18 | 3,87 (OCH ₃) |
| 3p | 12,81 | 8,20 | 4,52 | 3,11 | 1,39 (C(CH ₃) ₃) |

De acordo com as tabelas descritas acima, os hidrogênios característicos do grupo CH=N para ambas as séries foram observados na região entre 8,13-8,43 ppm. Em adição, os hidrogênios aromáticos apareceram entre 8,04-6,40 ppm. As figuras 16 e 17 ilustram os espectros de RMN ^1H para os compostos **4o** e **3o**, respectivamente. Vales salientar que este último foi o único composto da série que apresentou um Sistema ABX de acoplamento entre o hidrogênio da posição 5 do anel tiazolidinônico e os outros dois presentes no grupo acetil nesta mesma posição (Figura 16).

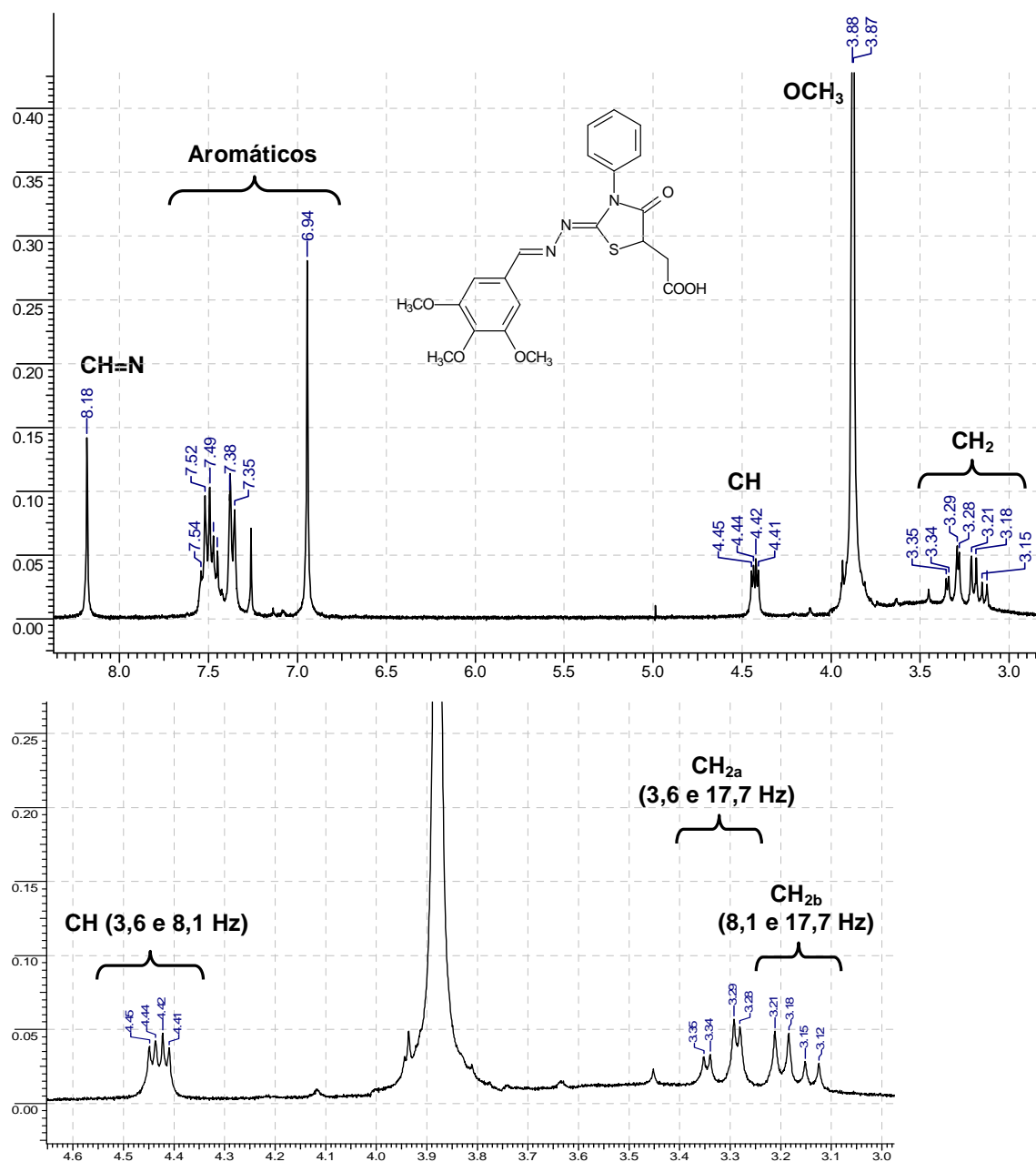


Figura 16. Espectro de RMN ^1H para a 4-tiazolidinona **3o** (CDCl_3 ; 300 MHz), destacando-se os acoplamentos (Sistema ABX) dos hidrogênios do grupo acetil.

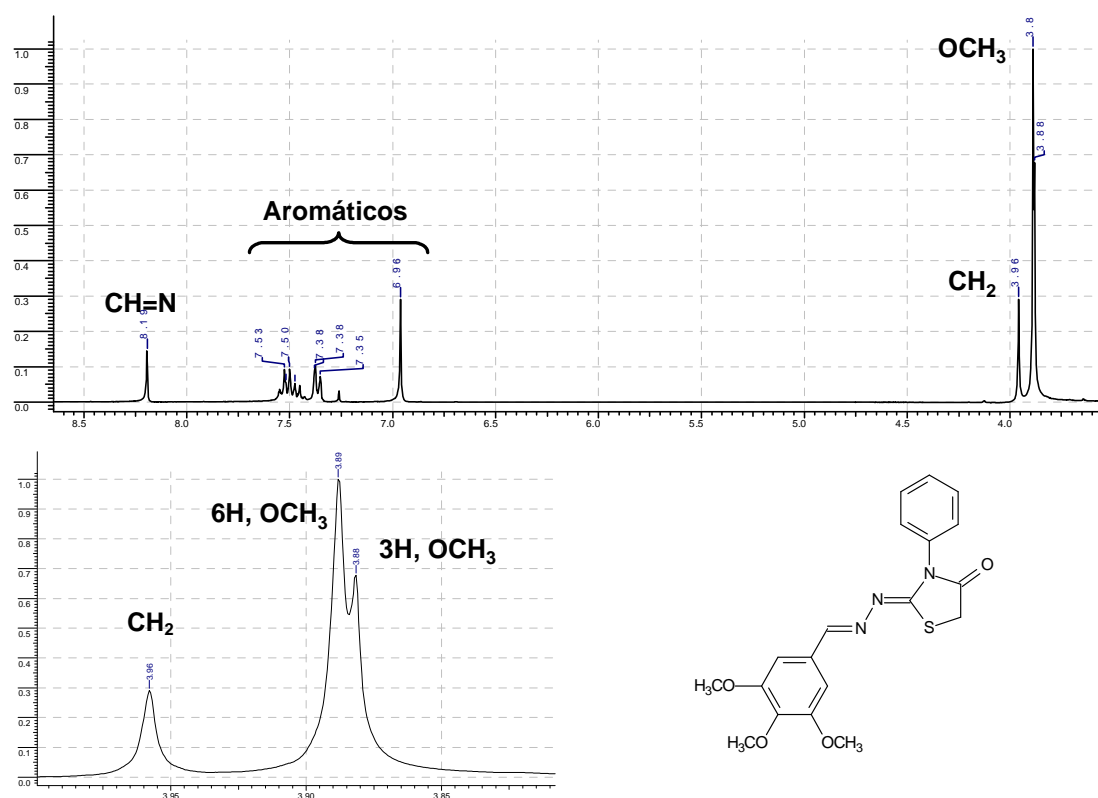


Figura 17. Espectro de RMN ^1H para a 4-tiazolidinona **4o** (DMSO- d_6 ; 300 MHz), ilustrando os singletos referentes aos grupos metoxi e metileno.

Com relação aos espectros de RMN ^1H para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p**, os hidrogênios referente ao grupo $\text{CH}=\text{N}$ apresentaram deslocamentos químicos semelhantes aos outras duas séries descritas anteriormente, entre 8,27-8,51 ppm. O desaparecimento dos singletos referentes ao grupo metileno na posição 5 do anel tiazolidínico para a série **4a-p**, bem como a presença de um singlete entre 7,77-7,98 ppm referente ao hidrogênio do grupo *p*-nitrobenzilideno, confirmaram a estrutura dos derivados da série em questão. Em adição, foram observados dois dubletos característicos de aromáticos *para*-substituídos, os mesmos apresentando constantes de acoplamento entre 8,1 e 9 Hz.

Como ilustração, a figura 18 demonstra o espectro do composto **5o**. Já a tabela abaixo apresenta os principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H da série **5a-p** (Tabela 13).

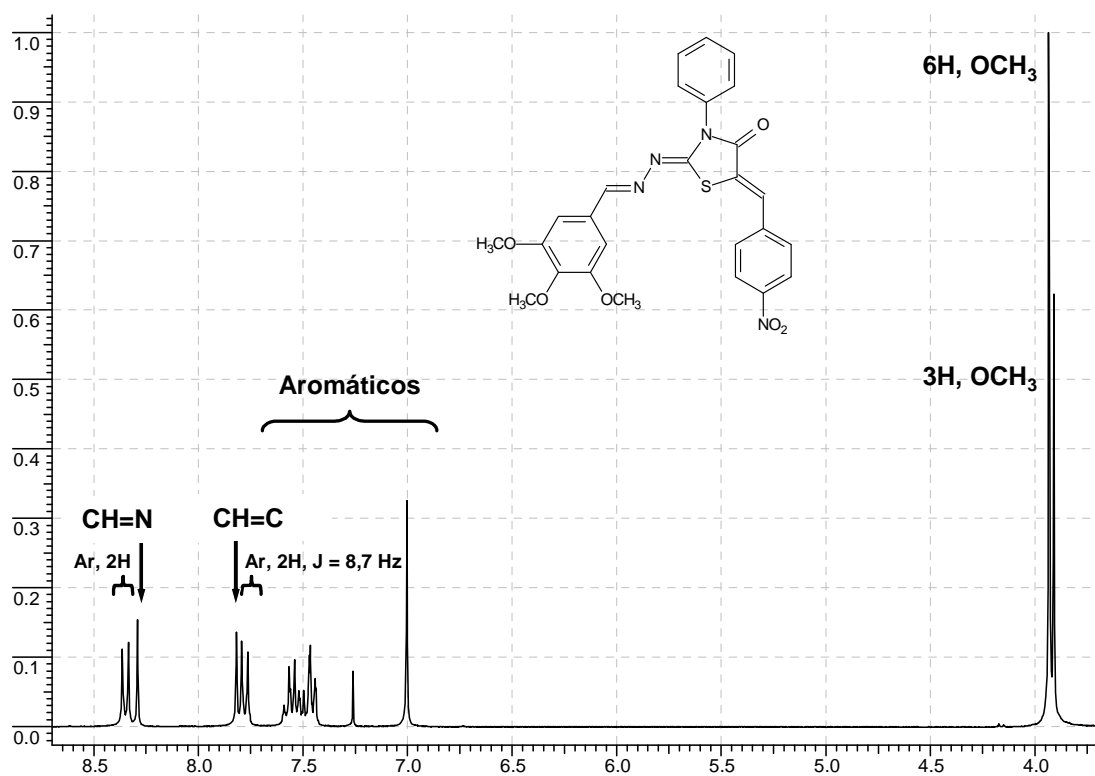


Figura 18. Espectro de RMN ^1H para a 4-tiazolidinona **5o**, destacando-se os dubletos característicos de hidrogênios aromáticos *para*-substituídos (CDCl_3 ; 300 MHz).

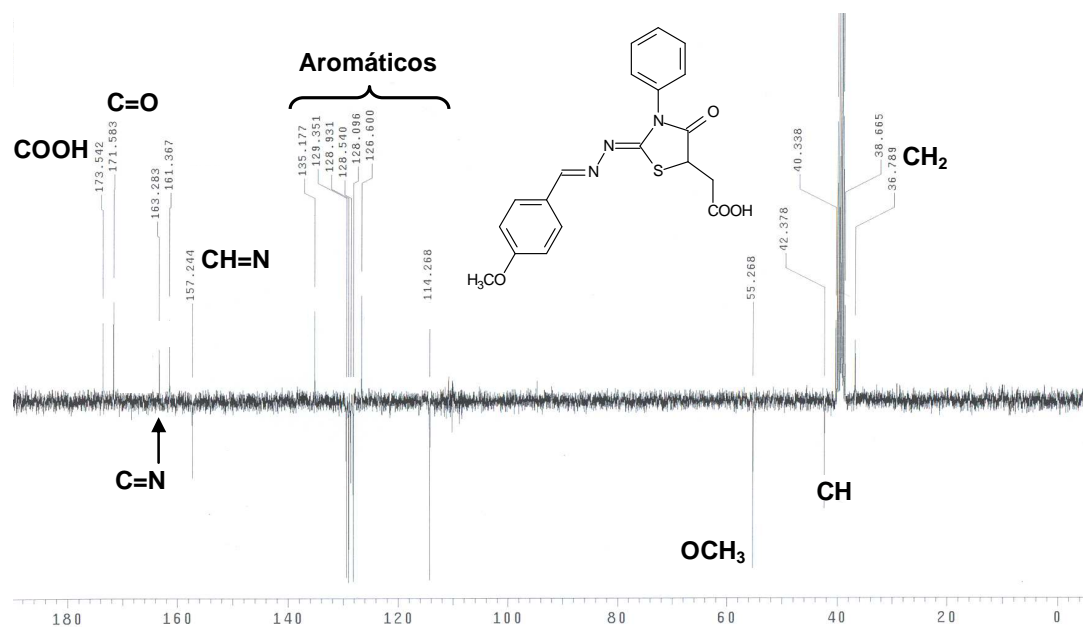
Tabela 13. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p**.

| | CH=N | CH=C | Ar-NO ₂ | Outros |
|-----------|------|------|--------------------|--|
| 5a | 8,39 | 7,81 | 7,79 e 7,81 | |
| 5b | 8,47 | 7,98 | 7,88 e 7,98 | |
| 5c | 8,33 | 7,83 | 7,80 e 8,39 | |
| 5d | 8,47 | 7,89 | 7,99 e 8,39 | |
| 5e | 8,35 | 7,80 | 7,78 e 8,36 | 2,42 (CH ₃) |
| 5f | 8,51 | 7,89 | 7,98 e 8,51 | |
| 5g | 8,35 | 7,79 | 8,37 | |
| 5h | 8,30 | 7,83 | 7,96 e 8,35 | 3,83 (OCH ₃) |
| 5i | 8,27 | 7,77 | 7,79 e 8,35 | 3,05 (N(CH ₃) ₂) |
| 5j | 8,49 | 7,91 | 8,01 e 8,40 | |
| 5k | 8,36 | 7,81 | 7,79 e 8,37 | 2,42 (CH ₃) |
| 5l | 8,34 | 7,81 | 7,78 e 8,36 | 3,81 (OCH ₃) |
| 5m | 8,38 | 7,86 | 7,98 e 8,39 | 3,82 (OCH ₃) |
| 5n | 8,49 | 7,85 | 7,97 e 8,38 | 3,82 e 3,84 (OCH ₃) |
| 5o | 8,28 | 7,81 | 7,77 e 8,34 | 3,93 e 3,91 (OCH ₃) |
| 5p | 8,32 | 7,79 | 7,78 e 8,34 | 1,48 (C(CH ₃) ₃) |

De acordo com os espectros de RMN ^{13}C , todos os derivados tiazolidínicos sintetizados apresentaram deslocamentos químicos referentes aos carbonos dos grupos NC=O, imino (C=N) da posição 2 do anel tiazolidínico e C=N da função azometina entre 165,3-173,6, 159,6-171,7 e 152,3-167,6 ppm, respectivamente. Como demonstrado na tabela abaixo, os compostos da série **3a-p** ainda apresentaram um importante sinal entre 173,4-173,8 ppm relativo à carbonila presente no grupo acetil da posição 5 do anel. Em adição, os carbonos aromáticos para esta mesma série apareceram numa faixa entre 98,1-162,7 ppm (Tabela 14). A figura 19 ilustra o espectro de RMN ^{13}C para o composto **3m**.

Tabela 14. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C para as 4-tiazolidinonas da série **3a-p**.

| | COOH | NC=O | C=N | CH=N | Outros |
|-----------|-------|-------|-------|-------|--|
| 3a | 173,7 | 171,8 | 165,4 | 154,8 | |
| 3b | 173,7 | 171,8 | 165,4 | 154,8 | |
| 3c | 173,8 | 171,8 | 167,0 | 152,3 | |
| 3d | 173,8 | 171,8 | 166,2 | 155,4 | |
| 3e | 173,7 | 171,8 | 164,7 | 157,8 | 20,9 (CH ₃) |
| 3f | 173,8 | 171,8 | 166,1 | 159,2 | |
| 3g | 173,7 | 171,8 | 164,9 | 156,6 | |
| 3h | 173,7 | 171,8 | 162,9 | 157,9 | 55,5 (OCH ₃) |
| 3i | 173,6 | 171,8 | 161,6 | 157,9 | 49,7 (N(CH ₃) ₂) |
| 3j | 173,8 | 171,8 | 168,4 | 165,9 | |
| 3k | 173,7 | 171,8 | 164,3 | 157,7 | 21,1 (CH ₃) |
| 3l | 173,6 | 171,5 | 164,6 | 157,5 | 55,0 (OCH ₃) |
| 3m | 173,5 | 171,5 | 163,2 | 157,2 | 55,2 (OCH ₃) |
| 3n | 173,4 | 171,5 | 163,1 | 152,5 | 55,4 (OCH ₃) |
| 3o | 173,7 | 171,7 | 164,1 | 157,7 | 60,1 e 55,8 (OCH ₃) |
| 3p | 173,7 | 171,7 | 162,7 | 158,5 | 34,4 (C(CH ₃) ₃) e 30,1 (CH ₃) |

**Figura 19.** Espectro de RMN ^{13}C para a 4-tiazolidinona **3m**, apresentando o sinal relativo à carbonila presente no grupo acetil (DMSO- d_6 ; 75,4 MHz).

A tabela abaixo apresenta os principais picos presentes nos espectros de RMN ^{13}C para as 4-tiazolidinonas da série **4a-p** (Tabela 15). Além da ressonância dos átomos de carbono já citados anteriormente (NC=O, C=N e CH=N), podemos destacar os deslocamentos entre 32,2-32,4 ppm, assinalados para o carbono da posição 5 do anel tiazolidínico, sendo estes de grande importância para a confirmação da formação do anel. Em adição, os carbonos aromáticos apresentaram ressonâncias entre 97,8-165,0 ppm. Na figura 20, podemos observar o espectro de RMN ^{13}C para o composto **4o**.

Tabela 15. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C para as 4-tiazolidinonas da série **4a-p**.

| | C=O | C=N | CH=N | CH ₂ | Outros |
|-----------|-------|-------|-------|-----------------|--|
| 4a | 171,7 | 164,3 | 158,9 | 32,4 | |
| 4b | 172,0 | 166,0 | 156,6 | 32,3 | |
| 4c | 172,0 | 166,9 | 152,5 | 32,4 | |
| 4d | 172,0 | 166,9 | 155,4 | 32,3 | |
| 4e | 171,7 | 164,0 | 159,1 | 32,4 | 21,3 (CH ₃) |
| 4f | 173,6 | 171,7 | 163,4 | 32,4 | |
| 4g | 171,7 | 166,0 | 167,6 | 32,4 | |
| 4h | 171,9 | 163,6 | 157,7 | 32,2 | 55,4 (OCH ₃) |
| 4i | 171,8 | 161,4 | 159,2 | 32,4 | 40,1 (N(CH ₃) ₂) |
| 4j | 171,7 | 165,2 | 157,3 | 32,4 | |
| 4k | 171,7 | 163,7 | 158,9 | 32,4 | 21,5 (CH ₃) |
| 4l | 171,7 | 164,4 | 158,8 | 32,4 | 55,2 (OCH ₃) |
| 4m | 171,7 | 163,1 | 158,5 | 32,4 | 55,3 (OCH ₃) |
| 4n | 171,8 | 163,2 | 162,2 | 32,4 | 55,4 (OCH ₃) |
| 4o | 171,6 | 163,8 | 158,5 | 32,4 | 60,9 e 56,0 (OCH ₃) |
| 4p | 171,8 | 162,6 | 159,4 | 32,4 | 34,2 (C(CH ₃) ₃) e 30,0 (CH ₃) |

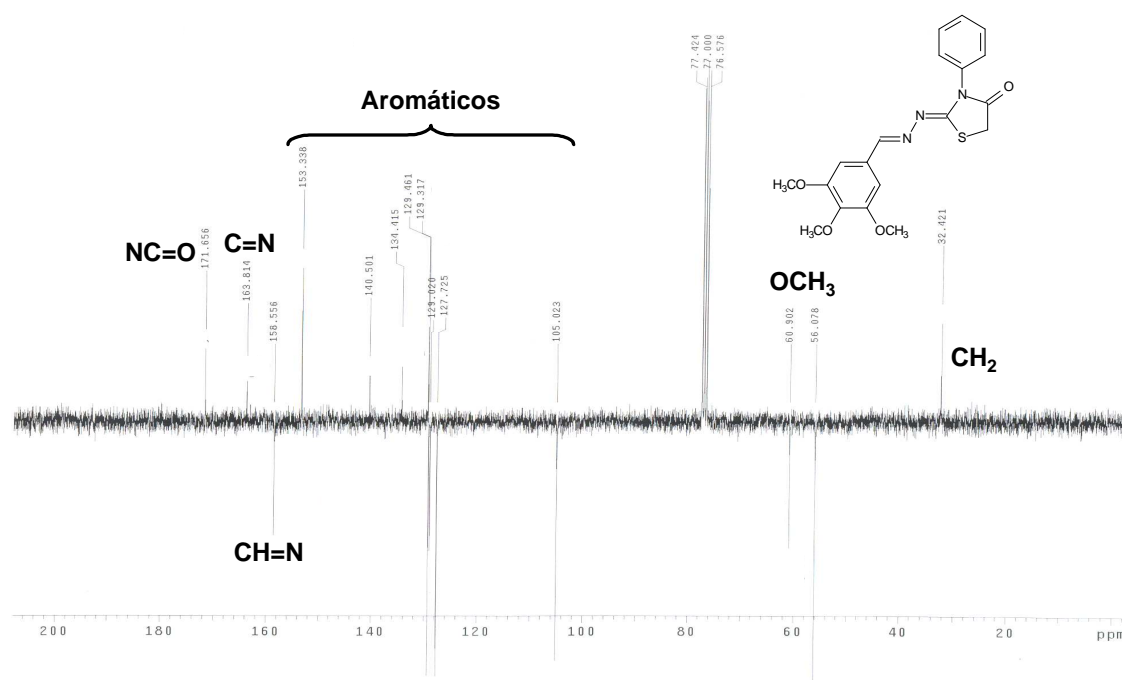


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C para a 4-tiazolidinona **4o**, destacando o deslocamento assinalado para o grupo CH₂ da posição 5 do anel tiazolidínico (DMSO-d₆; 75,4 MHz).

A figura abaixo ilustra o espectro de RMN ^{13}C para o composto **5o** (Figura 21). Para a série de 4-tiazolidinonas a qual esta molécula está presente, os espectros em questão apresentam ressonâncias entre 139,9-140,4 e 147,0-140,6 ppm, assinaladas aos átomos de carbono exo e endocíclicos da dupla ligação benzilidênica, respectivamente, bem como picos referentes aos carbonos aromáticos entre 105,5-161,5 ppm. Tais deslocamentos, juntamente com os espectros de RMN ^1H , indicam evidência confirmatória da introdução do grupo *p*-nitrobenzilideno durante a síntese da série em questão. A tabela abaixo apresenta as principais ressonâncias para os átomos de carbono desta mesma série (Tabela 16). Vale destacar que a falta de solubilidade dos compostos **5b-d**, **5f**, **5m** e **5n** em solventes apropriados impediu a realização de seus espectros de RMN ^{13}C em solução.

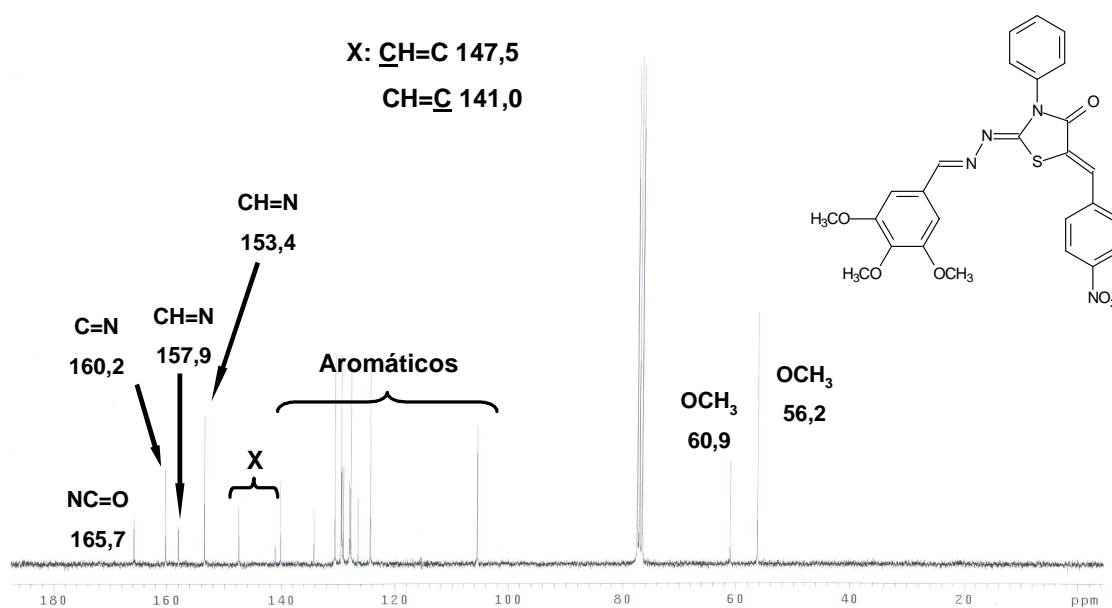


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C para 4-tiazolidinona **5o**, apresentando as ressonâncias assinaladas aos átomos de carbono exo e endocíclicos da dupla ligação benzilidênica (DMSO- d_6 ; 75,4 MHz).

Tabela 16. Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^{13}C para 4-tiazolidinonas da série **5a-p**.

| | C=O | C=N | CH=N | $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$ | $\text{CH}=\underline{\text{C}}$ | Outros |
|-----------|-------|-------|-------|---|----------------------------------|--|
| 5a | 165,9 | 160,2 | 158,9 | 147,5 | 140,1 | |
| 5e | 165,8 | 160,5 | 158,6 | 147,4 | 140,1 | 21,3 (CH ₃) |
| 5g | 165,8 | 163,0 | 158,9 | 147,6 | 140,1 | |
| 5h | 165,3 | 159,6 | 157,4 | 147,0 | 140,0 | 55,7 (OCH ₃) |
| 5i | 166,0 | 160,3 | 155,9 | 147,3 | 140,4 | 40,1 (N(CH ₃) ₂) |
| 5j | 165,4 | 160,3 | 158,3 | 147,2 | 139,9 | |
| 5k | 165,9 | 160,2 | 158,3 | 147,4 | 140,1 | 21,6 (CH ₃) |
| 5l | 165,8 | 160,1 | 159,8 | 147,5 | 141,0 | 55,4 (OCH ₃) |
| 5o | 165,7 | 160,2 | 157,9 | 147,5 | 141,0 | 60,9 e 56,2 (OCH ₃) |
| 5p | 165,9 | 160,9 | 157,0 | 147,3 | 140,3 | 34,3 (C(CH ₃) ₃) e 30,0 (CH ₃) |

4.3.3 Determinação da Configuração da Dupla Ligação Benzilidênica para as 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-5-(4-nitrofenil)metileno-4-tiazolidinonas Substituídas (5a-p)

As 4-tiazolidinonas podem sofrer condensação com aldeídos aromáticos, conduzindo a formação de derivados α,β – insaturados. Estes derivados, teoricamente, podem existir nas configurações diastereoisoméricas *Z* e *E*. A figura abaixo ilustra as estruturas destes diastereoisômeros para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p** (Figura 22).

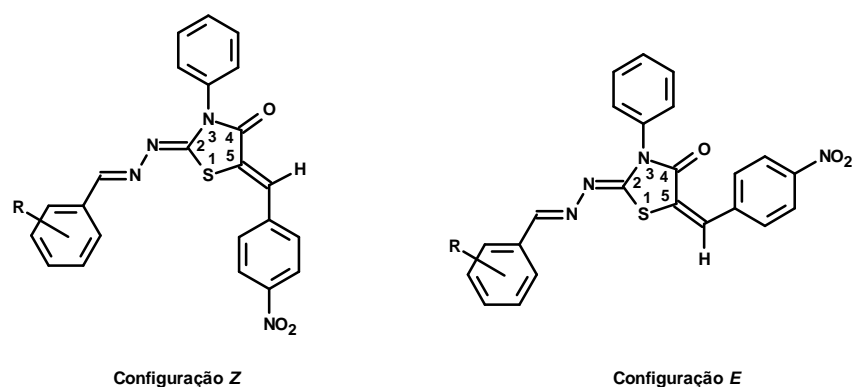


Figura 22. Estruturas teóricas dos diastereoisômeros *Z* e *E* para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p**.

Kingsbury et al. (1976) utilizaram os valores das constantes de acoplamento vicinal 3J (C-H), calculados a partir da espectroscopia de RMN ^{13}C de vários alquenos, para a determinação da configuração do isômero obtido a partir da síntese destes compostos (Figura 23). Segundo os autores, em geral, constantes de acoplamento vicinal (3J C-H) entre o carbono da carbonila presente no anel e o próton benzilidênico na ordem de 4,3-10 Hz indicavam que os mesmos apresentavam configuração *Z*. Por outro lado, valores das constantes na ordem de 9,5-16,9 Hz confirmavam a configuração *E*. Este procedimento foi utilizado para a determinação da configuração de derivados de rodanina e azalactona.

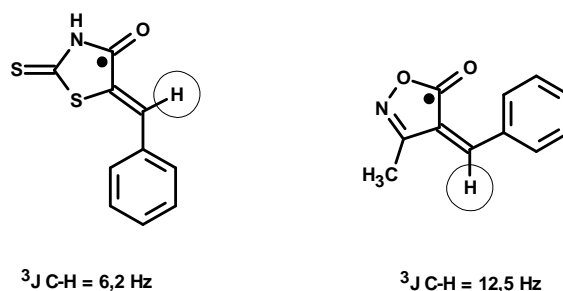


Figura 23. Constantes de acoplamento vicinal 3J (C-H) em derivados da rodanina e azalactona.

Esta mesma metodologia foi utilizada por Vögeli et al. (1978) para a determinação da configuração da mesma ligação benzilidênica em diversas 4-tiazolidinonas substituídas, bem como da configuração da dupla ligação de alquenos tri-substituídos (Figura 24). De acordo com os resultados, os autores confirmaram a configuração *Z* para todas as 4-tiazolidinonas estudadas.

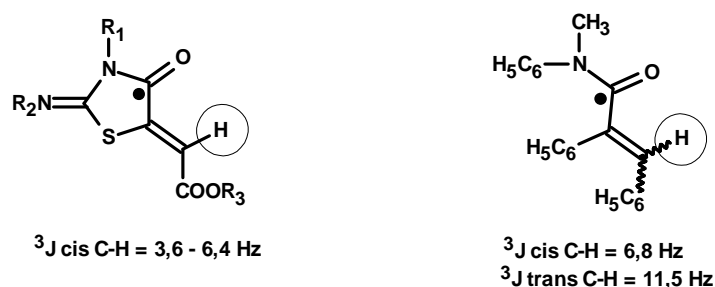


Figura 24. Constantes de acoplamento vicinal 3J (C-H) em 4-tiazolidinonas e alquenos substituídos.

De maneira análoga, diversos outros autores confirmaram a configuração *Z* ou *E* da dupla ligação em várias moléculas contendo os anéis 2,4-tiazolidinadiona, imidazolidinadiona e rodanina, bem como derivados de hidantoinas e tiohidantoinas (MENEZES et al., 1992; LIMA et al., 1992). As estruturas destes compostos são mostradas abaixo (Figura 25).

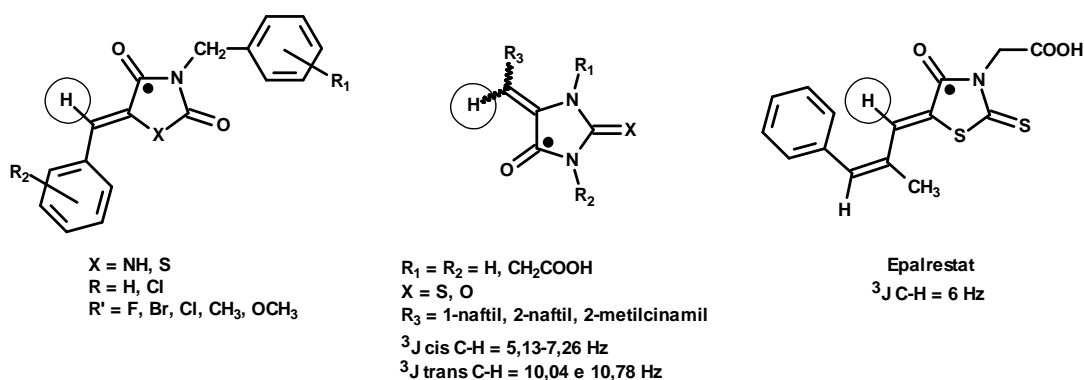


Figura 25. Configurações *Z* ou *E* de derivados tiazolidínicos, imidazolidínicos e tiohidantóinicos.

Em trabalho mais recente, Bruno et al. (2002) determinaram a configuração da dupla ligação exocíclica em derivados 5-arylideno-2,4-tiazolidinadiona. Apenas para um dos compostos da série sintetizada, esta configuração foi determinada por difração de Raio-X, sendo designada como *Z*. Contudo, as outras moléculas da mesma série foram analisadas baseadas em seus dados espectrais de RMN ^{13}C e ^1H (Figura 26). Segundo os autores, nos espectros de RMN ^1H em presença do reagente de deslocamento $\text{Eu}(\text{fod})_3$, ocorreram mudanças no deslocamento químico do próton benzilidênico em todas as moléculas analisadas, bem como não foi identificado a presença do isômeros *E*, sob diferentes condições de síntese. Em conclusão, apenas o sinal do próton de configuração *Z* foi detectado, apresentando deslocamentos químicos na faixa de 7,72-7,97 ppm. Nos espectros de RMN ^{13}C , os sinais do CH arilideno apareceram na faixa de 130,1-132,8 ppm.

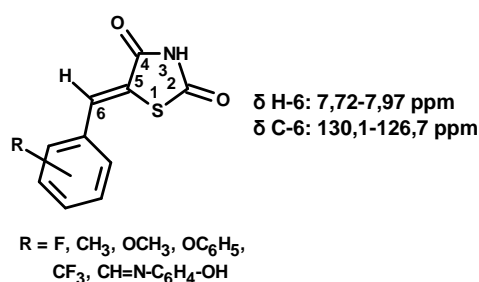


Figura 26. Deslocamentos químicos de H-6 e C-6 presentes no grupo arilideno dos isômeros *Z* em derivados 5-arylideno-2,4-tiazolidinadiona.

Os dados obtidos neste último estudo foram utilizados por outros autores na determinação da configuração dos análogos 5-arylideno-2-imino-4-tiazolidinonas e 5-arylideno-2-tiazolilimino-4-tiazolidinonas, obtidos a partir de reações de derivados 2-imino-4-tiazolidinonas com aldeídos aromáticos (Figura 27) (OTTANÀ et al., 2005; VICINI et al. 2006). As moléculas sintetizadas apresentaram deslocamentos químicos referentes ao próton benzilidênico variando entre 7,63-7,97 ppm, característicos de isômeros de configuração *Z*. Este fato deve-se a uma maior desblindagem por parte do grupo C=O adjacente (posição 4), em comparação ao mesmo efeito observado pelo grupo S-1.

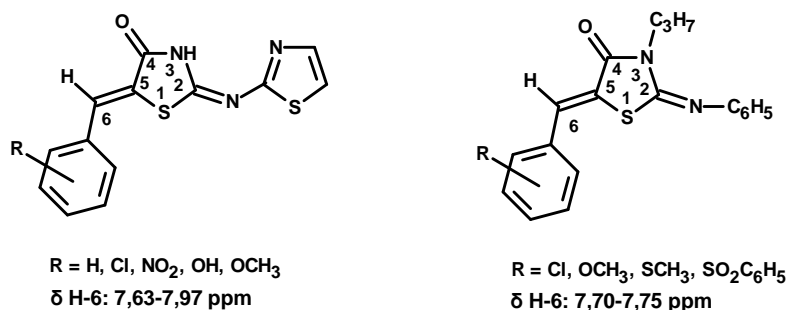


Figura 27. Configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e deslocamentos químicos de seus respectivos prótons benzilidênicos.

Neste trabalho, determinamos a configuração da dupla ligação exocíclica de dez compostos da série **5a-p**, analisando os deslocamentos químicos do próton e carbono do grupo CH benzilidênico, obtidos a partir dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , bem como calculando as constantes de acoplamento vicinal entre este mesmo próton e o carbono da carbonila (C-4), a partir dos espectros de RMN ^{13}C C-H acoplados. Os dados obtidos estão apresentados na tabela abaixo, e os mesmos foram comparados com os valores da literatura, citados anteriormente (Tabela 17).

Tabela 17. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento vicinal do próton e carbono do grupo CH benzilidênico para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p**.

| | $^3J_{C-H}$ (Hz) | δ_{H-6} (ppm) | δ_{C-6} (ppm) |
|-----------|------------------|----------------------|----------------------|
| 5a | 6,56 | 7,81 | 147,5 |
| 5b | | 7,98 | |
| 5c | | 7,83 | |
| 5d | | 7,89 | |
| 5e | 6,78 | 7,80 | 147,4 |
| 5f | | 7,89 | |
| 5g | 6,26 | 7,80 | 147,6 |
| 5h | 6,03 | 7,83 | 147,8 |
| 5i | 6,56 | 7,77 | 147,3 |
| 5j | 6,26 | 7,91 | 147,2 |
| 5k | 6,26 | 7,81 | 147,4 |
| 5l | 6,48 | 7,81 | 147,5 |
| 5m | | 7,86 | |
| 5n | | 7,85 | |
| 5o | 6,26 | 7,81 | 147,5 |
| 5p | 6,56 | 7,79 | 147,3 |

De acordo com os dados da tabela acima, podemos sugerir que todas as moléculas analisadas possuem a configuração *Z*, onde apenas este diastereoisômero é obtido pela rota sintética utilizada. Em adição, a figura abaixo ilustra o dubleto obtido a partir do espectro de RMN ^{13}C C-H acoplado para o composto **5o**, referente ao carbono da carbonila na posição 4 do anel tiazolidinônico (Figura 28).

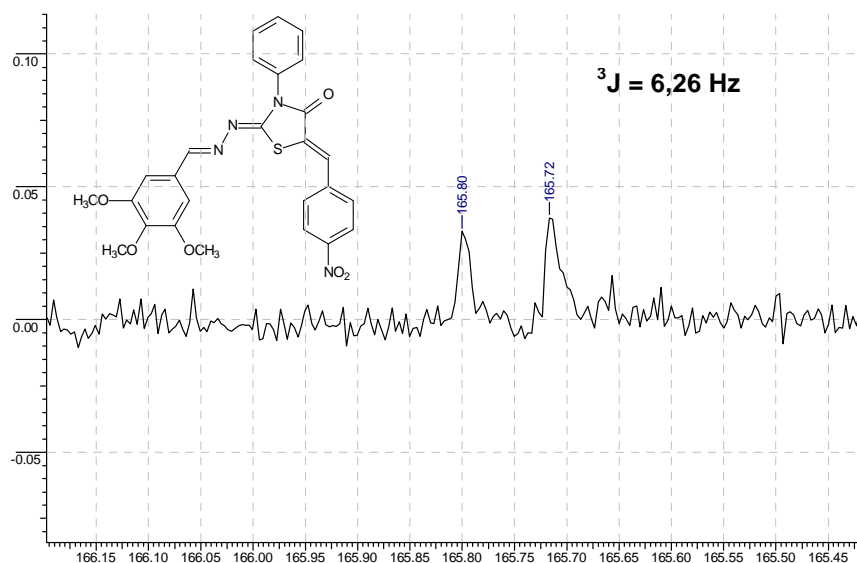


Figura 28. Dubleto observado no espectro de RMN ^{13}C C-H acoplado para o composto **5o** referente ao carbono da carbonila (C-4) do anel tiazolidínico.

4.4 Atividade Anti-*Toxoplasma gondii*

Após o tratamento por 24 horas das culturas de células Vero com as tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas, em geral, as mesmas apresentaram um decréscimo da percentagem de infecção. Como consequência, houve também uma diminuição do número médio de taquizoítas intracelulares (Tabelas 18-23).

Nas concentrações de 2, 5 e 8 mM, alguns compostos foram bastante tóxicos. Tal observação foi comprovada devido a não observação de células infectadas ou parasitos intracelulares, especialmente para os compostos **3d**, **3i**, **3k** e **3p** (na concentração de 2 mM), e para **3b**, **3f**, **3g**, **3h** e **3n** (na concentração de 5 mM) (Tabelas 19 e 21).

Em altas concentrações, pode-se observar um alargamento do vacúolo parasitóforo, contendo os parasitos distorcidos. Estes efeitos foram dependentes da concentração das drogas utilizadas. Na concentração de 20 mM, para todas as drogas, não foram observadas células infectadas ou parasitos intracelulares. Em geral, através da análise das concentrações mais baixas utilizadas nos ensaios, as 4-tiazolidinonas foram mais efetivas que as tiossemicarbazonas na interrupção do crescimento do *T. gondii* (Tabelas 18-21).

Tabela 18. Efeito das tiossemicarbazonas (**2a-p**) nas culturas de Células Vero infectadas com *T. gondii*.

| Compostos | % Células Vero Infectadas | | | | | |
|--------------|----------------------------|---------------|------------|------------|------------|------|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (mM) | | | | |
| | | 0.1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 2a | 83,07±6,3 | 82,5±4,2 | 77,82±10,6 | 31,83±8,4 | 13,52±1,4 | 0 |
| 2b | 77,64±0,17 | 70,01±5,6 | 34,8±9,19 | 38,7±5,6 | 21,05±0,8 | 0 |
| 2c | 61,09±2,12 | 49,33±14 | 33,28±13,4 | 31,32±4,9 | 12,08±2,82 | 0 |
| 2d | 59±1,4 | 49,18±7,7 | 38,02±22,6 | 21,96±6,36 | 4,54±1,4 | 0 |
| 2e | 56,98±6,36 | 66,23±9,89 | 39,82±4,9 | 26,86±9,89 | 22,72±1,41 | 0 |
| 2f | 93,16±3,53 | 91,5±3,5 | 28,13±0,7 | 14,32±0,7 | 29,29±0,71 | 0 |
| 2g | 55,76±4 | 46,59±13,5 | 35,2±2 | 28±10 | 19,83±6 | 0 |
| 2h | 80,4±0,7 | 80,05±11,3 | 19,7±0,17 | 19,3±0,17 | 2,6±0,53 | 0 |
| 2i | 74,06±22 | 76,14±31 | 35,81±0,7 | 18,14±5,6 | 13,46±2,12 | 0 |
| 2j | 69,21±10,4 | 44,52±2,12 | 60,69±19 | 52,06±12 | 24,49±0,7 | 0 |
| 2k | 61,33±13,4 | 51,08±18,3 | 36,78±6,3 | 27,84±18,4 | 2,96±0,7 | 0 |
| 2l | 64,09±15 | 53,6±16,9 | 34,82±17 | 9,7±2,8 | 5,9±1,41 | 0 |
| 2m | 70,32±5,6 | 50,43±3,53 | 29,39±0,7 | 19±7,01 | 12,36±0,7 | 0 |
| 2n | 83,3±36 | 73±19 | 41,44±7,7 | 9,2±4,2 | 3,6±2,8 | 1,49 |
| 2o | 80,73±19,09 | 76,37±9,89 | 72,04±8,4 | 24,32±16 | 23,17±2,8 | 0 |
| 2p | 62,66±0,53 | 63,44±3,53 | 64,07±12 | 30,51±4,9 | 6,42±7,12 | 0 |
| Hidroxiuréia | 61,18±0,17 | 58,23±5,65 | 22,78±9,19 | 10,4±5,65 | 7,37±0,88 | 0 |
| Sulfadiazina | 80,3±7,7 | 53,84±0,7 | 48,71±0,7 | 29,55±0,7 | 6,84±1 | 0 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Tabela 19. Efeito das 4-tiazolidinonas (**3a-p**) nas culturas de Células Vero infectadas com *T. gondii*.

| Compostos | % Células Vero Infectadas | | | | | |
|--------------|----------------------------|---------------|------------|------------|------------|----|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (mM) | | | | |
| | | 0,1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 3a | 78,8±2,12 | 69,7±4,9 | 48,5±4,2 | 14,6±6,3 | 0 | 0 |
| 3b | 82,46±4,9 | 68,15±19 | 35,3±2,47 | 0 | 0 | 0 |
| 3c | 68,08±10,6 | 63,23±0,17 | 18,08±4,2 | 19,05±0,7 | 0 | 0 |
| 3d | 108±6 | 101±6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3e | 63,93±5,6 | 66±4,2 | 15,54±2,8 | 16,19±2,82 | 10,13±3,53 | 0 |
| 3f | 59,88±2,82 | 70,79±2,12 | 16,14±4,2 | 0 | 0 | 0 |
| 3g | 62,9±17 | 21,7±8,8 | 10,2±4,8 | 0 | 0 | 0 |
| 3h | 51,45±10,9 | 46,02±1,4 | 41,96±5,65 | 3,5±0,01 | 0 | 0 |
| 3i | 71,66±10,6 | 50,58±2,12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3j | 53,73±1,4 | 53,74±9,19 | 34,8±3,53 | 33,5±7 | 0 | 0 |
| 3k | 83,63±0,7 | 39,2±4,2 | 1,23±0,17 | 0 | 0 | 0 |
| 3l | 41,47±15 | 34,16±12,7 | 28,71±1,41 | 7,3±7,7 | 4,16±0,71 | 0 |
| 3m | 32,5±0,7 | 27,32±7 | 4,51±0,35 | 5,9±0,7 | 0 | 0 |
| 3n | 72,51±0,7 | 66,36±2,12 | 39,5±4,9 | 0 | 0 | 0 |
| 3o | 64,85±8,4 | 55,57±14 | 14,33±6,36 | 15,63±0,7 | 7,2±0,7 | 0 |
| 3p | 57,47±3,67 | 53,55±8,83 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hidroxiuréia | 61,18±0,17 | 58,23±5,65 | 22,78±9,19 | 10,4±5,65 | 7,37±0,88 | 0 |
| Sulfadiazina | 80,3±7,7 | 53,84±0,7 | 48,71±0,7 | 29,55±0,7 | 6,84±1 | 0 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Tabela 20. Efeito das tiossemicarbazonas (**2a-p**) no número médio de parasitos intracelulares.

| Compostos | Número Médio de Parasitos Intracelulares | | | | | |
|--------------|--|---------------|----------|----------|---------|----|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (mM) | | | | |
| | | 0,1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 2a | 413±1,4 | 429±45 | 367±3,5 | 32±11 | 2±2 | 0 |
| 2b | 446±33 | 434±101 | 109±19 | 63±16 | 15±12 | 0 |
| 2c | 431±46 | 359±47 | 103±11 | 60±2,12 | 0 | 0 |
| 2d | 717±57 | 577±43 | 371±90 | 140±4,2 | 1±0,7 | 0 |
| 2e | 575±83 | 510±12 | 232±14 | 25±2,82 | 0 | 0 |
| 2f | 461±9,19 | 406±8,4 | 67±13,4 | 10±14,14 | 0 | 0 |
| 2g | 541±61 | 332±132 | 195±4,5 | 11±7,5 | 1±1 | 0 |
| 2h | 574±66 | 368±42 | 7±10 | 5±0,7 | 1±0,7 | 0 |
| 2i | 462±25 | 290±35 | 143±25 | 20±14 | 26±4,2 | 0 |
| 2j | 663±103 | 526±45 | 367±51 | 218±52 | 31±25 | 0 |
| 2k | 445±92 | 330±31 | 326±40 | 42±10 | 0 | 0 |
| 2l | 565±55 | 409±22 | 68±24 | 7±1,4 | 2±0,17 | 0 |
| 2m | 545±65 | 439±72 | 112±7 | 16±2 | 7±2,8 | 0 |
| 2n | 771±62 | 684±29 | 352±7,07 | 15±18 | 0 | 0 |
| 2o | 596±48 | 461±14 | 277±5,6 | 96±26 | 61±3,53 | 0 |
| 2p | 504±2,82 | 517±57 | 401±101 | 138±41 | 2±2,8 | 0 |
| Hidroxiuréia | 804±36 | 463±125 | 12±3,5 | 7±0,7 | 6±1,4 | 0 |
| Sulfadiazina | 487±22 | 448±9,19 | 393±30 | 28±24 | 0 | 0 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Tabela 21. Efeito das 4-tiazolidinonas (**3a-p**) no número médio de parasitos intracelulares.

| Compostos | Número Médio de Parasitos Intracelulares | | | | | |
|--------------|--|---------------|---------|---------|--------|----|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (mM) | | | | |
| | | 0.1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 3a | 467±24 | 336±71 | 176±25 | 8±2,19 | 0 | 0 |
| 3b | 341±58 | 235±92 | 32±0,35 | 0 | 0 | 0 |
| 3c | 614±49 | 530±33 | 100±24 | 5±7,7 | 0 | 0 |
| 3d | 890±15 | 822±85 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3e | 442±20 | 266±47 | 44±2,82 | 34±7,77 | 16±10 | 0 |
| 3f | 512±7,7 | 504±7,7 | 29±14 | 0 | 0 | 0 |
| 3g | 163±42 | 12±9 | 2±4 | 0 | 0 | 0 |
| 3h | 458±80 | 385±29 | 71±24 | 0 | 0 | 0 |
| 3i | 558±144 | 146±2,82 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3j | 369±79 | 273 | 181±40 | 145±9,1 | 0 | 0 |
| 3k | 417±33 | 91±17 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3l | 447±153 | 144±24 | 28±0,7 | 1±2,12 | 0 | 0 |
| 3m | 278±0,7 | 202±26 | 35±113 | 28±2,12 | 0 | 0 |
| 3n | 560±58 | 401±18 | 50±10 | 0 | 0 | 0 |
| 3o | 391±65 | 249±70 | 59±24 | 13±13 | 1±0.53 | 0 |
| 3p | 224±22 | 190±9,12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hidroxiuréia | 804±36 | 463±125 | 12±3,5 | 7±0,7 | 6±1,4 | 0 |
| Sulfadiazina | 487±22 | 448±9,19 | 393±30 | 28±24 | 0 | 0 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Os compostos **2h** e **3l** demonstraram uma efetiva ação na multiplicação intracelular do parasito, os quais apresentaram valores de $CI_{50} = 0,1$ mM, numa escala entre 12,5-30 $\mu\text{g/mL}$. Por outro lado, sulfadiazina apresentou os mesmos valores de CI_{50} tanto para células infectadas como para os parasitos intracelulares, cerca de 3 mM, justificando assim seus efeitos tóxicos. De forma geral, algumas tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas se apresentaram mais efetivas que a hidroxiuréia (droga de referência) (Tabelas 22-23).

A toxicidade para todos os compostos foi mais efetiva contra os parasitos intracelulares em relação as células infectadas, exceto para **3g**, **3i**, **3m** e **3p**. Valores similares foram obtidos com hidroxiuréia, porém não com a sulfadiazina. Em geral, os resultados obtidos sugerem que a presença dos novos compostos

alterou a morfologia, ultraestrutura e multiplicação dos taquizoítos de *T. gondii*, promovendo sua destruição e eliminação das culturas infectadas (Tabelas 22-23).

Tabela 22. Valores de CI_{50} de tiossemicarbonas (**2a-p**) para Células não infectadas, Células infectadas e Parasitos intracelulares.

| Compostos | CI_{50} (mM) | | |
|--------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| | Células não infectadas | Células infectadas | Parasitos intracelulares |
| 2a | 5±0,05 | 5±0,05 | 4±0,05 |
| 2b | 10±1 | 7±1 | 1,5±0,05 |
| 2c | 6±1 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 2d | 6±1 | 5±0,05 | 2±0,05 |
| 2e | 5±0,05 | 5±0,05 | 2±0,05 |
| 2f | 4±0,05 | 1,5±0,05 | 1±0,05 |
| 2g | 10±1,5 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 2h | 6±0,05 | 1±0,05 | 0,1±0,05 |
| 2i | 6±0,05 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 2j | 10±1 | 7±0,05 | 3±0,05 |
| 2k | 8±1 | 4±1 | 3±0,05 |
| 2l | 5±0,05 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 2m | 6±0,06 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 2n | 5±0,05 | 2±0,06 | 2±0,05 |
| 2o | 10±1 | 3±1 | 2±0,05 |
| 2p | 10±1,5 | 5±1 | 4±1 |
| Hidroxiuréia | 1±0,05 | 0,5±0,05 | 0,1±0,05 |
| sulfadiazina | 8±0,05 | 3±0,05 | 3±0,05 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Tabela 23. Valores de CI_{50} de 4-tiazolidinonas (**3a-p**) para Células não infectadas, Células infectadas e Parasitos intracelulares.

| Compostos | CI_{50} (mM) | | |
|--------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| | Células não infectadas | Células infectadas | Parasitos intracelulares |
| 3a | 5±0,05 | 4±0,05 | 1±0,05 |
| 3b | 2±0,06 | 1,5±0,05 | 0,5±0,05 |
| 3c | 2±0,05 | 1,5±0,05 | 1±0,05 |
| 3d | 4±0,05 | 1,5±0,05 | 1±0,05 |
| 3e | 9±1 | 1±0,05 | 0,5±0,05 |
| 3f | 2±0,05 | 2±0,05 | 1±0,05 |
| 3g | 2±0,05 | 0,05 | 0,05±0,02 |
| 3h | 0,1±0,005 | 3±0,05 | 1±0,05 |
| 3i | 1±0,05 | 0,05 | 0,05±0,03 |
| 3j | 10±0,05 | 3±0,05 | 2±0,05 |
| 3k | 1±0,05 | 0,1±0,05 | 0,05±0,02 |
| 3l | 5±1 | 3±0,05 | 0,1±0,05 |
| 3m | 6±0,05 | 0,5±0,05 | 0,5±0,05 |
| 3n | 5±0,06 | 2±0,05 | 0,5±0,05 |
| 3o | 2±0,05 | 1±0,05 | 0,5±0,05 |
| 3p | 1±0,006 | 1±0,05 | 1±0,05 |
| Hidroxiuréia | 1±0,05 | 0,5±0,05 | 0,1±0,05 |
| sulfadiazina | 8±0,05 | 3±0,05 | 3±0,05 |

Valores são Médias ± DP (n = 3)

Uma prévia análise das tabelas 24 e 25 permite afirmar que as 4-tiazolidinonas das séries **4a-p** e **5a-p** se mostraram mais efetivas que os mesmos derivados tiazolidinônicos pertencentes à série **3a-p**, pois, já na concentração de 1 mM, diversos compostos já promoveram significantes reduções da percentagem de infecção e do número médio de parasitos intracelulares, em especial os compostos **4p** e **5e**. Nesta concentração pré-fixada, os compostos em questão apresentaram o menor efeito tóxico e o máximo efeito anti-*T. gondii*. A toxicidade (valores de CI_{50}) para os mesmos estão em andamento, no intuito de uma possível comprovação de seus efeitos seletivos no parasito intracelular, em relação às Células Vero hospedeiras.

Tabela 24. Efeito das 4-tiazolidinonas (**4a-p**) nas culturas de Células Vero infectadas com *T. gondii* e no número médio de parasitos intracelulares.

| Compostos | % Células Vero Infectadas | | Número Médio de Parasitos Intracelulares | |
|--------------|---------------------------|-------------------------|--|---------------------|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (1mM) | Não-tratadas (controle) | Tratadas (1mM) |
| 4a | 76±12 | 24±2 | 635±138 | 244±113 |
| 4b | 69±0,3 | 19±8 | 2071±113 | 101±30 |
| 4c | 63±5 | 5±1 | 1772±90 | 0 |
| 4d | 62±5 | 6±1 | 1970±279 | 0 |
| 4e | 67±9 | 15±3 | 2280±585 | 209±51 |
| 4f | 70±8 | 32±10 | 2432±398 | 0 |
| 4g | 66±4 | 32±3 | 3127±246 | 751±259 |
| 4h | 62±3 | 3±1 | 2488±356 | 21±12 |
| 4i | 61±2 | 13±2 | 1865±73 | 54±20 |
| 4j | 66±2 | 14±7 | 2168±96 | 123±20 |
| 4k | 59±6 | 4±3 | 1777±159 | 0 |
| 4l | 67±6 | 20±4 | 3467±487 | 267±135 |
| 4m | 54±8 | 11±2 | 1685±240 | 191±63 |
| 4n | 62±8 | 9±2 | 2348±430 | 0 |
| 4o | 53±4 | 14±4 | 1549±246 | 142±24 |
| 4p | 72±7 | 0 | 2284±364 | 0 |
| Hidroxiuréia | 61,18±0,17 ^a | 22,78±9,19 ^a | 804±36 ^a | 12±3,5 ^a |
| sulfadiazina | 80,3±7,7 ^a | 48,71±0,7 ^a | 487±22 ^a | 393±30 ^a |

^a Resultados obtidos na concentração de 2 mM; Valores são Médias ± DP (n = 3).

Tabela 25. Efeito das 4-tiazolidinonas (**5a-p**) nas culturas de Células Vero infectadas com *T. gondii* e no número médio de parasitos intracelulares.

| Compostos | % Células Vero Infectadas | | Número Médio de Parasitos Intracelulares | |
|--------------|---------------------------|-------------------------|--|---------------------|
| | Não-tratadas (controle) | Tratadas (1mM) | Não-tratadas (controle) | Tratadas (1mM) |
| 5a | 67±3 | 18±4 | 2229±228 | 69±28 |
| 5b | 66±4 | 8±1 | 2303±429 | 30±18 |
| 5c | 63±7 | 17±3 | 1711±251 | 59±13 |
| 5d | 67±6 | 9±1 | 2488±332 | 73±16 |
| 5e | 68±4 | 0 | 2069±301 | 0 |
| 5f | 65±5 | 21±4 | 2281±334 | 116±24 |
| 5g | 67±3 | 15±7 | 2399±238 | 0 |
| 5h | 65±3 | 16±1 | 2417±223 | 137±20 |
| 5i | 66±6 | 24±3 | 2237±151 | 132±29 |
| 5j | 70±4 | 2±1 | 2575±297 | 0 |
| 5k | 54±7 | 10±1 | 1608±219 | 26±11 |
| 5l | 63±9 | 3±0,6 | 1997±363 | 10±4 |
| 5m | 59±9 | 5±2 | 1716±358 | 0 |
| 5n | 64±5 | 57±3 | 2079±308 | 241±38 |
| 5o | 62±6 | 11±2 | 1947±353 | 0 |
| 5p | 62±2 | 5±0,9 | 1986±108 | 24±19 |
| Hidroxiuréia | 61,18±0,17 ^a | 22,78±9,19 ^a | 804±36 ^a | 12±3,5 ^a |
| sulfadiazina | 80,3±7,7 ^a | 48,71±0,7 ^a | 487±22 ^a | 393±30 ^a |

^a Resultados obtidos na concentração de 2 mM; -: não realizado; Valores são Médias ± DP (n = 3).

Para uma melhor visualização dos resultados, os anexos A-F apresentam os gráficos dos efeitos das tiossemicarbazonas e das três séries de 4-tiazolidinonas nas culturas de células Vero infectadas com *T. gondii*.

4.5 Atividade Antimicrobiana

Os valores de ZMI obtidos no teste de Difusão em Disco para todas as 4-tiazolidinonas sintetizadas estão ilustrados nas tabelas 26-31.

Os resultados indicam que apenas o composto **3p** apresentou atividades antibióticas significantes frente a *S. aureus*, *S. faecalis*, e *M. smegmatis*. Os

compostos **3o** e **3p** foram mais efetivos contra *B. subtilis*, e os compostos **3c**, **3d** e **3p** apresentaram atividades significantes frente a *M. tuberculosis*. Apenas os compostos **4c** e **4n** apresentaram valores de ZMI maiores que 18 mm frente a *M. phlei*. Em adição, diversos compostos da série **3a-p** apresentaram significantes atividades antibioticas frente a *M. luteus*. Para este mesmo microrganismo, alguns compostos da série **5a-p** apresentaram atividades insignificantes.

Já os microrganismos *E. coli* e *K. pneumoniae* mostraram-se resistentes a todos os compostos testados na concentração pré-estabelecida do disco.

Tabela 26. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série 3a-p frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | | | | | |
|---------------|------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | Sa | Bs | Ml | Ec | Kp | Sf | Mp | Ms | Mt |
| 3a | – | 15 | 20 | – | – | 12 | 07 | 09 | 14 |
| 3b | – | 13 | 21 | – | – | 15 | 12 | 15 | 17 |
| 3c | 10 | 17 | 20 | – | – | 15 | 12 | 16 | 22 |
| 3d | 11 | 16 | 19 | – | – | 11 | 12 | 13 | 18 |
| 3e | – | – | 22 | – | – | 11 | – | – | – |
| 3f | – | 15 | 25 | – | – | 16 | 07 | 13 | 14 |
| 3g | – | 14 | 15 | – | – | 16 | 07 | 12 | 14 |
| 3h | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 3i | – | – | 10 | – | – | – | – | – | – |
| 3j | – | – | 16 | – | – | 12 | – | – | – |
| 3k | – | – | 16 | – | – | 12 | – | – | – |
| 3l | 14 | 09 | 22 | – | – | 11 | – | – | – |
| 3m | – | 11 | 16 | – | – | – | – | – | – |
| 3n | – | – | 15 | – | – | – | – | – | – |
| 3o | – | 19 | 25 | – | – | – | – | – | – |
| 3p | 26 | 19 | 22 | – | – | 18 | 16 | 26 | 23 |
| Rifampicina | 31 | 20 | 49 | 14 | NT | 20 | 25 | 30 | 28 |
| Cloranfenicol | 25 | 27 | 50 | 27 | 25 | NT | NT | NT | NT |

n = 3; –: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm; NT: não testado

Sa: *S. aureus*, Bs: *B. subtilis*, Ml: *M. luteus*, Ec: *E. coli*, Kp: *K. pneumoniae*, Sf: *S. faecalis*, Mp: *M. phlei*, Ms: *M. smegmatis*, Mt: *M. tuberculosis*

Tabela 27. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série **4a-p** frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | | | | | |
|---------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>Sa</i> | <i>Bs</i> | <i>Ml</i> | <i>Ec</i> | <i>Kp</i> | <i>Sf</i> | <i>Mp</i> | <i>Ms</i> | <i>Mt</i> |
| 4a | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4b | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4c | – | – | – | – | – | – | 18 | – | – |
| 4d | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4e | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4f | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4g | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4h | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4i | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4j | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4k | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4l | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4m | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4n | – | – | – | – | – | – | 22 | – | – |
| 4o | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 4p | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Rifampicina | NT | NT | NT | NT | NT | 35 | 40 | 55 | 45 |
| Cloranfenicol | 36 | 43 | 55 | 32 | 30 | 15 | NT | NT | NT |

n = 3; –: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm; NT: não testado

Sa: *S. aureus*, *Bs*: *B. subtilis*, *Ml*: *M. luteus*, *Ec*: *E. coli*, *Kp*: *K. pneumoniae*, *Sf*: *S. faecalis*, *Mp*: *M. phlei*, *Ms*: *M. smegmatis*, *Mt*: *M. tuberculosis*

Tabela 28. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p** frente à bactérias através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | | | | | |
|---------------|------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | Sa | Bs | Ml | Ec | Kp | Sf | Mp | Ms | Mt |
| 5a | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5b | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5c | - | - | 10 | - | - | - | - | - | - |
| 5d | - | - | 10 | - | - | - | - | - | - |
| 5e | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5f | - | - | 10 | - | - | - | - | - | - |
| 5g | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5h | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5i | - | - | 11 | - | - | - | - | - | - |
| 5j | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5k | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5l | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5m | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5n | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5o | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5p | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Rifampicina | NT | NT | NT | NT | NT | 35 | 40 | 55 | 45 |
| Cloranfenicol | 36 | 43 | 55 | 32 | 30 | 15 | NT | NT | NT |

n = 3; -: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm; NT: não testado

Sa: *S. aureus*, Bs: *B. subtilis*, Ml: *M. luteus*, Ec: *E. coli*, Kp: *K. pneumoniae*, Sf: *S. faecalis*, Mp: *M. phlei*, Ms: *M. smegmatis*, Mt: *M. tuberculosis*

Apenas seis compostos da série **3a-p** apresentaram valores significantes de ZMI frente a *Candida sp.* (IMUR 4249). Vários compostos das séries **3a-p** e **5a-p** apresentaram valores de ZMI menores ou iguais a 11 mm frente a *C. albicans*, e apenas o composto **3n** apresentou uma pequena atividade contra *S. cerevisiae* (12 mm). Em adição, nenhum composto testado apresentou qualquer halo de inibição frente as espécies de *Candida sp.* utilizadas no ensaio.

Tabela 29. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série **3a-p** frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | |
|-----------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. cerevisiae</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 1224) | <i>Candida sp.</i> (IMUR 720) | <i>C. albicans</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 4249) |
| 3a | – | – | – | 08 | – |
| 3b | – | – | – | 08 | 20 |
| 3c | – | – | – | 07 | 14 |
| 3d | – | – | – | 07 | 21 |
| 3e | – | – | – | 09 | – |
| 3f | – | – | – | 07 | 20 |
| 3g | – | – | – | 08 | 22 |
| 3h | – | – | – | – | – |
| 3i | – | – | – | – | 16 |
| 3j | – | – | – | – | 11 |
| 3k | – | – | – | – | – |
| 3l | – | – | – | – | 18 |
| 3m | – | – | – | 15 | 16 |
| 3n | 12 | – | – | 13 | 20 |
| 3o | – | – | – | 10 | 15 |
| 3p | – | – | – | 09 | – |
| Nistatina | 20 | 30 | 20 | 26 | 32 |

n = 3; –: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm

Tabela 30. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série **4a-p** frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | |
|-----------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. cerevisiae</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 1224) | <i>Candida sp.</i> (IMUR 720) | <i>C. albicans</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 4249) |
| 4a | – | – | – | – | – |
| 4b | – | – | – | – | – |
| 4c | – | – | – | – | – |
| 4d | – | – | – | – | – |
| 4e | – | – | – | – | – |
| 4f | – | – | – | – | – |
| 4g | – | – | – | – | – |
| 4h | – | – | – | – | – |
| 4i | – | – | – | – | – |
| 4j | – | – | – | – | – |
| 4k | – | – | – | – | – |
| 4l | – | – | – | – | – |
| 4m | – | – | – | – | – |
| 4n | – | – | – | – | – |
| 4o | – | – | – | – | – |
| 4p | – | – | – | – | – |
| Nistatina | 20 | 17 | 15 | 26 | 20 |

n = 3; –: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm

Tabela 31. Zona Média de Inibição (mm) para as 4-tiazolidinonas da série **5a-p** frente à fungos através do ensaio de Difusão em Disco.

| Compostos | Zona Média de Inibição (ZMI) em mm | | | | |
|-----------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. cerevisiae</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 1224) | <i>Candida sp.</i> (IMUR 720) | <i>C. albicans</i> | <i>Candida sp.</i> (IMUR 4249) |
| 5a | – | – | – | 10 | – |
| 5b | – | – | – | 10 | – |
| 5c | – | – | – | 09 | – |
| 5d | – | – | – | 10 | – |
| 5e | – | – | – | 10 | – |
| 5f | – | – | – | 10 | – |
| 5g | – | – | – | 09 | – |
| 5h | – | – | – | 09 | – |
| 5i | – | – | – | 09 | – |
| 5j | – | – | – | 10 | – |
| 5k | – | – | – | 10 | – |
| 5l | – | – | – | 10 | – |
| 5m | – | – | – | 09 | – |
| 5n | – | – | – | 10 | – |
| 5o | – | – | – | 11 | – |
| 5p | – | – | – | 11 | – |
| Nistatina | 20 | 17 | 15 | 26 | 20 |

n = 3; –: não possui sensibilidade ou ZMI menor que 7 mm

Quanto aos ensaios em meio líquido, os resultados demonstraram que os compostos **3f**, **3l** e **3p** apresentaram menores valores de CMI e CMB frente ao *M. luteus* quando comparados com a droga de referência (cloranfenicol). Similarmente, o composto **3c** foi mais ativo que a rifampicina contra *M. tuberculosis*. Já os compostos **3f**, **3g**, **3l** e **3n** mostraram iguais valores de CMI e CMF frente a *Candida sp.* (IMUR 4249), quando comparados com a nistatina (Tabelas 32-33). Em geral, as 4-tiazolidinonas da série **3a-p** apresentaram os melhores resultados de atividade antibiótica, em comparação com as outras duas séries sintetizadas para esta mesma classe.

Tabela 32. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) em µg/mL para as 4-tiazolidinonas selecionadas (ZMI ≥ 18 mm).

| Microrganismos | Compostos | CMI (µg/mL) | CMB (µg/mL) |
|------------------------|---------------|-------------|-------------|
| <i>M. luteus</i> | 3a | 100 | 90 |
| | 3b | 90 | 80 |
| | 3c | 60 | 50 |
| | 3d | 60 | 50 |
| | 3e | 60 | 55 |
| | 3f | 40 | 30 |
| | 3l | 40 | 30 |
| | 3o | 110 | 100 |
| | 3p | 35 | 30 |
| | Cloranfenicol | 50 | 40 |
| <i>S. faecalis</i> | 3p | 200 | 190 |
| | Cloranfenicol | 70 | 60 |
| <i>S. aureus</i> | 3p | 50 | 45 |
| | Cloranfenicol | 25 | 20 |
| <i>M. smegmatis</i> | 3p | 150 | 140 |
| | Rifampicina | 140 | 130 |
| <i>M. phlei</i> | 4c | > 800 | > 800 |
| | 4n | > 800 | > 800 |
| | Rifampicina | 130 | 120 |
| <i>M. tuberculosis</i> | 3c | 70 | 60 |
| | 3d | 100 | 90 |
| | 3p | 110 | 100 |
| | Rifampicina | 110 | 100 |

Tabela 33. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Fungicida (CMF) em $\mu\text{g/mL}$ para as 4-tiazolidinonas selecionadas ($\text{ZMI} \geq 18 \text{ mm}$).

| Microrganismos | Compostos | CMI ($\mu\text{g/mL}$) | CMF ($\mu\text{g/mL}$) |
|-----------------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|
| <i>Candida sp.</i> (IMUR 4249) | 3b | 150 | 140 |
| | 3d | 120 | 100 |
| | 3f | 80 | 70 |
| | 3g | 80 | 70 |
| | 3l | 80 | 70 |
| | 3n | 80 | 70 |
| | Nistatina | 80 | 70 |

5 Conclusão e Perspectivas

5 Conclusão e Perspectivas

- Neste trabalho, foram sintetizadas quatro séries de substâncias pertencentes às classes das tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinona, ambas apresentando substituintes eletroretiradores e eletroatratores na função arilhidrazona. Já as três séries de 4-tiazolidinonas diferenciaram-se quanto a presença ou ausência de substituintes na posição 5 do anel, sendo eles hidrogênio, acetil e *p*-nitrobenzilideno.
- Os compostos foram sintetizados através de eficientes metodologias de síntese e purificação, apresentando rendimentos entre 36-100%. Todos foram caracterizados através de suas propriedades físico-químicas, bem como por métodos espectroscópicos convencionais (RMN ¹H, RMN ¹³C e IV). Os espectros de RMN e IV apresentaram-se consistentes com as respectivas estruturas. Vale salientar que alguns compostos pertencentes à série **5a-p** não apresentaram solubilidades satisfatórias em solventes apropriados para a realização dos espectros de RMN ¹³C. Com isso, torna-se necessário a realização dos mesmos experimentos em estado sólido, o que pode contribuir para a realização de novos estudos, no intuito de se determinar a conformação e configuração das moléculas em questão.
- Em adição, está em fase de andamento a obtenção dos espectros de massas (MS) dos derivados tiazolidinônicos pertencentes às séries **4a-p** e **5a-p**, confirmando assim as massas moleculares dos mesmos, bem como atendendo possíveis exigências por parte das revistas indexadas.
- A configuração da dupla ligação exocíclica dos compostos da série **5a-p** foi determinada como configuração *Z*, a partir dos deslocamentos químicos do hidrogênio do grupo CH benzilidênico, bem como pelas constantes de acoplamento vicinal entre este mesmo átomo de hidrogênio e o carbono da carbonila (C-4).
- Alguns compostos da série **3a-p** apresentaram consideráveis atividades antibióticas frente aos microrganismos testados, alguns com valores de CMI, CMB e CMF menores ou iguais aos fármacos de referência. Dentre as

4-tiazolidinonas das séries **4a-p** e **5a-p**, apenas os compostos **4c** e **4n** apresentaram halos de inibição significantes frente a *M. phlei*.

- Em geral, todos os compostos analisados apresentaram excelentes atividades *in vitro* frente ao *T. gondii* intracelular, pois ambos reduziram significativamente a percentagem de células infectadas e o número médio de taquizoítas intracelulares. Várias moléculas, principalmente as que contêm o anel 4-tiazolidinona, demonstraram melhores resultados quando comparados com as drogas de referência (hidroxiuréia e sulfadiazina). Estes efeitos foram observados a partir da concentração analisada de 2 mM para os derivados contendo o grupo acetil na posição 5 do anel tiazolidinônico (**3a-p**), e a partir de 1mM para os compostos contendo o grupo *p*-nitrobenzilideno (**5b-p**) ou não apresentando substituinte na mesma posição do anel (**4a-p**). Inicialmente, os resultados demonstram que as últimas duas séries descritas apresentaram-se mais seletivas frente ao *T. gondii*, tornando-se necessário a realização dos testes de citotoxicidade (CI₅₀) tanto para o parasita, quanto para as células infectadas, para uma comprovação mais precisa desta atividade antiparasitária mais seletiva.
- A presença de diferentes grupos na porção arilhidrazona não acarretou em diferenças significativas de atividade anti- *T. gondii*, necessárias para um estudo inicial de QSAR (Relação Quantitativa Estrutura-Atividade). Com isso, principalmente para as 4-tiazolidinonas, torna-se necessário a síntese de novos compostos, alterando-se os substituintes ligados nas posições 2, 3 e 5 do anel, no intuito de se identificar grupos parasitóforos para a atividade anti-*T. gondii*, bem como planejar novas séries de moléculas com potencial atividade antiparasitária.

6 Referências Bibliográficas

6. Referências Bibliográficas

ABBADY, M. A.; HAFEZ, S. H. A.; KANDEEL, M. M.; MONEM, M. I. A. Syntheses of New Unsymmetrical and Symmetrical Diaryl-sulphides and Diarylsulphones Containing Thiazolinyl and Thiazolidinonyl Moieties Using 4,4'-Diacetyldiphenylsulphide. **Molecules**, v. 8, p. 622-641, 2003.

ALLEN, S.; NEWHOUSE, B.; ANDERSON, A. S.; FAUBER, B.; ALLEN, A., CHANTRY, D.; EBERHARDT, C.; ODING, J.; BURGESS, L. E. Discovery and SAR of Trisubstituted Thiazolidinones as CCR4 Antagonists. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 1619-1624, 2004.

ALVES, A. J.; LEITE, A. C. L.; SANTANA, D. P.; BELTRÃO, T. M.; COELHO, M. R. D. Synthesis of 2-Thiazolinone as Potential Antiprotozoal Activity. **II Fármaco**, v. 48, p. 1167, 1993.

ASHTON, W. T.; CANTONE, C. L.; CHANG, L. L.; HUTCHINS, S. M.; STRELITZ, R. A.; MACCOSS, M.; CHANG, R. S. L.; LOTTI, V. J.; FAUST, K. A.; CHEN, T.; BUNTING, P.; SCHORN, T. W.; KIVLIGHN, S. D.; SIEGL, P. K. S. Nonpeptide Angiotensin II Antagonists Derived from 4H-1,2,4-Triazoles and 3H-Imidazo[1,2-b][1,2,4]triazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 591-609, 1993.

ASPINALL, T. V.; JOYNSON, D. H.; GUY, E.; HYDE, J. E.; SIMS, P. F. The Molecular Basis of Sulfonamide Resistance in *Toxoplasma gondii* and Implications for the Clinical Management of Toxoplasmosis, **The Journal of Infectious Diseases**, v. 185, p. 1637-1644, 2002.

AUGUSTIN, M.; KOHLER, M. Reactions of N-(Aryl)-methylmaleamates. **Tetrahedron**, v. 32, p. 2141-2145, 1976.

BALASUBRAMANIYAN, V.; BALASUBRAMANIYAN, P.; WANI, M. J. Heterocyclisation of Maleic Anhydride Derivatives with Thiourea: Synthesis of 5-Substituted-2-imino-4-oxo-1,3-thiazolidines. **Indian Journal of Chemistry**, v. 29b, p. 1092-1096, 1990.

BARRECA, M. L.; CHIMIRRI, A.; DE LUCA, L.; MONFORTE, A. M.; MONFORTE, P.; RAO, A.; ZAPPALÀ, M.; BALZARINI, J.; DE CLERCQ, E.; PANNECOUQUE, C.; WITVROUW, M. Discovery of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as Potent Anti-HIV-1 Agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 1793-1796, 2001.

BARRECA, M. L.; BALZARINI, J.; CHIMIRRI, A.; CLERCQ, E. D.; LUCA, L. D.; HOLTJE, H. D.; HOLTJE, M.; MONFORTE, A. M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; RAO, A.; ZAPPALA, M. Design, Synthesis, Structure-Activity Relationships, and Molecular Modeling Studies of 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as Potent Anti-HIV Agents. **Journal of Medinal Chemistry**, v. 45, p. 5410-5413, 2002.

BARRECA, M. L.; CHIMIRRI, A.; DE CLERCQ, E.; DE LUCA, L.; MONFORTE, A. M.; MONFORTE, P.; RAO, A.; ZAPPALÀ, M. Anti-HIV Agents: Design and Discovery of New Potent RT Inhibitors. **Il Farmaco**, v. 58, p. 259-263, 2003.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. Porto Alegre, Artmed Editora, 243p., 2001.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SCHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

BERMAN, J. Chemotherapy of Leishmaniasis: Recent Advances in the Treatment of Visceral Diseases. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 11, p. 707–710, 1998.

BERSENEVA, V. S.; TKACHEV, A. V.; MORZHERIN, Y. Y.; DEHAEN, W.; LUYTEN, I.; TOPPET, S.; BAKULEV, V. A. Synthesis of Novel Thiazolidin-4-ones by Reaction of Malonithioamide Derivatives with Dimethyl Acetylenedicarboxylate. **Journal of the Chemical Society Perkin Transactions**, v. 1, p. 2133-2136, 1998.

BHARTI, N.; HUSAIN, K.; GARZA, M. T. G.; VEGA, D. E. C.; GARZA, J. C.; CARDENAS, B. D. M.; NAQVI, F. Synthesis and In Vitro Antiprotozoal Activity of 5-Nitrothiophene-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazone Derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, p. 3475-3478, 2002.

BHARTI, N.; SHAIENDRA; SHARMA, S.; NAQVI, F.; AZAM, A. New Palladium(II) Complexes of 5-Nitrothiophene-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazones: Synthesis, Spectral Studies and In Vitro Anti-amoebic Activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 2923-2929, 2003.

BHOPALE, G. M. Pathogenesis of Toxoplasmosis. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 26, p. 213-222, 2003a.

BHOPALE, G. M. Development of a Vaccine for Toxoplasmosis: Current Status. **Microbes and Infection**, v. 5, p. 457-462, 2003b.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de Toxoplasmose Aguda Transmitida Através da Ingestão de Carne Crua de Gado Bovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 21-25, 1997.

BONDE, C. G.; GAIKWAD, N. J. Synthesis and Preliminary Evaluation of Some Pyrazine Containing Thiazolines and Thiazolidinones as Antimicrobial Agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 2151-2161, 2004.

BOOTHROYD, J. C.; GRIGG, M. E. Population Biology of *Toxoplasma gondii* and its Relevance to Human Infection: Do Different Strains Cause Different Disease?. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 438-442, 2002.

BROWN, F. C. 4-Thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 61, p. 463-521, 1961.

BRUNO, G.; COSTANTINO, L.; CURINGA, C.; MACCARI, R.; MONFORTE, F.; NICOLÒ, F.; OTTANÀ, R.; VIGORITA, M. G. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of 5-Arylidene-2,4-thiazolidinediones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 1077-1084, 2002.

ÇAPAN, G.; ULUSOY, N.; ERGENÇ, N.; KIRAZ, M. 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^a ed. New York, ed. Springer, 1199 p., 2007.

CASAS, J. S.; ARGÜELLES-RODRÍGUEZ, M. C.; RUSSO, U.; SÁNCHEZ, A.; SORDO, J.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, A.; PINELLI, S.; LUNGHI, P.; BONATI, A.; ALBERTINI, R. Diorganotin(IV) Complexes of Pyridoxal Thiosemicarbazone: Synthesis, Spectroscopic Properties and Biological Activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 69, p. 283-292, 1998.

CASAS, J. S.; TASENDE, M. S. G.; SORDO, J. Main Group Metal Complexes of Semicarbazones and Thiosemicarbazones. A Structural Review. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 209, p. 197-261, 2000.

CASERO, R. A.; KLAYMAN, D. L.; CHILDS, G. E.; SCOVILL, J. P.; DESJARDINS, R. E. E. Activity of 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones Against *Trypanosoma rhodesiense* in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 18, p. 317-322, 1980.

COPE, A. C. Condensation Reactions. I. The Condensation of Ketones with Cyanoacetic Esters and the Mechanism of the Knoevenagel Reaction. **Journal of American Chemical Society**, v. 59, p. 2327-2330, 1937.

COPE, A. C.; HOFMANN, C. M.; WYCKOFF, C.; HARDENBERGH, E. Condensation Reactions. II. Alkylidene Cyanoacetic and Malonic Esters. **Journal of American Chemical Society**, v. 63, p. 3452-3456, 1941.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. **Substâncias Carboniladas e seus Derivados**. 1^a ed. Porto Alegre, ed. Bookman, 411 p., 2003.

DABOUN, H.; ABDEL, F.; ABDU, S. E.; HUSSEIN, M. M.; ELNAGDI, M. H. Activated Nitriles in Heterocyclic Synthesis: Novel Syntheses of Pyrrolo[1,2-*c*]imidazole and Pyrano[2,3-*d*]imidazole Derivatives. **Synthesis**, v. 6, p. 502-504, 1982.

DANNEMANN, B. R.; ISRAELSKI, D. M.; LEOUNG, G. S.; MCGRAW, T.; MILLS, J.; REMINGTON, J. S. *Toxoplasma* Serology, Parasitemia and Antigenemia in Patients at Risk for Toxoplasmic Encephalitis. **AIDS**, v. 5, p. 1363-1365, 1991.

DEGERLI, K.; KILIMCIOGLU, A. A.; KURT, Ö.; TAMAY, T.; OZBILGIN, A. Efficacy of Azithromycin in a Murine Toxoplasmosis Model, Employing a *Toxoplasma gondii* Strain from Turkey. **Acta Tropica**, v. 88, p. 45-50, 2003.

DEMILO, A. B.; REDFERN, R. E.; BORKOVEC, A. B. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones as Inhibitors of Ecdysis in *Oncopeltus Fasciatus*: Structure-activity Relationship Study. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 31, p. 713-718, 1983.

DODD, R. H.; OUANNÈS, C.; GÉRO, M. R.; POTIER, P. Hybrid Molecules: Growth Inhibition of *Leishmania donovani* promastigotes by Thiosemicarbazones of 3-Carboxy- β -carbolines. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 32, p. 1272-1276, 1989.

DU, X.; GOU, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.; MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E. Synthesis and Structure-activity Relationship Study of Potent Trypanocidal Thiosemicarbazone Inhibitors of the Trypanosomal Cysteine Protease Cruzain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2695-2707, 2002.

DUFFY, K. J.; SHAW, A. N.; DELORME, E.; DILLON, S. B.; ERICKSON-MILLER, C.; GIAMPA, L.; HUANG, Y.; KEENAN, R. M.; LAMB, P.; LIU, N.; MILLER, S. G.; PRICE, A. T.; ROSEN, J.; SMITH, H.; WIGGALL, K. J.; ZHANG, L.; LUENGO, J. I. Identification of a Pharmacophore for Thrombopoietic Activity of Small, Non-Peptidyl Molecules. 1. Discovery and Optimization of Salicylaldehyde Thiosemicarbazone Thrombopoietin Mimics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 3573-3575, 2002.

EASMON, J.; HEINISCH, G.; HOLZER, W.; ROSENWIRTH, B. Pyridazines. 63. Novel Thiosemicarbazones Derived from Formyl- and Acyldiazines: Synthesis, Effects on Cell Proliferation, and Synergism with Antiviral Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 3288-3296, 1992.

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.; ÇAPAN, G.; GÜNAY, N.S.; ÖZKIRIMLI, S.; GÜNGÖR, M.; ÖZBEY, S. KENDI, E. Synthesis and Hypnotic Activity of New 4-Thiazolidinone and 2-Thioxo-4,5-imidazolidinedione Derivatives. **Archiv der Pharmazie**, v. 332, p. 343-347, 1999.

FINCH, R. A.; LIU, M. C.; CORY, A. H.; CORY, J. G.; SARTORELLI, A. C. Triapine (3-Aminopyridine-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazone; 3-AP): an Inhibitor of Ribonucleotide Reductase with Antineoplastic Activity, **Advances in Enzyme Regulation**, v. 39, p. 3-12, 1999.

GAGNE, S. S. Toxoplasmosis. **Primary Care Update for Ob/Gyns**, v. 8, p. 122-126, 2001.

GARCIA, J. L., NAVARRO, I. T., OGAWA, L., OLIVEIRA, R. C., GARCIA, S. M. F., LEITE, J. Soroepidemiologia da Toxoplasmose e Avaliação Ocular pela Tela de Amsler, em pacientes da Zona Rural, Atendidos na Unidade de Saúde do Município de Jaguapitã, PR, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 671-676, 1999.

GENOVA, P.; VARADINOVA, T.; MATESANZ, A. I.; MARINOVA, D.; SOUZA, P. Toxic Effects of Bis(thiosemicarbazone) Compounds and its Palladium(II) Complexes on Herpes Simplex Virus Growth. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 197, p. 107-112, 2004.

GOEL, B.; RAM, T.; TYAGI, R.; BANSAL, E.; KUMAR, A.; MUKHERJEE, D.; SINHA, J. N. 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.

GUDUDURU, V.; HURH, E.; DALTON, J. T.; MILLER, D. D. Synthesis and Antiproliferative Activity of 2-Aryl-4-oxo-thiazolidin-3-yl-amides for Prostate Cancer. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 5289-5293, 2004.

GÜRSOY, A.; TERZIOGLU, N.; ÖTUK, G. Synthesis of Some New Hydrazone-hydrazones, Thiosemicarbazides and Thiazolidinones as Possible Antimicrobials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 32, p. 753-757, 1997.

HIRST, S. I.; L. A. STAPLEY. Parasitology: The Dawn of a New Millennium. **Parasitology Today**, v. 16, p. 1-3, 2000.

HOYEN, D. Toxoplasmosis. **Medicine**, v. 33, p. 120-121, 2005.

HOLLA, B. S.; MALINI, K. V.; RAO, B. S.; SAROJINI, B. K.; KUMARI, N. S. 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.

IWU, M. M. ; JACKSON, J. E.; SCHUSTER, B. G. Medicinal Plants in the Fight Against Leishmaniasis. **Parasitology Today**, v. 10, p. 65-68, 1994.

JACKSON, M. H.; HUTCHISON, W. M. **The Prevalence and Source of Toxoplasma Infection in the Environment**. Baker, J. R., Muller, R., London, ed. *Advances in Parasitology*. Academic Press, 105 p., 1989.

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.; VANE, F. M.; TALLER, R. A.; HSI, N. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance. 8. Ring-substituted Phenylhydrazonessemicarbazones + Thiosemicarbazones. **Journal of American Chemical Society**, v. 86, p. 3351-3358, 1964.

KARAH, N. Synthesis and Primary Cytotoxicity Evaluation of New 5-Nitroindole-2,3-one Derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 909-918, 2002.

KAVITHA, C. V.; BASAPPA; NANJUNDA, S. S.; MANTELINGU, K.; DORESWAMY, S.; SRIDHAR, M.A.; PRASAD, J. S.; RANGAPPA, K. S. Synthesis of New Bioactive Venlafaxine Analogs: Novel Thiazolidin-4-ones as Antimicrobials. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 2290-2299, 2006.

KINGSBURY, C. A.; DRANEY, D.; SOPCHIK, A.; RISSLER, W.; DURHAM, D. Survey of Carbon-13-hydrogen Splittings in Alkenes. **Journal of Organic Chemistry** v. 41, p. 3863-3868, 1976.

KLAYMAN, D. L.; SCOVILL, J. P.; BARTOSEVICH, J. F.; MASON, C. J. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. 2. N4,N4-Disubstituted Derivatives as Potential Antimalarial Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 22, p. 1367-1373, 1979.

KLAYMAN, D. L.; SCOVILL, J. P.; BARTOSEVICH, J. F.; BRUCE, J. 2-Ethylpyridine Thiosemicarbazones. Derivatives of 2-Acetylquinoline as Potencial Antimalarial Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 49-53, 1984.

KÜÇÜKGÜZEL, S. G.; ORUÇ, E. E.; ROLLAS, S.; ŞAHİN, F.; ÖZBEK, A. Synthesis, Characterization and Biological Activity of Novel 4-Thiazolidinones, 1,3,4-Oxadiazoles and Some Related Compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 197-206, 2002.

KÜÇÜKGÜZEL, G.; KOCATEPE, A.; DE CLERCQ, E.; ŞAHİN F.; GÜLLÜCE, M. Synthesis and Biological Activity of 4-Thiazolidinones, Thiosemicarbazides Derived from Diflunisal Hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 353-359, 2006.

LI, J.; CHEN, S.; LI, X.; NIU, C.; DOYLE, T. W. Efficient Synthesis of Ribonucleotide Reductase Inhibitors 3-Aminopyridine-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazone (3-AP) and 3-Amino-4-methylpyridine-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazone (3-AMP) Via Palladium Mediated Cross-Coupling Reactions. **Tetrahedron**, v. 54, p. 393-400, 1998.

LI, Y. X.; WANG, S. H.; LI, Z. M.; SU, N.; ZHAO, W. G. Synthesis of novel 2-phenylsulfonylhydrazono-3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl) thiazolidine-4-ones from thiosemicarbazide precursors. **Carbohydrate Research** v. 341, p. 2867–2870, 2006.

LIMA, M. C. A.; COSTA, D. L. B.; GÓES, A. J. S.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Synthèse et Activité Antimicrobienne de Derives Chlorobenzyl Benzylidene Imidazolidinediones et Thiazolidinediones Substituées. **Pharmazie**, v. 47, p. 182-184, 1992.

MCFADDEN, D. C.; CAMPS, M.; BOOTHROYD, J. C. Resistance as a Tool in the Study of Old and New Drug Targets in *Toxoplasma*. **Drug Resistance Updates**, v. 4, p. 79-84, 2001.

MCLEAN, J.; WILSON, F. J. The reaction between thiosemicarbazones and maleic anhydride. **Journal of the Chemical Society**, p. 1048-1050, 1939.

MELO, E. J. T.; MAYERHOFFER, R. O.; SOUZA, W. Hydroxyurea Inhibits Intracellular *Toxoplasma gondii* Multiplication. **FEMS Microbiology Letters**, v. 185, p. 79-82, 2000.

MELO, E. J. T.; BEIRAL, H. J. Effect of Hydroxyurea on the Intracellular Multiplication of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 65-69, 2003.

MENEZES, E. H. C.; GÓES, A. J. S.; DIU, M. B. S.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Synthesis and Structure of Substituted Benzyl Imidazolidinedione and Chlorobenzyl Thiazolidinedione Compounds. **Pharmazie**, v. 47, p. 457-458, 1992.

NASCIMENTO, A. A. P. L. **Síntese e Avaliação de Atividades Anti-*Toxoplasma gondii* e Antimicrobiana de Tiossemicarbazidas, 4-Tiazolidinonas e 1,3,4-Tiadiazóis obtidos a partir do Éster 5-Metil-1*H*-Imidazol-4-Carboxilato de Etila**, Dissertação de Mestrado, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 79 p., 2007.

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.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**, 3^a ed. Approved Standard. NCCLS publication M7-A3. Villanova, PA, 1993.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana**. 10^a ed. São Paulo, ed. Atheneu, 428p., 2000.

NIU, C.; LI, J.; DOYLE, T. W.; CHEN, S. Synthesis of 3-Aminopyridine-2-carboxaldehyde Thiosemicarbazone (3-AP) **Tetrahedron**, v. 54, p. 6311-6318, 1998.

OTA, A. T.; TEMPERINI, M. L. A.; ARÊAS, E. P. G.; LOOS, M. 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.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M. L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREAD, S.; VIGORITA, M. G. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and Synthesis of Novel Anti-inflammatory Agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4243-4252, 2005.

PANDEYA, S. N.; SRIRAM, D.; NATH, G.; DECLERCQ, E. Synthesis, Antibacterial, Antifungal and Anti-HIV Activities of Schiff and Mannich Bases Derived from Isatin Derivatives and N-[4-(4'-Chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 9, p. 25-31, 1999.

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

PAPASTAIKOUDI, T. S.; TSOTINIS, A.; RAPTOPOULOU, C.; SAMBANI, C.; THOMOU, H. Synthesis of New Alkylaminoalkyl Thiosemicarbazones of 3-Acetylindole and their Effect on DNA Synthesis and Cell Proliferation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 30, p. 107-114, 1995.

PENA-RODRIGUEZ, L. M. Plant Natural Products with Leishmanicidal Activity **Natural Product Reports**, v. 18, p. 674, 2001.

PITTET, D. Promotion of Hand Hygiene: Magic, Hype, or Scientific Challenge?. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 23, p. 118-119, 2002.

PROUT, F. S.; ABDEL-LATIF, A. A.; KAMAL, M. R. Catalyst Study of the Knoevenagel Condensation. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 8, p. 597-599, 1963.

RAO, A.; BALZARINI, J.; CARBONE, A.; CHIMIRRI, A.; DE CLERCQ, E.; MONFORTE, A.M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; ZAPPALÀ, M. 2-(2,6-Dihalophenyl)-3-(pyrimidin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones as Non-nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors. **Antiviral Research**, v. 63, p. 79-84, 2004.

RAWAL, R. K.; PRABHAKAR, Y. S.; KATTI, S. B.; DE CLERCQ, E. 2-(Aryl)-3-furan-2-ylmethyl-thiazolidin-4-ones as Selective HIV-RT Inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 6771-6776, 2005.

REMYINGTON, J. S.; MCLEOD, R.; DESMONTS, G. **Toxoplasmosis**. Remington, J. S., Klein, J. O. Philadelphia, ed. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant, 140-267 p., 1995.

SAKAGAMI, Y.; KAJAMURA, K. Bactericidal Activities of Disinfectants Against Vancomycin-resistant *Enterococci*. **Journal of Hospital Infection**, v. 56, p. 140-144. 2006.

RODRIGUEZ, E. C.; MARCAURELLE, L. A.; BERTOZZI, C. R. Aminoxy-, hydrazide-, and Thiosemicarbazide-functionalized Saccharides: Versatile Reagents for Glycoconjugate Synthesis. **Journal of Organic Chemistry**, v. 63, p. 7134-7135, 1998.

SAHA, N. C.; SAHA, A.; BUTCHER, R. J.; CHAUDHURI, S.; SAHA, N. Synthesis and Structural Characterisation of New Iron(III) Complexes With Biologically Relevant Pyrazolyl Thiosemicarbazones, **Inorganica Chimica Acta**, v. 339, p. 348-354, 2002.

SARODNICK, G.; HEYDENREICH, M.; LINKER, T.; KLEINPETER, E. Quinoxalines. Part 12: Synthesis and Structural Study of 1-(Thiazol-2-yl)-1H-pyrazolo[3,4-]quinoxalines – The Dehydrogenative Cyclization with Hydroxylamine Hydrochloride. **Tetrahedron**, v. 59, p. 6311- 6321, 2003.

SHIOMORI, T.; MIYAMOTO, H.; MAKASHIMA, K.; YOSHIDA, M.; FUJIYOSHI, T.; UDAKA, T.; INABA, T.; HIRAKI, N. Evaluation of Bedmaking-related Airborne and Surface Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* Contamination. **Journal of Hospital Infection**, v. 50, p. 30-35, 2002.

SILVA, M. J.; ALVES, A. J.; NASCIMENTO, S. C. Synthesis and Cytotoxic Activity of *N*-Substituted Thiosemicarbazones of 3-(3,4-Methylenedioxy)-phenylpropanal. **Farmaco**, v. 53, p. 241-243, 1998.

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

SMITH, M. B.; MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 5^a ed., New York, ed. Wiley Inter-Science, 2083 p., 2001.

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.

TEMPERINI, M. L. A.; SANTOS, M. R.; MONTEIRO, V. R. P. Spectroscopic Study of the Isomerization of Z-Pyridine-2-formyl to E-Pyridine-2-formyl Thiosemicarbazone. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 51, p. 1517-1524, 1995.

TENÓRIO, R. P.; CARVALHO, C. S.; PESSANHA, C. S.; LIMA, J. G.; DE FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; MELO, E. J. T.; GÓES, A. J. S. Synthesis of Thiosemicarbazone and 4-Thiazolidinone Derivatives and their *In Vitro* Anti-*Toxoplasma gondii* Activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 2575-2578, 2005a.

TENÓRIO, R. P.; Góes, A. J. S.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: Métodos de Obtenção, Aplicações Sintéticas e Importância Biológica. **Química Nova**, v. 28, p. 1030-1037, 2005b.

TENÓRIO, R. P. **Síntese de Tiossemicarbazonas Substituídas e Derivados de 4-Tiazolidinonas e Avaliação *In Vitro* Contra *Toxoplasma gondii***. Dissertação de Mestrado, Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 110 p., 2005c.

TORRES, R. A.; WEINBERG, W.; STANSELL, J.; LEOUNG, G.; KOVACS, J.; ROGERS, M.; SCOTT, J. Atovaquone for Salvage Treatment and Suppression of Toxoplasmic Encephalitis in Patients with AIDS. Atovaquone/Toxoplasmic Encephalitis Study Group. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 422-429, 1977.

ULUSOY, N.; KIRAZ, M.; KÜÇÜKBASMACI, Ö. New 6-(4-Bromophenyl)-imidazo[2,1-b]thiazole Derivatives: Synthesis and Antimicrobial Activity. **Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly**, v. 133, p. 1305-1315, 2002.

VICINI, P.; GERONIKAKI, A.; ANASTASIA, K.; INCERTI, M.; ZANI, F. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel 2-Thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 3859-3864, 2006.

VÖGELI, U.; PHILIPSBORN, W.; NAGARAJAN, K.; NAIR, M. D. Structures of Addition Products of Acetylenedicarboxylic Acid Esters with Various Dinucleophiles. An application of C,H-spin-coupling Constants. **Helvetica Chimica Acta**, v. 61, p. 607-617, 1978.

WEBSTER, J. P. Rats, Cats, People and Parasites: The Impact of Latent Toxoplasmosis on Behavior. **Microbes and Infection**, v. 3, p. 1037-1045, 2001.

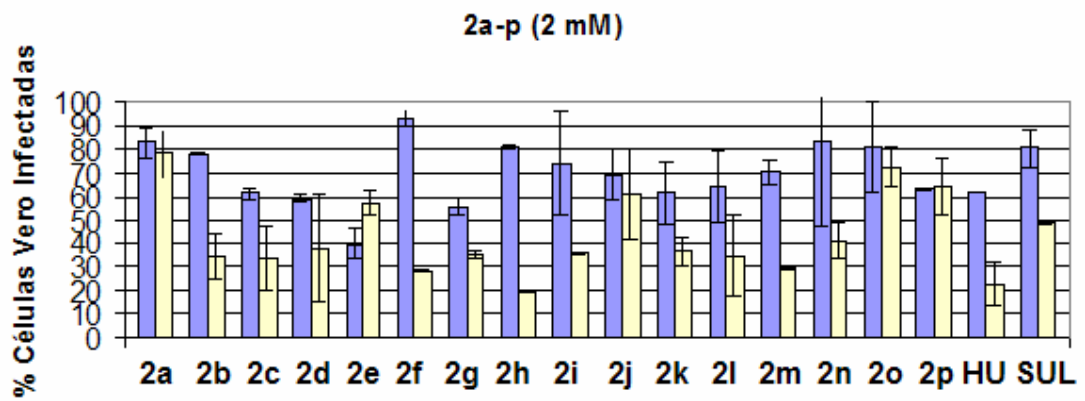
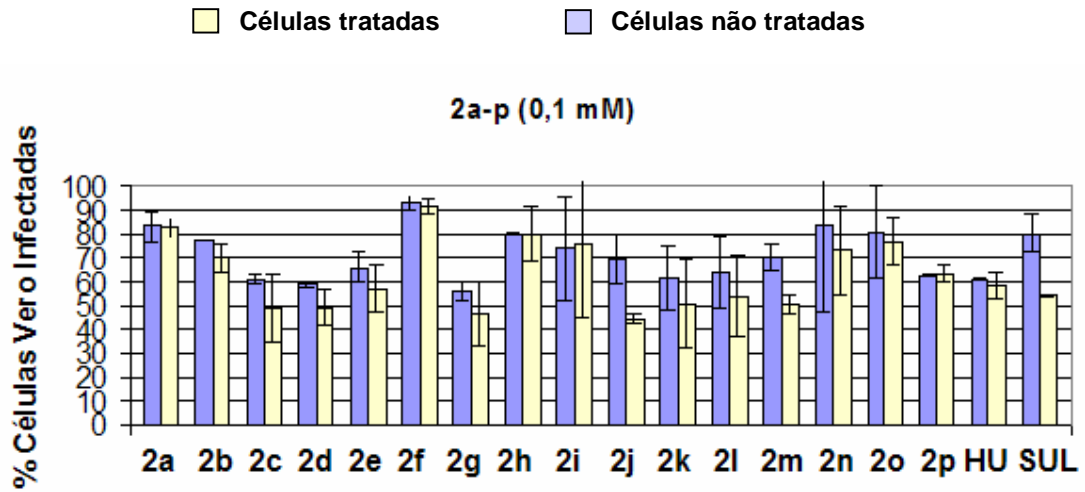
WERMUTH, C.G. **The Practice of Medicinal Chemistry**. London, Academic Press, 768 p., 2000.

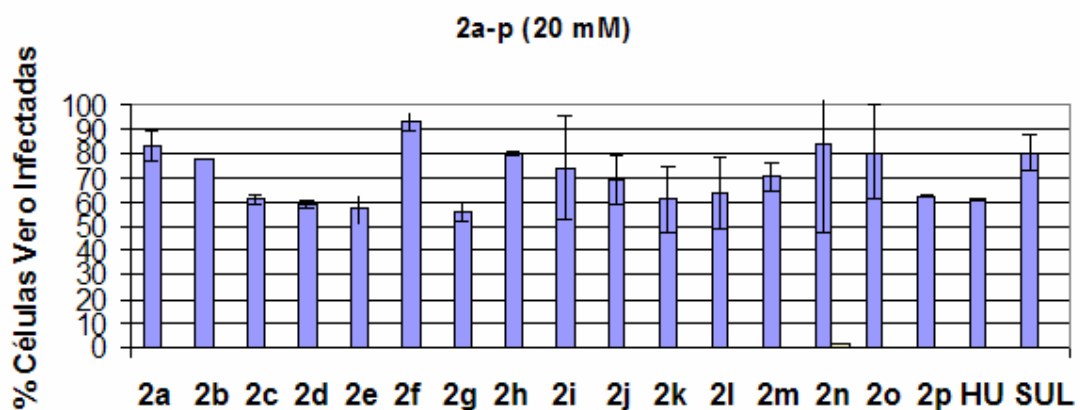
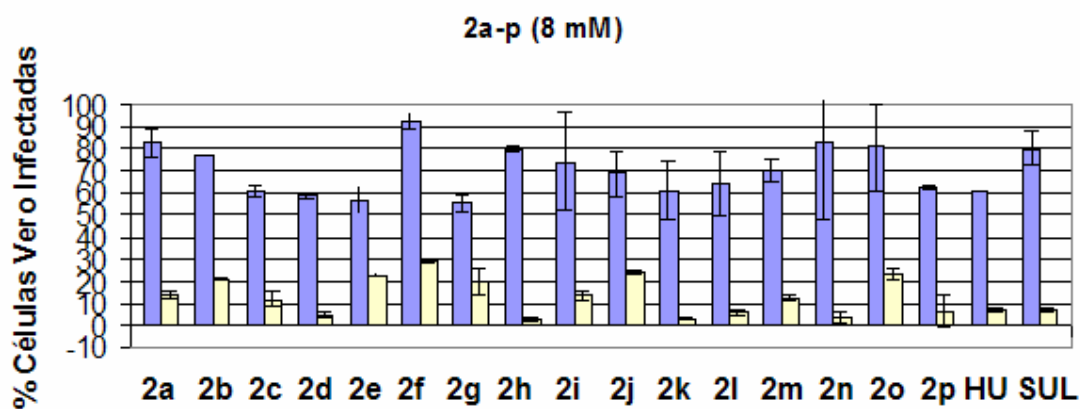
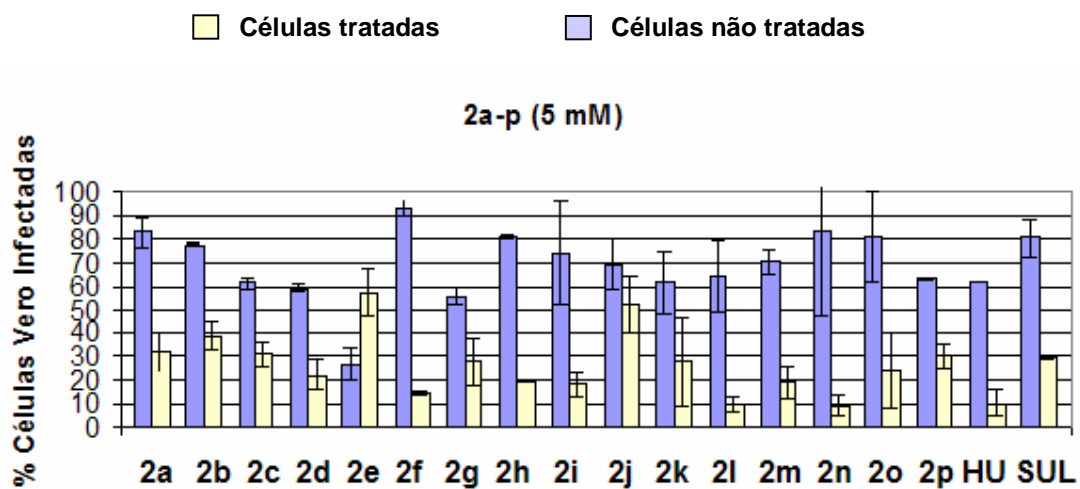
Wong, S. Y.; Remington, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*, **AIDS**, v. 7, p. 299-316, 1993.

YADAV, J. S.; REDDY, B. S. S.; BASAK, A. K.; VISALI, B.; NARSAIAH, A. V.; NAGAIAH K. Phosphane-Catalyzed Knoevenagel Condensation: A Facile Synthesis of α -Cyanoacrylates and α -Cyanoacrylonitriles. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 3, p. 546-551, 2004.

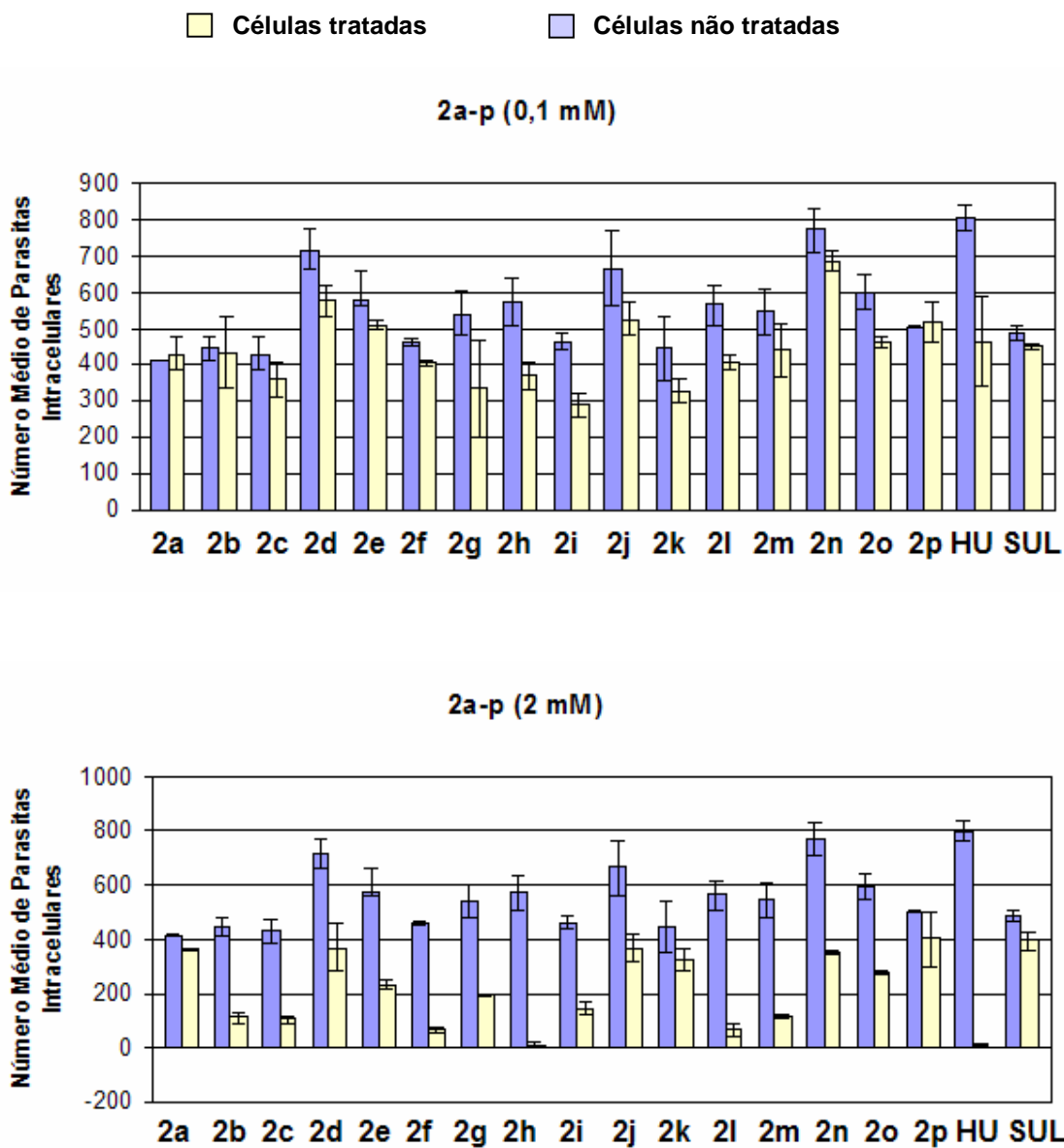
7 Apêndice

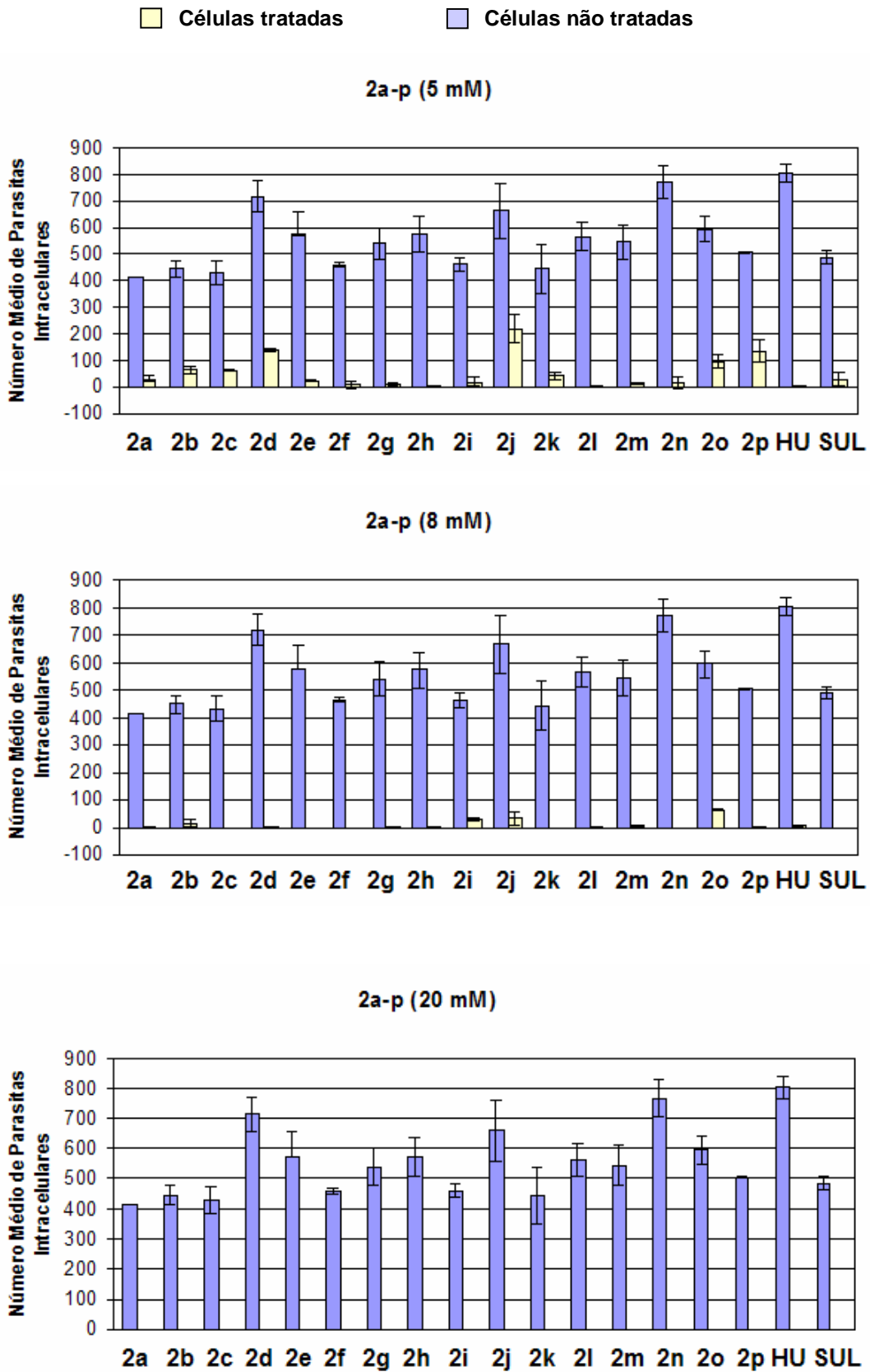
**Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as Tiossemicarbazonas (2a-p)
Efeito Sobre a Percentagem de Células Infectadas**



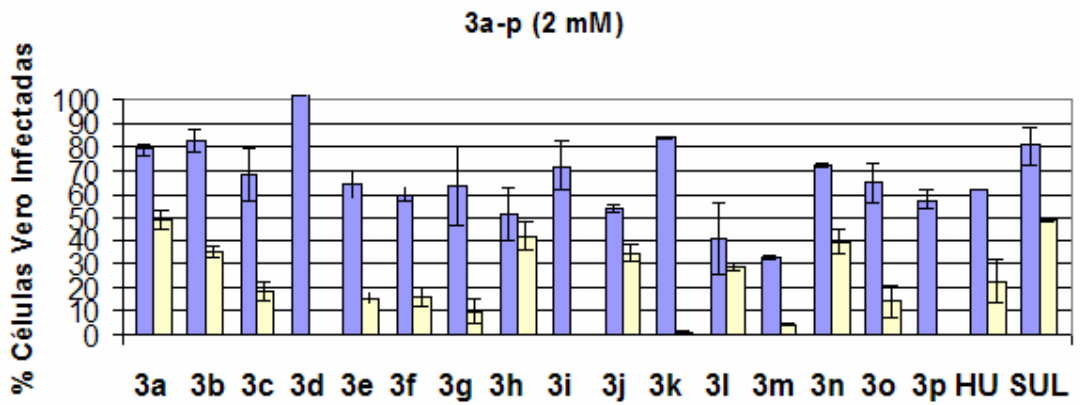
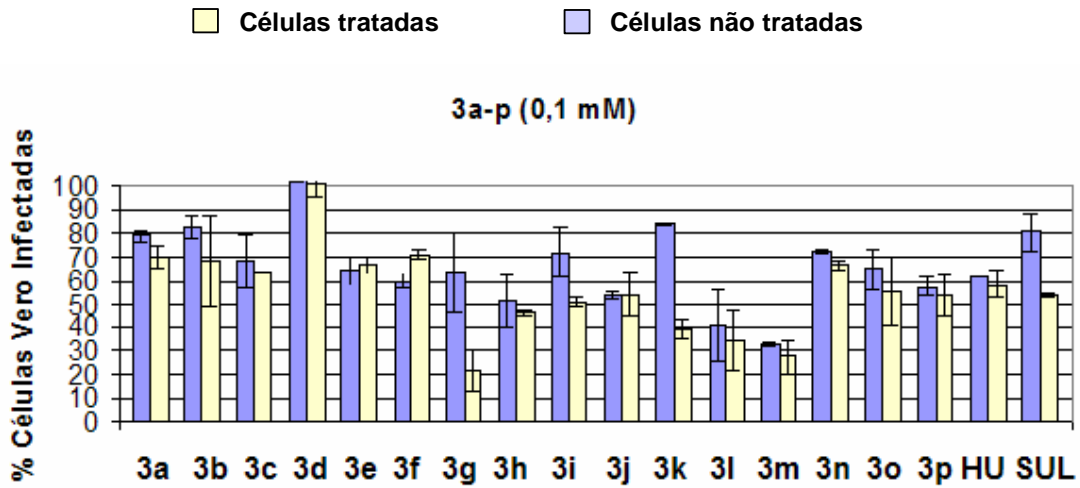


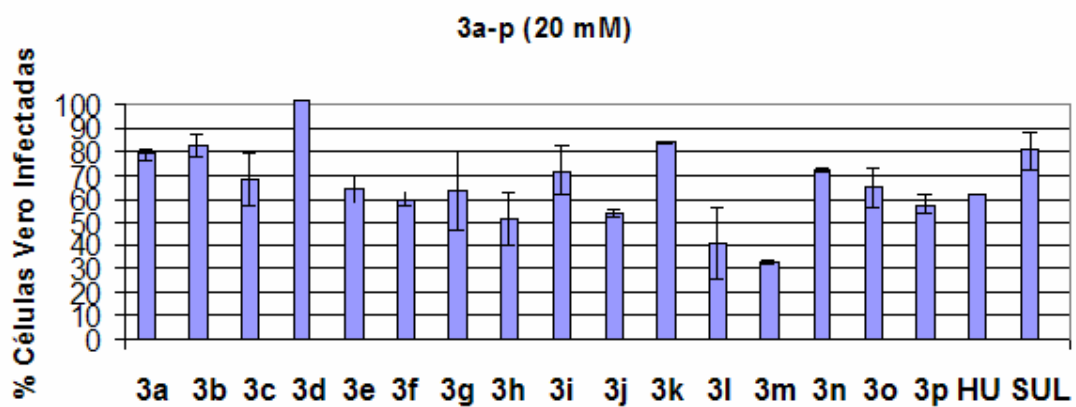
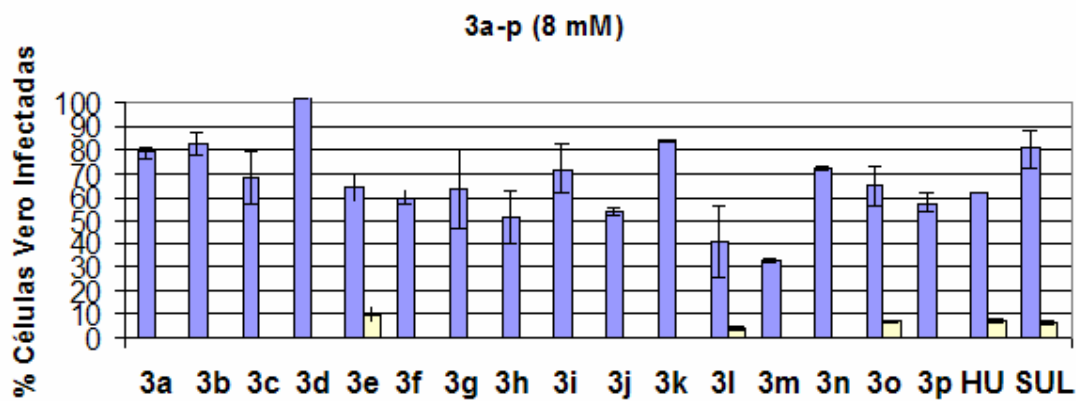
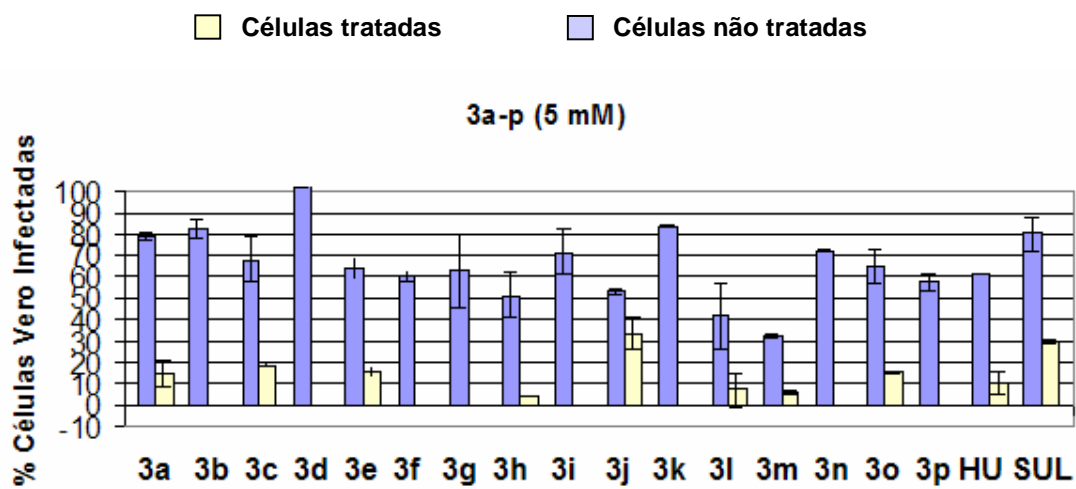
Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as Tiossemicarbazonas (2a-p)
Efeito Sobre o Número Médio de Parasitas Intracelulares



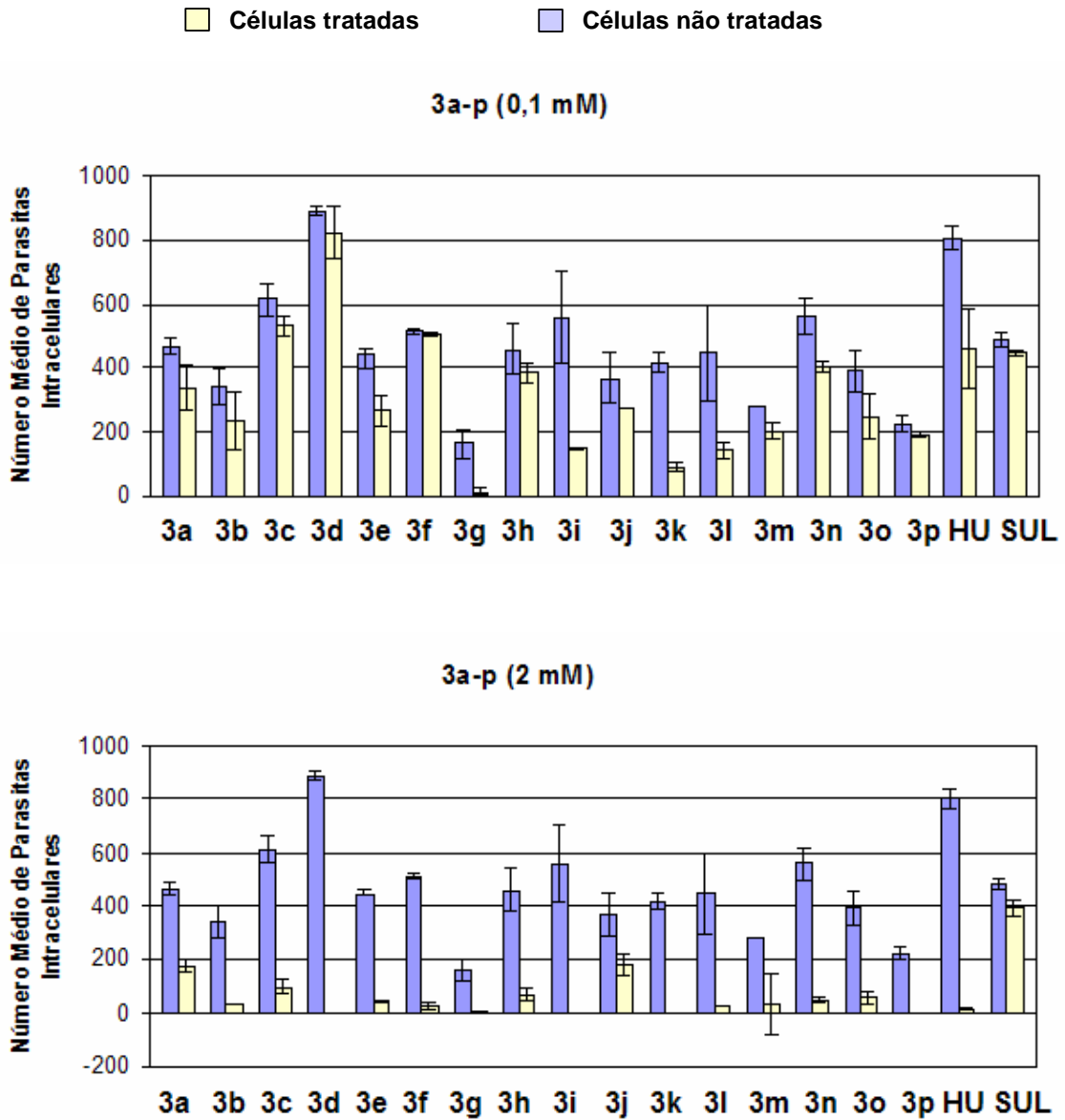


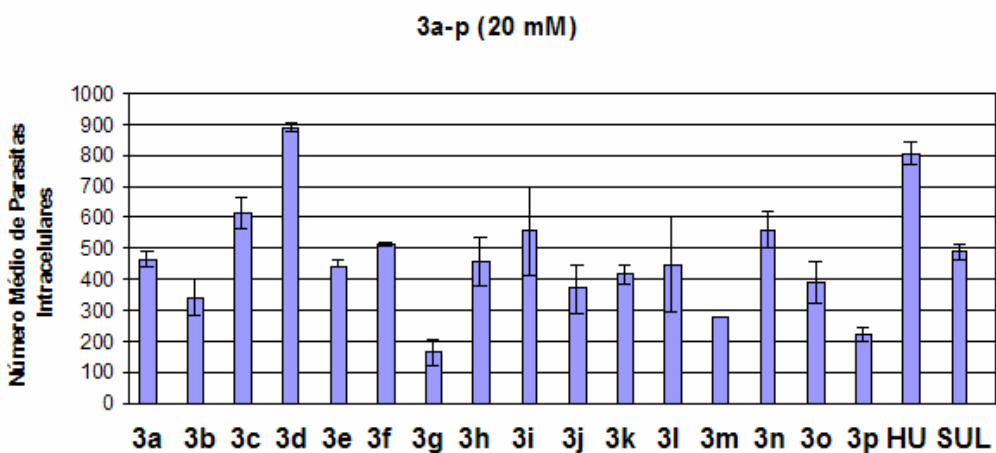
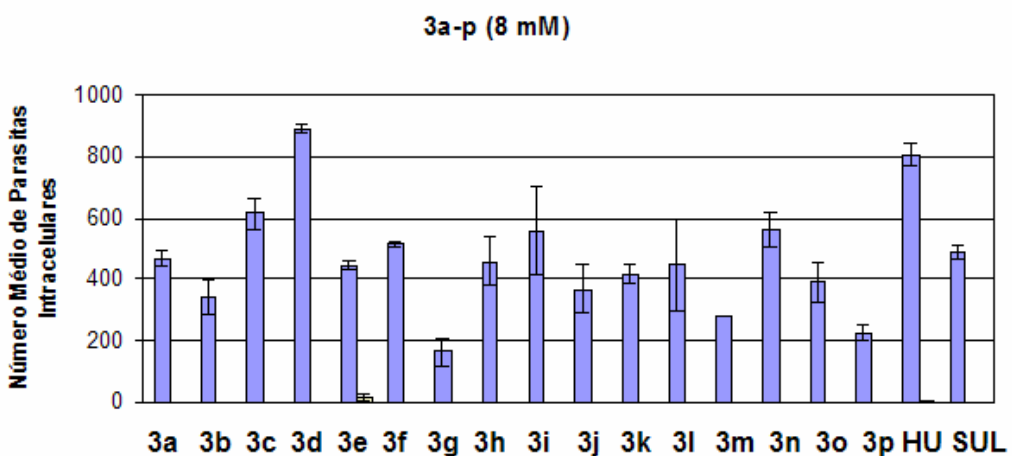
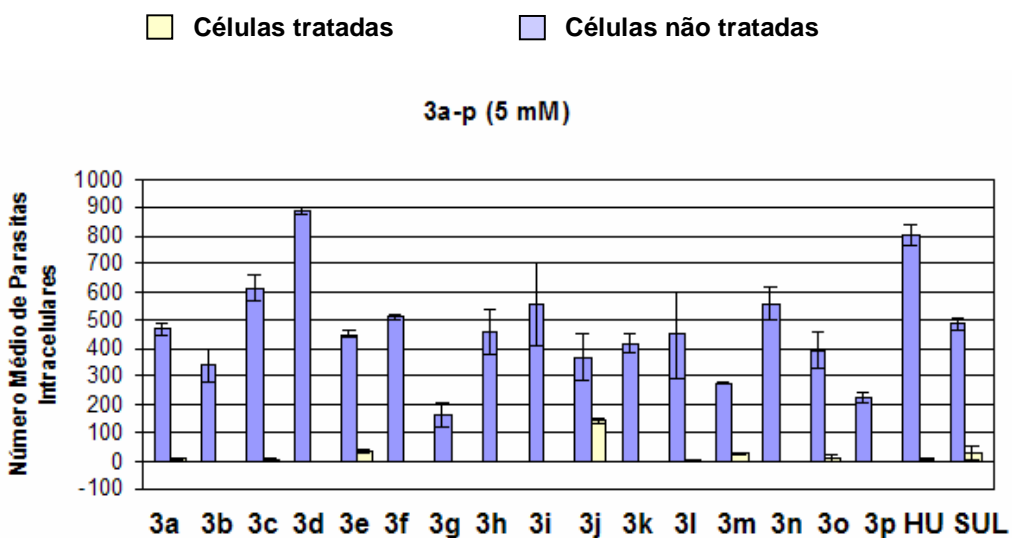
Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as 4-Tiazolidinonas (3a-p)
Efeito Sobre a Percentagem de Células Infectadas



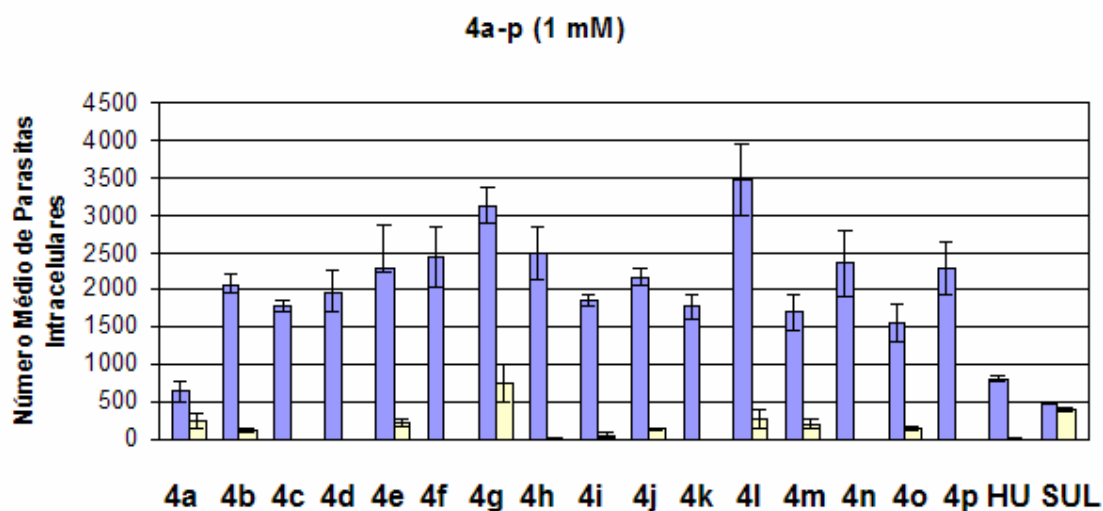
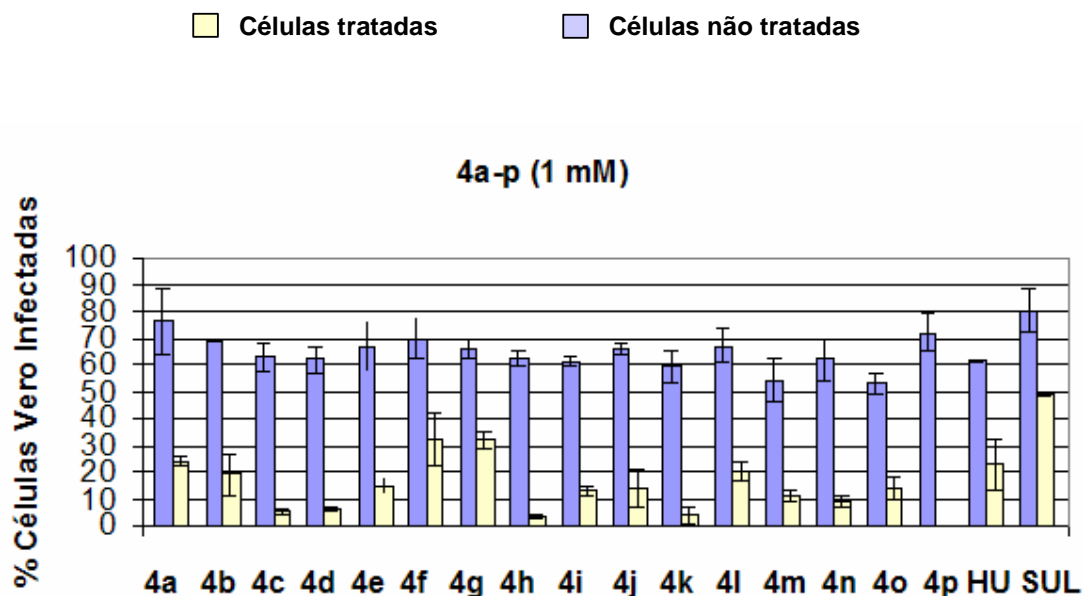


Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as 4-Tiazolidinonas (3a-p)
Efeito Sobre o Número Médio de Parasitas Intracelulares

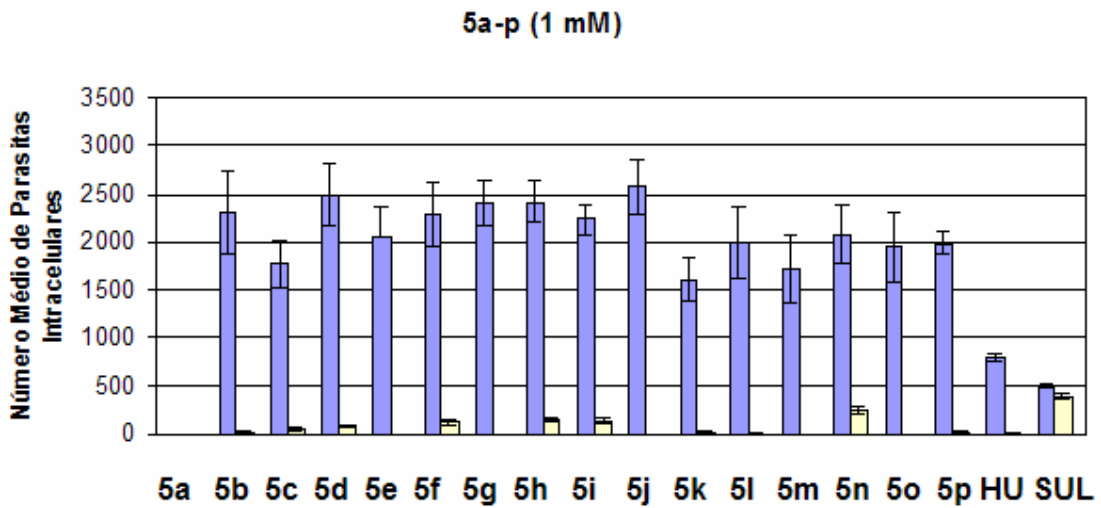
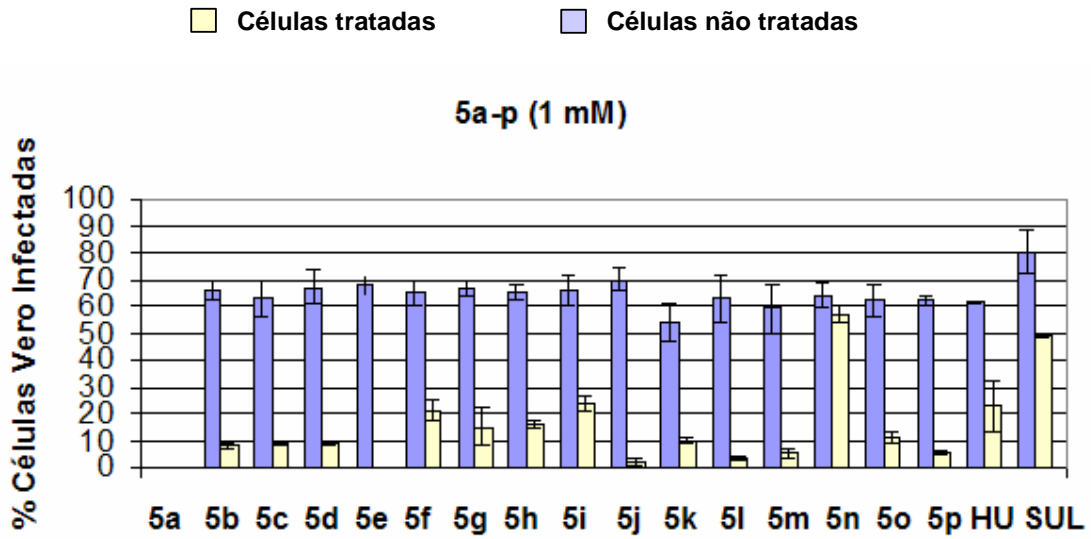




Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as 4-Tiazolidinonas (4a-p)
Efeito Sobre a Percentagem de Células Infectadas e Número Médio de Parasitas Intracelulares



Gráficos da Atividade Anti-*T. gondii* para as 4-Tiazolidinonas (5a-p)
Efeito Sobre a Percentagem de Células Infectadas e Número Médio de Parasitas Intracelulares



ARTICLE IN PRESS



Available online at www.sciencedirect.com

Bioorganic &
Medicinal
Chemistry

Bioorganic & Medicinal Chemistry xxx (2007) xxx–xxx

Synthesis, anti-*Toxoplasma gondii* and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids

Thiago M. de Aquino,^a André P. Liesen,^a Rosa E. A. da Silva,^a Vânia T. Lima,^a Cristiane S. Carvalho,^b Antônio R. de Faria,^c Janete M. de Araújo,^a José G. de Lima,^c Antonio J. Alves,^c Edésio J. T. de Melo^b and Alexandre J. S. Góes^{a,*}

^aDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

^bLaboratório de Biologia Celular, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro 28015-620, Brazil

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

Received 3 August 2006; revised 29 August 2007; accepted 12 September 2007

Abstract—In the present communication, a new series of 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids (**2a–p**) have been synthesized. Benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones substituted (**1a–p**) were also obtained and used as intermediate to give the title compounds. All synthesized compounds were characterized by IR, ¹H and ¹³C NMR. The *in vitro* anti-*Toxoplasma gondii* activity of **1a–p** and **2a–p** was evaluated. The 4-thiazolidinones (**2a–p**) were screened for their *in vitro* antimicrobial activity. For anti-*Toxoplasma gondii* activity, in general, all compounds promoted decreases in the percentage of infected cells leading to parasite elimination. These effects on intracellular parasites also caused a decrease in the mean number of tachyzoites. In addition, most of the 4-thiazolidinones showed more effective toxicity against intracellular parasites, with IC₅₀ values ranging from 0.05 to 1 mM. According to results of antimicrobial activity, compounds **2f**, **2l**, and **2p** showed best activity against *Mycobacterium luteus*, **2c** was more active against *Mycobacterium tuberculosis*, and **2g**, **2l**, and **2n** showed same activity as nistatin (standard drug) against *Candida* sp. (4249).

© 2007 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Parasitic diseases, as toxoplasmosis, affect millions of people, and they are responsible for some of the most important and prevalent diseases of humans and domestic animals. These diseases result in considerable morbidity and mortality worldwide, especially in developing countries.^{1–3} The toxoplasmosis is caused by an intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*, and is associated with severe pathologies, including pneumonia, myocarditis, pulmonary necrosis, and severe neurological disorders as psychomotor or mental retardation. In humans, infection with *T. gondii* commonly occurs either following ingestion of food or

water infected with cysts, transplacental transmission of the parasite to the fetus, or immunosuppression in adults.^{4–7}

In immunocompetent patients, the infection with *T. gondii* can cause symptoms as fever, headache, or myalgia. However, serious cases can result in toxoplasmic encephalitis (characterized by intracerebral mass lesions) with mortality rates exceeding 30%.^{6,8,9} The current therapy for clinical treatment of toxoplasmosis is isolation or combination of chemotherapy using pyrimethamine and sulfadiazine. This utilization is limited, primarily because of high toxicity and serious side effects for the host individual and its ineffectiveness in eliminating intracellular parasites. So, the discovery of less-toxic and more efficacious parasite-specific drugs becomes necessary against the infection by *T. gondii* and treatment of toxoplasmosis.^{10–17}

Keywords: Thiosemicarbazone; 4-Thiazolidinone; Antimicrobial activity; Anti-*Toxoplasma gondii* activity.

* Corresponding author. E-mail: ajsg@ufpe.br

0968-0896/\$ - see front matter © 2007 Published by Elsevier Ltd.
doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

2

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx–xxx

In recent works, Tenório et al.¹⁸ have reported the synthesis and evaluation of anti-*T. gondii* activity of thiosemicarbazones substituted at arylhydrazone moiety with nitro substituents at *ortho*, *meta*, and *para* positions, and 4-thiazolidinones substituted at *N*-3 position with phenyl, methyl and hydrogen substituents, and with the same groups at arylhydrazone moiety (Chart 1). This paper was pioneer, because of the inexistence of studies in the literature involving the action of these two classes of compounds on intracellular *T. gondii*. It is important to show a structural similarity between 4-thiazolidinones synthesized from thiosemicarbazones, as both derivatives possess the Ph-C=N-N-C-(S)-N moiety (Chart 1; A). According to biological results, the 4-thiazolidinone derivatives with a phenyl substituent at *N*-3 position showed best values of IC₅₀ for both infected cells and intracellular parasites. In order to investigate the anti-*T. gondii* activity of new structural analogues, we describe the synthesis, elucidate the structure and in vitro biological activities of thirty-two new compounds, by fixing the phenyl group at *N*-4 and *N*-3 positions in the thiosemicarbazones (**1a–p**) and 4-thiazolidinones (**2a–p**), respectively (Chart 1; B), and introducing electron-withdrawing or electron-donating substituents at arylhydrazone moiety in both derivatives (Chart 1; C).

According to the literature, thiosemicarbazones, as a class, and compounds which have the 4-thiazolidinone ring are reported to possess various biological activities, as antimicrobial, anti-inflammatory, antiviral, antiparasitic, and antituberculosis.^{19–25} As part of our studies to discover new active compounds, thiosemicarbazones (**1a–p**) and 4-thiazolidinones (**2a–p**) were screened for in vitro anti-*T. gondii* activity. As thiosemicarbazones synthesized by Tenório et al.¹⁸ do not show activity against various bacteria and fungal species, only the 4-thiazolidinones (**2a–p**) were evaluated for antimicrobial activity. The aim of these biological assays is to discover new drugs with antimicrobial and antiparasitic

potential, due to inefficient parasite elimination and an increasing number of resistant properties developed by the pathogens.¹⁷

2. Results and discussion

2.1. Chemistry

The syntheses of the thiosemicarbazones (**1a–p**) and 4-thiazolidinones (**2a–p**) have been carried out utilizing the same methodology previously reported by Tenório et al.¹⁸ (Scheme 1). Thiosemicarbazones (**1a–p**) were characterized by ¹H NMR, where signals at 9.89–11.95 and 9.13–10.25 ppm were attributed to NH and NH-Ar groups.¹⁸ The IR spectra of the 4-thiazolidinones (**2a–p**) showed absorption bands at about 1731–1707 cm⁻¹ characteristic for C=O stretching vibration (acid group), and 1621–1606 cm⁻¹ associated with C=O amide I band. In addition, absorption bands around 1360–1337 cm⁻¹ characteristic for NCS bending vibration provided confirmatory evidence for ring closure.^{19,26–28} Further support was obtained from the ¹H NMR spectra, where it did not display signs of the thiosemicarbazone protons (NH), and peaks resonated at 171.5–171.8, 161.6–167.0, and 42.3–42.5 ppm in the ¹³C NMR spectra assigned for C=O, C=N, and SCH moieties. On the other hand, ¹H NMR spectra exhibited resonance assigned to the SCH group of the thiazolidine ring appearing as triplet or double doublet (ABX pattern) at 4.42–4.59 ppm due to the interaction with methylene protons of the acetyl group.²⁹ The CH=N protons in these structures were observed in the 8.13–8.43 ppm region.³⁰ In summary, all the synthesized compounds exhibited satisfactory spectral data consistent with the structures.

2.2. Biological activities

The synthesized and purified thiosemicarbazones (**1a–p**) and 4-thiazolidinones (**2a–p**) were submitted to incubation for 24 h in cultures of Vero cells infected with *T. gondii*. After drug treatment, the cultures showed decreasing percentage of infection. As a consequence the mean number of normal tachyzoites decreased (Tables 1–3). The compounds **1h**, **2b**, **2e**, **2k**, and **2l** had an effective action on intracellular parasite multiplication. The action of these compounds for a 50% inhibition of parasite growth was ≤0.1 mM, which represents a range of about 12.5–30 µg/mL. However, sulfadiazine concentration for 50% inhibition is the same

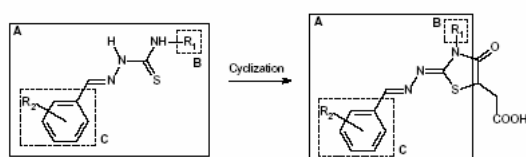
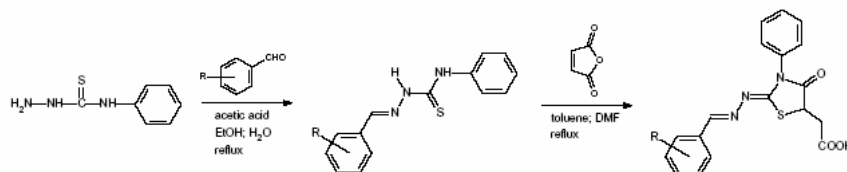


Chart 1.



Scheme 1. a; R = hydrogen, b; R = 4-chloro, c; R = 2,4-dichloro, d; R = 3,4-dichloro, e; R = 3-methyl, f; R = 2-fluoro, g; R = 4-fluoro, h; R = 3-methoxy-4-hydroxy, i; R = 4-dimethylamino, j; R = 3-chloro, k; R = 4-methyl, l; R = 3-methoxy, m; R = 4-methoxy, n; R = 2,4-dimethoxy, o; R = 3,4,5-trimethoxy, p; R = 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxy.

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., Bioorg. Med. Chem. (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx-xxx

3

Table 1. Effect of 1a–p and 2a–p on cultures of Vero cells infected with *T. gondii*

| Compound | Untreated (control) | % Infected Vero cells ^a | | | | |
|--------------|---------------------|------------------------------------|--------------|--------------|--------------|------|
| | | Treated (mM) | | | | |
| | | 0.1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 1a | 83.07 ± 6.3 | 82.5 ± 4.2 | 77.82 ± 10.6 | 31.83 ± 8.4 | 13.52 ± 1.4 | 0 |
| 1b | 77.64 ± 0.17 | 70.01 ± 5.6 | 34.8 ± 9.19 | 38.7 ± 5.6 | 21.05 ± 0.8 | 0 |
| 1c | 61.09 ± 2.12 | 49.33 ± 14 | 33.28 ± 13.4 | 31.32 ± 4.9 | 12.08 ± 2.82 | 0 |
| 1d | 59 ± 1.4 | 49.18 ± 7.7 | 38.02 ± 22.6 | 21.96 ± 6.36 | 4.54 ± 1.4 | 0 |
| 1e | 56.98 ± 6.36 | 66.23 ± 9.89 | 39.82 ± 4.9 | 26.86 ± 9.89 | 22.72 ± 1.41 | 0 |
| 1f | 93.16 ± 3.53 | 91.5 ± 3.5 | 28.13 ± 0.7 | 14.32 ± 0.7 | 29.29 ± 0.71 | 0 |
| 1g | 55.76 ± 4 | 46.59 ± 13.5 | 35.2 ± 2 | 28 ± 10 | 19.83 ± 6 | 0 |
| 1h | 80.4 ± 0.7 | 80.05 ± 11.3 | 19.7 ± 0.17 | 19.3 ± 0.17 | 2.6 ± 0.53 | 0 |
| 1i | 74.06 ± 22 | 76.14 ± 31 | 35.81 ± 0.7 | 18.14 ± 5.6 | 13.46 ± 2.12 | 0 |
| 1j | 69.21 ± 10.4 | 44.52 ± 2.12 | 60.69 ± 19 | 52.06 ± 12 | 24.49 ± 0.7 | 0 |
| 1k | 61.33 ± 13.4 | 51.08 ± 18.3 | 36.78 ± 6.3 | 27.84 ± 18.4 | 2.96 ± 0.7 | 0 |
| 1l | 64.09 ± 15 | 53.6 ± 16.9 | 34.82 ± 17 | 9.7 ± 2.8 | 5.9 ± 1.41 | 0 |
| 1m | 70.32 ± 5.6 | 50.43 ± 3.53 | 29.39 ± 0.7 | 19 ± 7.01 | 12.36 ± 0.7 | 0 |
| 1n | 83.3 ± 36 | 73 ± 19 | 41.44 ± 7.7 | 9.2 ± 4.2 | 3.6 ± 2.8 | 1.49 |
| 1o | 80.73 ± 19.09 | 76.37 ± 9.89 | 72.04 ± 8.4 | 24.32 ± 16 | 23.17 ± 2.8 | 0 |
| 1p | 62.66 ± 0.53 | 63.44 ± 3.53 | 64.07 ± 12 | 30.51 ± 4.9 | 6.42 ± 7.12 | 0 |
| 2a | 78.8 ± 2.12 | 69.7 ± 4.9 | 48.5 ± 4.2 | 14.6 ± 6.3 | 0 | 0 |
| 2b | 82.46 ± 4.9 | 68.15 ± 19 | 35.3 ± 2.47 | 0 | 0 | 0 |
| 2c | 68.08 ± 10.6 | 63.23 ± 0.17 | 18.08 ± 4.2 | 19.05 ± 0.7 | 0 | 0 |
| 2d | 108 ± 6 | 101 ± 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2e | 63.93 ± 5.6 | 66 ± 4.2 | 15.54 ± 2.8 | 16.19 ± 2.82 | 10.13 ± 3.53 | 0 |
| 2f | 59.88 ± 2.82 | 70.79 ± 2.12 | 16.14 ± 4.2 | 0 | 16 ± 4 | 0 |
| 2g | 62.9 ± 17 | 21.7 ± 8.8 | 10.2 ± 4.8 | 0 | 0 | 0 |
| 2h | 51.45 ± 10.9 | 46.02 ± 1.4 | 41.96 ± 5.65 | 3.5 ± 0.01 | 0 | 0 |
| 2i | 71.66 ± 10.6 | 50.58 ± 2.12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2j | 53.73 ± 1.4 | 53.74 ± 9.19 | 34.8 ± 3.53 | 33.5 ± 7 | 0 | 0 |
| 2k | 83.63 ± 0.7 | 39.2 ± 4.2 | 1.23 ± 0.17 | 0 | 0 | 0 |
| 2l | 41.47 ± 15 | 34.16 ± 12.7 | 28.71 ± 1.41 | 7.3 ± 7.7 | 4.16 ± 0.71 | 0 |
| 2m | 32.5 ± 0.7 | 27.32 ± 7 | 4.51 ± 0.35 | 5.9 ± 0.7 | 0 | 0 |
| 2n | 72.51 ± 0.7 | 66.36 ± 2.12 | 39.5 ± 4.9 | 0 | 0 | 0 |
| 2o | 64.85 ± 8.4 | 55.57 ± 14 | 14.33 ± 6.36 | 15.63 ± 0.7 | 7.2 ± 0.7 | 0 |
| 2p | 57.47 ± 3.67 | 53.55 ± 8.83 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hydroxyurea | 61.18 ± 0.17 | 58.23 ± 5.65 | 22.78 ± 9.19 | 10.4 ± 5.65 | 7.37 ± 0.88 | 0 |
| Sulfadiazine | 80.3 ± 7.7 | 53.84 ± 0.7 | 48.71 ± 0.7 | 29.55 ± 0.7 | 6.84 ± 1 | 0 |

^a Values are mean ± SD (n = 3).

for host cell and parasites, about 3 mM (Table 3), justifying its toxic effects. Moreover, some thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones have been found to be more effective than hydroxyurea (reference drug).

In the concentrations of 2, 5, and 8 mM, some compounds were highly toxic because very few or no infected cells and intracellular parasites could be observed, especially for 2d, 2i, 2k, and 2p (in the concentration of 2 mM), and for 2b, 2f, 2g, 2h, and 2n (in the concentration of 5 mM). For higher concentrations, the parasitophorous vacuole was enlarged and contained distorted parasites. These cytostatic effects were dependent on the drug concentrations. In the concentration of 20 mM for all drugs, no infected cells or intracellular parasites were observed. In general, 4-thiazolidinones were more effective than thiosemicarbazones for interrupting the *T. gondii* growth in lower concentrations. According to Table 3, the toxicity of all compounds was more effective against intracellular parasites, except for 2g, 2i, 2j, 2m, and 2p. Similar values were obtained with hydroxyurea but not with sulfadiazine.

It was the difficulty to access intracellular tachyzoites that are harnessed by the chemical structure of the intracellular environment, which led us to the use of these compounds in the mM (millimolar) range. However, these results are interesting because they demonstrate the effective anti-*T. gondii* action of these new compounds. Future researches can be done from these molecules' structures to enable them to access the *T. gondii* intravacuolar and make them effective in micro- to nanomolar range.

4-Thiazolidinone derivatives (2a–p) were preliminarily tested for antimicrobial activity by the disc diffusion method, and the results are reported in Tables 4 and 5. These results indicated that 2p showed best activities against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium phlei*, *M. smegmatis*, and *M. tuberculosis*. 2p and 2o were more effective against *Bacillus subtilis*, 2m against *Candida albicans*, and various compounds showed significant inhibition against *Micrococcus luteus* and *Candida* sp. (IMUR 4249). None of the compounds showed inhibitory effects against *Klebsiella pneumoniae*, *C. sp.* (IMUR 1224), and *C. sp.* (IMRU 720). Only 2n showed a little activity against *Saccharomyces cerevisiae*.

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., Bioorg. Med. Chem. (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

4

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx–xxx

Table 2. Effect of 1a–p and 2a–p on the intracellular multiplication of *T. gondii*

| Compound | Mean number of intracellular parasites ^a | | | | | |
|--------------|---|--------------|------------|------------|-----------|----|
| | Untreated (control) | Treated (mM) | | | | |
| | | 0.1 | 2 | 5 | 8 | 20 |
| 1a | 413 ± 1.4 | 429 ± 45 | 367 ± 3.5 | 32 ± 11 | 2 ± 2 | 0 |
| 1b | 446 ± 33 | 434 ± 101 | 109 ± 19 | 63 ± 16 | 15 ± 12 | 0 |
| 1c | 431 ± 46 | 359 ± 47 | 103 ± 11 | 60 ± 2.12 | 0 | 0 |
| 1d | 717 ± 57 | 577 ± 43 | 371 ± 90 | 140 ± 4.2 | 1 ± 0.7 | 0 |
| 1e | 575 ± 83 | 510 ± 12 | 232 ± 14 | 25 ± 2.82 | 0 | 0 |
| 1f | 461 ± 9.19 | 406 ± 8.4 | 67 ± 13.4 | 10 ± 14.14 | 0 | 0 |
| 1g | 541 ± 61 | 332 ± 132 | 195 ± 4.5 | 11 ± 7.5 | 1 ± 1 | 0 |
| 1h | 574 ± 66 | 368 ± 42 | 7 ± 10 | 5 ± 0.7 | 1 ± 0.7 | 0 |
| 1i | 462 ± 25 | 290 ± 35 | 143 ± 25 | 20 ± 14 | 26 ± 4.2 | 0 |
| 1j | 663 ± 103 | 526 ± 45 | 367 ± 51 | 218 ± 52 | 31 ± 25 | 0 |
| 1k | 445 ± 92 | 330 ± 31 | 326 ± 40 | 42 ± 10 | 0 | 0 |
| 1l | 565 ± 55 | 409 ± 22 | 68 ± 24 | 7 ± 1.4 | 2 ± 0.17 | 0 |
| 1m | 545 ± 65 | 439 ± 72 | 112 ± 7 | 16 ± 2 | 7 ± 2.8 | 0 |
| 1n | 771 ± 62 | 684 ± 29 | 352 ± 7.07 | 15 ± 18 | 0 | 0 |
| 1o | 596 ± 48 | 461 ± 14 | 277 ± 5.6 | 96 ± 26 | 61 ± 3.53 | 0 |
| 1p | 504 ± 2.82 | 517 ± 57 | 401 ± 101 | 138 ± 41 | 2 ± 2.8 | 0 |
| 2a | 467 ± 24 | 336 ± 71 | 176 ± 25 | 8 ± 2.19 | 0 | 0 |
| 2b | 341 ± 58 | 235 ± 92 | 32 ± 0.35 | 0 | 0 | 0 |
| 2c | 614 ± 49 | 530 ± 33 | 100 ± 24 | 5 ± 7.7 | 0 | 0 |
| 2d | 890 ± 15 | 822 ± 85 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2e | 442 ± 20 | 266 ± 47 | 44 ± 2.82 | 34 ± 7.77 | 16 ± 10 | 0 |
| 2f | 512 ± 7.7 | 504 ± 7.7 | 29 ± 14 | 0 | 0 | 0 |
| 2g | 163 ± 42 | 12 ± 9 | 2 ± 4 | 0 | 0 | 0 |
| 2h | 458 ± 80 | 385 ± 29 | 71 ± 24 | 0 | 0 | 0 |
| 2i | 558 ± 144 | 146 ± 2.82 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2j | 369 ± 79 | 273 | 181 ± 40 | 145 ± 9.1 | 0 | 0 |
| 2k | 417 ± 33 | 91 ± 17 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2l | 447 ± 153 | 144 ± 24 | 28 ± 0.7 | 1 ± 2.12 | 0 | 0 |
| 2m | 278 ± 0.7 | 202 ± 26 | 35 ± 113 | 28 ± 2.12 | 0 | 0 |
| 2n | 560 ± 58 | 401 ± 18 | 50 ± 10 | 0 | 0 | 0 |
| 2o | 391 ± 65 | 249 ± 70 | 59 ± 24 | 13 ± 13 | 1 ± 0.53 | 0 |
| 2p | 224 ± 22 | 190 ± 9.12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hydroxyurea | 804 ± 36 | 463 ± 125 | 12 ± 3.5 | 7 ± 0.7 | 6 ± 1.4 | 0 |
| Sulfadiazine | 487 ± 22 | 448 ± 9.19 | 393 ± 30 | 28 ± 24 | 0 | 0 |

^a Values are mean ± SD (n = 3).

The values of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) or minimum fungicidal concentration (MFC) of the compounds with mean zone inhibition (MZI) above or equal to 18 mm are reported in Tables 6 and 7. The results showed that the compounds 2f, 2l, and 2p have less MIC and MBC values against *M. luteus* when compared with the standard drug (chloramphenicol). Similarly, 2c is more active than rifampicin against *M. tuberculosis*. In addition, the compounds 2f, 2g, 2l, and 2n showed equal values for MIC and MFC against *Candida* sp. (IMUR 4249) when compared with nistatin.

3. Conclusion

The thiosemicarbazone (1a–p) and 4-thiazolidinone (2a–p) derivatives were synthesized and characterized based on their physical, analytical, and spectral data. All the prepared compounds were evaluated in vitro against *T. gondii* intracellular. All of them significantly reduced the percentage of infected cells and mean number of tachyzoites per cell in 2 mM concentration. Various compounds showed best results when compared

with hydroxyurea and sulfadiazine. The toxicity of majority compounds was more effective against intracellular parasites, with IC₅₀ values ranging from 0.05 to 1 mM.

The 4-thiazolidinones (2a–p) were evaluated in vitro against bacteria and fungal species. The compounds 2f (MIC = 40 µg/mL; MBC = 30 µg/mL), 2l (MIC = 40 µg/mL; MBC = 30 µg/mL), and 2p (MIC = 35 µg/mL; MBC = 30 µg/mL) were more active than chloramphenicol against *M. luteus*, 2c (MIC = 70 µg/mL; MBC = 60 µg/mL) was more active than rifampicin against *M. tuberculosis*, and the compounds 2g, 2l, and 2n (MIC = 80 µg/mL; MBC = 40 µg/mL) showed same activity as nistatin against *Candida* sp. (IMUR 4249).

It can be concluded that thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones provide interesting leads for anti-*T. gondii* drug discovery. Modifications to improve the potency of these derivatives by diversification of the ring at hydrazone moiety are currently under progress in our laboratory. Further studies involving mechanistic action are necessary to fully understand their anti-*T. gondii* activity. In addition, the antimicrobial results confirm

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx–xxx

5

Table 3. IC₅₀ values of 1a–p and 2a–p for uninfected cells, infected cells and intracellular parasites in mM

| Compound | IC ₅₀ (mM) ^a | | |
|--------------|------------------------------------|----------------|-------------------------|
| | Uninfected cells | Infected cells | Intracellular parasites |
| 1a | 5 ± 0.05 | 5 ± 0.05 | 4 ± 0.05 |
| 1b | 10 ± 1 | 7 ± 1 | 1.5 ± 0.05 |
| 1c | 6 ± 1 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1d | 6 ± 1 | 5 ± 0.05 | 2 ± 0.05 |
| 1e | 5 ± 0.05 | 5 ± 0.05 | 2 ± 0.05 |
| 1f | 4 ± 0.05 | 1.5 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1g | 10 ± 1.5 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1h | 6 ± 0.05 | 1 ± 0.05 | 0.1 ± 0.05 |
| 1i | 6 ± 0.05 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1j | 10 ± 1 | 7 ± 0.05 | 3 ± 0.05 |
| 1k | 8 ± 1 | 4 ± 1 | 3 ± 0.05 |
| 1l | 5 ± 0.05 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1m | 6 ± 0.06 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 1n | 5 ± 0.05 | 2 ± 0.06 | 2 ± 0.05 |
| 1o | 10 ± 1 | 3 ± 1 | 2 ± 0.05 |
| 1p | 10 ± 1.5 | 5 ± 1 | 4 ± 1 |
| 2a | 5 ± 0.05 | 4 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 2b | 2 ± 0.06 | 1.5 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 |
| 2c | 2 ± 0.05 | 1.5 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 2d | 4 ± 0.05 | 1.5 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 2e | 9 ± 1 | 1 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 |
| 2f | 2 ± 0.05 | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 2g | 2 ± 0.05 | 0.05 | 0.05 ± 0.02 |
| 2h | 0.1 ± 0.005 | 3 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| 2i | 1 ± 0.05 | 0.05 | 0.05 ± 0.03 |
| 2j | 10 ± 0.05 | 3 ± 0.05 | 2 ± 0.05 |
| 2k | 1 ± 0.05 | 0.1 ± 0.05 | 0.05 ± 0.02 |
| 2l | 5 ± 1 | 3 ± 0.05 | 0.1 ± 0.05 |
| 2m | 6 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 |
| 2n | 5 ± 0.06 | 2 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 |
| 2o | 2 ± 0.05 | 1 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 |
| 2p | 1 ± 0.006 | 1 ± 0.05 | 1 ± 0.05 |
| Hydroxyurea | 1 ± 0.05 | 0.5 ± 0.05 | 0.1 ± 0.05 |
| Sulfadiazine | 8 ± 0.05 | 3 ± 0.05 | 3 ± 0.05 |

^a Values are mean ± SD (n = 3).

the fact that the 4-thiazolidinone ring has great biological potential.

4. Experimental

The melting points were determined on BÜCHI-535 apparatus and are uncorrected. IR spectra were measured on BRUKER IFS-66 IR spectrophotometer. ¹H NMR were recorded on UNITY PLUS-300 MHz-VARIAN spectrometer by using tetramethylsilane as internal standard. The chemical shifts are reported in δ units, and coupling constants (*J*) are reported in hertz. TLC development was conducted on 0.25 mm silica gel plates (60F₂₅₄, Merck).

4.1. Representative procedure for (1a–q). Benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1a)

To a solution of 0.0119 mol of 4-phenylthiosemicarbazide in 11 mL of EtOH and 22 mL of water were added 0.0125 mol of benzaldehyde and 0.55 mL of acetic acid. The mixture was stirred under reflux for another 1 h and

cooled to ambient temp. After, the precipitate was collected with filter under vacuum and washed with water. White crystals; yield 91%; mp 193–195 °C; IR (KBr): 3297 and 3158 (NH), 1540 (C=N), 1442 (N–CS–N), 1265 and 1198 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.47 (s, 1H, NH), 9.22 (s, 1H, NH–Ar), 8.00 (s, 1H, CH=N), 7.65–7.68 (m, 4H, Ar–H), 7.40–7.45 (m, 5H, Ar–H), 7.29–7.30 (m, 1H, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.8 (C=S), 142.8 (CH=N), 137.7 (Cq Ar), 132.9 (Cq Ar), 130.7 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 126.2 (CH Ar), 124.5 (CH Ar).

4.1.1. 4-Chlorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1b). White crystals; yield 92%; mp 199–201 °C; IR (KBr): 3305 and 3134 (NH), 1537 (C=N), 1445 (N–CS–N), 1265 and 1194 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.21 (s, 1H, NH), 9.16 (s, 1H, NH–Ar), 7.92 (s, 1H, CH=N), 7.60–7.66 (m, 4H, Ar–H), 7.38–7.45 (m, 4H, Ar–H), 7.26–7.30 (m, 1H, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.7 (C=S), 141.6 (CH=N), 137.5 (Cq Ar), 136.6 (Cq Ar), 131.4 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 126.4 (CH Ar), 124.7 (CH Ar).

4.1.2. 2,4-Dichlorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1c). White crystals; yield 91%; mp 186–187 °C; IR (KBr): 3251 and 3142 (NH), 1537 (C=N), 1439 (N–CS–N), 1262 and 1199 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.33 (s, 1H, NH), 9.15 (s, 1H, NH–Ar), 8.32 (s, 1H, CH=N), 7.87 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–H), 7.65 (dd, 1H, *J* = 8.4, 1.5 Hz, Ar–H), 7.66 (s, 1H, Ar–H), 7.38–7.43 (m, 3H, Ar–H), 7.23–7.30 (m, 2H, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.8 (C=S), 138.5 (CH=N), 137.5 (Cq Ar), 136.7 (Cq Ar), 135.1 (Cq Ar), 129.9 (CH Ar), 129.2 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 127.8 (CH Ar), 127.6 (CH Ar), 126.3 (CH Ar), 124.4 (CH Ar).

4.1.3. 3,4-Dichlorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1d). White crystals; yield 86%; mp 206–208 °C; IR (KBr): 3310 and 3134 (NH), 1545 (C=N), 1466 (N–CS–N), 1268 and 1191 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 11.95 (s, 1H, NH), 10.25 (s, 1H, NH–Ar), 8.34 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, Ar–H), 8.11 (s, 1H, CH=N), 7.81 (dd, 1H, *J* = 8.4, 1.8 Hz, Ar–H), 7.67 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, Ar–H), 7.20–7.53 (m, 5H, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.6 (C=S), 142.0 (CH=N), 133.3 (Cq Ar), 132.7 (Cq Ar), 131.9 (Cq Ar), 131.4 (Cq Ar), 130.8 (CH Ar), 129.2 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 125.5 (CH Ar), 125.3 (CH Ar).

4.1.4. 3-Methylbenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1e). White crystals; yield 89.5%; mp 165–166 °C; IR (KBr): 3297 and 3147 (NH), 1540 (C=N), 1444 (N–CS–N), 1265 and 1202 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.05 (s, 1H, NH), 9.21 (s, 1H, NH–Ar), 7.91 (s, 1H, CH=N), 7.67 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, Ar–H), 7.40–7.49 (m, 4H, Ar–H), 7.23–7.34 (m, 3H, Ar–H), 2.39 (s, 3H, CH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.6 (C=S), 143.4 (CH=N), 138.6 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 132.9 (Cq Ar), 131.5 (CH Ar),

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

6

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx-xxx

Table 4. Inhibitory zone diameters (mm) of 2a–p against tested bacterial strains by disc diffusion method

| Compound | Mean zone inhibition (MZI) in mm ^a | | | | | | | | |
|-----------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | Sa | Bs | Ml | Ec | Kp | Sf | Mp | Ms | Mt |
| 2a | — | 15 | 20 | — | — | 12 | 07 | 09 | 14 |
| 2b | — | 13 | 21 | — | — | 15 | 12 | 15 | 17 |
| 2c | 10 | 17 | 20 | — | — | 15 | 12 | 16 | 22 |
| 2d | 11 | 16 | 19 | — | — | 11 | 12 | 13 | 18 |
| 2e | — | — | 22 | — | — | 11 | — | — | — |
| 2f | — | 15 | 25 | — | — | 16 | 07 | 13 | 14 |
| 2g | — | 14 | 15 | — | — | 16 | 07 | 12 | 14 |
| 2h | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2i | — | — | 10 | — | — | — | — | — | — |
| 2j | — | — | 16 | — | — | 12 | — | — | — |
| 2k | — | — | 16 | — | — | 12 | — | — | — |
| 2l | 14 | 09 | 22 | — | — | 11 | — | — | — |
| 2m | — | 11 | 16 | — | — | — | — | — | — |
| 2n | — | — | 15 | — | — | — | — | — | — |
| 2o | — | 19 | 25 | — | — | — | — | — | — |
| 2p | 26 | 19 | 22 | — | — | 18 | 16 | 26 | 23 |
| Rifampicin | 31 | 20 | 49 | 14 | NT | 20 | 25 | 30 | 28 |
| Chloramphenicol | 25 | 27 | 50 | 27 | 25 | NT | NT | NT | NT |

Rifampicin (100 µg/disc) and chloramphenicol (100 µg/disc) were used as positive reference; compounds 2a–p (300 µg/disc).

—, indicates no sensitivity or MZI lower than 7 mm.

NT, not tested.

Sa, *S. aureus*; Bs, *B. subtilis*; Ml, *M. luteus*; Ec, *E. coli*; Kp, *K. pneumoniae*; Sf, *S. faecalis*; Mp, *M. phlei*; Ms, *M. smegmatis*; Mt, *M. tuberculosis*.

^a Values are mean ($n = 3$).

128.7 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 126.2 (CH Ar), 124.7 (CH Ar), 21.2 (CH₃).

4.1.5. 2-Fluorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (If). White crystals; yield 93%; mp 181–182 °C; IR (KBr): 3297 and 3165 (NH), 1535 (C=N), 1442 (N–CS–N), 1263 and 1198 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.40 (s, 1H, NH), 9.22 (s, 1H, NH–Ar), 8.19 (s, 1H, CH=N), 7.85 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz,

Ar–H), 7.66 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, Ar–H), 7.38 (t, 3H, $J = 7.8$ Hz, Ar–H), 7.26 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, Ar–H), 7.19 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz, Ar–H), 7.14 (t, 3H, $J = 9.3$ Hz, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.6 (C=S), 160.5 (Cq Ar), 136.1 (Cq Ar), 132.3 (CH Ar), 132.1 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 126.8 (Cq Ar), 126.2 (CH Ar), 124.5 (CH Ar), 124.4 (CH Ar), 124.3 (Cq Ar), 116.2 (CH Ar).

4.1.6. 4-Fluorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Ig). White crystals; yield 95%; mp 178 °C; IR (KBr): 3313 and 3134 (NH), 1548 (C=N), 1447 (N–CS–N), 1230 and 1198 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.38 (s, 1H, NH), 9.16 (s, 1H, NH–Ar), 7.96 (s, 1H, CH=N), 7.63–7.70 (m, 4H, Ar–H), 7.39–7.45 (m, 2H, Ar–H), 7.25–7.30 (m, 1H, Ar–H), 7.08–7.14 (t, 2H, $J = 7.8$ Hz, Ar–H), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.6 (C=S), 165.8 (Cq Ar), 162.4 (Cq Ar), 142.0 (CH=N), 137.6 (Cq Ar), 129.3 (CH Ar), 129.2 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 126.3 (Cq Ar), 124.7 (CH Ar), 116.1 (CH Ar).

4.1.7. 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Ih). White crystals; yield 88.5%; mp 176–177 °C; IR (KBr): 3325 and 3166 (NH), 1551 (C=N), 1447 (N–CS–N), 1268 and 1199 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.69 (s, 1H, NH), 9.98 (s, 1H, NH–Ar), 9.54 (s, 1H, OH), 8.05 (s, 1H, CH=N), 7.55 (t, 3H, $J = 8.4$ Hz, Ar–H), 7.37 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, Ar–H), 7.20 (t, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar–H), 6.81 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, Ar–H), 3.84 (s, 3H, OCH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 175.5 (C=S), 148.3 (Cq Ar), 146.9 (Cq Ar), 143.4 (CH=N), 137.8 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 126.3 (Cq Ar), 125.3 (CH Ar), 124.8 (CH Ar), 122.8 (CH Ar), 114.6 (CH Ar), 108.2 (CH Ar), 56.1 (OCH₃).

4.1.8. 4-Dimethylaminobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Ii). Light yellow crystals; yield 81.5%; mp 208–210 °C; IR (KBr): 3325 and 3298 (NH), 1594

Table 5. Inhibitory zone diameters (mm) of 2a–p against tested fungal strains by disc diffusion method

| Compound | Mean zone inhibition (MZI) in mm ^a | | | | |
|----------|---|--------------------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------------------|
| | <i>S. cerevisiae</i> | <i>Candida</i> sp. (IMUR 1224) | <i>Candida</i> sp. (IMUR 720) | <i>C. albicans</i> | <i>Candida</i> sp. (IMUR 4249) |
| 2a | — | — | — | 08 | — |
| 2b | — | — | — | 08 | 20 |
| 2c | — | — | — | 07 | 14 |
| 2d | — | — | — | 07 | 21 |
| 2e | — | — | — | 09 | — |
| 2f | — | — | — | 07 | 20 |
| 2g | — | — | — | 08 | 22 |
| 2i | — | — | — | — | 16 |
| 2j | — | — | — | — | 11 |
| 2l | — | — | — | — | 18 |
| 2m | — | — | — | 15 | 16 |
| 2n | 12 | — | — | 13 | 20 |
| 2o | — | — | — | 10 | 15 |
| 2p | — | — | — | 09 | — |
| Nistatin | 20 | 30 | 20 | 26 | 32 |

Nistatin (100 µg/disc) was used as positive reference; compounds 2a–p (300 µg/disc).

—, indicates no sensitivity or MZI lower than 7 mm.

^a Values are mean ($n = 3$).

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx-xxx

7

Table 6. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) in $\mu\text{g/mL}$ of selected compounds

| Organism | Compound | MIC ^a ($\mu\text{g/mL}$) | MBC ^b ($\mu\text{g/mL}$) |
|------------------------|-----------------|--|--|
| <i>M. luteus</i> | 2a | 100 | 90 |
| | 2b | 90 | 80 |
| | 2c | 60 | 50 |
| | 2d | 60 | 50 |
| | 2e | 60 | 55 |
| | 2f | 40 | 30 |
| | 2l | 40 | 30 |
| | 2o | 110 | 100 |
| | 2p | 35 | 30 |
| | Chloramphenicol | 50 | 40 |
| <i>S. faecalis</i> | 2p | 200 | 190 |
| | Chloramphenicol | 70 | 60 |
| <i>S. aureus</i> | 2p | 50 | 45 |
| | Chloramphenicol | 25 | 20 |
| <i>M. smegmatis</i> | 2p | 150 | 140 |
| | Rifampicin | 140 | 130 |
| <i>M. tuberculosis</i> | 2c | 70 | 60 |
| | 2d | 100 | 90 |
| | 2p | 110 | 100 |
| | Rifampicin | 110 | 100 |

^a MIC, minimum inhibitory concentration (the lowest concentration that inhibited the bacterial growth).^b MBC, minimum bactericidal concentration (the lowest concentration at which no bacterial growth was observed).**Table 7.** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) in $\mu\text{g/mL}$ of selected compounds

| Compound | MIC ^a ($\mu\text{g/mL}$) | MFC ^b ($\mu\text{g/mL}$) |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 2b | 150 | 140 |
| 2d | 120 | 100 |
| 2f | 80 | 70 |
| 2g | 80 | 70 |
| 2l | 80 | 70 |
| 2n | 80 | 70 |
| Nistatin | 80 | 70 |

Microorganism: *Candida* sp. (IMUR 4249).^a MIC, minimum inhibitory concentration (the lowest concentration that inhibited the fungal growth).^b MFC, minimum fungicidal concentration (the lowest concentration at which no fungal growth was observed).

(C=N), 1442 (N-CS-N), 1257 and 1182 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.59 (s, 1H, NH), 9.92 (s, 1H, NH-Ar), 8.03 (s, 1H, CH=N), 7.70 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.59 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.35 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 7.18 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.72 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 2.97 (s, 6H, N(CH₃)₂), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 174.8 (C=S), 151.5 (Cq Ar), 143.9 (CH=N), 139.2 (Cq Ar), 129.0 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 125.5 (CH Ar), 125.0 (CH Ar), 121.1 (Cq Ar), 111.6 (CH Ar).

4.1.9. 3-Chlorobenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Ij). White crystals; yield 96%; mp 194–195 °C; IR (KBr): 3297 and 3139 (NH), 1551 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1265 and 1194 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.93 (s, 1H, NH), 10.25 (s, 1H, NH-

Ar), 8.18 (br s, 1H, Ar-H), 8.13 (s, 1H, CH=N), 7.74 (m, 1H, Ar-H), 7.52 (m, 2H, Ar-H), 7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.22 (m, 1H, Ar-H), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 176.3 (C=S), 141.7 (CH=N), 139.0 (Cq Ar), 136.3 (Cq Ar), 133.7 (Cq Ar), 130.4 (CH Ar), 129.6 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.0 (CH Ar), 126.4 (CH Ar), 126.1 (CH Ar), 125.5 (CH Ar).

4.1.10. 4-Methylbenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Ik). White crystals; yield 77.5%; mp 189–190 °C; IR (KBr): 3297 and 3142 (NH), 1548 (C=N), 1439 (N-CS-N), 1260 and 1198 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.19 (s, 1H, NH), 9.21 (s, 1H, NH-Ar), 7.93 (s, 1H, CH=N), 7.66 (dt, 2H, *J* = 1.2, 8.1 Hz, Ar-H), 7.57 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 7.42 (dt, 2H, *J* = 1.5, 6.6 Hz, Ar-H), 7.27 (dt, 2H, *J* = 1.2, 8.1 Hz, Ar-H), 7.22 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 2.39 (s, 3H, CH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.6 (C=S), 143.2 (CH=N), 141.2 (Cq Ar), 137.7 (Cq Ar), 130.2 (Cq Ar), 129.6 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 126.2 (CH Ar), 124.6 (CH Ar).

4.1.11. 3-Methoxybenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Il). White crystals; yield 94%; mp 154 °C; IR (KBr): 3325 and 3155 (NH), 1545 (C=N), 1442 (N-CS-N), 1276 and 1194 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.75 (s, 1H, NH), 9.21 (s, 1H, NH-Ar), 7.98 (s, 1H, CH=N), 7.65 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 7.42 (t, 2H, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 7.20–7.35 (m, 4H, Ar-H), 6.97 (dt, 1H, *J* = 1.2, 8.1 Hz, Ar-H), 3.84 (s, 3H, OCH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.7 (C=S), 159.8 (Cq Ar), 143.0 (CH=N), 137.6 (Cq Ar), 134.3 (Cq Ar), 129.9 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 126.3 (CH Ar), 124.7 (CH Ar), 120.4 (CH Ar), 116.6 (CH Ar), 111.9 (CH Ar), 55.3 (OCH₃).

4.1.12. 4-Methoxybenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (Im). White crystals; yield 94%; mp 178–179 °C; IR (KBr): 3325 and 3145 (NH), 1543 (C=N), 1447 (N-CS-N), 1249 and 1198 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9.89 (s, 1H, NH), 9.18 (s, 1H, NH-Ar), 7.87 (s, 1H, CH=N), 7.64 (dt, 4H, *J* = 2.1, 9 Hz, Ar-H), 7.41 (dt, 2H, *J* = 2.1, 7.2 Hz, Ar-H), 7.25 (dt, 1H, *J* = 1.5, 7.2 Hz, Ar-H), 6.93 (dt, 2H, *J* = 1.8, 7.8 Hz, Ar-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.4 (C=S), 161.7 (Cq Ar), 142.9 (CH=N), 137.8 (Cq Ar), 129.1 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 126.1 (CH Ar), 125.5 (Cq Ar), 124.5 (CH Ar), 114.3 (CH Ar), 55.4 (OCH₃).

4.1.13. 2,4-Dimethoxybenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (In). Light yellow crystals; yield 93.5%; mp 201–202 °C; IR (KBr): 3309 and 3194 (NH), 1543 (C=N), 1453 (N-CS-N), 1284 and 1206 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.71 (s, 1H, NH), 10.00 (s, 1H, NH-Ar), 8.43 (s, 1H, CH=N), 8.19 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.57 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz, Ar-H), 7.36 (t, 2H, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 7.19 (t, 1H, *J* = 7.2 Hz, Ar-H), 6.62 (d, 1H, *J* = 1.8 Hz, Ar-H), 6.58 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 3.82 (s, 6H, OCH₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 175.3 (C=S), 162.5 (Cq Ar), 159.3 (Cq Ar), 139.1 (CH=N), 138.6 (Cq Ar), 127.9 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 125.7 (CH

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., Bioorg. Med. Chem. (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

8

T. M. de Aquino et al. / *Bioorg. Med. Chem.* xxx (2007) xxx–xxx

Ar), 125.1 (CH Ar), 114.7 (Cq Ar), 106.3 (CH Ar), 97.8 (CH Ar), 55.7 (OCH₃), 55.4 (OCH₃).

4.1.14. 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1o). Light yellow crystals; yield 91%; mp 161–162 °C; IR (KBr): 3299 and 3177 (NH), 1556 (C=N), 1417 (N–CS–N), 1262 and 1191 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.31 (s, 1H, NH), 9.13 (s, 1H, NH–Ar), 7.88 (s, 1H, CH=N), 7.63 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, Ar–H), 7.43 (t, 2H, *J* = 8.1 Hz, Ar–H), 7.28 (t, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar–H), 6.88 (s, 2H, Ar–H), 3.92 (s, 9H, OCH₃). ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.4 (C=S), 153.4 (Cq Ar), 143.6 (CH=N), 140.2 (Cq Ar), 137.6 (Cq Ar), 128.7 (CH Ar), 128.3 (Cq Ar), 126.4 (CH Ar), 125.1 (CH Ar), 104.5 (CH Ar), 60.8 (OCH₃), 56.1 (OCH₃).

4.1.15. 3,5-Bis(1,1-dimethylethyl)4-hydroxybenzaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone (1p). Yellow crystals; yield 100%; mp 204–205 °C; IR (KBr): 3317 and 3137 (NH), 1535 (C=N), 1439 (N–CS–N), 1268 and 1201 (C=S); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9.68 (s, 1H, NH), 9.17 (s, 1H, NH–Ar), 7.84 (s, 1H, CH=N), 7.67 (dd, 2H, *J* = 1.5, 8.4 Hz, Ar–H), 7.48 (s, 2H, Ar–H), 7.42 (dt, 2H, *J* = 1.5, 7.5 Hz, Ar–H), 7.26 (dt, 1H, *J* = 1.2, 7.8 Hz, Ar–H), 5.56 (s, 1H, OH), 1.45 (s, 18H, CH₃). ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 175.2 (C=S), 156.5 (Cq Ar), 144.5 (CH=N), 137.9 (Cq Ar), 136.5 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 126.1 (CH Ar), 124.7 (CH Ar), 124.5 (CH Ar), 124.2 (Cq Ar), 34.3 (Cq C(CH₃)₃), 30.1 (CH₃).

4.2. Representative procedure for (2a–q). 2-[(Phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2a)

A solution of 0.0078 mol of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazone and 0.0352 mol of maleic anhydride in 50 mL of dried toluene was stirred until reflux, and 2 mL of DMF was added until complete solubilization. The mixture was stirred under the same conditions till the completion of the reaction (5–9 h). After, the solvent was evaporated at reduced pressure and the crude product was extracted with ethyl acetate twice. The organic layer was treated with anhydrous sodium sulfate and evaporated again. Finally the product was purified by recrystallization from MeOH/water. White crystals; yield 76%; mp 212–214 °C; IR (KBr): 1707 (C=O), 1621 (NC=O), 1582 and 1555 (C=N), 1344 (NCS), 1252 (N–N=C), 1030 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.83 (br s, 1H, CO₂H), 8.33 (s, 1H, CH=N), 7.74 (dd, 2H, *J* = 2.1, 6.6 Hz, Ar–H), 7.38–7.56 (m, 8H, Ar–H), 4.57 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz, CH), 3.13 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 164.8 (C=N), 157.7 (CH=N), 135.1 (Cq Ar), 134.0 (Cq Ar), 130.8 (CH Ar), 129.0 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.1. 2-[(4-Chlorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2b). White crystals; yield 56.5%; mp 245–247 °C; IR (KBr): 1721 (C=O),

1623 (NC=O), 1575 and 1548 (C=N), 1341 (NCS), 1248 (N–N=C), 1034 (CS); ¹H NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.84 (br s, 1H, CO₂H), 8.34 (s, 1H, CH=N), 7.74–7.77 (m, 2H, Ar–H), 7.38–7.56 (m, 7H, Ar–H), 4.57 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz, CH), 3.13 (d, 2H, *J* = 5.7 Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 165.4 (C=N), 154.8 (CH=N), 135.3 (Cq Ar), 135.1 (Cq Ar), 132.9 (Cq Ar), 129.3 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.2. 2-[(2,4-Dichlorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2c). White crystals; yield 63%; mp 236–237 °C; IR (KBr): 1724 (C=O), 1614 (NC=O), 1565 and 1538 (C=N), 1337 (NCS), 1244 (N–N=C), 1037 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.85 (br s, 1H, CO₂H), 8.43 (s, 1H, CH=N), 7.98 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz, Ar–H), 7.72 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, Ar–H), 7.38–7.57 (m, 6H, Ar–H), 4.59 (t, 1H, *J* = 5.8 Hz, CH), 3.13 (d, 2H, *J* = 5.8 Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.8 (CO₂H), 171.8 (C=O), 167.0 (C=N), 152.3 (CH=N), 135.9 (Cq Ar), 135.9 (Cq Ar), 134.4 (Cq Ar), 130.1 (Cq Ar), 129.5 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 42.6 (CH), 36.6 (CH₂).

4.2.3. 2-[(3,4-Dichlorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2d). White crystals; yield 45.5%; mp 254–256 °C; IR (KBr): 1730 (C=O), 1611 (NC=O), 1569 and 1536 (C=N), 1340 (NCS), 1241 (N–N=C), 1033 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.82 (br s, 1H, CO₂H), 8.34 (s, 1H, CH=N), 7.92 (s, 1H, Ar–H), 7.72 (s, 2H, Ar–H), 7.38–7.56 (m, 5H, Ar–H), 4.59 (t, 1H, *J* = 6.0 Hz, CH), 3.14 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.8 (CO₂H), 171.8 (C=O), 166.2 (C=N), 155.4 (CH=N), 135.1 (Cq Ar), 134.8 (Cq Ar), 133.0 (Cq Ar), 131.7 (Cq Ar), 131.2 (CH Ar), 129.2 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.2 (CH Ar), 42.6 (CH), 36.6 (CH₂).

4.2.4. 2-[(3-Methylphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2e). White crystals; yield 67%; mp 221–222 °C; IR (KBr): 1724 (C=O), 1615 (NC=O), 1582 and 1546 (C=N), 1351 (NCS), 1232 (N–N=C), 1034 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.83 (br s, 1H, CO₂H), 8.28 (s, 1H, CH=N), 7.25–7.54 (m, 9H, Ar–H), 4.57 (t, 1H, *J* = 6 Hz, CH), 3.13 (d, 2H, *J* = 6 Hz, CH₂), 2.33 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 164.7 (C=N), 157.8 (CH=N), 138.0 (Cq Ar), 135.2 (Cq Ar), 134.0 (Cq Ar), 131.5 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.9 (CH Ar), 125.2 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.7 (CH₂), 20.9 (CH₃).

4.2.5. 2-[(2-Fluorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2f). Light yellow crystals; yield 60%; mp 217 °C; IR (KBr): 1721 (C=O), 1621 (NC=O), 1582 and 1548 (C=N), 1344 (NCS), 1232 (N–N=C), 1034 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.85 (br s, 1H, CO₂H), 8.37 (s, 1H, CH=N), 7.90 (dt, 1H, *J* = 1.5, 8.4 Hz, Ar–H), 7.43–

ARTICLE IN PRESS

T. M. de Aquino et al. / *Bioorg. Med. Chem.* xxx (2007) xxx-xxx

9

7.56 (m, 4H, Ar-H), 7.38–7.41 (m, 2H, Ar-H), 7.24–7.31 (m, 2H, Ar-H), 4.58 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, CH), 3.13 (d, 2H, $J = 6.0$ Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.8 (CO₂H), 171.8 (C=O), 166.1 (C=N), 162.6 (Cq Ar), 159.2 (CH=N), 150.6 (CH Ar), 135.1 (Cq Ar), 132.9 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.1 (CH Ar), 127.4 (CH Ar), 124.9 (CH Ar), 121.4 (Cq Ar), 42.6 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.6. 2-[[4-Fluorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2g). White crystals; yield 56%; mp 227–229 °C; IR (KBr): 1731 (C=O), 1621 (NC=O), 1592 and 1550 (C=N), 1347 (NCS), 1226 (N–N=C), 1040 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.83 (br s, 1H, CO₂H), 8.34 (s, 1H, CH=N), 7.80 (dd, 2H, $J = 8.7, 5.7$ Hz, Ar-H), 7.38–7.56 (m, 5H, Ar-H), 7.29 (t, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 4.57 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz, CH), 3.13 (d, 2H, $J = 6.0$ Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 165.2 (Cq Ar), 164.9 (C=N), 161.9 (Cq Ar), 156.6 (CH=N), 135.2 (Cq Ar), 130.7 (Cq Ar), 130.0 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.7. 2-[[4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2h). Beige crystals; yield 44.5%; mp 219–221 °C; IR (KBr): 1724 (C=O), 1621 (NC=O), 1592 and 1562 (C=N), 1347 (NCS), 1249 (N–N=C), 1030 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.82 (br s, 1H, CO₂H), 9.67 (s, 1H, Ar-OH), 8.18 (s, 1H, CH=N), 7.36–7.55 (m, 5H, Ar-H), 7.31 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, Ar-H), 7.16 (dd, 1H, $J = 1.8, 8.1$ Hz, Ar-H), 6.83 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 4.55 (t, 1H, $J = 5.7$, CH), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.13 (d, 2H, $J = 5.7$, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 162.9 (C=N), 157.9 (CH=N), 149.6 (Cq Ar), 147.8 (Cq Ar), 135.3 (Cq Ar), 129.1 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 125.5 (Cq Ar), 122.6 (CH Ar), 115.5 (CH Ar), 110.2 (CH Ar), 55.5 (OCH₃), 42.4 (CH), 36.8 (CH₂).

4.2.8. 2-[[4-Dimethylaminophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2i). Dark red crystals; yield 36%; mp 230–231 °C; IR (KBr): 1724 (C=O), 1606 (NC=O), 1529 (C=N), 1360 (NCS), 1239 (N–N=C), 1030 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.82 (br s, 1H, CO₂H), 8.13 (s, 1H, CH=N), 7.36–7.56 (m, 7H, Ar-H), 6.71 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 4.53 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz, CH), 3.11 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz, CH₂), 2.95 (s, 6H, N(CH₃)₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.6 (CO₂H), 171.8 (C=O), 161.6 (C=N), 157.9 (CH=N), 151.9 (Cq Ar), 135.3 (Cq Ar), 129.2 (CH Ar), 129.0 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 121.2 (Cq Ar), 111.6 (CH Ar), 42.4 (CH), 39.7 (N(CH₃)₂), 36.9 (CH₂).

4.2.9. 2-[[3-Chlorophenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2j). Beige crystals; yield 58%; mp 237–239 °C; IR (KBr): 1711 (C=O), 1621 (NC=O), 1573 (C=N), 1341 (NCS), 1258 (N–N=C), 1040 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.84 (br s, 1H, CO₂H), 8.33 (s, 1H, CH=N), 7.69–7.75

(m, 2H, Ar-H), 7.37–7.55 (m, 7H, Ar-H), 4.58 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz, CH), 3.13 (d, 2H, $J = 5.4$ Hz, CH₂), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.8 (CO₂H), 171.8 (C=O), 168.4 (CH=N), 165.9 (C=N), 136.2 (Cq Ar), 135.1 (Cq Ar), 133.6 (Cq Ar), 130.8 (CH Ar), 130.4 (CH Ar), 129.1 (CH Ar), 128.8 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.0 (CH Ar), 126.2 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.10. 2-[[4-Methylphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2k). White crystals; yield 54%; mp 224–226 °C; IR (KBr): 1727 (C=O), 1615 (NC=O), 1573 and 1556 (C=N), 1347 (NCS), 1236 (N–N=C), 1034 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.84 (br s, 1H, CO₂H), 8.27 (s, 1H, CH=N), 7.62 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.36–7.55 (m, 5H, Ar-H), 7.25 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 4.55 (t, 1H, $J = 6$ Hz, CH), 3.11 (d, 2H, $J = 6$ Hz, CH₂), 2.33 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.8 (C=O), 164.3 (C=N), 157.7 (CH=N), 140.8 (Cq Ar), 135.2 (Cq Ar), 131.3 (Cq Ar), 129.4 (CH Ar), 129.0 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 127.7 (CH Ar), 42.5 (CH), 36.8 (CH₂), 21.1 (CH₃).

4.2.11. 2-[[3-Methoxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2l). White crystals; yield 57%; mp 235–237 °C; IR (KBr): 1727 (C=O), 1615 (NC=O), 1582 and 1559 (C=N), 1341 (NCS), 1241 (N–N=C), 1030 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.76 (br s, 1H, CO₂H), 8.28 (s, 1H, CH=N), 7.28–7.55 (m, 8H, Ar-H), 7.01–7.04 (m, 1H, Ar-H), 4.56 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz, CH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.13 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.6 (CO₂H), 171.5 (C=O), 164.6 (C=N), 159.4 (Cq Ar), 157.5 (CH=N), 135.3 (Cq Ar), 135.1 (Cq Ar), 129.8 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 120.2 (CH Ar), 116.4 (CH Ar), 112.6 (CH Ar), 55.0 (OCH₃), 42.4 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.12. 2-[[4-Methoxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2m). White crystals; yield 55.5%; mp 211–213 °C; IR (KBr): 1711 (C=O), 1615 (NC=O), 1579 and 1552 (C=N), 1344 (NCS), 1245 (N–N=C), 1024 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.74 (br s, 1H, CO₂H), 8.24 (s, 1H, CH=N), 7.68 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.37–7.55 (m, 5H, Ar-H), 7.00 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 4.55 (t, 1H, $J = 5.4$ Hz, CH), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.10 (d, 2H, $J = 5.4$ Hz, CH₂). ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.5 (CO₂H), 171.5 (C=O), 163.2 (C=N), 161.3 (Cq Ar), 157.2 (CH=N), 135.1 (Cq Ar), 129.3 (CH Ar), 128.9 (CH Ar), 128.5 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 126.6 (Cq Ar), 114.2 (CH Ar), 55.2 (OCH₃), 42.3 (CH), 36.7 (CH₂).

4.2.13. 2-[[2,4-Dimethoxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (2n). White crystals; yield 62.5%; mp 202–203 °C; IR (KBr): 1717 (C=O), 1607 (NC=O), 1555 (C=N), 1344 (NCS), 1244 (N–N=C), 1023 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.73 (br s, 1H, CO₂H), 8.37 (s, 1H, CH=N), 7.79 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.36–7.55 (m, 5H, Ar-H), 6.61 (m, 2H, Ar-H), 4.54 (t, 1H, $J = 6$ Hz, CH), 3.81 (s,

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

10

T. M. de Aquino et al. / Bioorg. Med. Chem. xxx (2007) xxx–xxx

3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.10 (d, 2H, $J = 6$ Hz, CH₂), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.4 (CO₂H), 171.5 (C=O), 163.1 (C=N), 162.7 (Cq Ar), 159.6 (Cq Ar), 152.5 (CH=N), 135.1 (Cq Ar), 128.8 (CH Ar), 128.4 (CH Ar), 128.0 (CH Ar), 127.3 (CH Ar), 114.6 (Cq Ar), 106.6 (CH Ar), 98.1 (CH Ar), 55.6 (OCH₃), 55.4 (OCH₃), 42.3 (CH), 36.8 (CH₂).

4.2.14. 2-[(3,4,5-Trimethoxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (**2o**). Light brown crystals; yield 45%; mp 119–120 °C; IR (KBr): 1724 (C=O), 1615 (NC=O), 1585 and 1559 (C=N), 1354 (NCS), 1239 (N=N=C); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 12.80 (br s, 1H, CO₂H), 8.18 (s, 1H, CH=N), 7.26–7.54 (m, 5H, Ar-H), 6.94 (s, 2H, Ar-H), 4.42 (dd, 1H, $J = 3.6, 8.1$ Hz, CH), 3.87 (s, 9H, OCH₃), 3.31 (dd, 1H, $J = 3.6, 17.7$ Hz, CH_{2a}), 3.18 (dd, 1H, $J = 8.1, 17.7$ Hz, CH_{2b}), ¹³C NMR (75.4 MHz, CDCl₃): δ 173.7 (CO₂H), 171.7 (C=O), 164.1 (C=N), 157.7 (CH=N), 153.1 (Cq Ar), 135.2 (Cq Ar), 129.5 (Cq Ar), 129.0 (CH Ar), 128.7 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 104.9 (CH Ar), 60.1 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 42.5 (CH), 36.6 (CH₂).

4.2.15. 2-[(3,5-Bis(1,1-dimethylethyl)4-hydroxyphenyl)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid (**2p**). White crystals; yield 77%; mp 246–247 °C; IR (KBr): 1730 (C=O), 1615 (NC=O), 1585 (C=N), 1358 (NCS), 1245 (N=N=C), 1030 (CS); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.81 (br s, 1H, CO₂H), 8.20 (s, 1H, CH=N), 7.35–7.54 (m, 7H, Ar-H), 4.52 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz, CH), 3.11 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz, CH₂), 1.39 (s, 18H, C(CH₃)₃), ¹³C NMR (75.4 MHz, DMSO-*d*₆): δ 173.7 (CO₂H), 171.7 (C=O), 162.7 (C=N), 158.5 (CH=N), 156.7 (Cq Ar), 138.9 (Cq Ar), 135.3 (Cq Ar), 129.0 (CH Ar), 128.6 (CH Ar), 128.2 (CH Ar), 125.4 (Cq Ar), 124.7 (CH Ar), 42.4 (CH), 36.7 (CH₂), 34.4 (Cq C(CH₃)₃), 30.1 (CH₃).

4.3. Assay for anti-*Toxoplasma gondii* activity

Tachyzoites from the virulent RH strain of *T. gondii* were maintained by intraperitoneal passages in Swiss mice and were collected in Ringer's solution at pH 7.2, 48 h after infection. Animals were used following Experimental Research Ethical International Committees. Vero cells (Kidney fibroblasts from African green monkeys) were incubated with *T. gondii* Tachyzoites (parasite/host cell 5:1 relationship) for 1 h, washed twice with phosphate-buffered saline solution (PBS) to remove extracellular parasites, and incubated for 24 h at 37 °C in the presence of medium 199 supplemented with 5% fetal calf serum (FCS). After, cells infected with *T. gondii* were incubated with test compounds in the concentrations of 0.1, 2, 5, 8, and 20 mM for 24 h. Hydroxyurea and sulfadiazine were utilized as reference substances. All compounds were added to the infected cells during intense parasite proliferation. The infected cultures were washed thrice with PBS, fixed with Bouin's fixative, stained with Giemsa, and observed under a light microscope (63 \times objective Axioplan, Zeiss, Jena, Germany). The percentage of infected cells and the mean number of intracellular parasites were determined by examination of at least 400 cells.^{31,32} Statistical analysis was car-

ried out using the Student's *t* test. *P* values <0.05 were considered as significant. Data shown are representative of thirteen in triplicate. Finally, the IC₅₀ values for infected cells and intracellular parasites for all compounds were obtained after 24 h exposure in the concentrations ranging of 0.01–30 mM, in triplicate per assay, by a non-linear regression using exclusion test with trypan blue.¹⁸

4.4. Assay in vitro for antimicrobial activity

Bacteria and fungal species used in the antimicrobial evaluation were obtained from Departamento de Antibióticos and Instituto de Micologia cultures collections, Universidade Federal de Pernambuco, Brazil. Namely, *Staphylococcus aureus* (ATTC 6538), *Bacillus subtilis* (UFPEA 16), *M. luteus* (ATTC 2225), *Escherichia coli* (ATTC 25922), *K. pneumoniae* (ATTC 29665), *Streptococcus faecalis* (ATTC 6057), *Mycobacterium phlei* (UFPEA 70), *Mycobacterium smegmatis* (UFPEA 71), *Mycobacterium tuberculosis* (DAUFPE 82), *Saccharomyces cerevisiae* (UFPEA 07), *Candida* sp. (IMUR 720), *Candida* sp. (IMUR 1224), *Candida* sp. (IMUR 4249), and *Candida albicans* (UFPEA 1007) species. The antibacterial and antifungal activities are reported preliminarily utilizing disc diffusion method.³³ In this method, disks containing known amounts of an antimicrobial agent were placed on the surface of an agar plate that has been inoculated with a standardized suspension of microorganisms tested. Paper discs with only DMSO were used as negative controls. The MZI (Mean zone inhibition) for chloramphenicol and rifampicin (antibacterial), and nistatin (antifungal) was referred to as a reference value (mm). All experiments were carried out three times and repeated if the results differed. All compounds having MZI of more or equal to 18 mm were selected for MIC and MBC or MFC.

For MIC and MBC or MFC assays,^{34,35} a stock solution (1 mg/mL) of test compounds was prepared in dimethylsulfoxide solvent. Further, the serial dilution of test compounds was carried out and the concentrations used ranged from 10 to 220 μ g/mL. Test compounds at various concentrations were added to culture medium in a test tube and different strains were inoculated at 10⁸ bacteria/mL concentration. Tryptic Soy Agar and Nutrient Agar (for antibacterial), and Sabouraud Liquid Medium (for antifungal) were utilized for culture medium. The tubes were incubated at 37 °C (antibacterial) or 30 °C (antifungal) for 24–48 h and then examined for the presence or absence of growth organisms tested. Chloramphenicol, rifampicin, and nistatin were used as antibacterial and antifungal substances. The MIC values were obtained from the lowest concentration of the test compounds where the tubes remained clear, indicating that the bacterial or fungal growth was completely inhibited at this concentration. The MBC or MFC values were measured by inoculating the broths used for MIC determinations onto drug-free medium. The MBC or MFC were the first dilution where no growth is observed. The MIC, MBC, and MFC values were expressed in μ g/mL.

Please cite this article in press as: de Aquino, T. M. et al., Bioorg. Med. Chem. (2007), doi:10.1016/j.bmc.2007.09.025

ARTICLE IN PRESS

T. M. de Aquino et al. / *Bioorg. Med. Chem.* xxx (2007) xxx-xxx

11

Acknowledgments

The authors acknowledge Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

References and notes

- Hirst, S. L.; Stapley, L. A. *Parasitol. Today* **2000**, *16*, 1.
- Iwu, M. M.; Jackson, J. E.; Schuster, B. G. *Parasitol. Today* **1994**, *10*, 65.
- Berman, J. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **1998**, *11*, 707.
- Bhopale, G. M. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis* **2003**, *26*, 213.
- Jackson, M. H.; Hutchison, W. M. In *The Prevalence and Source of Toxoplasma Infection in the Environment*; Baker, J. R., Müller, R., Eds.; Academic Press: London, 1989; pp 55-105.
- Remington, J. S.; Mcleod, R.; Desmots, G. In *Toxoplasmosis*; Remington, J. S., Klein, J. O., Eds.; W.B. Saunders & Co.: Philadelphia, 1995; pp 140-267.
- Montaya, J. G.; Remington, J. S. In *Toxoplasma gondii*; Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., Eds.; Churchill Livingstone: Philadelphia, 2000; pp 2858-2881.
- Dannemann, B. R.; Israelski, D. M.; Leoung, G. S.; McGraw, T.; Mills, J.; Remington, J. S. *AIDS* **1991**, *5*, 1363.
- Wong, S. Y.; Remington, J. S. *AIDS* **1993**, *7*, 299.
- Aspinall, T. V.; Joynson, D. H.; Guy, E.; Hyde, J. E.; Sims, P. F. *J. Infect. Dis.* **2002**, *185*, 1637.
- Subauste, C. S.; Remington, J. S. *Curr. Opin. Immunol.* **1993**, *5*, 532.
- Pena-Rodriguez, L. M. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *18*, 674.
- Lockwood, D. *Nat. Méd.* **2004**, *10*, 110.
- Choi, C. M.; Lemer, E. A. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2002**, *3*, 91.
- Silva, E. S.; Pacheco, R. S.; Gontijo, C. M.; Carvalho, I. R.; Brazil, R. P. *Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo* **2002**, *2*, 564.
- Arguello, C. *Av. Perspectiva* **1995**, *14*, 21.
- Fournet, A.; Munoz, V. *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 1215.
- Tenório, R. P.; Carvalho, C. S.; Pessanha, C. S.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; Melo, E. J. T.; Góes, A. J. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2575.
- Çapan, G.; Ulusoy, N.; Ergenç, N.; Kiraz, M. *Monatshefte für Chemie* **1999**, *130*, 1399.
- Vigorita, M. G.; Ottanà, R.; Monforte, F.; Maccari, R.; Trivato, A.; Monforte, M. T.; Taviano, M. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2791.
- Rawal, R. K.; Prabhakar, Y. S.; Katti, S. B.; Clercq, E. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6771.
- Babaoglu, K.; Page, M. A.; Jones, V. C.; McNeil, M. R.; Dong, C.; Naismith, J. H.; Lee, R. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3227.
- Alves, A. J.; Ramos, S. V. V.; Silva, M. J.; Fulcrand, P.; Artis, A. M.; Quero, A. M. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo* **1998**, *34*, 77.
- Alves, A. J.; Leite, A. C. L.; Santana, D. P.; Beltrão, T. M.; Coelho, M. R. D. *IL Fármaco* **1993**, *48*, 1167.
- Bharti, N.; Husain, K.; Garza, M. T. G.; Vega, D. E. C.; Garza, J. C.; Cardenas, B. D. M.; Naqvi, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 3475.
- Ulusoy, N.; Kiraz, M.; Küçükbasmacı, Ö. *Monatsh. Chem.* **2002**, *133*, 1305.
- El-Gendy, Z.; Abdel-Rahman, R. M.; Fawzy, M. M. *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 927.
- El-Khawass, S. M.; Khalil, M. A.; Chaaban, I. *IL Fármaco* **1989**, *44*, 415.
- Balasubramaniyan, V.; Balasubramaniyan, P.; Wani, M. *J. Indian J. Chem. B* **1990**, *29*, 1092.
- Ergenç, N.; Çapan, G.; Günay, N. S.; Özkirimli, S.; Güngör, M.; Özbey, S.; Kendi, E. *Arch. Pharm. Med. Chem.* **1999**, *332*, 343.
- Melo, E. J. T.; Mayerhoffer, R. O.; Souza, W. *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, *185*, 79.
- Melo, E. J. T.; Beiral, H. J. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2003**, *36*, 65.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 5th ed. Approved Standard. NCCLS publication M2-A5. Villanova, PA, **1993**.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 3th ed. Approved Standard. NCCLS publication M7-A3. Villanova, PA, **1993**.
- 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**.

TIOSEMICARBAZONAS: MÉTODOS DE OBTENÇÃO, APLICAÇÕES SINTÉTICAS E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA

Rômulo P. Tenório e Alexandre J. S. Góes*

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife - PE

José G. de Lima, Antônio R. de Faria, Antônio J. Alves e Thiago M. de Aquino

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50470-521 Recife - PE

Recebido em 4/8/04; aceito em 2/3/05; publicado na web em 2/8/05

TIOSEMICARBAZONES: PREPARATION METHODS, SYNTHETIC APPLICATIONS AND BIOLOGICAL IMPORTANCE. Thiosemicarbazones are a class of compounds known by their chemical and biological properties, such as antitumor, antibacterial, antiviral and antiprotozoal activity. Their ability to form chelates with metals has great importance in their biological activities. Their synthesis is very simple, versatile and clean, usually giving high yields. They are largely employed as intermediates, in the synthesis of others compounds. This article is a survey of some of these characteristics showing their great importance to organic and medicinal chemistry.

Keywords: thiosemicarbazone; preparation methods; synthetic applications.

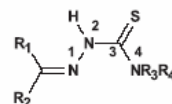
INTRODUÇÃO

A enzima ribonucleotídeo redutase (RR) vem sendo relacionada como um alvo promissor na terapia do câncer^{1,2} e doenças protozoárias³. Esta enzima existe em todas as células vivas e apresenta a função de catalisar o passo limitante na síntese dos deoxiribonucleotídeos necessários para síntese do DNA⁴. É constituída por duas sub-unidades, conhecidas como R₁ e R₂. A sub-unidade R₂ contém um radical livre tirosila, que é estabilizada por um centro de ferro não-heme. Ambos, o ferro e o grupo tirosila, são essenciais para a atividade catalítica⁵.

Os inibidores desta enzima são extremamente efetivos em bloquear a biossíntese de DNA, por conta dos baixos níveis intracelulares dos deoxiribonucleotídeos⁶. A gentamicina e a hidroxauréia são os únicos inibidores desta enzima aprovados pela "Food and Drug Administration (FDA)", sendo que a hidroxauréia atua na sub-unidade R₂ da enzima¹⁷.

A hidroxauréia, entretanto, é pouco efetiva uma vez que possui pouca afinidade pela RR e um curto tempo de meia-vida no plasma⁸. Dentre outras substâncias conhecidas por também apresentarem atividade inibitória sobre esta enzima, estão a 3-aminopiridina-2-carboxaldeído tiossemicarbazona (triapina - 3-AP) e a 3-aminopiridina-4-metil-2-carboxaldeído tiossemicarbazona (3-AMP)⁹. Segundo Liu *et al.*⁹, essas substâncias são 1000 vezes mais potentes que a hidroxauréia para inibir a ribonucleotídeo redutase em células da leucemia L-1210. Estudos indicam que a atividade inibitória destas substâncias sobre a RR é devida ao complexo formado entre elas e o átomo de ferro presente no sítio catalítico da RR¹⁰. Atualmente, a triapina está sendo avaliada em testes clínicos de fase II como possível fármaco antitumoral¹¹. Estas duas substâncias fazem parte da classe das tiossemicarbazonas.

As tiossemicarbazonas são compostos de considerável interesse científico, devido as suas importantes propriedades químicas e biológicas, tais como antitumoral¹¹, antibacteriana¹², antiviral¹³, antiprotozoária¹⁴, citotóxica¹⁵, dentre outras. A estrutura química das



R₁, R₂, R₃ e R₄ = H, Alquil e aril

Figura 1. Numeração das tiossemicarbazonas

tiossemicarbazonas e a numeração dos seus átomos segundo a IUPAC¹⁶ é mostrada na Figura 1.

Estes compostos são geralmente obtidos pela reação de condensação quimiosseletiva de tiossemicarbazidas com aldeídos e/ou cetonas, e recebem a denominação da classe tiossemicarbazona após o nome do respectivo aldeído ou cetona condensado^{17,18}. São conhecidos, também, pelas suas excelentes propriedades para formarem complexos organometálicos, comportando-se como agentes quelantes^{17,19}.

Do ponto de vista sintético, apresentam como característica principal sua versatilidade de obtenção, assim como sua vasta aplicação como intermediários de muitos núcleos importantes. Em geral, estas moléculas apresentam baixo custo de síntese, além de grande economia de átomos, uma vez que, com exceção da água que é liberada na sua síntese, todos os outros átomos dos compostos reagentes estarão presentes na molécula final²⁰.

CONSIDERAÇÕES MOLECULARES E ELETRÔNICAS

Segundo Casas e colaboradores¹⁷, as tiossemicarbazonas não substituídas na posição N-4 apresentam estrutura básica, C=N-NH-CS-NH₂, aproximadamente planar, com o átomo de enxofre em posição *anti* em relação ao átomo de nitrogênio da função imina (1, Figura 2). Fatores eletrônicos e estéricos contribuem para este arranjo estrutural, porém, possivelmente o fator mais importante é que o átomo de enxofre em posição *anti* possibilita a ocorrência de ligação de hidrogênio intramolecular entre o nitrogênio da imina e os hidrogênios da tioamida²¹. Por outro lado, este arranjo estrutural muda significativamente se forem adicionados grupos substituintes na po-

*e-mail: ajsjg@ufpe.br

sição N-4, favorecendo a conformação *sin* entre o átomo de nitrogênio da imina e o átomo de enxofre (2, Figura 2)²¹.

As tiossemicarbazonas apresentam-se como sistemas com extrema deslocalização eletrônica, principalmente quando há grupos aromáticos ligados ao carbono da imina. Esta afirmação está baseada nos trabalhos pioneiros de Palenik e colaboradores²². A Figura 2b mostra, esquematicamente, a influência nos comprimentos de ligação devido à deslocalização dos elétrons π nas tiossemicarbazonas.

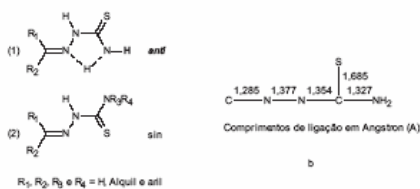
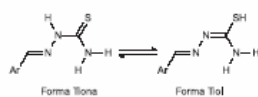


Figura 2. Arranjo estrutural e comprimentos de ligação de tiossemicarbazonas

Pode-se observar que o fragmento N-C-N apresenta um comprimento de ligação muito próximo ao observado para as duplas ligações (C=C, 1,201–1,246 Å)²³, enquanto que na ligação C-S (1,685 Å) ocorre exatamente o inverso, indicando que o átomo de enxofre permite um maior envolvimento das duas ligações C-N na deslocalização dos elétrons π ¹⁷.

O caráter parcialmente duplo da ligação C-N pode também ser facilmente evidenciado pela técnica de espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H), uma vez que os hidrogênios em NH₂ aparecem como dois sinais não equivalentes. Isto acontece devido à rotação restrita da ligação C-NH₂ por conta da dupla ligação parcial que, desta forma, torna os hidrogênios diastereotópicos^{24,25}. A temperaturas elevadas (~ 323 K) estes sinais coalescem como mostra o trabalho de Ferrari e colaboradores²⁶.

Devido a esta deslocalização eletrônica, as tiossemicarbazonas podem coexistir na forma tiona ou tiol em equilíbrio tautomérico (Esquema 1).



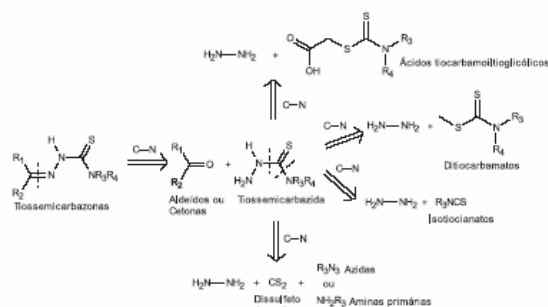
Esquema 1. Formas tautoméricas das tiossemicarbazonas

O espectro de infravermelho (IV) mostra a forma predominante deste tautomerismo, uma vez que o aparecimento de uma banda forte na região de 1028-1082 cm⁻¹ indica a presença da tiocarbonila (C=S). Contudo, a ausência desta banda e o aparecimento de outra na região de 2500-2600 cm⁻¹ demonstra que a forma tiol é mais predominante^{27,28}. Vale ressaltar que o baixo valor da banda de estiramento de C=S é devido ao seu acentuado caráter de ligação simples, e que esta pode variar de acordo com o ambiente químico^{29,32}.

Obviamente, complexos metálicos de tiossemicarbazonas mudam consideravelmente a posição destas bandas, principalmente aquelas que estão envolvidas na ligação coordenada^{25,33}. Bharti e colaboradores²⁷ obtiveram complexos de paládio e observaram deslocamentos negativos (14-39 cm⁻¹) para a banda de C=N, que aparece normalmente entre 1556-1630 cm⁻¹, indicando o envolvimento da função azometina na ligação coordenada, assim como para a tiocarbonila (C=S), onde as bandas foram deslocadas para frequências menores (13-35 cm⁻¹).

OBTENÇÃO DE TIOSSEMICARBAZONAS

A preparação de tiossemicarbazonas é extensamente explorada e descrita na literatura^{6,24,34-36}. Na análise retrossintética, em geral, duas estratégias podem ser empregadas: obtenção direta, pela reação quimiosseletiva de aldeídos e/ou cetonas com as tiossemicarbazidas, e obtenção indireta, através da preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina (NH₂-NH₂) e diferentes reagentes, seguida de condensação com o derivado carbonilado específico (Esquema 2).

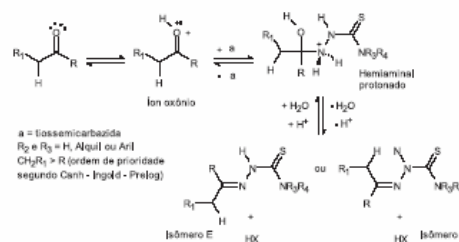


Esquema 2. Análise retrossintética de tiossemicarbazonas

Obtenção direta das tiossemicarbazonas a partir de tiossemicarbazidas

As tiossemicarbazidas podem ser adquiridas comercialmente. A síntese é descrita pela condensação equimolar de um derivado carbonilado, do tipo aldeído ou cetona, com tiossemicarbazidas em meio alcoólico sob refluxo e quantidades catalíticas de ácido^{35,37-39}. Esta reação é bastante conhecida por sua alta quimiosseletividade, versatilidade e rapidez, apresentando geralmente altos rendimentos^{18,40,41}.

O mecanismo reacional é semelhante ao de formação de iminas. Inicia-se com a protonação do oxigênio da carbonila para formar o intermediário íon oxônio, seguida de ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida para formar o intermediário hemiaminal protonado. Este perde uma molécula de água e, após neutralização, forma-se a tiossemicarbazona^{42,43} (Esquema 3).



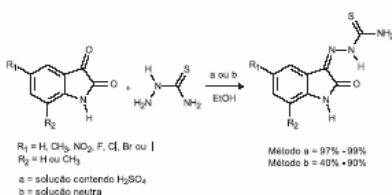
Esquema 3. Mecanismo de formação de tiossemicarbazonas

Apesar da reação ser favorável à formação das tiossemicarbazonas, é fácil notar o caráter reversível de todas as etapas de sua síntese, daí a importância da utilização da catálise ácida em pH controlado. Em geral, a formação da tiossemicarbazona é mais rápida em pH entre 4 e 5. Em valores de pH menores que 4, há possibilidade de ocorrer protonação do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida e, conseqüentemente, a velocidade de condensação será mais lenta. Por outro lado, em pH > 5, a velocidade de reação também diminui, visto que a carbonila se encontrará progressivamente menos protonada^{42,43}.

Vários derivados de tiossemicarbazona foram obtidos utilizando-se as condições reacionais descritas acima. Karah¹⁵, trabalhando com derivados de isatina, reagiu estes com a tiossemicarbazida e obteve tiossemicarbazonas em rendimentos muito altos, alguns variando de 97 a 99% (Esquema 4a). Neste trabalho, a síntese foi realizada em solução etanólica, sob refluxo, contendo quantidades catalíticas de ácido sulfúrico concentrado. Em outro estudo, Benbrook e colaboradores⁴⁰ sintetizaram tiossemicarbazonas derivadas de heteroarotinoídes, um conhecido sistema molecular derivado de retinóides⁴⁴, utilizando ácido acético como catalisador. Aqui, a condensação da tiossemicarbazida com o aldeído correspondente também forneceu facilmente a molécula alvo em rendimentos satisfatórios de 83%.

Alguns autores, efetuaram uma pequena modificação neste método e observaram que as tiossemicarbazonas também poderiam ser sintetizadas em solução neutra indicando que, possivelmente, o emprego do ácido não seria uma condição indispensável para formação dessas moléculas^{34,45,46}.

Neste sentido, Chiyanzu e colaboradores⁴⁶ demonstraram que as tiossemicarbazonas derivadas de isatina, que tinham sido anteriormente obtidas por Karah¹⁵ utilizando o método convencional, também eram facilmente sintetizadas sem o auxílio de catalisadores (Esquema 4b).



Esquema 4. Obtenção de tiossemicarbazonas pelo método convencional (a) e em solução neutra (b)

As tiossemicarbazonas são geralmente obtidas como misturas de isômeros *E* e *Z* no estado sólido⁴⁷. Em solução, há isomerização da configuração *Z* para *E*, devido a sua maior estabilidade termodinâmica⁴⁸. Utilizando técnicas de espectroscopia Raman e RMN ¹H, Temperini e colaboradores⁴⁹ mostraram a predominância do isômero *E* da 2-formil-piridina tiossemicarbazona em DMSO e em meio aquoso.

A isomerização é extremamente influenciada pela presença de ácido e pela natureza dos grupos substituintes ligados ao carbono azometina, bem como pelos substituintes ligados ao nitrogênio da tioamida (N-4).

Karabatsos e colaboradores⁵⁰ mostraram, em estudos utilizando a técnica de RMN ¹H, que os hidrogênios azometina de tiossemicarbazonas na configuração *E* ressonam a campo magnético baixo em relação a tiossemicarbazonas em configuração *Z*, mesmo em diferentes solventes. Resultado semelhante foi obtido por Antonini e colaboradores²⁸, alguns anos depois.

Como regra geral, as tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar preferencialmente o isômero *E*, termodinamicamente mais estável, enquanto que nas derivadas de cetonas assimétricas a proporção entre *E* e *Z* depende da estrutura dos substituintes ligados à carbonila⁴².

Obtenção indireta das tiossemicarbazonas pela preparação prévia de tiossemicarbazidas, utilizando hidrato de hidrazina como material de partida

Conforme mencionado, as tiossemicarbazonas são obtidas atra-

vés de reação entre compostos carbonilados e tiossemicarbazidas comercialmente obtidas ou previamente preparadas. A seguir, são descritos alguns métodos de obtenção de tiossemicarbazidas a partir de hidrato de hidrazina.

Reação com ácido tiocarbamoiltioglicólico

Este método fornece uma rota bem interessante quando se pretende obter tiossemicarbazidas substituídas na posição N-4 com grupos incomuns, não encontrados comercialmente. A reação ocorre em meio alcalino, sob refluxo, contendo ácido tiocarbamoiltioglicólico e hidrato de hidrazina. Estes reagem para formar a tiossemicarbazida, liberando o ácido tioglicólico¹⁴ (Esquema 5, Equação 1). Os ácidos tiocarbamoiltioglicólicos, por sua vez, podem ser obtidos segundo metodologia desenvolvida por O'Sullivan e colaboradores⁵¹.

Reação com ditiocarbamatos

O método que usa ditiocarbamatos e hidrato de hidrazina é, de forma geral, bem semelhante ao descrito anteriormente. Neste caso, a obtenção das tiossemicarbazidas ocorre após adição nucleofílica da hidrazina ao carbono da tiocarbonila, com conseqüente remoção do grupo S-CH₃ (Esquema 5, Equação 2)⁵².

O derivado ditiocarbamato de metila pode ser obtido a partir de aminas primárias ou secundárias, em reação com dissulfeto de carbono e uma base forte em meio alcoólico fazendo-se, em seguida, a reação de *S*-metilação com iodeto de metila^{52,53}.

Uma modificação na metodologia descrita acima é comumente utilizada na síntese de tiossemicarbazonas. Ao invés de fazer uso dos ditiocarbamatos, utiliza-se hidrazinacarboditiolato de metila e aminas primárias ou secundárias^{54,55}. Esta modificação apresenta uma vantagem, uma vez que a estrutura básica da tiossemicarbazona já estará formada após a remoção do grupo S-CH₃ (Esquema 5, Equação 3).

Como esperado, quanto mais nucleofílica for a amina utilizada mais rápida será a formação da tiossemicarbazona⁵⁵.

Reação com isotiocianatos

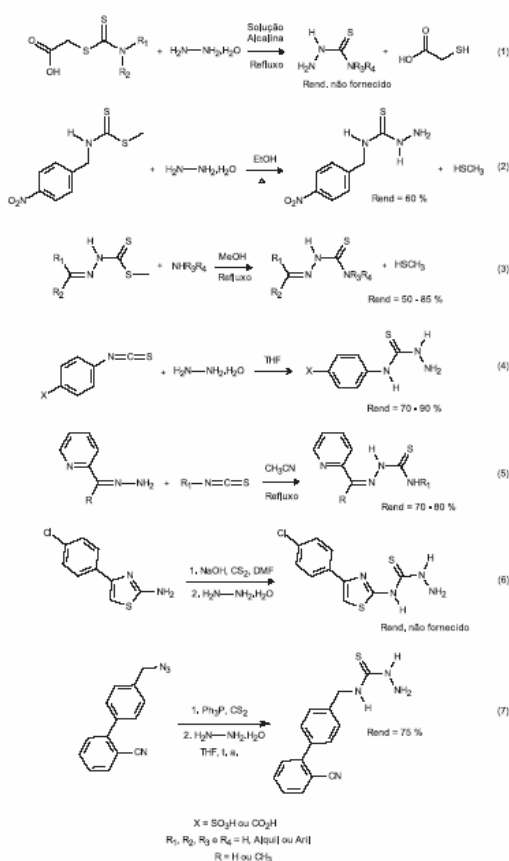
O hidrato de hidrazina reage com isotiocianatos para formar tiossemicarbazidas⁵⁶⁻⁵⁸. Esta reação geralmente apresenta rendimentos entre 70 e 90% (Esquema 5, Equação 4).

Este método também apresenta uma modificação semelhante ao que foi observado com os ditiocarbamatos. Utilizando-se hidrazonas como nucleófilos, no lugar de hidrato de hidrazina, tem-se a formação direta das tiossemicarbazonas (Esquema 5, Equação 5)^{59,60}.

Reação com dissulfeto de carbono

A reação de derivados de amina com dissulfeto de carbono, seguida da adição de hidrato de hidrazina é um método muito útil na preparação de tiossemicarbazidas. Pandeya e colaboradores⁶¹ utilizaram esta metodologia para sintetizar, em uma única etapa, a tiossemicarbazida a partir de 2-amino-4-(*p*-cloro-fenil)-tiazol (Esquema 5, Equação 6).

Outra forma de obtenção de tiossemicarbazidas utilizando dissulfeto de carbono é através do método de Tsuge e colaboradores⁶². Neste método, tiossemicarbazidas são sintetizadas a partir de azidas. Estas são tratadas inicialmente com trifetilfosfina e dissulfeto de carbono para fornecer os isotiocianatos correspondentes e, em seguida, faz-se a adição da hidrazina (Esquema 5, Equação 7).



Esquema 5. Métodos de obtenção de tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas

APLICAÇÕES SINTÉTICAS DE TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas são substâncias muito empregadas como intermediários na síntese orgânica de importantes heterociclos. Sua vasta aplicação deve-se, entre outros fatores, a sua já mencionada versatilidade de obtenção e manipulação, em detrimento de outras substâncias que exigem alto grau de cuidado. São substâncias de fácil estocagem, não necessitando de armazenagem especial, nem tampouco são sensíveis à luz. Devido à natureza quimiosseletiva de sua formação, podem ser empregadas em diversas situações.

Obtenção de tiazol

Os tiazóis e seus derivados são importantes heterociclos e estão relacionados com um grande número de aplicações biológicas. Dentre estas, podem-se citar atividades antimicrobiana, antifúngica e anti-inflamatória³⁵.

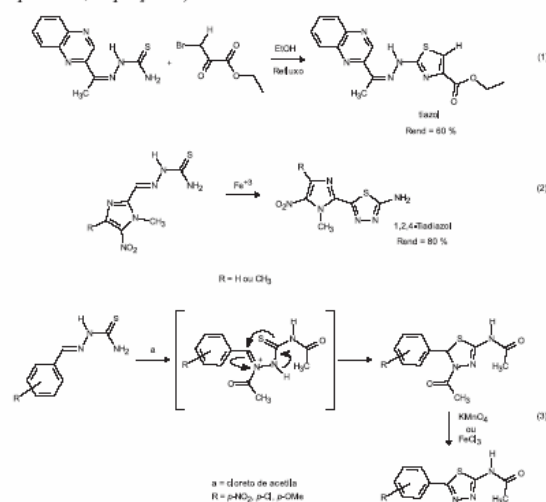
As tiossemicarbazonas, em presença de compostos do tipo α -halogeno-cetonas, funcionam muito bem na síntese de tiazóis. Isto acontece porque as α -halogeno-cetonas são muito reativas frente ao grupo tioamida nucleofílico presente na estrutura das tiossemicarbazonas e, conseqüentemente, levam à ciclização para formar o heterociclo. Sarodnick e colaboradores³⁷ sintetizaram derivados tiazóis empregando tiossemicarbazonas e 3-bromopiruvato de etila em etanol sob refluxo (Esquema 6, Equação 1).

Obtenção de 1,3,4-tiadiazol

Tiossemicarbazonas também podem ser utilizadas na obtenção de 1,3,4-tiadiazóis^{62,63}. Chauvière e colaboradores⁶² sintetizaram 5-nitroimidazol-1,3,4-tiadiazol, utilizando reação de ciclização oxidativa com íons férricos e tiossemicarbazona (Esquema 6, Equação 2).

Outro método de obtenção de 1,3,4-tiadiazóis a partir de tiossemicarbazonas é através da ciclização destas em presença de anidrido acético ou haletos de acila, seguida de oxidação com permanganato de potássio ou cloreto de ferro(III)⁶³.

A formação destes derivados por este método pode ser explicada pelo mecanismo proposto por Kubota e colaboradores⁶³, onde primeiramente formar-se-ia um intermediário com os dois átomos de nitrogênio, presentes nos grupos azometina e tioamida, das tiossemicarbazonas *N*-acilados. Este sofreria um rearranjo favorecendo a ciclização e formação do anel 1,3,4-tiadiazol após oxidação (Esquema 6, Equação 3).



Esquema 6. Obtenção de tiazol; 1,3,4-tiadiazol; e mecanismo de formação 2-acetamido-1,3,4-tiadiazol, a partir de tiossemicarbazonas

Obtenção de 1,2,4-triazina

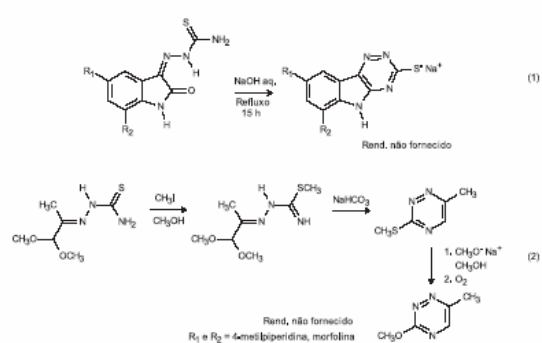
1,2,4-triazinas podem ser obtidas, como demonstraram Ivanchtchenko e colaboradores⁶⁴, utilizando-se tiossemicarbazonas derivadas de isatinas. Nesta síntese, o anel triazina é formado pela ciclização da tiossemicarbazona quando esta é tratada com hidróxido de sódio aquoso sob refluxo (Esquema 7, Equação 1).

Bobek, Glowka e Parthasarathy⁶⁵ obtiveram 1,2,4-triazina utilizando um método um pouco diferente. A tiossemicarbazona foi primeiramente tratada com iodeto de metila para, em seguida, ser ciclizada com bicarbonato de sódio em meio aquoso. Pode-se observar que o grupo 5-metil foi estrategicamente colocado para funcionar na etapa seguinte como grupo de saída frente ao metóxido de sódio (Esquema 7, Equação 2).

Obtenção de 1,2,4-ditiazolidinas

As tiossemicarbazonas também são empregadas na síntese de 1,2,4-ditiazolidinas⁶⁶⁻⁶⁸. All e colaboradores⁶⁷ obtiveram derivados ditiazolidinas em três etapas a partir de tiossemicarbazonas, utilizando reações de debenzilação oxidativa como etapa chave. Pri-

1034



Esquema 7. Preparação de 1,2,4-triazina

meiramente, as tiossemicarbazonas foram benziladas e, em seguida, tratadas com derivados aril isotiocianatos. O composto formado foi então oxidado com bromo em clorofórmio para fornecer a ditiazolidina esperada (Esquema 8, Equação 1).

Obtenção de 4-tiazolidinonas

As 4-tiazolidinonas são derivados carbonilados das tiazolidinas. Sua estrutura química apresenta-se formada por um anel de cinco membros, contendo dois heteroátomos, um enxofre e um nitrogênio, e um grupo carbonila na posição 4⁶⁹. Estes compostos são muito importantes na química medicinal devido às suas atividades biológicas, tais como antimicrobiana⁵⁷, antiprotozoária⁷⁰, fungicida⁷¹, antituberculose⁷², entre outras.

As 4-tiazolidinonas podem ser sintetizadas a partir de tiossemicarbazonas como demonstraram Reeve e Barron⁷³. Nesse trabalho, as tiazolidinonas foram obtidas da reação entre tiossemicarbazonas e fenil (triclorometil) carbinol, como único produto reacional, com rendimentos variando entre 31 a 79% (Esquema 8, Equação 2).

Há evidências que o mecanismo reacional nesta síntese envolve a formação inicial de um intermediário epóxido do derivado carbinol, seguida de ataque nucleofílico do ânion tioenolato ao carbono α do epóxido. Isto levaria à formação de um intermediário cloreto de ácido que, finalmente, ciclizaria para formar a tiazolidinona⁷³.

Outra forma de obter 4-tiazolidinonas substituídas na posição 5, a partir de tiossemicarbazonas, é através da reação destas com anidrido maléico^{69,74} (Esquema 8, Equação 3).

A utilização de compostos α -bromo ou α -cloro carbonilados também é muito empregada nas reações de ciclização objetivando a síntese de 4-tiazolidinonas^{57,72,75}.

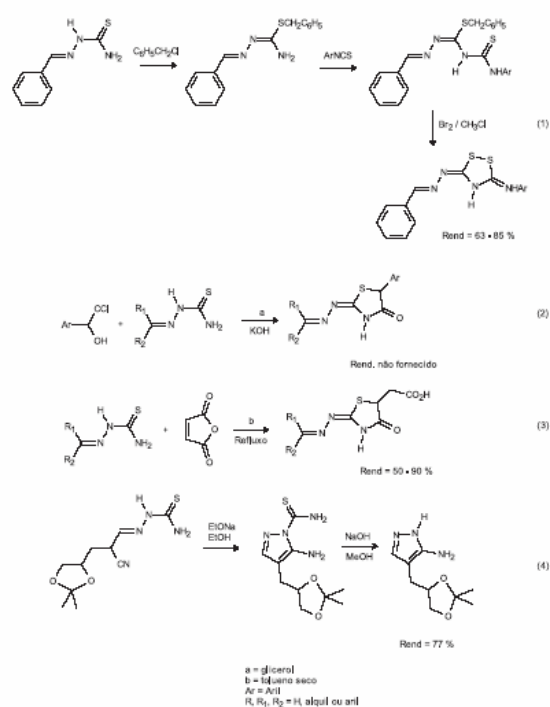
Obtenção de 5-aminopirazol

Em 1988, Ullas e colaboradores⁷⁶ trabalharam na síntese de tiossemicarbazonas, visando sua aplicação na obtenção de análogos nucleosídicos do tipo adenina. As tiossemicarbazonas foram utilizadas com o propósito de preparar, com bons rendimentos, o intermediário 5-aminopirazol, que seria utilizado como material de partida na síntese de vários análogos do aciclovir (fármaco empregado no tratamento de Herpes tipo-2).

A tiossemicarbazona utilizada na síntese para formar o núcleo 5-aminopirazol foi obtida a partir da 2-formilpropionitrila. A síntese iniciou-se com o tratamento da tiossemicarbazona com etóxido de sódio em solução etanólica, onde, após a formação do composto 2-(tiocarbamoil)-3-aminopirazol, fez-se a hidrólise com hidróxido de sódio em meio metanólico (Esquema 8, Equação 4).

Tenório et al.

Quim. Nova



Esquema 8. Aplicação de tiossemicarbazonas na obtenção de ditiazolidinas, 4-tiazolidinonas e 5-aminopirazol

CONSIDERAÇÕES BIOLÓGICAS DE TIOSSEMICARBAZONAS E DE ALGUNS DE SEUS COMPLEXOS METÁLICOS⁷⁷

Como mencionado anteriormente, as tiossemicarbazonas pertencem a uma classe de substâncias bastante conhecidas por suas aplicações importantes na pesquisa de novos fármacos, em função de seu largo espectro de ação⁷⁸. Alguns autores atribuem esta propriedade à alta afinidade que as tiossemicarbazonas apresentam pela enzima ribonucleotídeo redutase, responsável pelo passo crucial na síntese do DNA e, conseqüentemente, da divisão celular^{1,2}. Outros consideram que suas propriedades biológicas são devidas à capacidade que apresentam de formar complexos com cátions metálicos, formando quelatos²⁷. Por outro lado, Greenbaum e colaboradores⁷⁹ sugeriram que o mecanismo de ação das tiossemicarbazonas é ainda complexo e deve acontecer através da inibição de múltiplos alvos.

Neste sentido, as tiossemicarbazonas apresentam-se como ligantes versáteis tanto na forma neutra quanto na forma aniônica, podendo formar ligação coordenada com metais através do átomo de enxofre e do átomo de nitrogênio azometina (C=N)^{27,34}. Esta capacidade de formar ligação coordenada é aumentada se houver grupos doadores de elétrons ligados ao carbono da função azometina¹⁷. A seguir, são descritas as atividades biológicas de algumas tiossemicarbazonas de potencial valor biológico e de alguns complexos metálicos importantes.

Atividade antiprotozoária

Diversos tipos de protozoários foram estudados quanto as suas suscetibilidades às tiossemicarbazonas, como relatam trabalhos publicados recentemente^{14,80,81}.

Bharti e colaboradores¹⁴ efetuaram testes antiprotozoários de

alguns derivados tiossemicarbazonas e obtiveram bons resultados biológicos frente à *Entamoeba histolytica* e *Trichomonas vaginalis*, utilizando metronidazol como fármaco de referência. A substância 5-nitro-tiofeno-2-carbaldeído-*N*(4)-hexametilimina tiossemicarbazona (5-NT-HMINTSC) apresentou em concentrações de 1,71 μM , inibição de 50% de crescimento (CI_{50}) de *Entamoeba histolytica*, em comparação com 2,10 μM de metronidazol necessários para igual inibição (Figura 3a). Outro derivado, 5-nitro-tiofeno-2-carbaldeído-*N*(4)-butil tiossemicarbazona (5-NTBuTSC) apresentou uma CI_{50} de 1,49 μM em atividade tricomocida, em comparação com o valor de metronidazol necessário (1,92 μM) para o mesmo efeito (Figura 3a).

Também foi relatada atividade antimalárica para algumas tiossemicarbazonas. Klayman e colaboradores⁸² observaram que os grupos tiocarbonila e azometina eram necessários para esta atividade biológica. Outros resultados mostram que as propriedades das tiossemicarbazonas de formar quelatos com os cátions metálicos são responsáveis pelas atividades antiprotozoárias^{27,80}. Outras atividades, como antitripanossoma^{20,83} e leishmanicida⁸⁴, foram também relatadas.

Bharti e colaboradores²⁷ também relataram a atividade antiamebocida de tiossemicarbazonas complexadas com Pd(II) e constataram que seus complexos eram mais ativos contra este protozoário que as tiossemicarbazonas livres.

Atividade antiviral

Atividade inibitória sobre a enzima transcriptase reversa (RT), presente em vírus do tipo HIV, foi reportada para tiossemicarbazonas, derivadas de piridoxal, complexadas com estanho(IV) (Figura 3b). Segundo Casas *et al.*⁸⁵, a complexação de tiossemicarbazonas em geral causa um aumento da atividade biológica quando comparada ao ligante livre.

Atividade anti HIV também foi relatada para tiossemicarbazonas por Teitz e colaboradores¹³. Foram estudadas duas tiossemicarbazonas: *N*-metilisatina-4':4'-diiltiossemicarbazona (M-IBDET) e *N*-alilisatina-4':4'-dialiltiossemicarbazona (A-IBDAT). Ambas demonstraram atuar sobre a síntese de proteínas estruturais do HIV.

Genova e colaboradores⁸⁶, por outro lado, compararam a atividade inibitória da benzil bis (tiossemicarbazona) e seu respectivo complexo metálico de paládio(II) sobre linhagens de vírus do tipo HSV 1 e 2 (herpes simples 1 e 2) e observaram que o complexo metálico exibe melhora significativa na atividade antiviral em comparação com a tiossemicarbazona livre (Figura 3c).

Atividade antitumoral

Liu e colaboradores⁹ e Niu e colaboradores⁸⁷ demonstraram a grande potencialidade da substância 3-aminopiridina-2-carboxaldeído tiossemicarbazona (trapiina – 3-AP) como uma das principais substâncias orgânicas no combate a tipos específicos de células tumorais, tais como carcinoma de fígado M-109, carcinoma de ovário humano A2780 e em ratos apresentando leucemia L1210.

Tiossemicarbazonas derivadas de α -(N)-heterociclos carboxaldeído apresentam a propriedade de formar complexos fortes com metais de transição, como ferro e cobre. Estudos indicam que a triapiina atua inativando a atividade da ribonucleotídeo redutase, através do complexo organometálico formado com o átomo de ferro inibindo, desta forma, a etapa limitante da síntese de DNA^{5,33,87}.

Li e colaboradores⁷ desenvolveram um pró-fármaco desta tiossemicarbazona, pela inclusão do grupamento bezoil fosfato, com objetivo de melhorar as propriedades farmacocinéticas e, também,

sua utilidade terapêutica frente a células tumorais M-109 (Figura 3d). Segundo os autores, a bioativação do pró-fármaco ocorreria após uma quebra na ligação fósforo – oxigênio, mediada por uma fosfatase alcalina, levando a um intermediário que passaria por uma série de fragmentações para formar, finalmente, a 3-aminopiridina-2-carboxaldeído tiossemicarbazona⁷.

Estudos pré-clínicos de fase I da triapiina indicaram resultados promissores em pacientes em estágio avançado de câncer utilizando doses variando de 5 mg/m² a 105 mg/m², incluindo atividade sobre tumores resistentes à hidroxiuréia, sem o aparecimento de toxicidade significativa¹¹. Atualmente, esta substância encontra-se em ensaios clínicos de fase II^{77,79}.

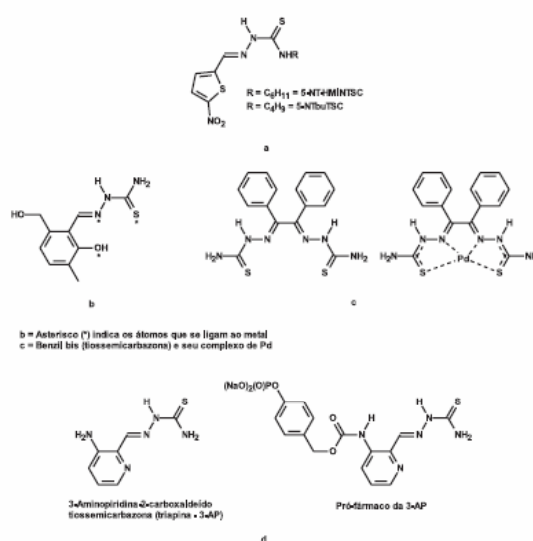


Figura 3. Estruturas de algumas tiossemicarbazonas de importância biológica

CONCLUSÃO

As tiossemicarbazonas fazem parte de uma classe de moléculas altamente versáteis quanto à sua obtenção e aplicação. Devido à sua natureza quimiosseletiva, as tiossemicarbazidas e os compostos carbonilados formam rapidamente as tiossemicarbazonas que, geralmente, apresentam elevados rendimentos. Seu emprego na síntese de importantes heterociclos é conhecido por utilizarem reações simples e apresentarem alta estabilidade em diferentes condições reacionais.

Quanto a seu potencial biológico, diversos trabalhos mostram a eficácia destas moléculas como potentes inibidores da síntese do DNA. Esta propriedade confere às tiossemicarbazonas a possibilidade de serem aplicadas na busca por novas substâncias terapêuticas em diversos campos de pesquisa. Dentre estas, as atividades antitumorais e antiprotozoárias aparecem, sem dúvida, como as mais relevantes, devido aos importantes resultados encontrados na pesquisa acadêmica e industrial.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à Capes, pelo apoio financeiro e pela bolsa de mestrado concedida e a todos aqueles que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Louie, A. Y.; Meade, T. J.; *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2711.
- Cory, J. G.; *Adv. Enzyme Regul.* **1988**, *27*, 437.
- Melo, E. J. T.; Mayerhoffer, R. O.; Souza, W.; *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, *185*, 79.
- Finch, R. A.; Liu, M. C.; Grill, S. P.; Rose, W. C.; Loomis, R.; Vasquez, K. M.; Cheng, Y. C.; Sartorelli, A. C.; *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59*, 983.
- Finch, R. A.; Liu, M. C.; Cory, A. H.; Cory, J. G.; Sartorelli, A. C.; *Adv. Enzyme Regul.* **1999**, *39*, 12.
- Li, J.; Chen, S.; Li, X.; Niu, C.; Doyle, T. W.; *Tetrahedron* **1998**, *54*, 393.
- Li, J.; Luo, X.; Wang, Q.; Zheng, L.; King, I.; Doyle, T. W.; Chen, S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3159.
- Gwilt, P. R.; Tracewell, W. G.; *Clinical Pharmacokinetics* **1998**, *34*, 347.
- Liu, M.; Lin, T.; Sartorelli, A. C.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3672.
- Sartorelli, A. C.; Agrawal, K. C.; Tshtsoglu, A. S.; Moore, E. C.; *Adv. Enzyme Regul.* **1977**, *15*, 117.
- Feun, L.; Modiano, M.; Lee, K.; Mao, J.; Marini, A.; Savaraj, N.; Plezia, P.; Almassian, B.; Colacino, E.; Fischer, J.; Macdonald, S.; *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2002**, *50*, 223.
- Kasuga, N. C.; Sekino, K.; Ishikawa, M.; Honda, A.; Yokoyama, M.; Nakano, S.; Shimada, N.; Koumo, C.; Nomiya, K.; *J. Inorg. Biochem* **2003**, *96*, 298.
- Teitz, Y.; Ronen, D.; Vansover, A.; Stematsky, T.; Riggs, J. L.; *Antiviral Res.* **1994**, *24*, 305.
- Bharti, N.; Husain, K.; Garza, M. T. G.; Vega, D. E. C.; Garza, J. C.; Cardenas, B. D. M.; Naqvi, F.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 3475.
- Karah, N.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 909.
- Panico, R.; Powell, W. H.; Richer, J. C.; eds.; *IUPAC – Nomenclature of organic compounds*; Blackwell: London, 1993.
- Casas, J. S.; Tasende, M. S. G.; Sordo, J.; *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *209*, 197.
- Hang, H. C.; Bertozzi, C. R.; *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 727.
- Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Grifantini, M.; Martelli, S.; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 1181.
- Du, X.; Gou, C.; Hansell, E.; Doyle, P. S.; Caffrey, C. R.; Holler, T. P.; Mckerrow, J. H.; Cohen, F. E.; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2695.
- Chattopadhyay, D.; Mazumdar, S. K.; Banerjee, T.; Sheldrick, W. S.; *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **1989**, *45*, 314.
- Palenik, G. J.; Rendle, D. F.; Carter, W. S.; *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **1974**, *30*, 2390.
- Allen, F. H.; Kennard, O.; Taylor, R.; *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 146.
- Tarasconi, P.; Capacchi, S.; Pelosi, G.; Cornia, M.; Albertini, R.; Bonati, A.; Dall'aglio, P. P.; Lunghi, P.; Pinelli, S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 157.
- Jouad, E. M.; Riou, A.; Allain, M.; Khan, M. A.; Bouet, G. M.; *Polyhedron* **2001**, *20*, 67.
- Ferrari, M. B.; Bonardi, A.; Fava, G. G.; Pelizzi, C.; Tarasconi, P.; *Inorg. Chim. Acta* **1994**, *223*, 77.
- Bharti, N.; Shailendra; Sharma, S.; Naqvi, F.; Azam, A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2923.
- Antonini, I.; Claudi, F.; Franchetti, P.; Grifantini, M.; Martelli, S.; *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 447.
- Galabov, B.; Ilieva, S.; Hadjieva, B.; Dinchova, E.; *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 5854.
- Lauvergnat, D.; Hiberty, P. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9478.
- Vassilev, N. G.; Dimitrov, V. S.; *J. Mol. Struct.* **2003**, *654*, 27.
- Crews, P.; Rodriguez, J.; Jaspars, M.; *Organic structure analysis*, 1st ed., Oxford University Press, Inc: New York, 1998.
- Saha, N. C.; Saha, A.; Butcher, R. J.; Chaudhuri, S.; Saha, N.; *Inorg. Chim. Acta* **2002**, *339*, 348.
- Shailendra; Bharti, N.; Naqvi, F.; Azam, A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 689.
- Holla, B. S.; Malini, K. V.; Rao, B. S.; Sarojini, B. K.; Kumari, N. S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 313.
- Gupta, R. P.; Narayana, N. L.; *Pharmaceutica Acta Helveticae* **1997**, *72*, 43.
- Sarodnick, G.; Heydenreich, M.; Linker, T.; Kleinpeter, E.; *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6311.
- Somogyi, L.; *Tetrahedron* **1991**, *47*, 9305.
- Weinstock, L. T.; Cheng, C. C.; *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 594.
- Benbrook, D. M.; Madler, M. M.; Spruce, L. W.; Birckbichler, P. J.; Nelson, E. C.; Subramanian, S.; Weerasekare, G. M.; Gale, J. B.; Patterson, M. K.; Wang, B.; Wang, W.; Lu, S.; Rowland, T. C.; Disevestro, P.; Lindamood, C.; Hill, D. L.; Berlin, D.; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3567.
- Rodriguez, E. C.; Marcaurrelle, L. A.; Bertozzi, C. R.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7134.
- Costa, P.; Pili, R.; Pinheiro, S.; Vasconcellos, M.; *Substâncias carboniladas e seus derivados*, 1st ed., Bookman: Porto Alegre/MG, 2003.
- Solomons, G.; Fryhle, C.; *Química orgânica*, 7th ed., LTC – Livros técnicos científicos Ed. S. A.: Rio de Janeiro/RJ, 2002, vol. 2.
- Waugh, K. M.; Berlin, K. D.; Ford, W. T.; Holt, E. M.; Carrol, J. P.; *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 116.
- Chiyanzu, I.; Hansell, E.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Mckerrow, J. H.; Chibale, K.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3527.
- Afrasiabi, Z.; Sinn, E.; Padhye, S.; Dutta, S.; Padhye, S.; Newton, C.; Anson, C. E.; Powell, A. K.; *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 306.
- Lemke, T. L.; Shek, T. W.; Cates, L. A.; Smith, L. K.; *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 1351.
- Ota, A. T.; Temperini, M. L. A.; Arêas, E. P. G.; Loos, M.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1998**, *451*, 269.
- Temperini, M. L. A.; Santos, M. R.; Monteiro, V. R. P.; *Spectrochim. Acta, Part A* **1995**, *51*, 1517.
- Karabatsos, G. J.; Vane, F. M.; Taller, R. A.; Hsi, N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3351.
- O'sullivan, D. G.; Sadler, P. W.; Webley, C.; *Chemotherapy* **1963**, *7*, 17.
- Ashton, W. T.; Cantone, C. L.; Chang, L. L.; Hutchins, S. M.; Strelitz, R. A.; Maccoss, M.; Chang, R. S. L.; Lotti, V. J.; Faust, K. A.; Chen, T.; Bunting, P.; Schorn, T. W.; Kivlighn, S. D.; Siegl, P. K. S.; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 591.
- Kaneko, T.; Willner, D.; Monkovic, I.; Knipe, J. O.; Braslawsky, G. R.; Greenfield, R. S.; Vyas, D. M.; *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 133.
- Eason, J.; Heinisch, G.; Holzer, W.; Rosenwirth, B.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3288.
- Klayman, D. L.; Lin, A. J.; McCall, J. W.; Wang, S. Y.; Townson, S.; Grögl, M.; Kinnamon, K. E.; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1422.
- Duffy, K. J.; Shaw, A. N.; Delorme, E.; Dillon, S. B.; Erickson-miller, C.; Giampa, L.; Huang, Y.; Keenan, R. M.; Lamb, P.; Liu, N.; Miller, S. G.; Price, A. T.; Rosen, J.; Smith, H.; Wiggall, K. J.; Zhang, L.; Luengo, J. I.; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3573.
- Gürsoy, A.; Terzioğlu, N.; Ötük, G.; *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, *32*, 753.
- Papastaikoudi, T. S.; Tsoinias, A.; Raptopoulou, C.; Sambani, C.; Thomou, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **1995**, *30*, 107.
- Demilo, A. B.; Redfern, R. E.; Borkovec, A. B.; *J. Agric. Food Chem.* **1983**, *31*, 713.
- Klayman, D. L.; Scovill, J. P.; Bartosevich, J. F.; Mason, C. J.; *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1367.
- Pandeya, S. N.; Sriram, D.; Nath, G.; Declercq, E.; *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *9*, 25.
- Chauvière, G.; Bouteille, B.; Enanga, B.; Albuquerque, C.; Croft, S. L.; Dumas, M.; Pèriè, J.; *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 427.
- Kubota, S.; Ueda, Y.; Fujikane, K.; Toyooka, K.; Shibuya, M.; *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1473.
- Ivanchtchenko, A. V.; Il'yin, A. P.; Kobak, V. V.; Zolotarev, D. A.; Boksha, L. V.; Trifilenkov, A. S.; Ugoleva, D. M.; *J. Comb. Chem.* **2002**, *4*, 419.
- Bobek, M.; Glowka, M.; Parthasarathy, R.; *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 913.
- Ral, S. K.; Tiwari, U. K.; Srivastava, P. K.; *J. Chem. Eng. Data* **1985**, *30*, 515.
- All, M. R.; Singh, R.; Verma, V. K.; *J. Chem. Eng. Data* **1983**, *28*, 276.
- Srivastava, P. K.; Ral, S. K.; *J. Chem. Eng. Data* **1980**, *25*, 400.
- Brown, F. C.; *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 463.
- Alves, A. J.; Leite, A. C. L.; Santana, D. P.; Beltrão, T. M.; Coelho, M. R. D.; *Il Farmaco* **1993**, *48*, 1167.
- Liu, H. L.; Li, Z.; Anthonen, T.; *Molecules* **2000**, *5*, 1055.
- Küçükgüzel, S. G.; Oruç, E. E.; Rollas, S.; Sahin, F.; Özbek, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 197.
- Reeve, W.; Barron, E. R.; *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1917.
- Tenório, R. P.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; Melo, E. J. T.; Goés, A. J.; *Resumos da 27th Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Salvador, Brasil, 2004.
- Abbadly, M. A.; Hafez, S. H. A.; Kandeel, M. M.; Monem, M. I. A.; *Molecules* **2003**, *8*, 622.
- Ullas, G. V.; Chu, C. K.; Ahn, M. K.; Kosugi, Y.; *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2413.
- Beraldo, H.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 461.
- Silva, M. J.; Alves, A. J.; Nascimento, S. C.; *Il Farmaco* **1998**, *53*, 241.
- Greenbaum, D. C.; Mackey, Z.; Hansell, E.; Doyle, P.; Gut, J.; Caffrey, C. R.; Lehrman, J.; Rosenthal, P. J.; Mckerrow, J. H.; Chibale, K.; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3212.
- Walcourt, A.; Loyevsky, M.; Lovejoy, D. B.; Gordeuk, V. R.; Richardson, D. R.; *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2003**, *36*, 401.
- Singh, S.; Bharti, N.; Naqvi, F.; Azam, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 459.
- Klayman, D. L.; Scovill, J. P.; Bartosevich, J. F.; Bruce, J.; *Eur. J. Med. Chem. – Chim. Ther.* **1984**, *19*, 49.

83. Casero, R. A.; Klayman, D. L.; Childs, G. E.; Scovill, J. P.; Desjardins, R. E.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1980**, *18*, 317.
84. Dodd, R. H.; Ouannès, C.; Géro, M. R.; Potier, P.; *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1272.
85. Casas, J. S.; Argüelles-rodríguez, M. C.; Russo, U.; Sánchez, A.; Sordo, J.; López-Vázquez, A.; Pinelli, S.; Lunghi, P.; Bonati, A.; Albertini, R.; *J. Inorg. Biochem.* **1998**, *69*, 283.
86. Genova, P.; Varadinova, T.; Matesanz, A. I.; Marinova, D.; Souza, P.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, *197*, 107.
87. Niu, C.; Li, J.; Doyle, T. W.; Chen, S.; *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6311.

MÉTODOS DE OBTENÇÃO, REATIVIDADE E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DE 4-THIAZOLIDINONAS

André P. Liesen, Thiago M. de Aquino e Alexandre J. S. Góes*

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife – PE

José G. de Lima, Antônio R. de Faria e Antonio J. Alves

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50470-521 Recife - PE

ABSTRACT

PREPARATION METHODS, REACTIVITY AND BIOLOGICAL IMPORTANCE OF 4-THIAZOLIDINONES - Molecules containing 4-thiazolidinone ring are known to possess a wide range of biological properties including antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory and antitumoral activities among others. These compounds can be synthesized by cyclization reactions involving α -haloacetic acid or α -mercaptoacetic acid giving good yield. 4-Thiazolidinones are substances usually employed in several reactions involving chemoselective process by aldol condensations (*C-5 moiety*), *N*-alkylation (*N-3 moiety*) and oxidation reactions (*S-1 moiety*). Comprehensive reviews have been written on 4-thiazolidinones in 1961 by Brown and in 1980 by Singh et al. In recent years, some new methods for the preparation of 4-thiazolidinone derivatives and several reactions have been reported in the literature. These advances warrant to review the chemical and biological properties of compounds with this important heterocycle employed in synthetic organic chemistry and medicinal chemistry.

Keywords: 4-thiazolidinone; preparation methods; reactivity

INTRODUÇÃO

Nos últimos vinte anos houve um aumento alarmante da resistência de microrganismos - especialmente bactérias Gram-positivas - à ação de medicamentos¹⁻⁵. Este fato observado pode ser atribuído à mutagenicidade destes agentes patogênicos, provocado pela administração de múltiplos fármacos em pacientes hospitalizados, e em pacientes imunocomprometidos com câncer, AIDS ou transplantados^{2,6}.

A enzima enolpiruvil uridina difosfato *N*-acetilglucosamina redutase (Mur B), uma flavoproteína existente apenas em seres procariontes, tem papel fundamental na biossíntese do polímero peptidoglicano⁷. Este biopolímero extracelular é essencial para a manutenção da integridade osmótica da parede celular bacteriana, tanto em microrganismos Gram-positivos como também de Gram-negativos⁸. O peptidoglicano é constituído pela alternância de dois amino-açúcares - *N*-acetil-glucosamina (G) e ácido *N*-acetilmurâmico (M) - acoplados a um tetra ou pentapeptídeo contendo o

fragmento lisina ou diaminopimelato⁹. A principal etapa da biossíntese deste polímero é a formação do precursor ácido uridina difosfato *N*-acetilmurâmico (UNAM), por ser originado deste intermediário o grupo lactil-éter, responsável pelo acoplamento entre o dissacarídeo e a porção peptídica e consequentemente pela formação da unidade monomérica do peptidoglicano⁸. A ação da enzima Mur B consiste na redução da porção enol-éter, do intermediário enolpiruvil uridina difosfato *N*-acetilglucosamina (EP-UNAG), à porção lactil-éter do ácido uridina difosfato *N*-acetilmurâmico (UNAM)¹⁰, via transferência de dois elétrons através da NADPH (β -nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido) utilizando como cofator o FAD (flavina adenina dinucleotídeo)⁸ (Figura 1).

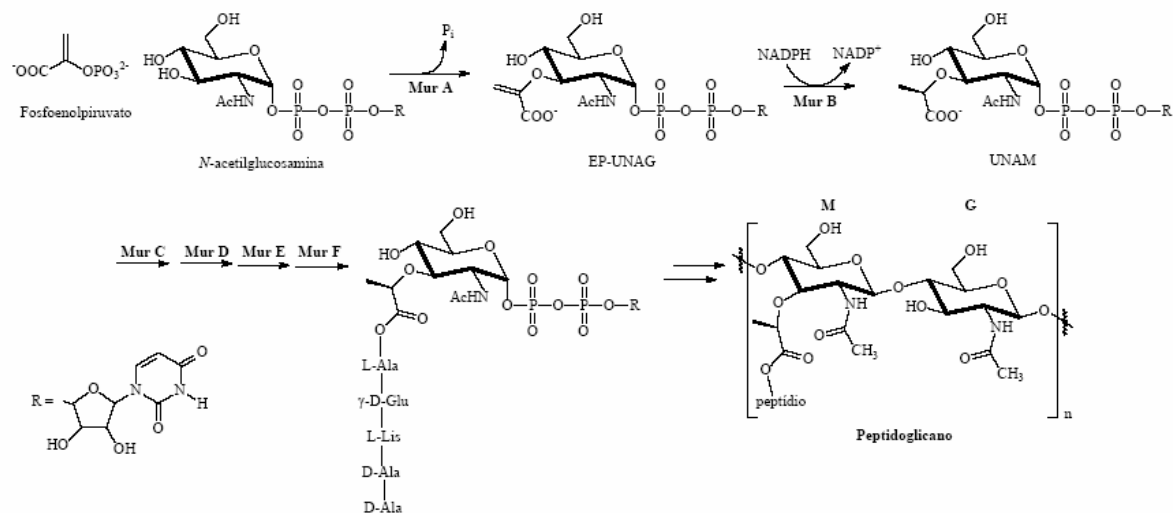


Figura 1. Biossíntese do peptidoglicano

Recentemente, 4-tiazolidinonas substituídas têm sido relatadas na literatura como potenciais novos agentes inibidores da enzima Mur B¹¹, agindo como mimetizadores da porção difosfato da EP-UNAG⁷. 4-Tiazolidinonas representam uma classe de compostos de grande interesse científico devido às suas propriedades químicas e atividades biológicas tais como antibacteriana¹² (inclusive ativos contra *Mycobacterium tuberculosis*¹³), antifúngica¹⁴, antiprotozoária¹⁵, anti-retroviral¹⁶, antiinflamatória e analgésica¹⁷, antitumoral¹⁸, dentre outras. A estrutura química base, conforme a IUPAC¹⁹, desta classe de compostos derivados da tiazolidina, consiste em um anel de cinco membros contendo dois heteroátomos, um átomo de enxofre (posição 1) e 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 2).

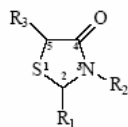
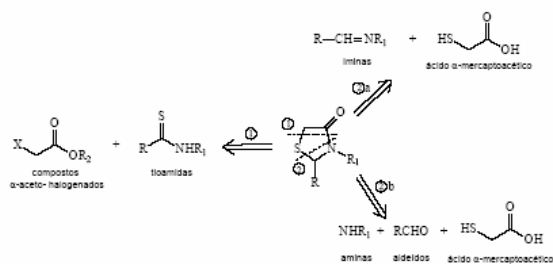


Figura 2. Anel 4-tiazolidinona

A síntese de compostos contendo o anel 4-tiazolidinona é bastante descrita na literatura^{7,9,20-22}. Devido à busca por um método geral, simples, eficiente e de baixo custo para a obtenção destes compostos, vários trabalhos têm sido desenvolvidos^{23,26-32}. Em geral, as 4-tiazolidinonas podem ser produzidas, com bons rendimentos, através de reações de ciclização envolvendo ácido α -haloacético ou ácido α -mercaptoacético, como descrito em revisões desenvolvidas por Brown²⁴, em 1961, e Singh e colaboradores²⁵, em 1981. Estas publicações são consideradas referências fundamentais para o estudo de 4-tiazolidinonas, e por isso são frequentemente citadas por diversos autores.

MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE 4-TIAZOLIDINONAS

De acordo com a análise retrossintética visualizada para a síntese de derivados 4-tiazolidinônicos (Esquema 1), duas estratégias podem ser empregadas: formação das ligações C₂-S e C₄-N, a partir de reações envolvendo compostos α -aceto-halogenados e tioamidas (Esquema 1, 1); e formação das ligações C₂-S e C₄-N, envolvendo reações entre iminas substituídas e o ácido α -mercaptoacético (Esquema 1, 2a) ou através de reações de condensação com três componentes, do tipo "one-pot", entre aminas, aldeídos e ácido α -mercaptoacético (Esquema 1, 2b). Essa última estratégia conduz à formação de iminas *in situ*, a partir de reações entre aminas e aldeídos, e posterior condensação destas com o ácido α -mercaptoacético, formando o anel 4-tiazolidinona.



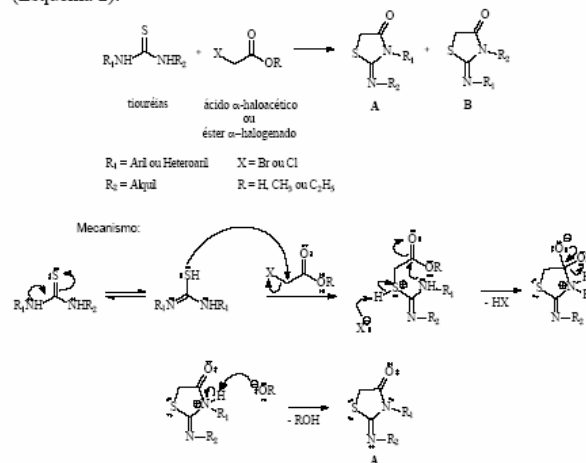
Esquema 1. Análise retrossintética de 4-tiazolidinonas

Dentre os processos de síntese de 4-tiazolidinonas descritos na literatura, destacam-se as reações de ciclização envolvendo ácidos α -haloacéticos ou derivados destes com tiouréias²⁶, aciltiossemicarbazidas²⁷ e tiossemicarbazonas²⁸; reações de cicloadição do ácido α -mercaptoacético com tiossemicarbazonas²⁹; reações de condensação entre ácido α -mercaptoacético, aminas primárias e aldeídos³⁰; e reações de ciclização entre moléculas que apresentam ligação dupla ou tripla conjugada com o grupo carbonila, como anidrido maléico ou acetilenodicarboxilato de dimetila e compostos que apresentam a função tioamida, como as tiossemicarbazonas^{24,31-33}.

A partir de reações envolvendo ácidos α -haloacéticos e seus derivados

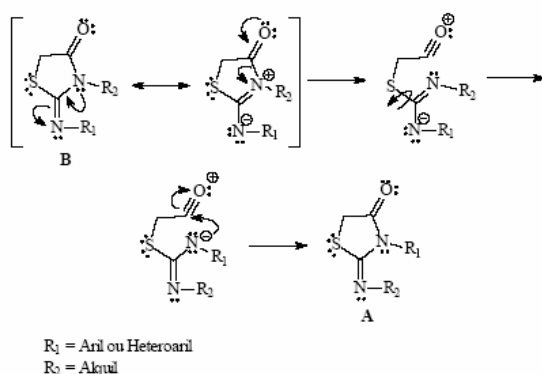
1. Com tiouréias

As reações de tiouréias substituídas com ácidos α -haloacéticos, ou derivados destes, produzem 2-imino-4-tiazolidinonas. Estas reações ocorrem em solventes polares (ex.: etanol) sob refluxo e em presença de base (acetato de sódio anidro ou piridina) devido ao grupo imino ser muito susceptível à hidrólise ácida³⁴. Tiouréias substituídas podem ser obtidas através de reações envolvendo fenilisotiocianatos com aminas primárias. Reações com tiouréias assimétricas (1,3 dissustituídas, onde R₁ ≠ R₂) formam dois regioisômeros, onde a regioseletividade é controlada por fatores eletrônicos, principalmente pela conjugação de substituintes eletrôn-atraentes (ex.: aril ou heteroaril) com o nitrogênio do grupo imino³⁴ (Esquema 2).



Esquema 2. Formação dos regioisômeros de 2-imino-4-tiazolidinonas

Ottanà e colaboradores³⁴ demonstraram que a proporção entre os regioisômeros depende do solvente utilizado e do tempo de reação. Tendo como solvente CHCl₃ e à temperatura ambiente, foi obtida após 4 horas de reação, a razão isômero A / isômero B igual a 1/2, já em meio metanólico sob refluxo e após 24 horas houve apenas a formação do isômero A. A proposta para explicar este fato é a existência de um rearranjo intramolecular convertendo o regioisômero B no regioisômero A (Esquema 3).



Esquema 3. Rearranjo intramolecular de 2-imino-4-tiazolidinonas

Reações envolvendo tiouréias assimétricas com substituintes 1,3-dialquil, 1-alkil-3-aryl ou 1-aryl-3-alkil, possuem baixa regioseletividade devido à falta de conjugação com o grupo imino. Laurent e colaboradores³⁶ demonstraram que a reação de 1-benzil-3-(3-clorobenzil)-tiouréia com bromoacetato de etila e dois equivalentes de AcONa em EtOH forma regioisômeros na proporção de 1:1. Os mesmos autores propuseram modificar um dos substituintes arilalquil para heteroarilalquil. O objetivo desta alteração, foi avaliar uma possível regioseletividade, devido a influência de uma possível ligação de hidrogênio entre o heterociclo protonado e a carbonila do éster, na formação do anel 4-tiazolidinona (Figura 3).

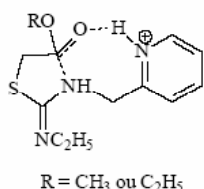
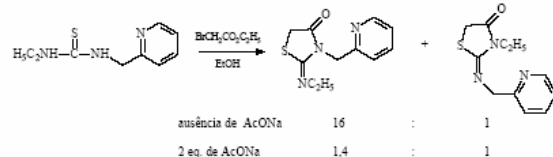


Figura 3. Ligação de hidrogênio intramolecular determinando ciclização regioseletiva.

Para isso realizaram duas reações envolvendo a 1-etil-3-(2-metilpiridinil)-tiouréia com bromoacetato de etila em EtOH, a primeira reação sem a adição de AcONa, para facilitar a protonação do heterociclo, e a segunda com dois equivalentes de AcONa como já descrito anteriormente. Foi observado uma proporção de 16 : 1 para os regioisômeros formados na primeira reação e de 1,4 : 1 para os obtidos na segunda reação (Esquema 4).

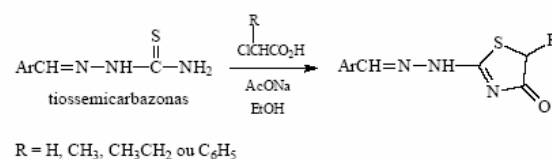


Esquema 4. Influência da utilização de base sobre a regioseletividade

2. Com aciltiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas

A preparação de 4-tiazolidinonas, a partir de reações envolvendo ácidos α -haloacéticos ou seus derivados com tiossemicarbazonas e aciltiossemicarbazidas, é extensamente descrita na literatura^{31,35,36,37}. Alves e colaboradores¹⁵ e Jolly e colaboradores³⁸ sintetizaram 4-oxo- Δ^2 -tiazolin-2-il-hidrazonas, tautômeros de 4-tiazolidinonas, pela reação entre tiossemicarbazonas não

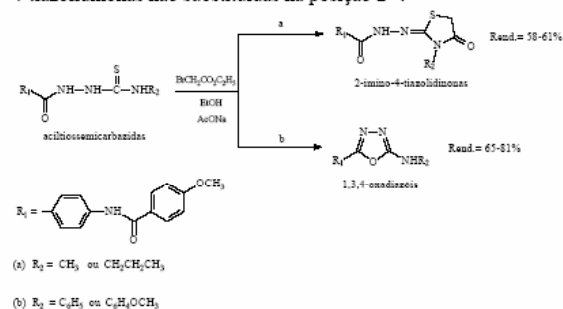
substituídas em *N*-4 e ácidos monocloroacéticos substituídos, em presença de acetato de sódio anidro e etanol (Esquema 5).



Esquema 5. Síntese do tautômero 4-oxo- Δ^2 -tiazolin-2-il-hidrazona

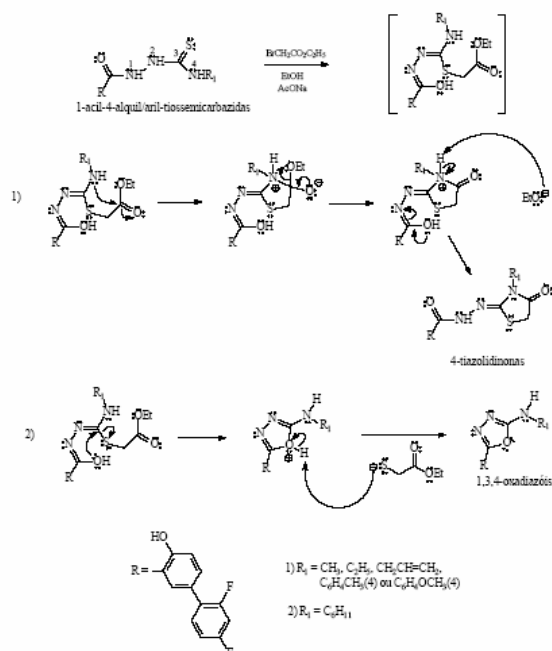
Metodologia semelhante foi aplicada em recentes trabalhos desenvolvidos por Küçükğüzel e colaboradores^{11,39} na obtenção de 2-imino-4-tiazolidinonas a partir de reações envolvendo aciltiossemicarbazidas e α -bromoacetato de etila (Esquema 6, Equação a).

Contudo, esta metodologia não forneceu os derivados de 4-tiazolidinonas esperados quando se tentou condensar as respectivas aciltiossemicarbazidas substituídas, contendo grupos volumosos em *N*-4, como fenil, *p*-metoxi-fenil e cicloexil, fornecendo por outro lado 1,3,4-oxadiazóis como principais produtos (Esquema 6, Equação b). Evidências da formação de 1,3,4-oxadiazóis foram comprovadas em espectros de RMN ¹H pela ausência do singletto de *S*-CH₂ localizado entre 3,95 ppm e 4,09 ppm, mas presente em 4-tiazolidinonas não substituídas na posição 2³⁹.



Esquema 6. Síntese de 4-tiazolidinonas e 1,3,4-oxadiazóis utilizando éster α -halogenado

O mecanismo proposto para formação de 4-tiazolidinonas ou de 1,3,4-oxadiazóis a partir de 1-acil-4-alkil/aryl-tiossemicarbazidas envolve duas etapas: a primeira etapa consiste em uma *S*-alkilação a partir da forma tiol e a segunda a 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-oxadiazóis¹¹ (Esquema 7).

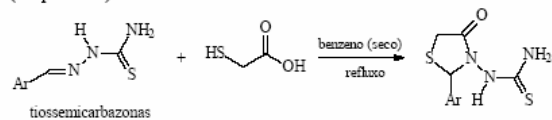


Esquema 7. Mecanismo de formação de 4-tiazolidinonas ou 1,3,4-oxadiazóis a partir de 1-acil-4-alkil-aril-tiossemicarbazidas ou 1-acil-4-aryl-tiossemicarbazidas

A partir de reações envolvendo ácido α -mercaptoacético

1. Com tiossemicarbazonas

El-Gendy e colaboradores⁴⁰ demonstraram que reações envolvendo ácido α -mercaptoacético com tiossemicarbazonas, em benzeno seco, levam à formação de 3-tioureido-4-tiazolidinonas (Esquema 8).

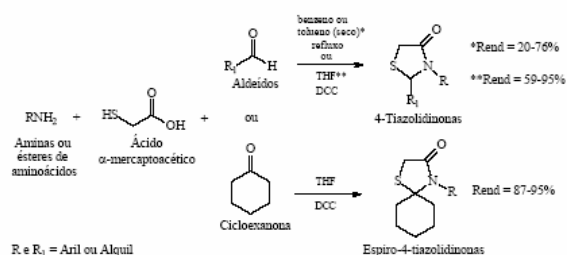


Esquema 8. Formação de 2-aryl-3-tioureido-4-tiazolidinonas

2. Com aminas e aldeídos

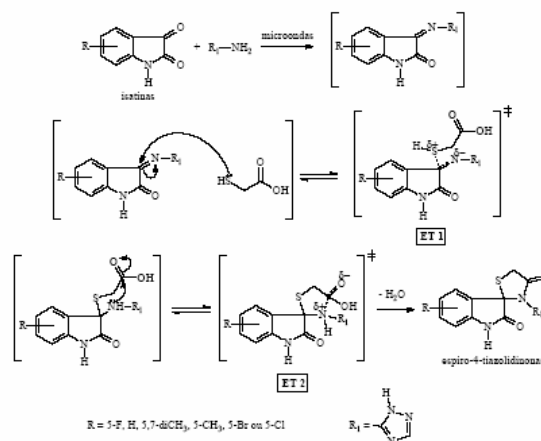
Reações de condensação envolvendo ácido α -mercaptoacético com aminas primárias ou ésteres de aminoácidos e aldeídos formando 4-tiazolidinonas 2,3-dissubstituídas são extensamente descritas na literatura⁴¹⁻⁴⁶. Estas são denominadas reações de condensação de três componentes "one-pot", processos em que três substâncias são colocadas para reagirem diretamente em um único balão, facilitando a purificação e o isolamento do composto formado. Ocorrem geralmente em tolueno ou benzeno seco sob refluxo, com tempos de reação variando entre duas horas e quarenta e oito horas alcançando bons rendimentos (Esquema 9). Srivastava e colaboradores⁴⁷ utilizaram outra metodologia, envolvendo reações de condensação de três componentes "one-pot", para obtenção de novas 4-tiazolidinonas. Nesse trabalho foi utilizado como solvente o tetraidrofurano (THF) a 0 °C e dicitloexilcarbodiimida (DCC) como agente de acoplamento, reagente que atua diretamente na formação do anel tiazolidinônico (Esquema 9). Durante a reação a DCC é transformada em dicitloexiluréia (DCU) que pode ser facilmente removida por

filtração, uma vez que a DCU é completamente insolúvel em THF. Os tempos médios de reação ficaram em torno de uma hora, bem menores que aqueles observados nas reações realizadas em tolueno ou benzeno seco, atingindo bons rendimentos, principalmente quando a adição de DCC foi realizada a 0 °C.



Esquema 9. Síntese de 4-tiazolidinonas utilizando reações de condensação de três componentes "one-pot"

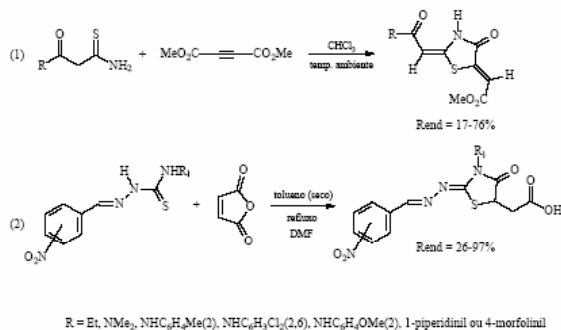
Em trabalho recente, Kavitha e colaboradores²³ demonstraram que reações de ácido α -mercaptoacético com aminas primárias e aldeídos ou cetonas podem ser otimizadas quando assistidas por microondas. Foi realizado um estudo comparativo entre o procedimento envolvendo DCC em THF e a reação assistida por microondas para a obtenção das mesmas 4-tiazolidinonas 2,3 dissubstituídas. Os rendimentos obtidos pelo método tradicional variaram entre 65% e 70%, com tempos de reação no intervalo de duas a quatro horas, já os rendimentos das reações obtidas sob microondas variaram de 80% a 90%, com tempos de reação na faixa de quarenta e cinco segundos a um minuto. Os resultados obtidos podem ser interpretados como um aumento da regioseletividade induzida por microondas. Este tipo de radiação atua promovendo a formação de estados de transição dipolares (ET1 e ET2), reduzindo a energia de ativação e consequentemente facilitando a formação do anel 4-tiazolidinona, como observado por Dandia e colaboradores²⁰ para a síntese de espiro-4-tiazolidinonas a partir de isatinas, utilizando reações de condensação de três componentes "one-pot" (Esquema 10).



Esquema 10. Efeitos promovidos por microondas na formação de 4-tiazolidinonas

A partir de reações entre compostos com a função tioamida e anidrido maléico ou acetilenoedicarboxilato de dimetila

Outro método de preparação de 4-tiazolidinonas é através da reação envolvendo compostos que apresentam a função tioamida, como as tiossemicarbazonas³³, com compostos carbonilados α,β -insaturados, como acetilenoedicarboxilato de dimetila (DMAD)³¹ ou anidrido maléico³². Berseneva e colaboradores³¹ sintetizaram análogos 2,5-dimetileno-4-tiazolidinonas a partir da ciclização de derivados da malontioamida com DMAD (Esquema 11, Equação 1). Através da análise do espectro de RMN ¹³C foi possível observar a ausência de sinais entre 170-190 ppm, os quais são característicos de carbonos de tiocarbonilas e tiolactonas, um dos indícios que confirmaram a formação do anel 4-tiazolidinônico. Recentemente, Tenório e colaboradores³² obtiveram novos derivados, possuindo o grupo ácido acético em posição cinco do anel 4-tiazolidinona, a partir da reação entre nitrobenzaldeído-tiossemicarbazonas substituídas e anidrido maléico, em tolueno seco sob refluxo. Este processo consiste em uma reação de adição do tipo tia-Michael, estando o anidrido maléico no papel de acceptor de Michael (Esquema 11, Equação 2).



Esquema 11. Obtenção de 4-Tiazolidinonas a partir de compostos contendo a função tioamida

REATIVIDADE DO ANEL 4-TIAZOLIDINONA

Dentre as diversas reações que envolvem o anel 4-tiazolidinona destacam-se os processos quimiosseletivos que ocorrem nas posições 1 (enxofre) em reações de oxidação⁴⁸, 3 (nitrogênio) em reações de *N*-alquilação⁴⁹ e em reações de Mannich²⁵, 4 (carbonila) em reações de tionação via reagente de Lawesson⁵⁰ e 5 (carbono metilênico) em reações de condensação com aldeídos², cetonas ou com sais de diazônio²⁴ (Figura 4).

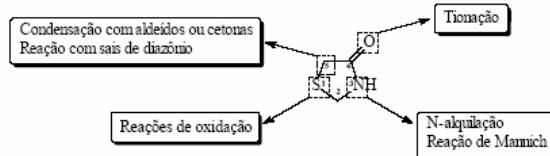


Figura 4. Principais reações do anel 4-tiazolidinona

Reações de oxidação

Reações de oxidação na posição 1 do anel 4-tiazolidinona são realizadas, geralmente, utilizando permanganato de potássio (KMnO₄) em ácido acético aquoso a 5 °C, para a formação de 1,1-

dioxo-4-tiazolidinonas⁴⁸. Uma outra metodologia foi utilizada por Fuchigami e colaboradores⁵¹ utilizando o ácido *m*-cloroperbenzóico (MCPBA), em clorofórmio, como agente oxidante (Esquema 12, Equação a).

Reações de *N*-alquilação

Trabalhos realizados por Graciet e colaboradores⁴⁹, e Nishimoto e colaboradores⁵² demonstraram que 4-tiazolidinonas substituídas na posição 2 com grupos alquil ou alquilalcóxi sofrem reações de *N*-alquilação. Nesta síntese são utilizadas quantidades equivalentes de uma base, geralmente hidróxido de potássio, com 4-tiazolidinonas em dimetilformamida anidra, promovendo a formação do íon amideto através da abstração do hidrogênio em *N*-3 e posterior ataque deste ânion a 1,2-dibromoetano à temperatura ambiente (Esquema 12, Equação b). A utilização de uma base dura como o hidróxido de potássio é imprescindível para a formação do ânion amideto, uma vez que 4-tiazolidinonas não substituídas na posição três são ácidos fracos.

Reação de Mannich

Reações do tipo Mannich ocorrem geralmente entre 2-imino-4-tiazolidinonas e aminas primárias ou secundárias, em presença de formaldeído (HCHO) ou paraformaldeído [(HCHO)_n], em metanol, levando à formação de 2-imino-3-(aminometil substituído)-4-tiazolidinona²⁵ (Esquema 12, Equação c).

Reações de condensação com aldeídos

O grupo metileno na posição 5 do anel 4-tiazolidinona, devido à sua acidez, possui reatividade característica, e condensa com aldeídos ou cetonas em reação do tipo Knoevenagel⁵³. Nesta reação há formação de um enolato intermediário estabilizado, que é dependente do efeito elétron-atraente da carbonila, adjacente ao grupo metileno, e da presença de grupos elétron-atraentes na posição 2 do anel 4-tiazolidinona²⁵. A reação de condensação ocorre geralmente em presença de solução tamponada ácido acético glacial / acetato de sódio anidro², onde o acetato de sódio funciona tanto como base quanto como agente desidratante, ou alternativamente em solução piperidina / etanol³⁴ (Esquema 12, Equação d).

A síntese de 5-arilidenos-4-tiazolidinonas, obtidos pela condensação de 4-tiazolidinonas com benzaldeídos substituídos, conduz, teoricamente, à duas configurações diastereoisoméricas *E* e *Z*. A configuração na qual os dois substituintes prioritários (enxofre e fenil) encontram-se do mesmo lado é denominada *Z*, quando estes substituintes estão localizados em lados opostos é denominada *E*. A determinação da configuração dos diastereoisômeros pode ser feita através de análises espectroscópicas (RMN ¹³C, RMN ¹H) e através de cristalografia por raios X. Otanná e colaboradores³⁴ determinaram a configuração *Z* para análogos 2-imino-5-arilideno-4-tiazolidinonas verificando a influência magnética da carbonila sobre o deslocamento químico do hidrogênio metínico em RMN ¹H, que aparece como um singlete em 7,70-7,75 ppm, enquanto que para isômeros *E*, devido à menor influência magnética do átomo de enxofre, este singlete aparece com deslocamento inferior a 7,70 ppm.

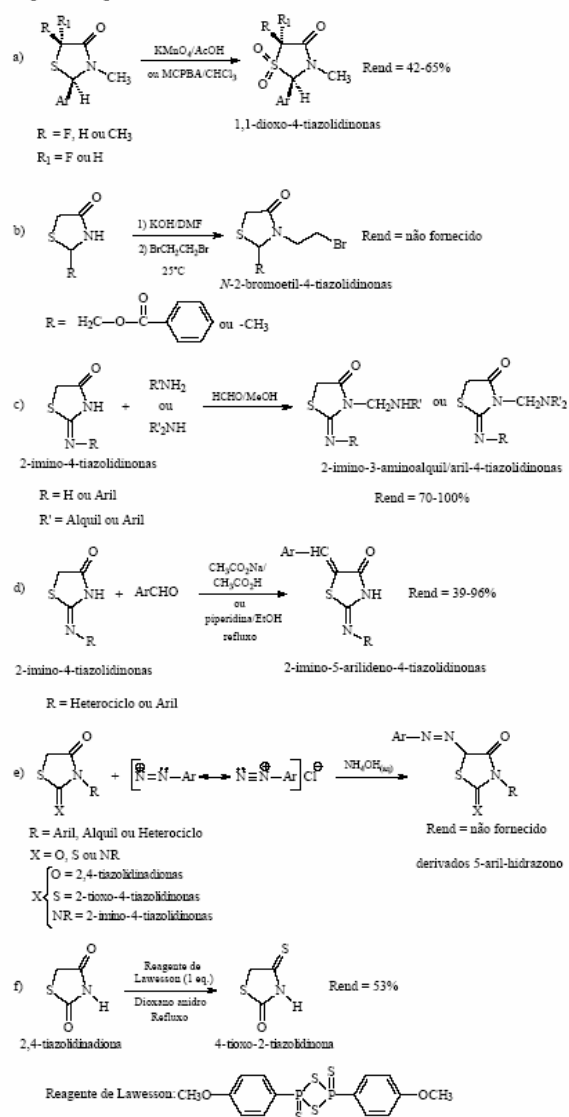
Reações com sais de Diazônio

4-tiazolidinonas podem realizar reações de acoplamento com sais de diazônio²⁴. Estas reações, assim como as reações de condensação aldólica já descritas, são realizadas via formação de enolato (Esquema 12, Equação e).

Reações de Tionação

A tionação de 4-tiazolidinonas pode ser realizada utilizando o reagente de Lawesson (1,3-ditio-2,4-difosfatano-2,4-disulfeto-2,4-bis(4-metóxi-fenil)), como descrito em trabalho realizado por Andrade e colaboradores⁵⁰ para a síntese de 4-tioxtiazolidin-2-ona a partir de tiazolidina-2,4-diona, em dioxano anidro. (Esquema 12, Equação f).

A velocidade desta reação é dependente da densidade eletrônica existente na carbonila e limitada pela temperatura⁵⁵. Em compostos contendo duas ou mais carbonilas, sofrerá primeiramente tionação, àquela que for mais rica em elétrons. A conversão do grupo carbonila em tiocarbonila é atribuída a ildeos de ditiofosfina ($p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-PS}_2$), formados a partir da quebra do anel de quatro membros, contendo átomos de fósforo e enxofre alternados, existente no reagente de Lawesson⁵⁶. O mecanismo reacional envolve um intermediário de quatro membros semelhante à oxafosfetana, observada na reação de Wittig, para formação de aldeídos a partir de aldeídos e cetonas^{56,57}.



Esquema 12. Principais reações de compostos contendo o anel 4-tiazolidinona.

IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA DE 4-TIAZOLIDINONAS

O anel 4-tiazolidinona *per se* não apresenta atividade biológica. No entanto, compostos contendo esse heterociclo possuem grande interesse científico, pois diversos trabalhos reportam um amplo espectro de atividades biológicas dos seus diferentes derivados^{7,11,31,54,58}. Como visto anteriormente, o anel 4-tiazolidinona possui vários sítios de substituição, o que leva a um grande número de análogos estruturais. Portanto, as diferentes atividades biológicas podem ser atribuídas a grupos substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel, onde promovem modificações nos parâmetros físico-químicos e estruturais (lipofílicos, eletrônicos, polares e estéricos) das moléculas. Serão descritas, a seguir, as principais atividades biológicas apresentadas por esses compostos.

Atividade Antimicrobiana

Andres e colaboradores⁷ demonstraram uma potencial inibição da enzima Mur B por 4-tiazolidinonas 2,3,5-trissubstituídas, contendo um grupo ácido acético α -substituído em N-3. Foi observado que o derivado não substituído na posição 5 do anel 4-tiazolidinona e contendo o radical *n*-butil em α ao grupo ácido acético (sintetizado a partir da *D*-norleucina), possuía maior poder inibitório sobre a enzima Mur B (IC₅₀ = 7,7 μ M) (Figura 4, a). Segundo os autores, a estereoquímica parece desempenhar um papel significante na potência da atividade antibacteriana, uma vez que o derivado obtido a partir da *L*-norleucina mostrou-se quatro vezes menos ativo (IC₅₀ = 28,4 μ M). Essas constatações foram realizadas utilizando-se dados obtidos a partir de testes *in vitro*, IC₅₀ (concentração em que cinquenta por cento da atividade enzimática é reduzida) e recursos de química computacional, como docagem de substratos, tendo como base os dados de cristalografia por raios X da enzima Mur B (Figura 5, a). Recentemente, Küçükgülzel e colaboradores¹¹ realizaram a avaliação antimicrobiana de 4-tiazolidinonas, derivadas de hidrazidas-hidrazonas do ácido 2',4'-difluoro-4-hidroxi-bifenil-3-carboxílico (diflunizal), frente a cinquenta e seis espécies de bactérias e seis de fungos, onde não foi observada nenhuma atividade antimicrobiana significante. Por outro lado, Kavitha e colaboradores²³ reportaram que análogos 4-tiazolidinonas substituídas em N-3, com um grupo derivado da venlafaxina (1-[2-amino-1-(4-metoxi-fenil)-etil]-ciclohexanol), possuíam atividade frente a várias cepas bacterianas, como *Pseudomonas fluorescens*, e de fungos, como espécies de *Trichoderma*. Alguns dos resultados obtidos, medindo-se o diâmetro do halo de inibição e determinando-se a concentração inibitória mínima (CIM), mostraram uma melhor ação antimicrobiana destes análogos que os fármacos padrões utilizados, estreptomicina (antibiótico) e nistatina (antifúngico) (Figura 5, b).

Atividade Antiprotozoária

Alves e colaboradores¹⁵ realizaram avaliação da atividade antiprotozoária, *in vitro*, para análogos 4-oxo- Δ^2 -tiazolin-2-il-hidrazonas frente à *Entamoeba histolytica* e *Trichomonas vaginalis*. Nesse trabalho foi observado uma menor atividade antiprotozoária dos compostos testados (CIM = 10 -100 μ g/mL) que o metronidazol (CIM = 1,25 - 2,5 μ g/mL), fármaco utilizado como referência. Recentemente, Tenório e colaboradores³¹ reportaram uma excepcional atividade anti-*Toxoplasma gondii*, *in vitro*, de derivados do ácido 2-[(fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-oxo-5-tiazolidinoacético (Figura 5, c). Todos os compostos analisados mostraram ser menos tóxicos e mais eficazes contra o parasita intracelular que a hidroxiuréia (substância com ação comprovada frente a *T. gondii*), e alguns destes apresentaram melhores atividades antiprotozoárias que a sulfadiazina, fármaco utilizado como referência.

Atividade Antiviral

Recentes trabalhos relatam uma potencial inibição da enzima transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana tipo I (RT-HIV-1), promovida por compostos não-nucleosídeos contendo o anel 4-tiazolidinona. Barreca e colaboradores^{41,42,43} demonstraram que 4-tiazolidinonas 2,3-diaril-substituídas contendo em C-2, grupos 2',6'-di-halofenil (Figura 5, d), possuem uma maior ação inibitória seletiva frente a RT-HIV-1 e menor citotoxicidade, *in vitro*, em células MT-4 infectadas, que os derivados 1-aryl-1*H*,3*H*-tiazolo[3,4- α]benzimidazóis (TBZs), potentes agentes supressores não nucleosídeos da RT-HIV-1, utilizados como referência. Estudo realizado por Rawal e colaboradores¹⁵ utilizando derivados 2-aryl-3-furfuril-4-tiazolidinonas indicou que apenas os compostos contendo, em C-2, grupos 2',6'-di-halofenil possuem ação inibitória relevante sobre a RT-HIV-1. Rao e colaboradores²¹ realizaram estudo semelhante com análogos 2-(2,6-di-halofenil)-3-(pirimidin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas, onde obtiveram elevados níveis de atividade inibitória sobre a RT-HIV-1 (Figura 5, e). De fato, a presença de halogênios nas posições 2 e 6 restringem a rotação do núcleo fenila, permitindo a formação de uma conformação do tipo "borboleta" existente em vários inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa do HIV-1 conhecidos⁵⁸.

Atividades Antiinflamatória e Analgésica

Com a descoberta e caracterização da enzima ciclooxigenase tipo 2 (COX-2) no final da década de 1990, ocorreu um melhor entendimento de como funciona o processo inflamatório e conseqüentemente no interesse da produção de novas substâncias inibidoras seletivas COX-2⁵⁹, isentas dos efeitos gastrointestinais atribuídos à inibição da COX-1. As atividades antiinflamatória e analgésica têm sido descritas em diversos trabalhos recentemente desenvolvidos para 4-tiazolidinonas. Goel e colaboradores⁶⁰ obtiveram excepcional resultado para uma das 3-(4-bromo-2-carboxyphenyl)-5-metil-4-tiazolidinonas 2-substituídas testadas sobre a redução de edema (induzido por carragenina) em ratos albinos, utilizando como fármaco padrão a fenilbutazona (Figura 5, f). Em 1991, Walsh e colaboradores⁶¹ descreveram a ação antiinflamatória e patentearam processos de síntese envolvendo mais de oitenta derivados contendo o heterociclo 4-tiazolidinona, relatando a atuação destes compostos como inibidores das enzimas ciclooxigenase e 5-lipoxigenase.

Vigorita e colaboradores⁵⁹ realizaram estudo computacional e posteriormente avaliação *in vitro*, da ação inibitória seletiva das enzimas COX-1 e COX-2 promovida por estereoisômeros de 3,3'-(1,2-etanodil) bis[2-(3,4-dimetóxilfenil)-4-tiazolidinonas (Figura 5, g). Estas moléculas possuem dois centros estereogênicos (C-2 e C-2'), sendo objeto deste estudo os isômeros *RR*, *SS*, o racemato (*RR* + *SS*) e o composto meso (*RS*), onde foi observado, em ensaios *in vitro*, que o composto dextrorrotatório possuía atividade seletiva COX-2 semelhante ao rofecoxib (fármaco-referência utilizado). Através de modelagem molecular foi possível determinar a ordem de seletividade para a COX-2: *SS*' > *RS* > *RR*'. Allen e colaboradores⁶² desenvolveram novas 4-tiazolidinonas 2,3,5-trissubstituídas com potencial ação antagonista de receptores de quemoquinas CCR4, os quais são responsáveis pela migração de células T ao local da inflamação, que desempenham papel principal na condução de processos inflamatórios alérgicos (Figura 5, h).

Atividade Antipsicótica

Hrib e colaboradores⁶³ patentearam um processo de síntese envolvendo 4-(3-(4-oxotiazolidinil)butil)aminas-4-

tiazolidinonas (Figura 5, i) e 3-[4(4-piperazinil-1-il)butil]-4-tiazolidinonas (Figura 5, j), relatando a ação dos primeiros compostos como analgésicos e anti-hipertensivos, e dos segundos como analgésicos, ansiolíticos, anticonvulsivantes e antipsicóticos. Sendo a ação antipsicótica determinada pela afinidade destes compostos por receptores 5HT₂ (serotonina) e D₂ (dopamina).

Atividade antagonista sobre o Fator Ativador de Plaquetas (FAP)

Enomoto e colaboradores⁶⁴ patentearam um processo de síntese envolvendo novos derivados 2-(3-piridil)-4-tiazolidinonas, e sua aplicação como antagonista seletivo do Fator Ativador de Plaquetas (FAP). Concentrações extremamente baixas deste fator são suficientes para produzir diversos efeitos fisiológicos, tais como: hipotensão sanguínea, aumento da permeabilidade vascular, contração do músculo liso, ativação de leucócitos, monócitos e macrófagos e aceleração da decomposição do glicogênio hepático. É atribuído a estes efeitos uma série de implicações, dentre as quais destacam-se: diversos tipos de inflamações, doenças alérgicas, circulatórias e gastrointestinais.

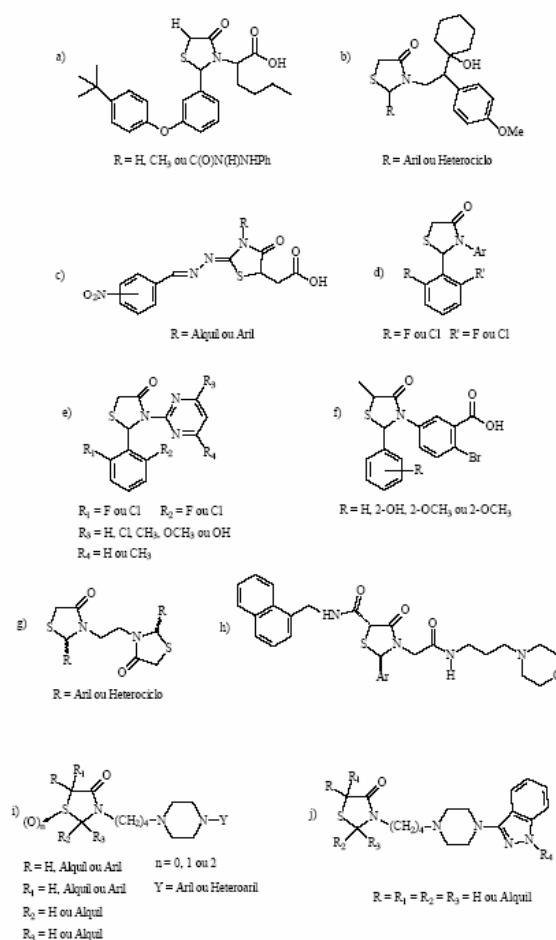


Figura 5. Estruturas de algumas 4-tiazolidinonas de importância biológica

CONCLUSÕES

Compostos contendo o anel 4-tiazolidinona vêm, nos últimos anos, ganhando importância junto à comunidade científica. Vários trabalhos foram e estão sendo desenvolvidos por diversos grupos de pesquisa, tanto da academia quanto das indústrias farmacêuticas (ou mesmo em trabalho conjunto), com base nesta classe de compostos. Sob o ponto de vista químico, o interesse por estas moléculas deve-se ao baixo custo e à versatilidade de sua síntese, utilizando geralmente ácido α -cloroacético, ácido α -mercaptoacético ou seus derivados, obtendo-se análogos com grande diversidade estrutural; e da quimiosseletividade envolvendo reações com este heterociclo, podendo o mesmo, sofrer reações de *N*-alquilação, oxidação, e reações envolvendo o caráter nucleofílico do carbono metilênico, como em reações de condensação com aldeídos aromáticos e sais de diazônio. Sob o ponto de vista biológico, as 4-tiazolidinonas apresentam diversas atividades, sendo reportadas como potenciais agentes antimicrobianos, anti-retrovirais, anti-inflamatórios, anti-hipertensivos, antipsicóticos, anticoagulantes, antiprotozoários, etc. Com isso, vislumbra-se, a partir desta classe de substâncias, o surgimento de novos fármacos.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Kollef, M.H.; Micek, S.T.; *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2006**, *19*, 161.
- Vicini, P.; Geronikaki, A.; Anastásia, K.; Incerti, M.; Zani, F.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3859.
- Tenover, F. C.; McDonald, L. C.; *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2005**, *18*, 300.
- Ellis, M. W.; Lewis, J. S.; *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2005**, *18*, 496.
- Pfultz, R. F.; Wilkinson, B. J.; *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* **2004**, *4*, 273.
- Khan, M. W.; Alam, M. J.; Rashid, M. A.; Chowdhury, R.; *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4796.
- Andres, C.J.; Bronson, J.J.; D'Andrea, S.V.; Deshpande, M.S.; Falk, P.J.; Grant-Young, K. A.; Harte, W.E.; Ho, H.T.; Misco, P.F.; Robertson, J.G.; Stock, D.; Sun, Y.; Walsh, A.W.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 715.
- Benson, T. E.; Walsh, C. T.; Massey, V. *Biochemistry* **1997**, *36*, 796.
- Park, J. T. (1987) in *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology* (Neidhardt, F. C., Ingraham, J. L., Low, K. B., Magasanik, B., Schaechter, M., & Umberger, H. E., Eds.) pp 663-671, American Society for Microbiology, Washington, DC
- Bugg, T. D. H.; Walsh, C. T.; *Nat. Prod. Rep* **1993**, 199.
- Küçükgülzel, G.; Kocatepe, A.; De Clercq, E.; Şahin F.; Güllüce, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 353.
- Khawass, S. M. E.; Khalil, M. A.; Chaaban, I.; *IL Farmaco* **1989**, *44*, 415.
- Babaoglu, K.; Page, M. A.; Jones, V. C.; McNeil, M. R.; Dong, C.; Naismith, J. H.; Lee, R. E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3227.
- Capan, G.; Ulusoy, N.; Ergenc, N.; Kiraz, M. *Monatshefte für Chemie* **1999**, *130*, 1399.
- Alves, A. J.; Leite, A. C. L.; Santana, D. P.; Beltrão, T. M.; Coelho, M. R. D.; *IL Farmaco* **1993**, *48*, 1167.
- Rawal, R. K.; Prabhakar, Y. S.; Katti, S. B.; De Clercq, E.; *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6771.
- Vigorita, M. G.; Ottanà, R.; Monforte, F.; Maccari, R.; Trovato, A.; Monforte, M. T.; Taviano, M. F.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2791.
- Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, T. J.; Miller, D. D.; *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2584.
- Panico, R.; Powell, W. H.; Richer, J. C.; eds.; *IUPAC – Nomenclature of Organic Compounds*; Blackwell: London, **1993**.
- Dandia, A.; Singh, R.; Khaturia, S.; Mérienne, C.; Morgante, G.; Loupyd, A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2409.
- Rao, A.; Balzarini, J.; Carbone, A.; Chimirri, A.; De Clercq, E.; Monforte, A.M.; Monforte, P.; Pannecouque, C.; Zappalà, M.; *Antiviral Research* **2004**, *63*, 79.
- Altıntaş, H.; Ateş, Ö.; Birteksöz, S.; Ötük, G.; Uzun, M.; Şatana, D.; *Türk. J. Chem.* **2005**, *29*, 425.
- Kavitha, C. V.; Basappa, Nanjunda, S. S.; Mantelingu, K.; Doreswamy, S.; Sridhar, M.A.; Prasad, J. S.; Rangappa, K. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2290.
- Brown, F. C.; *Chem. Revs.* **1961**, *61*, 463.
- Singh, S. P.; Parmar, S. S.; Raman, K.; *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 175.
- St. Laurent, D R.; Dedong Wu, Q. G.; Serrano-Wu, M. H.; *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 1907.
- Bonde, C. G.; Gaikwad, N. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2151.
- Ergenç, N.; Çapan, G.; Günay, N.S.; Özkırmılı, S.; Güngör, M.; Özbek, S. Kendi, E.; *Arch. Pharm. Med. Chem.* **1999**, *332*, 343.
- Yadav, L. D. S.; Vaish, A.; Sharma, S.; *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 881.
- Holmes, C. P.; Chinn, J. P.; Gordon, E. M.; Gallop, M. A.; *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7328.
- Berseneva, V.S.; Tkachev, A. V.; Morzherin, Y. Y.; Dehaen, W.; Luyten, I.; Toppet, S.; Bakulev, V. A.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 2133.
- Tenório, R. P.; Carvalho, C. S.; Pessanha, C. S.; Lima, J. G.; de Faria, A. R.; Alves, A. J.; Melo, E. J. T.; Goês, A. J. S.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2575.
- Aquino, T. M.; Liesen, A. P.; Lima, J. G.; Silva, R. E. A.; Lima, V. T.; Araújo, J. M.; Goês, A. J.; *Resumos da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, Brasil, 2006*.
- Ottanà, R.; Maccari, R.; Barreca, M. L.; Bruno, G.; Rotondo, A.; Rossi, A.; Chiricosta, G.; Di Paola, R.; Sautebin, L.; Cuzzocrea, S.; Vigorita, M. G.; *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4243.
- Meher, S. S.; Naik, S.; Behera, R. K.; Nayak, A.; *J. Indian Chem. Soc.* **1981**, *58*, 274.
- Gürsoy, A.; Terzioğlu, N.; Ötük, G.; *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, *32*, 753.
- Abbady, M. A.; Hafez, S. H. A.; Kandeel, M. M.; Monem, M. I. A.; *Molecules* **2003**, *8*, 622.
- Jolly, V. S.; Sharma, K. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 412.
- Kucukguzel, S. G.; Oruc, E. E.; Rollas, S.; Sahin, F.; Ozbek, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 197.
- El-Gendy, Z.; Abdel-Rahman, R.M.; Fawzy, M. M.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 927.
- Barreca, M. L.; Chimirri, A.; De Luca, L.; Monforte, A. M.; Monforte, P.; Rao, A.; Zappalà, M.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Pannecouque, C.; Witvrouw, M.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1793.
- Barreca, M. L.; Balzarini, J.; Chimirri, A.; Clercq, E. D.; Luca, L. D.; Holtje, H. D.; Holtje, M.; Monforte, A. M.; Monforte, P.; Pannecouque, C.; Rao, A.; Zappalà, M.; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5410.

43. Barreca, M. L.; Chimirri, A.; De Clercq, E.; De Luca, L.; Monforte, A. M.; Monforte, P.; Rao, A.; Zappalà, M.; *Il Farmaco* **2003**, *58*, 259.
44. Rao, A.; Balzarini, J.; Carbone, A.; Chimirri, A.; De Clercq, E.; Monforte, A.M.; Monforte, P.; Pannecouque, C.; Zappalà, M.; *Antiviral Research* **2004**, *63*, 79.
45. Diurno, M. V.; Mazzoni, O.; Piscopo, E.; Calignano, A.; Giordano, F.; Bolognese A.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2910.
46. Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, J. T.; Miller, D. D.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5289.
47. Srivastava, T.; Haq, W.; Katti, S. B.; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7619.
48. Johnson, M. R.; Fazio, M. J.; Ward, D. L.; Sousa, L. R.; *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 494.
49. Graciet, J.C.; Niddam, V.; Gamberoni, M.; Trabaud, C.; Dessolin, J.; Medou, M.; Mourier, N.; Zoulim, F.; Borel C.; Hantz, O.; Camplo, M.; Chermann, J.C.; Kraus, J.L.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1775.
50. Andrade, A. M. C.; Lima, W. T.; Rocha, M. P. A.; Lima, M. C. A.; Galdino, S.L.; Barbosa Filho, J. M.; Góes, A. J. S.; Pitta, I. R.; *Boll. Chim. Farmac.* **2002**, *141*, 428.
51. Fuschigami, T.; Narizuka, S.; Konno, A.; *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3755.
52. Nishimoto, S.I.; Hatta, H.; Ueshima, H.; Kagiya, T. L.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2712.
53. Subba Rao, Y. V.; Choudary, B. M.; *Synth. commun.* **1991**, *21*, 1163.
54. Siddiqui, I. R.; Singh, P. K.; Singh, J.; SINGH, J.; *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7062.
55. Clausen, K.; Thorsen, M.; Lawesson S. O.; *Tetrahedron* **1981**, *37*, 3635.
56. Cava, M.P.; Levinson, M. I.; *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061.
57. Souza, M. V.; Ferreira, S. B.; Mendonça, J. S.; Costa, M.; Rebello, F. R.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 77
58. Ding, J.; Das, K.; Moereels, H.; Koymans, L.; Andries, K.; Janssen, P.A.J.; Hughes, S.H.; Arnold, E.; *Nat. Struct. Biol.* **1995**, *2*, 407.
59. Vigorita, M. G.; Ottanà, R.; Monforte, F.; Maccari, R.; Monforte, M. T.; Trovato, A.; Taviano, M. F.; Miceli, N.; De Luca, G.; Alcaro, S.; Ortuso, F.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 999.
60. Goel, B.; Ram, T.; Tyagi, R.; Bansal, E.; Kumar, A.; Mukherjee, D.; Sinha, J. N.; *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 265.
61. Walsh, David A.; Uwaydah, Ibrahim M.; *U.S. Patent* 5,061,720, **1991**.
62. Allen, S.; Newhouse, B.; Anderson, A. S.; Fauber, B.; Allen, A.; Chantry, D.; Eberhardt, C.; Oding, J.; Burgess, L. E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1619.
63. Hrib, Nicholas J.; Jurcak, John Gerard; *Eur. Pat. Appl.* 0 316 723 A1, **1989**; Hrib, Nicholas J.; Jurcak, John Gerard; *U.S. Patent* 4,933,453, **1990**; Hrib, Nicholas J.; *U.S. Patent* 5,034,392, **1991**; Hrib, Nicholas J. et al; *U.S. Patent* 5,041,445, **1991**.
64. Enomoto, M.; Kojima, A.; Komuro, Y.; Morooka, S.; Aono, S.; Sanemitsu, A.; Mitzutani, M.; Tanabe, Y.; *U.S. Patent* 4,992,455, **1991**.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)