

SÍNTESE DE ALDO SEMICARBAZONAS, TIOSEMICARBAZONAS E
DERIVADOS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIPARASITÁRIO E
ANTITUMORAL

MARCO ANTÔNIO GUIMARÃES BARBOSA GOMES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

JULHO DE 2010

SÍNTESE DE ALDO SEMICARBAZONAS, TIOSEMICARBAZONAS E
DERIVADOS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIPARASITÁRIO E
ANTITUMORAL

MARCO ANTÔNIO GUIMARÃES BARBOSA GOMES

Monografia apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologia para obtenção do
grau de Licenciado em Química pela
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro.

Orientador: Dr. Edmilson José Maria

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

JULHO DE 2010

Banca Examinadora

Monografia apresentada à banca examinadora no dia 01/07/2010 para obtenção do grau de Licenciado em Química pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Prof.: Rodrigo Rodrigues de Oliveira (Doutor em Produtos Naturais)

Prof.: Carlos Roberto Ribeiro Matos (Doutor em Química)

Orientador: Prof. Edmilson José Maria (Doutor em Química)

DEDICATÓRIA

Ao meu tio Renato Barbosa Gomes (*in memoriam*) pelo apoio na escolha da minha profissão.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Ronaldo e Elizabeth pelo amor, educação e formação durante a minha vida.

A minha namorada Letícia pelo amor e paciência durante esse período de estudo.

A meus amigos Estevão, Daniel, Nicholas, Rafael, Luiza, Bruno, Gabriela, Kalyne e meu irmão Maurício.

Ao professor Edmilson pela orientação, paciência e amizade.

Aos professores Rodrigo e Carlos pelas proveitosas discussões e ensinamentos na química orgânica.

Ao professor Edésio José Tenório de Melo (LBCT) pela parceria na realização deste trabalho.

Ao colega Roberto Couto pelo ensinamento de operação do RMN.

Aos colegas de laboratório Ana Cristina, Karol, Giselle, Paula, Vivian, Viviane e Rodrigo pelas proveitosas discussões durante a realização do trabalho.

A todos os professores e técnicos do LCQUI pelo ensinamento e suporte para realização do trabalho.

SUMÁRIO

LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ESQUEMAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 A toxoplasmose adquirida durante a gestação	3
1.2 Toxoplasmose ocular	4
1.3 Fármacos no tratamento da toxoplasmose	4
1.4 Novos compostos com atividades contra Toxoplasmose	7
2. OBJETIVOS	9
2.1 Objetivos gerais	9
2.2 Objetivos específicos	9

3	METODOLOGIA	10
3.1	Estratégia da síntese de semicarbazonas e tiosemicarbazonas e derivados de 4-tiazolidinona	10
4	MATERIAIS E METÓDOS	12
4.1	Solventes / Reagentes	12
4.2	Técnicas Experimentais	12
4.2.1	Cromatografia em camada delgada	12
4.2.2	Cromatografia em coluna	12
4.3	Aparelhos e Equipamentos	12
4.4	Técnicas Espectroscópicas	12
4.4.1	Ressonância Magnética Nuclear	12
4.4.2	Infravermelho	13
4.4.3	Ultravioleta	13
5	PARTE EXPERIMENTAL	14
5.1	Procedimento para obtenção de 2,3,4-trihroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona (1).	14
5.1.1	Dados referente a 2,3,4-trihroxibenzaldeído-4-	14

feniltiosemicarbazona (1)		
5.2	Procedimento para obtenção de 2,3,4-tridroxibenzaldeido-4-fenilsemicarbazona (3).	15
5.2.1	Dados referente a 2,3,4-tridroxibenzaldeido-4-fenilsemicarbazona (3).	15
5.3	Procedimento para obtenção do derivado de 4-tiazolidinonas.	16
5.3.1	Dados referente a 2-[[[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (2).	16
5.4	Procedimento geral para obtenção dos complexos	17
5.4.1	Dados referente ao complexo (8) com 2,3,4-tridroxibenzaldeido-4-feniltiosemicarbazona (1).	17
5.5	Teste Antioxidante	17
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6.1	Obtenção das tiosemicarbazonas e semicarbazonas.	18
6.2	Obtenção da 2-[[[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (2).	30
6.3	Obtenção dos complexos 8.	34
6.4	Teste antioxidante (%AAO)	35

7. CONCLUSÃO	39
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ	delta
λ	Lambda
CCD	Cromatografia em camada delgada de sílica
d	Sinal duplo
DMF	N'-N'-Dimetilformamida
DMSO	Dimetil Sulfoxido
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
g	gramas
mg	miligramas
mL	mililitros
mmol	milimol
ppm	Parte por milhão
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN ^1H	Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
s	Sinal simples
sl	Sinal largo
t	Sinal triplo
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem do <i>Toxoplasma Gondii</i> em microscópio	1
Figura 2 – Ciclo do <i>Toxoplasma Gondii</i>	2
Figura 3 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído (6) (¹ H, 400MHz, DMSO-d6)	18
Figura 4 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído (6) (¹³ C, 100MHz, DMSO-d6)	19
Figura 5 – Espectro da 4-feniltiosemicarbazida (4) (¹ H, 400MHz, DMSO-d6)	20
Figura 6 – Espectro da 4-feniltiosemicarbazida (4) (¹³ C, 100MHz, DMSO-d6)	21
Figura 7 – Espectro da 4-fenilsemicarbazida (5) (¹ H, 400MHz, DMSO-d6)	22
Figura 8 – Espectro da 4-fenilsemicarbazida (5) (¹³ C, 100MHz, DMSO-d6)	23
Figura 9 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4- feniltiosemicazona (1) , (¹ H, 400MHz, DMSO-d6).	26
Figura 10 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4- feniltiosemicazona (1) , (¹³ C, 100MHz, DMSO-d6).	27
Figura 11 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4- fenilsemicarbazonas (3) (¹ H, 400MHz, DMSO-d6).	28

Figura 12 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeido-4-fenilsemicarbazonas (3) (^{13}C , 100MHz, DMSO-d6).	29
Figura 13 – Espectro da 2-[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (2) (^1H , 400MHz, DMSO-d6).	32
Figura 14 – Espectro da 2-[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (2) (^1H , 400MHz, DMSO-d6).	33
Figura 15 – Espectro de infravermelho do composto (1) (pastilha de KBr)	34
Figura 16 – Espectro de infravermelho do complexo (8) (pastilha de KBr)	35
Figura 17 – gráfico de comparação de % AAO entre amostras e padrão.	38

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Compostos sintetizados no trabalho.	3
Esquema 2 – Aldo tiossemicarbazonas (1') e derivado de 4-thiazolidinonas (2').	7
Esquema 3 – Rota sintética	10
Esquema 4 – Mecanismo de obtenção dos produtos (1) e (3).	24
Esquema 5 – Estratégia de síntese da 4-tiazolidinonas.	30
Esquema 6 – Mecanismo de obtenção do produto (2).	31
Esquema 7 – Mecanismo de reação do DPPH com os produtos (1) e (3).	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose	6
Tabela 2 – Relação de compostos sintetizados por GOES com rendimentos respectivos.	8
Tabela 3 – Absorbâncias referentes ao teste antioxidante de (1).	37
Tabela 4 – Absorbâncias referentes ao teste antioxidante de (3).	37
Tabela 5 – Percentual de atividade antioxidante das amostras (1), (3) e Rutina.	38

RESUMO

O trabalho descreve a síntese dos compostos 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona **(1)**, 2-[[[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-fenil-5-tiazolidina ácido acético **(2)** e 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazonas **(3)** moléculas altamente versáteis quanto à sua obtenção e aplicação. Devido à sua natureza quimiosseletiva, as tiossemicarbazidas e os compostos carbonilados formam rapidamente as tiossemicarbazonas. 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.

ABSTRACT

The work describes the synthesis of compounds 2,3,4-trihydroxybenzaldehyde-4-phenylthiosemicarbazone **(1)**, 2-[[[(2,3,4-trihydroxy)methylene]hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acid **(2)** e 2,3,4-trihydroxybenzaldehyde-4-phenylsemicarbazone **(3)** molecules highly versatile as they were obtained and applied. By their nature chemoselective the Thiosemicarbazones and carbonyl compounds readily form the thiosemicarbazones. Its use in synthesis of important heterocycles is known for using simple reactions and present high stability under different reaction conditions.

Regarding its biological potential, several studies show the efficacy of these molecules as potent inhibitors of the DNA synthesis. This property gives the possibility of thiosemicarbazones applied in the search for new therapeutic substances in diverse research fields. Among those, the antitumor and antiprotozoal activities.

1. INTRODUÇÃO

A Toxoplasmose é uma zoonose bastante difundida pelo mundo e a infecção é muito freqüente no homem. A doença é causada por um protozoário denominado *Toxoplasma gondii*.

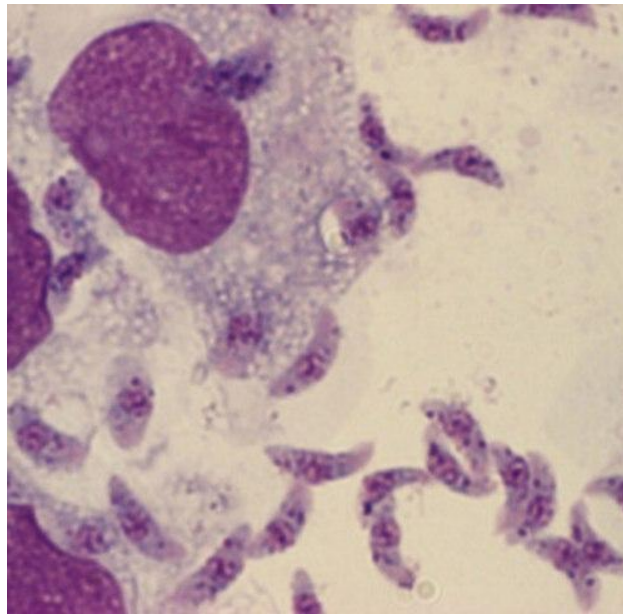


Figura 1- Imagem do *Toxoplasma Gondii* em microscópio

Os gatos e outros felinos são considerados os hospedeiros definitivos, por apresentarem todos os estágios reprodutivos do ciclo evolutivo do parasita, enquanto, os homens, mamíferos não-felinos e pássaros são hospedeiros intermediários, por apresentarem apenas a fase assexuada do ciclo.

O *Toxoplasma gondii* possui três formas evolutivas durante seu ciclo: uma forma proliferativa e invasiva, denominada trofozoíto ou taquizoíto; uma forma cística, contendo bradizoítos; e o oocisto, contendo esporozoítos.

Em resumo, o homem pode infectar-se adquirindo as três formas dos parasitos:

- Taquizoítos: congenitamente, por via transplacentária; por transfusões e acidentes de laboratório; e possivelmente por transplantes;
- Bradizoítos: presentes nos cistos contidos em carnes cruas ou mal cozidas; transplantes de órgãos contendo cistos.

- Oocistos: que podem ser encontrados no solo e nas plantas.

O período de incubação, no homem, varia de 10 a 23 dias após a ingestão de carnes mal cozidas ou mal assadas e de 05 a 20 dias após ingestão de oocistos nas fezes de gatos.

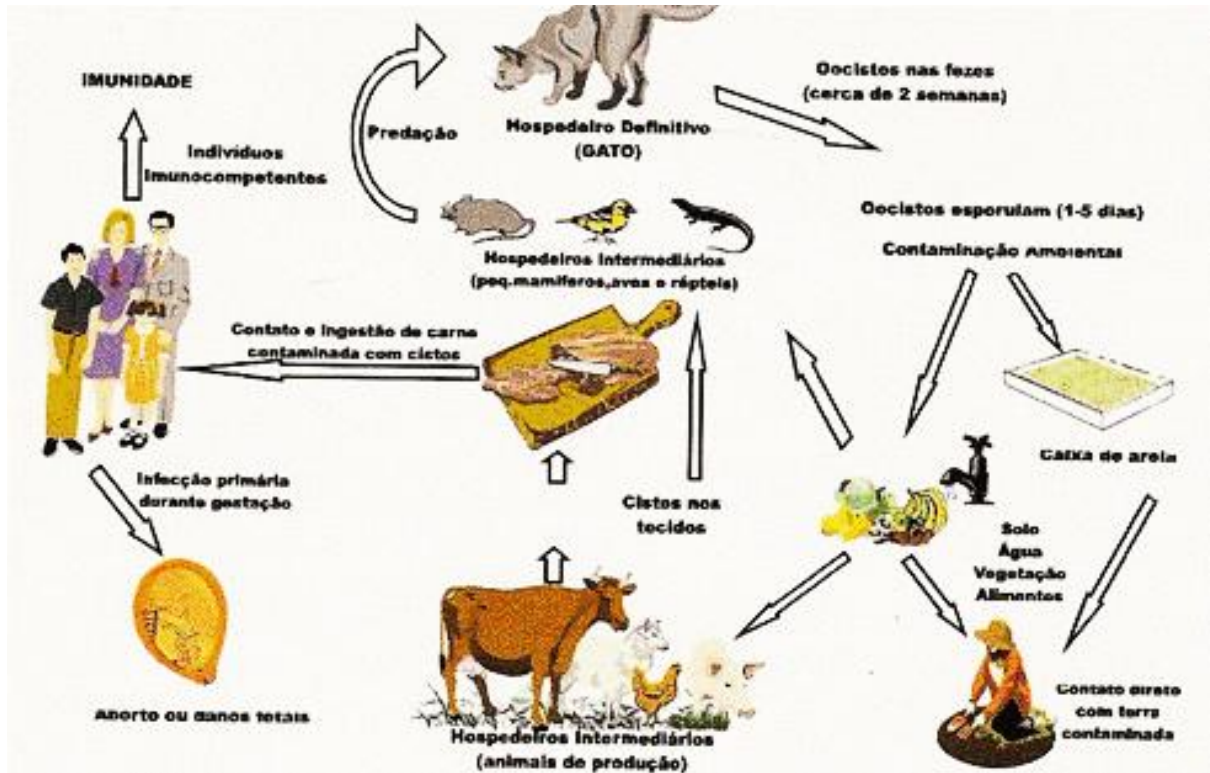


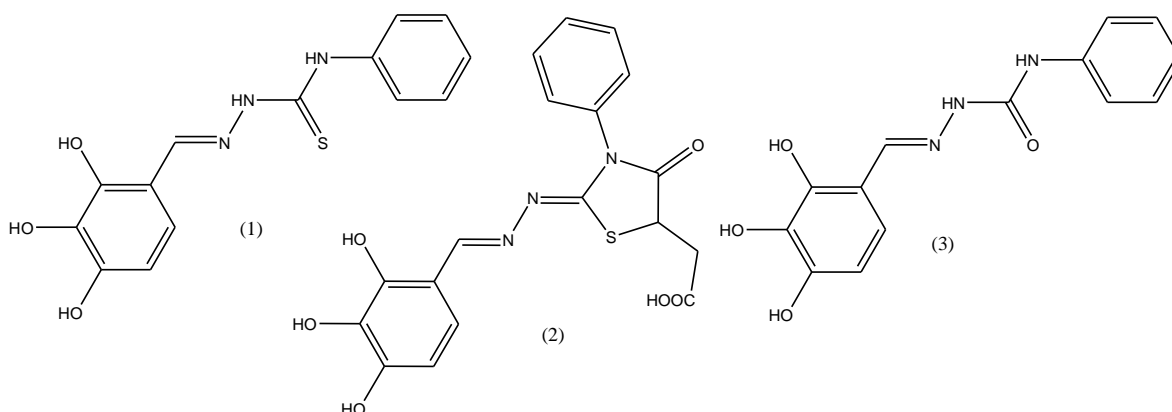
Figura 2 – Ciclo do *Toxoplasma Gondii*.

Atualmente, estima-se que um terço da população mundial esteja infectada por toxoplasma. O Brasil apresenta índices que se encontram entre os mais altos descritos, onde inquéritos sorológicos registrados demonstraram uma prevalência variando de 37 a 91%. Entre novembro de 2001 e janeiro de 2002, o Brasil registrou o maior surto de toxoplasmose do mundo, ocorrido no município de Santa Isabel do Ivaí – Paraná. Um total de 462 pessoas numa população de 9500 habitantes apresentou sorologia sugestiva para toxoplasmose. Dentre os acometidos, 07 eram gestantes e destas, 06 tiveram seus filhos infectados, ocorrendo uma anomalia congênita grave e um aborto espontâneo. (MINISTERIO DA SAÚDE)

Com o foco no problema descrito, este trabalho aborda a síntese dos compostos citados abaixo.

- 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicazona **(1)**,
- 2-[[2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina ácido acético **(2)**
- 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazonas **(3)**

Os mesmos são análogos de compostos já citados na literatura que possuem atividades contra o *Toxoplasma gondii*.



Esquema 1 – Compostos sintetizados no trabalho.

1.1 A toxoplasmose adquirida durante a gestação

Vários estudos determinaram que o principal fator de risco para a infecção em gestantes é o consumo de carne inadequadamente cozida, que contribuiu com 30% a 63% dos casos; outras 6% a 17% das infecções foram atribuídas ao solo contaminado.

As mulheres com infecção crônica por *T. gondii* não contaminam seus filhos durante o período intra-uterino, e também não existem provas de que a toxoplasmose em etapa crônica seja causa de abortos. Os casos de reativação da infecção pelo *T. gondii*, causados por imunossupressão materna, poderiam levar à infecção do feto durante a gravidez. O sucesso da infecção fetal depende de fatores como virulência do *T. gondii*, desenvolvimento placentário, idade gestacional e carga

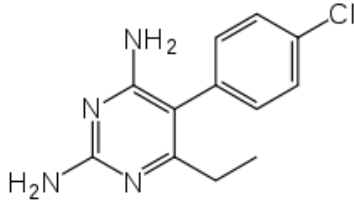
parasitária, entre outros. Durante o primeiro trimestre da gestação, a infecção pelo *T. gondii* pode levar a morte fetal. No segundo trimestre, pode ocasionar a chamada téttrade de Sabin, em que o feto apresenta hidrocefalia. As crianças que sobrevivem à toxoplasmose congênita são, na maioria das vezes, mentalmente retardadas. (KOMPALIC-CRISTO, 2005)

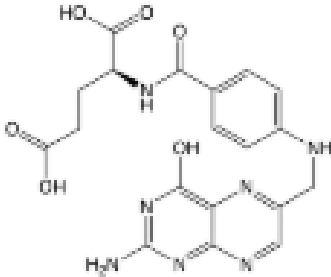
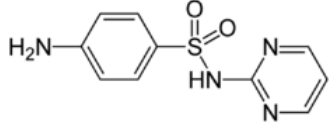
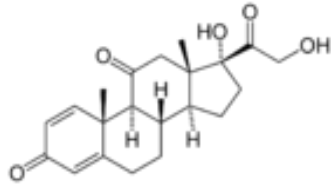
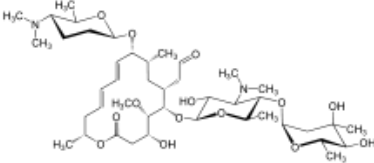
1.2 Toxoplasmose ocular

A toxoplasmose ocular vem se tornando a etiologia mais frequente das uveítes posteriores em todo o mundo. Acreditava-se que a maioria dos casos de toxoplasmose ocular era de origem congênita, mas certas evidências nos levam a crer que sua forma adquirida tardiamente é a mais frequente em nosso meio. Os principais sintomas relatados pelos pacientes incluem: baixa de acuidade visual, moscas volantes ou aumento das já existentes, raramente o paciente se queixa de dor ocular, fotofobia e lacrimejamento. (SOARES, 2006)

1.3 Fármacos no tratamento da toxoplasmose

O Tratamento Clássico baseia-se no uso de duas drogas específicas que agem diretamente sobre o parasita (pirimetamina e sulfadiazina), de uma droga adjuvante (ácido folínico), e outra com ação inespecífica anti-inflamatória (prednisona).

Nome	Formula Molecular	Estrutura	Utilização
Pirimetamina	$C_{12}H_{13}N_4Cl$		Costuma-se usar uma dose de ataque de 100 a 200 mg no primeiro dia para atingir rapidamente níveis séricos adequados. Posteriormente, a dose varia de 25 a 50 mg/dia.

<p>Ácido Folínico</p>	<p>$C_{19}H_{19}N_7O_6$</p>		<p>Usa-se para prevenir a depressão medular causada pelas drogas anti-folato, evitando assim a anemia subsequente. É aproveitado unicamente pelo organismo humano, pois o parasita só consegue utilizar o folato sintetizado por ele próprio.</p>
<p>Sulfadiazina</p>	<p>$C_{10}H_{10}N_4O_2S$</p>		<p>Apresenta sinergismo com a pirimetamina já que ambas atuam na mesma via metabólica, bloqueando seqüencialmente a síntese de folato.</p>
<p>Prednisona</p>	<p>$C_{21}H_{26}O_5$</p>		<p>Os corticóides são, ainda, os anti-inflamatórios mais potentes utilizados em oftalmologia. A prednisona é o preferido dentre estes por apresentar menos parafefeitos e grande atividade anti-inflamatória.</p>
<p>Espiramicina</p>	<p>$C_{43}H_{74}N_2O_{14}$</p>		<p>Tem sido utilizada principalmente nos casos de toxoplasmose ocular na gestação, por não ser tóxica para o feto.</p>

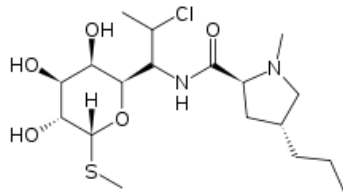
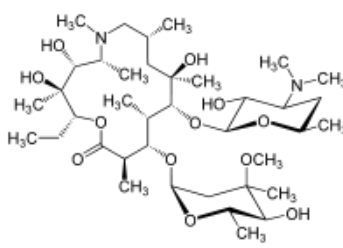
Clindamicina	$C_{18}H_{33}N_2ClO_5S$		<p>É um antibiótico que, como os fármacos anteriores, pode ser utilizado isolado ou conjuntamente com outras drogas específicas</p>
Azitromicina	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$		<p>Estas drogas têm sido usadas, esporadicamente, na toxoplasmose ocular.</p>

Tabela 1 – Principais fármacos utilizados no tratamento da toxoplasmose

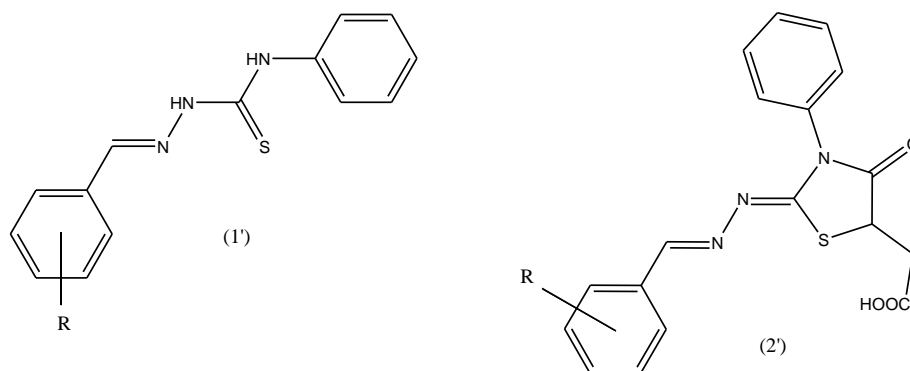
Tratamento da toxoplasmose ocular no neonato e no lactente: Tem-se provado que o tratamento do neonato e do lactente com comprometimento ocular diminui, consideravelmente, as seqüelas oculares e neurológicas tardias. É necessário tratar tanto as lesões ativas quanto as cicatriciais. Na presença de retinocoroidite ativa acrescenta-se corticóides à medicação específica. Trata-se por períodos longos de 6 a 12 meses com ciclos de 21 dias intercalando-se os diferentes fármacos específicos. É necessário o controle por pediatra.

Tratamento da toxoplasmose ocular na gravidez: Em casos de comprometimento ocular em gestantes a droga de eleição é a espiramicina. Atualmente, estão em andamento estudos que visam avaliar a ação de fármacos específicos, utilizando-se doses menores e ciclos curtos alternados. A pirimetamina está contra-indicada nos primeiros quatro meses de gestação e a sulfadiazina no último trimestre. O acompanhamento por um obstetra é extremamente necessário. (CBO)

1.4 Novos compostos com atividades contra Toxoplasmose

A atual terapia para o tratamento clínico da toxoplasmose é o isolamento ou uma combinação de quimioterapia com pirimetamina e sulfadiazina. Esta utilização é limitada, principalmente por causa da alta toxicidade e efeitos colaterais graves para o indivíduo hospedeiro e sua ineficácia na eliminação de parasitas intracelulares. Assim a descoberta de medicamentos eficazes e menos tóxicos específicos do parasita torna-se necessárias contra a infecção pelo *T. gondii* e tratamento de toxoplasmose. Em trabalhos, (TENÓRIO, 2005) e colaboradores relataram a síntese e avaliação da atividade anti-*T. gondii*, de tiosemicarbazonas (**1'**) substituído na metade arilhidrazona, e 4-tiazolidinonas (**2'**) substituídas. O trabalho foi pioneiro, devido à inexistência de estudos na literatura envolvendo a ação dessas duas classes de compostos contra *T. gondii* intracelular. Segundo os resultados biológicos, o 4-tiazolidinonas (**2'**) e derivados, apresentaram melhores para células infectadas e parasitas intracelulares. A fim de investigar a atividade anti-*T. gondii* de novos análogos estruturais, descrever a síntese, elucidar a estrutura e atividades biológicas in vitro (GÓES, 2008) e colaboradores sintetizaram trinta e dois novos compostos, aldo tiosemicarbazonas (**1 a-p**) e 4-thiazolidinonas (**2 a-p**).

Compostos sintetizados por Góes e colaboradores.



Esquema 2 - aldo tiosemicarbazonas (**1'**) e derivado de 4-thiazolidinonas (**2'**).

Substituinte		Rendimento		Rendimento
		(%)		(%)
---	1a	91	2a	76
4-cloro	1b	92	2b	56,5
2,4-dicloro	1c	91	2c	63
3,4-dicloro	1d	86	2d	45,5
3-metil	1e	89,5	2e	67
2-fluor	1f	93	2f	60
4-fluor	1g	95	2g	56
4-hidroxi-3-metoxi	1h	88,5	2h	44,5
4-dimetilamino	1i	81,5	2i	36
3-cloro	1j	96	2j	58
4-metil	1k	77,5	2k	54
3-metoxi	1l	94	2l	57
4-metoxi	1m	94	2m	55,5
2,4-dimetoxi	1n	93,5	2n	62,5
3,4,5-trimetoxi	1o	91	2o	45
3,5-Bis(1,1-dimetiletil)	1p	100	2p	77

Tabela 2 – Relação de compostos sintetizados por GOES com rendimentos respectivos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Sintetizar semicarbazonas, tiosemicarbazonas e a 4-tiazolidinona tendo como aldeído de partida a 2,3,4-tridroxibenzaldeído.

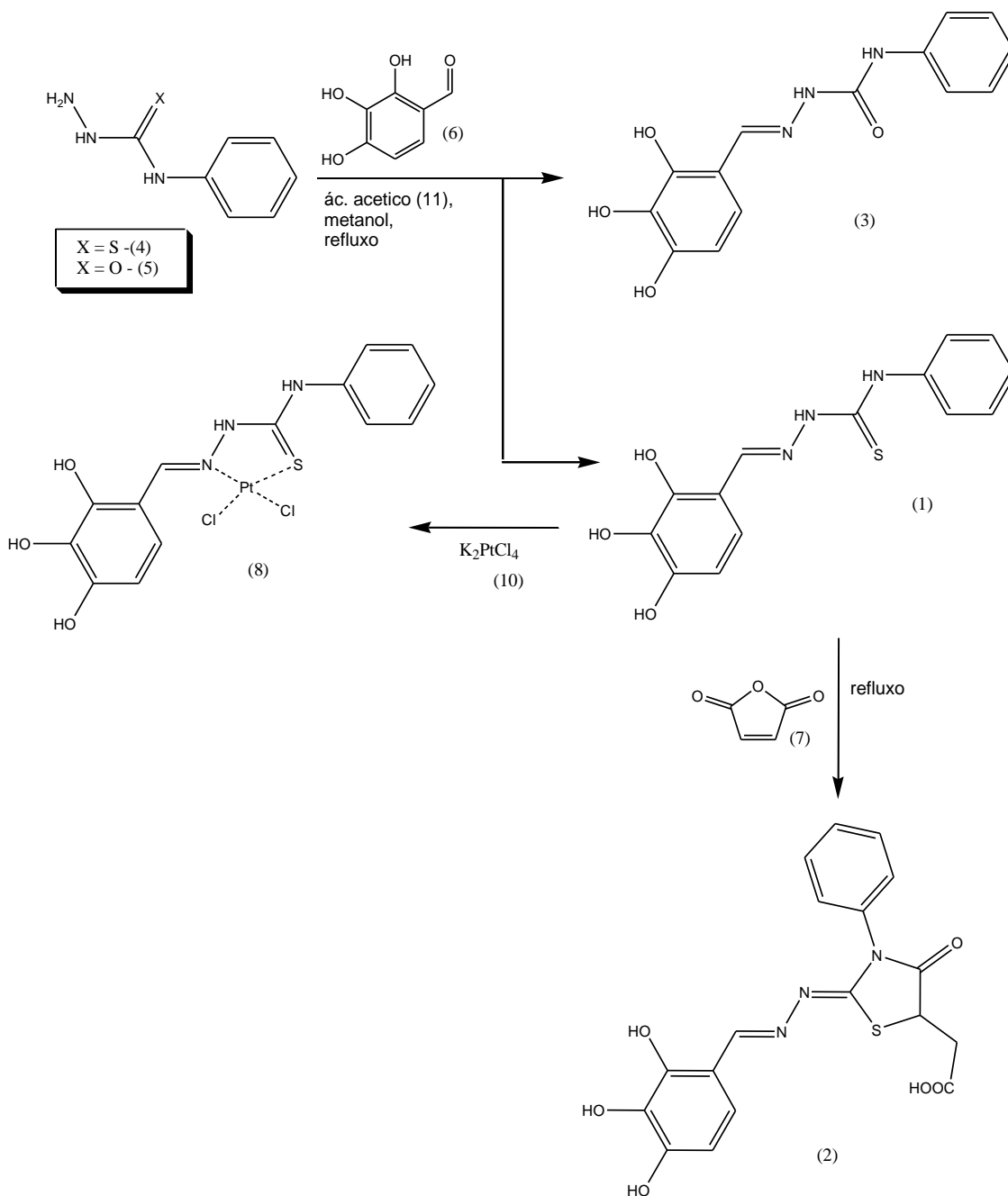
Avaliar a atividade antimicrobiana, antitumoral e antioxidante.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar os compostos **1**, **2** e **3**;
- Identificar e caracterizar os compostos sintetizados por métodos físicos de análises orgânica;
- Obter os complexos metálicos com sal de platina;
- Caracterizar os complexos formados via espectroscopia de infravermelho;
- Avaliar o potencial antioxidante dos compostos **1** e **3**;

3. METODOLOGIA

3.1 Estratégia da síntese de semicarbazonas e tiosemicarbazonas e derivados de 4-tiazolidinona



Esquema 3 – Rota sintética

A síntese de tiosemicarbazonas, semicarbazonas e seus respectivos oxazolidinas podem ser sintetizadas tendo a 4-feniltiosemicarbazida (**4**) e a 4-fenilsemicarbazida (**5**) como material de partida. Estas foram submetidas a reação de formação de imina utilizando como composto carbonilado 2,3,4-tridroxibenzaldeído (**6**) na presença de ácido acético glacial (**11**) sob refluxo de água/metanol na proporção de (2:1).

A tiosemicarbazona obtida (**1**) foi submetida a reação de formação do anel oxazolidinicos em presença de anidrido maleico (**7**) em refluxo de acetato de etila.

As tiosemicarbazona (**1**) e semicarbazona (**3**) também podem ser submetidas a complexação com K_2PtCl_4 (**10**) em meio água/DMF para a produção de complexos tetracoordenados (**8**) e (**9**).

4. MATERIAIS E METÓDOS

4.1 Solventes / Reagentes

Todos os reagentes e solventes utilizados (hexano, acetato de etila, DMF, DMSO, metanol, etanol e acetona) são de grau PA da marca SIGMA-ALDRICH.

4.2 Técnicas Experimentais

4.2.1 Cromatografia em camada delgada

Foram utilizadas placas prontas da Merck de sílica gel 60 sobre alumínio. Utilizaram-se como reveladores: câmara de luz UV de $\lambda = 254$ nm, solução alcoólica de ácido sulfúrico 40%, solução de cloreto férrico e iodo.

4.2.2 Cromatografia em coluna

A purificação dos compostos foi através de coluna de cromatografia em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionaria. O eluente usado variou de acordo com o composto sintetizado.

4.3 Aparelhos e Equipamentos

Foram utilizados: Evaporador rotatório para remoção de solventes a pressão reduzida; estufa para secagem de vidrarias; aquecedor/agitador magnético; balança de precisão (0,0001g); câmara de luz UV de $\lambda = 254$ nm.

4.4 Técnicas Espectroscópicas

4.4.1 Ressonância Magnética Nuclear

Utilizou-se o aparelho de Ressonância Magnética Nuclear Jeol de 400MHz, modelo Eclipse, e o software Delta para o tratamento dos espectros.

4.4.2 Infravermelho

Utilizou-se o aparelho de infravermelho SHIMADZU modelo IR AFFINITY.

4.4.3 Ultravioleta

Utilizou-se o aparelho de ultravioleta SHIMADZU.

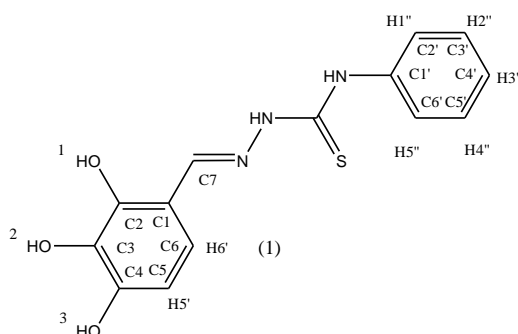
5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Procedimento para obtenção de 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona (1).

Agitou-se uma 10mL de uma solução de 4-feniltiosemicarbazida (4) (0,42g, 3,24mmol) em 5mL de solução etanolica contendo 2,3,4-trihidroxibenzaldeído (6) (0,5g, 3,24mmol) por 5 minutos, após este período adicionou-se 0,1mL de ácido acético glacial a mistura reacional que foi submetida a refluxo por 1 hora e constante agitação.

A reação foi acompanhada por CCD ate o desaparecimento do material de partida. Após o resfriamento da reação o precipitado foi filtrado em funil de placa sinterizada e purificado por extração com água e hexano.

5.1.1 Dados referente a 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona (1).



- Forma obtidos 0,483 g de um sólido amorfo com coloração amarela;
- Rendimento de 30%.
- RMN - ^1H (400MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 11.6 (s, 1H OH₍₃₎); 9.9 (s, 1H OH₍₂₎); 9.5 (ss, 1H OH₍₁₎); 9.5 (s, 1H OH₍₁₎); 8.45 (s, 1H, NH-C₆H₅); 8.35-7.59 (sl, 2H, H_{2''} e H_{4''}); 7.57-7.37 (sl, 2H, H_{1''} e H_{5''}); 7.32 (s, 2H, H_{3''}); 7.18 (s, 1H, H_{6'}); 6.38 (s, 1H, H_{5'}).

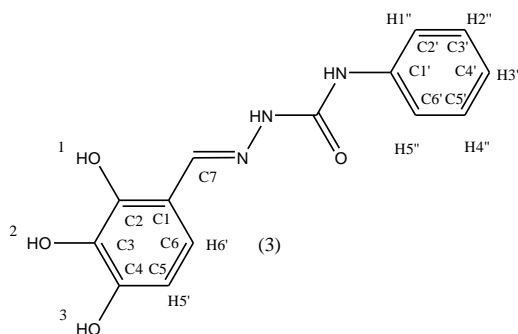
^{13}C (100MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 175.1 (C=S); 162.8 (C=N); 148.4 (C₄); 146.7 (C₂); 139.2 (C_{1''}); 132.7 (C₃); 128.0 (C_{3''} e C_{5''}); 125.2 (C_{2''} e C_{6''}); 124.9 (C_{4''}); 118.5 (C₆); 112.4 (C₁); 108.1 (C₅).

5.2 Procedimento para obtenção de 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazona (3).

Agitou-se uma 10mL de uma solução de 4-fenilsemicarbazina (5) (0,48g, 3,24mmol) em 5mL de solução etanólica contendo 2,3,4-trihidroxibenzaldeído (6) (0,5g, 3,24mmol) por 5 minutos, após este período adicionou-se 0,1mL de ácido acético glacial a mistura reacional que foi submetida a refluxo por 1 hora e constante agitação.

A reação foi acompanhada por CCD até o desaparecimento do material de partida. Após o resfriamento da reação o precipitado foi filtrado em funil de placa sinterizada e purificado por extração com água e hexano.

5.2.1 Dados referente a 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazona (3).



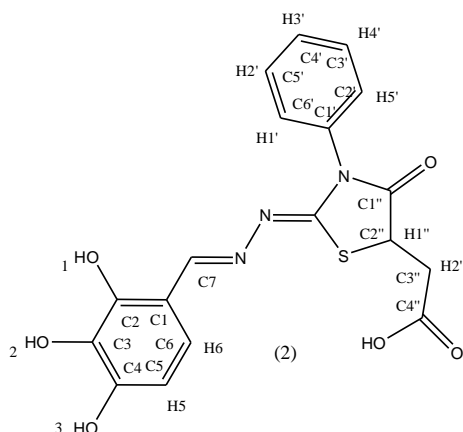
- Forma obtidos 0,731g de um sólido amorfo com coloração amarela;
- Rendimento de 48,09%.
- RMN - ^1H (400MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 10.47 (s, 1H OH₍₃₎); 9.61 (sl, 1H OH₍₂₎); 8.83 (s, 1H HNCO); 8.14 (s, 1H, HC=N); 8.54 (sl, 1H, HN-C₆H₅); 7.61-7.59 (d, 2H, H_{1''} e H_{5''}); 7.30-7.26 (d, 2H, H_{2''} e H_{4''}); 7.12 (s, 1H, H_{3''}); 6.99 (sl, 1H, H_{6'}); 6.40 (d, 1H, H_{5'}).
- ^{13}C (100MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 162.9 (C=O); 152.9 (CH=N); 148.7 (C₄); 146.3 (C₂); 139.4 (C_{1'}); 132.8 (C₃); 128.6 (C_{3'} e C_{5'}); 122.3 (C₆); 119.4 (C_{2'} e C_{6'}); 118.6 (C_{4'}); 112.5 (C₁); 108.2 (C₅).

5.3 Procedimento para obtenção do derivado de 4-tiazolidinonas.

Em um balão equipado com condensador de refluxo adicionou-se 2,3,4-trihidroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona (**1**) (0,11 g 0,43 mmol), anidrido maleico (**7**) (0,5g xmmol) em 20mL de acetato de etila, a mistura foi refluxada por 12 horas.

Areação foi acompanhada por CCD até o desaparecimento do material de partida. Após esse período extraiu-se a reação com água e acetato de etila (3x); a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporado a pressão reduzida para produzir 2-[[[(2,3,4-trihidroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (**2**).

5.3.1 Dados referente a 2-[[[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (**2**).



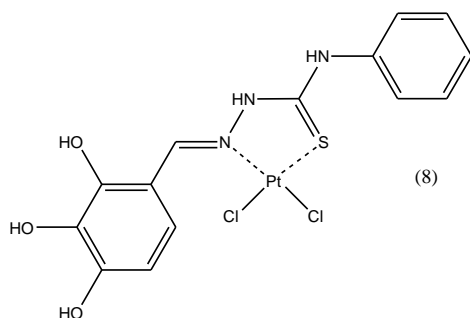
- Forma obtidos 0,030 g de um sólido amorfo com coloração amarela.
- Rendimento de 17%.
- RMN - ^1H (400MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 11.06 (s, 1H, COOH); 9.67 (sl, 1H OH₍₃₎); 8.39 (s, 1H, CH=N); 7.53-7.51 (s, 2H, H1' e H5'); 7.40 (s, 1H, H3'); 7.38 (s, 2H, H2' e H4'); 6.78 (d, 1H, H5); 6.26 (d, 1H, H6); 4.63 (s, 1H, H1''); 3.15 (t, 2H, H'' α e β).

^{13}C (100MHz, DMSO-d₆, 25°C) (δ ppm); 173.2 (COOH); 171.7 (C1''); 166.6 (N-C-S); 160.6 (C=N); 149.7 (C4); 148.1 (C2); 135.6 (C1'); 132.5 (C3); 130.2 (C5'); 128.1 (C4'); 122.6 (C6); 110.6 (C1); 108.0 (C5); 39.9 (C2''); 38.7 (C3'').

5.4 Procedimento geral para obtenção dos complexos

Em um balão de 50mL foram adicionados 50mg (0,00012mol) de K_2PtCl_4 dissolvidos em 2mL de H_2O , em seguida foi adicionado 0,0314g de (1) dissolvidos em 2mL de DMF, sob agitação a temperatura ambiente. Após observar a formação de um precipitado o produto foi congelado e em seguida liofilizado.

5.4.1 Dados referente ao complexo (8) com 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicarbazona (1).



- Forma obtidos 0,0464 g de um sólido amorfo com coloração amarela.
- Rendimento de 49,4 %.

5.5 Teste Antioxidante

Foram preparadas soluções etanóicas com concentrações de 250, 125, 50 e 25 $\mu\text{g/mL}$ dos compostos (1), (3) e Rutina e uma solução de DPPH a 0,3mM.

Em tubos de ensaio foram adicionados 1,25mL das amostras e 0,5 mL da solução de DPPH e deixou-se em repouso por 30 minutos; também foram preparados os brancos das amostras (1,25mL das amostras e 0,5mL de etanol) e um controle negativo (1,25mL etanol e 0,5mL de DPPH).

Foram medidas (em duplicata) os comprimentos de onda das amostras dos tubos, em espectroscopia na região do Ultravioleta ajustando o comprimento de onda em 518nm.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Obtenção das tiosemicarbazonas e semicarbazonas.

Para obtenção dos compostos **(1)** e **(3)** foi utilizado o procedimento descrito por Goés e colaboradores em 2008 tendo como produtos de partida o 1,2,3-tridroxibenzaldeído **(6)** com a 4-feniltiosemicarbazida **(4)** e 4-fenilsemicarbazida **(5)**.

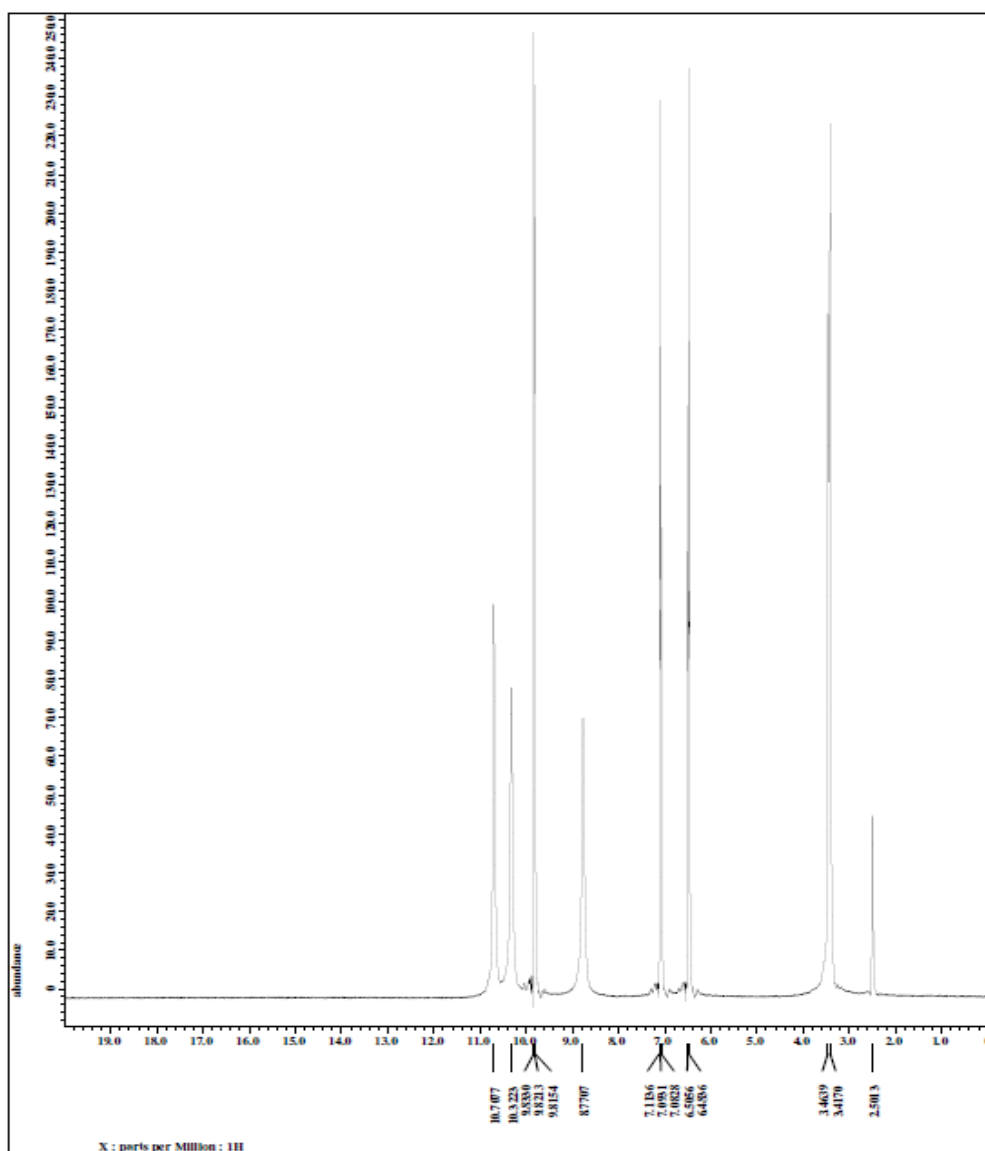
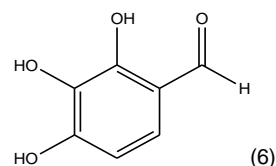


Figura 3 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído **(6)** (^1H , 400MHz, DMSO-d₆).

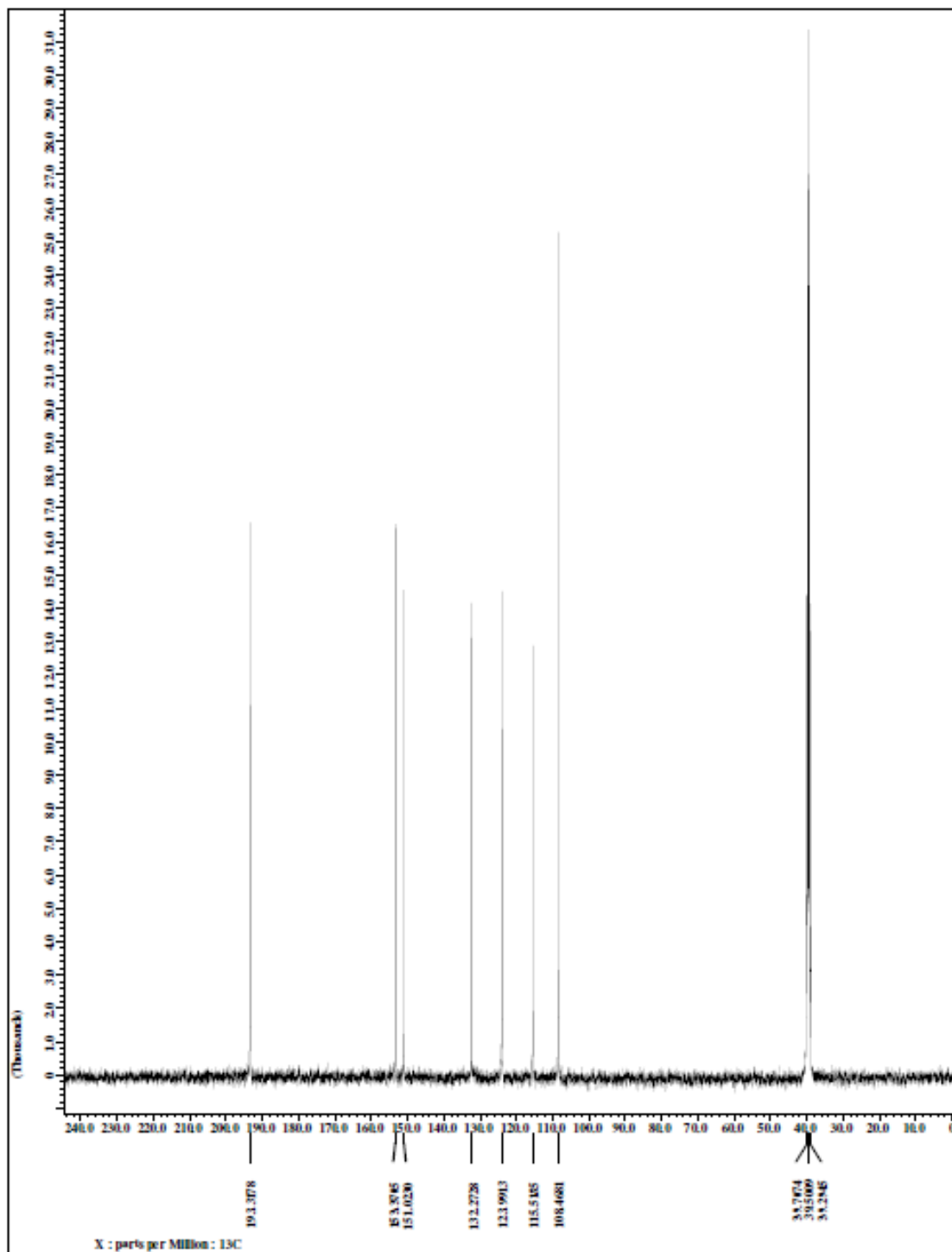


Figura 4 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído (**6**) (^{13}C , 100MHz, DMSO-d₆)

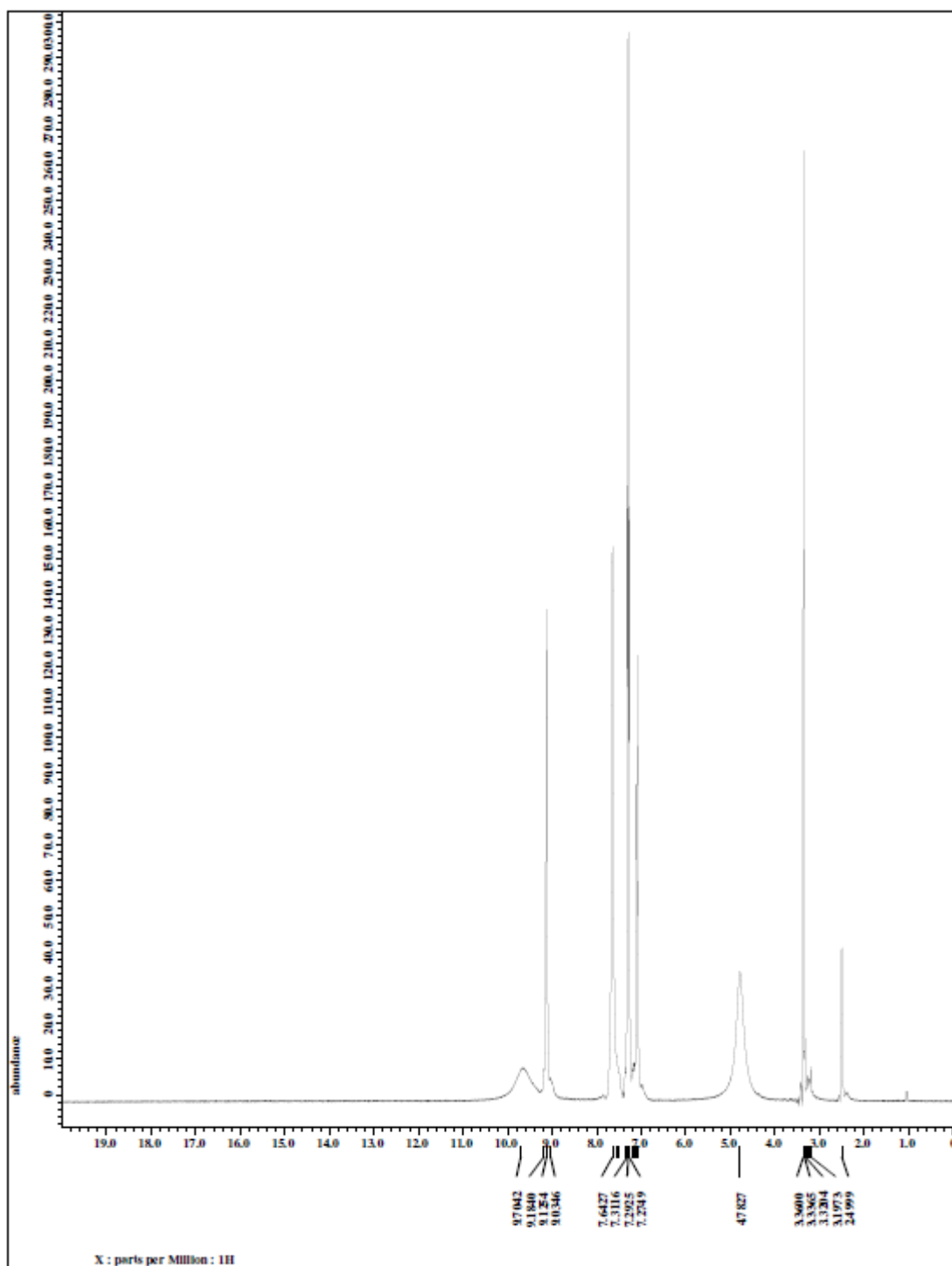
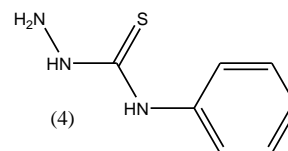


Figura 5 – Espectro da 4-feniltiosemicarbazida (4) (^1H , 400MHz, DMSO-d6)

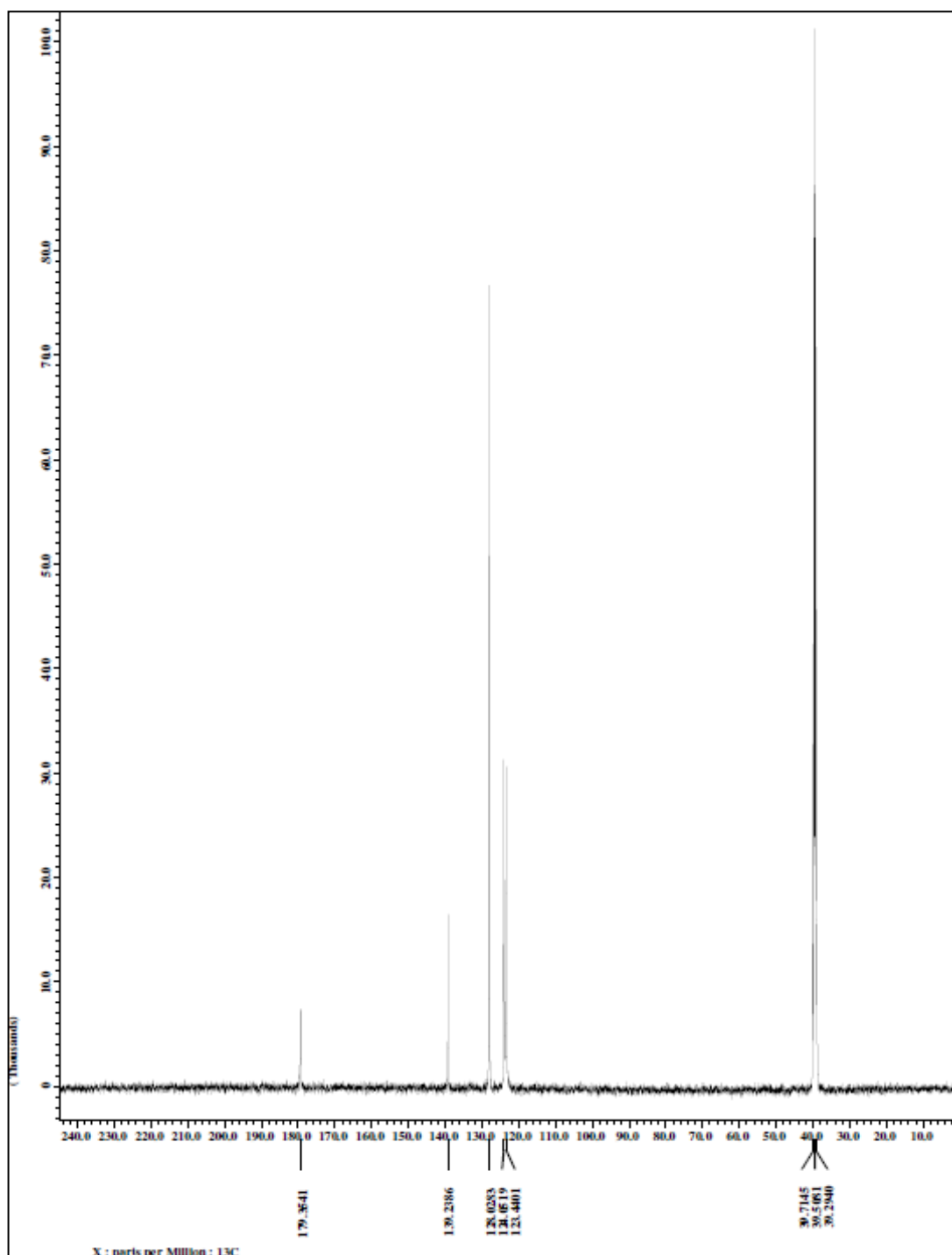


Figura 6 – Espectro da 4-feniltiosemicarbazida (**4**) (^{13}C , 100MHz, DMSO-d_6)

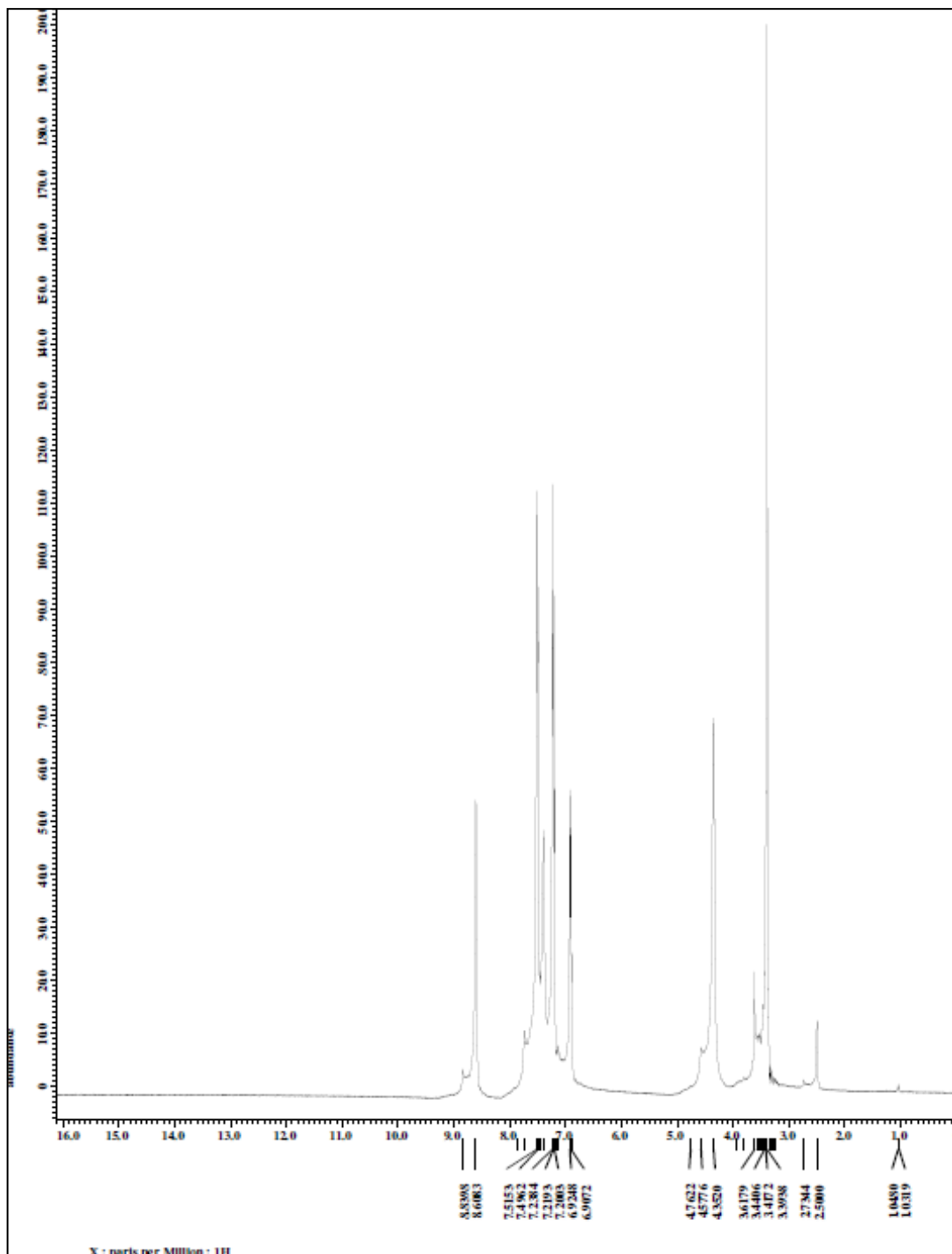
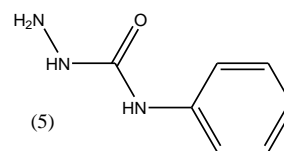


Figura 7 – Espectro da 4-fenilsemicarbazida (5) (¹H, 400MHz, DMSO-d₆)

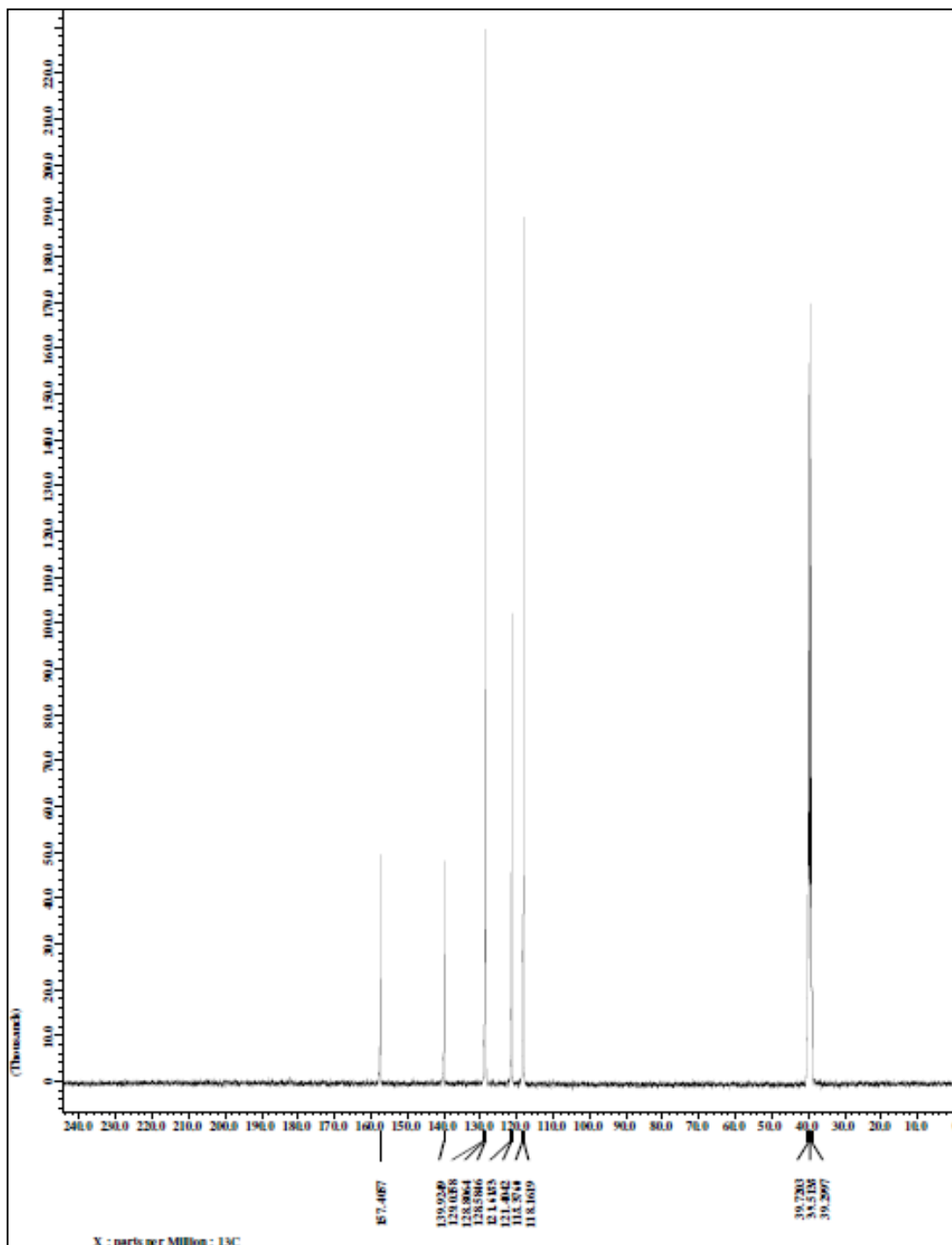
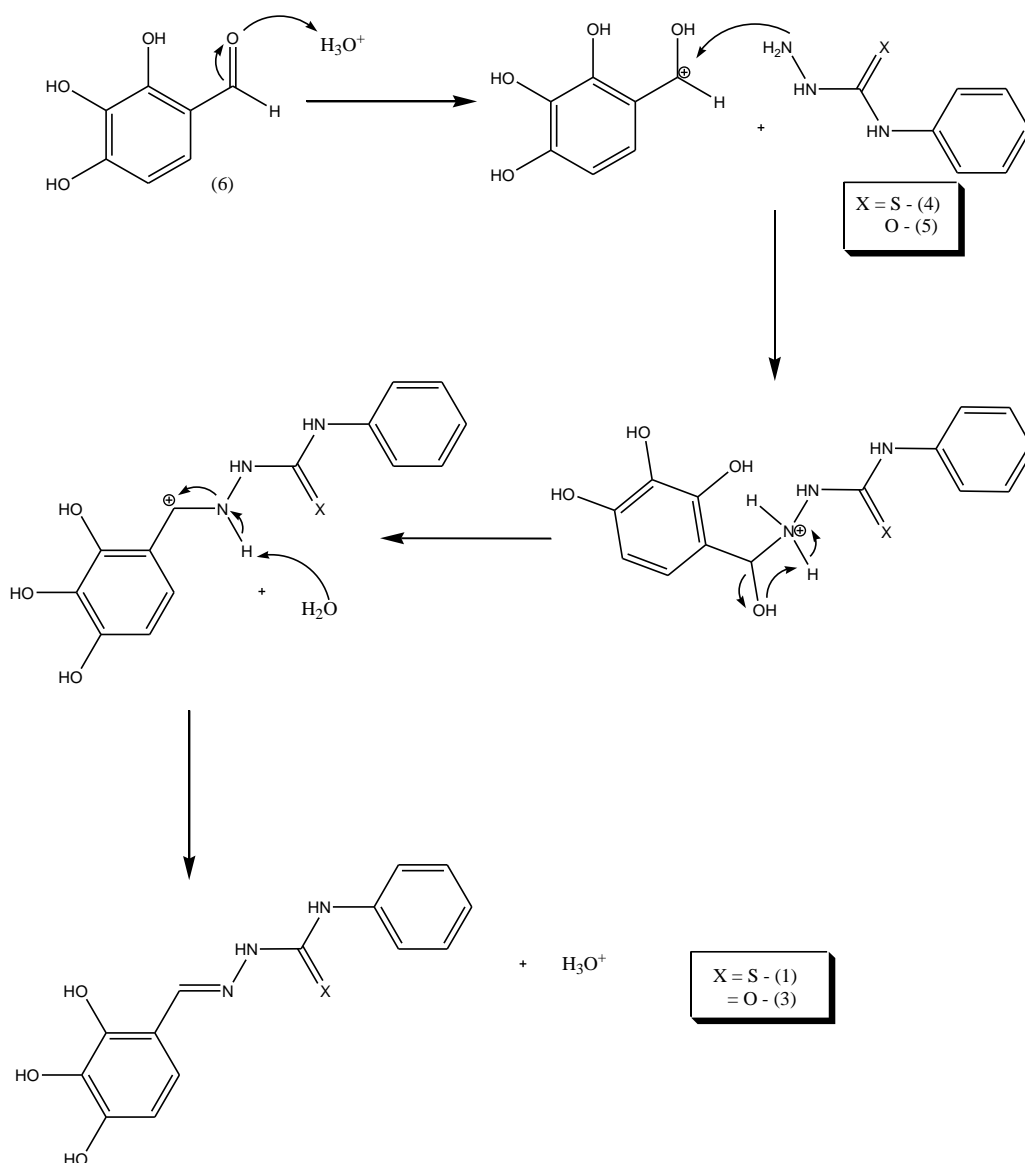


Figura 8 – Espectro da 4-fenilsemicarbazida (**5**) (^{13}C , 100MHz, DMSO-d₆)

A síntese foi baseada em uma reação de formação de imina, entre 4-feniltiosemicarbazida e 4-fenilsemicarbazida com o 2,3,4-tridroxibenzaldeído como produto carbonilado na presença de ácido acético em refluxo de água/etanol (2:1), como mostra o mecanismo a seguir.



Esquema 4 – Mecanismo de obtenção dos produtos (1) e (3).

Foram obtidos sólidos amorfos de coloração amarela em ambas reações, com os rendimentos de 30% na obtenção de **(1)** e 40,09% na obtenção de **(3)**. Os produtos foram caracterizados por RMN.

Observando ausência do sinal em 10.7 ppm na figura 1 página 14 referente ao hidrogênio da carbonila nos espectros dos produtos **(1)** figura 7 pagina 21 e **(3)** figura 9 pagina 23.

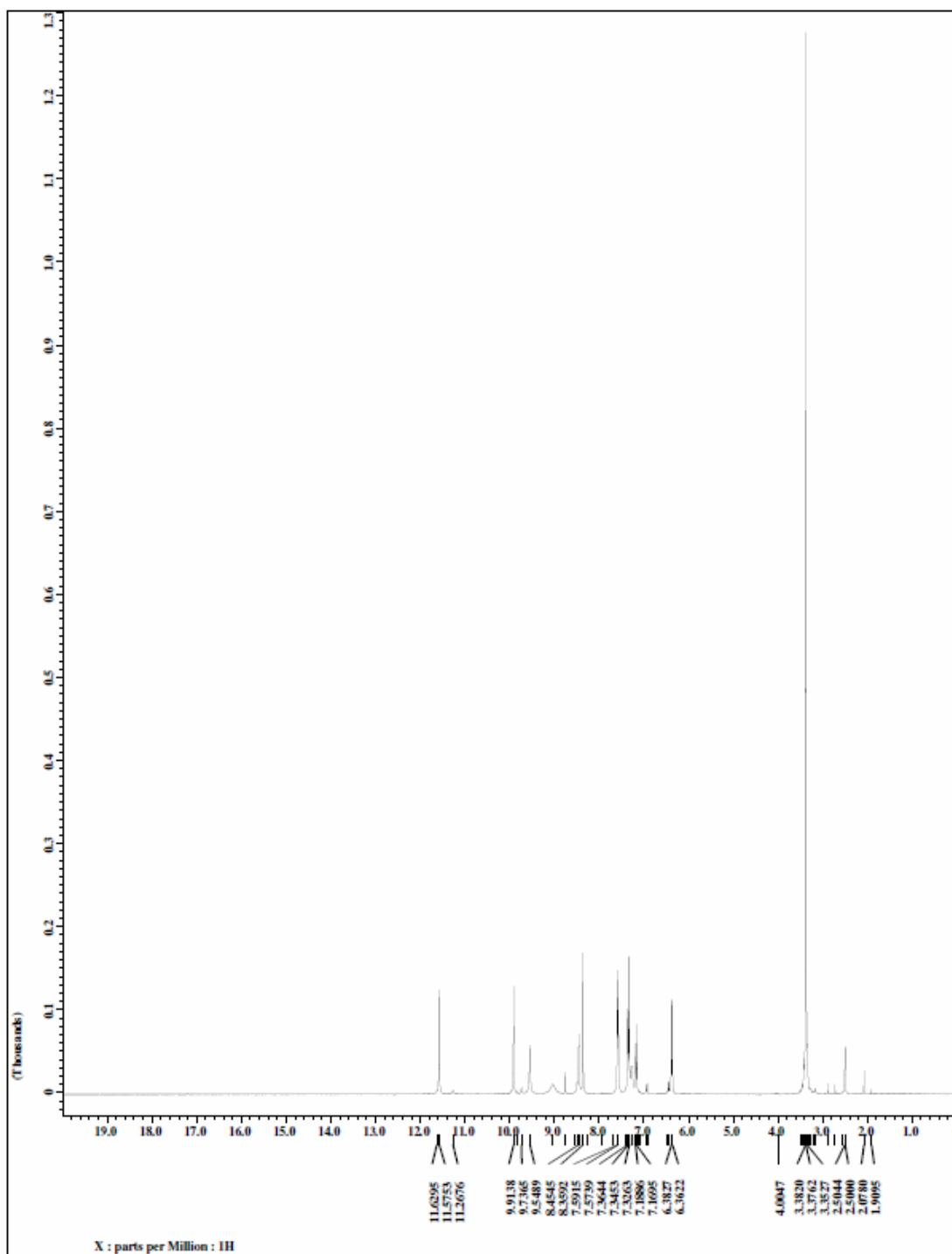
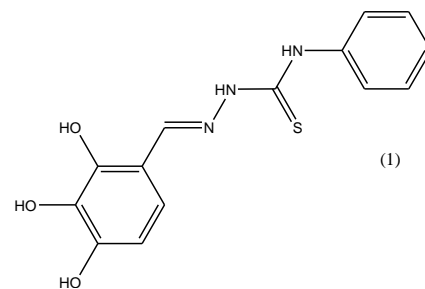


Figura 9 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicazona (**1**), (^1H , 400MHz, DMSO-d₆).

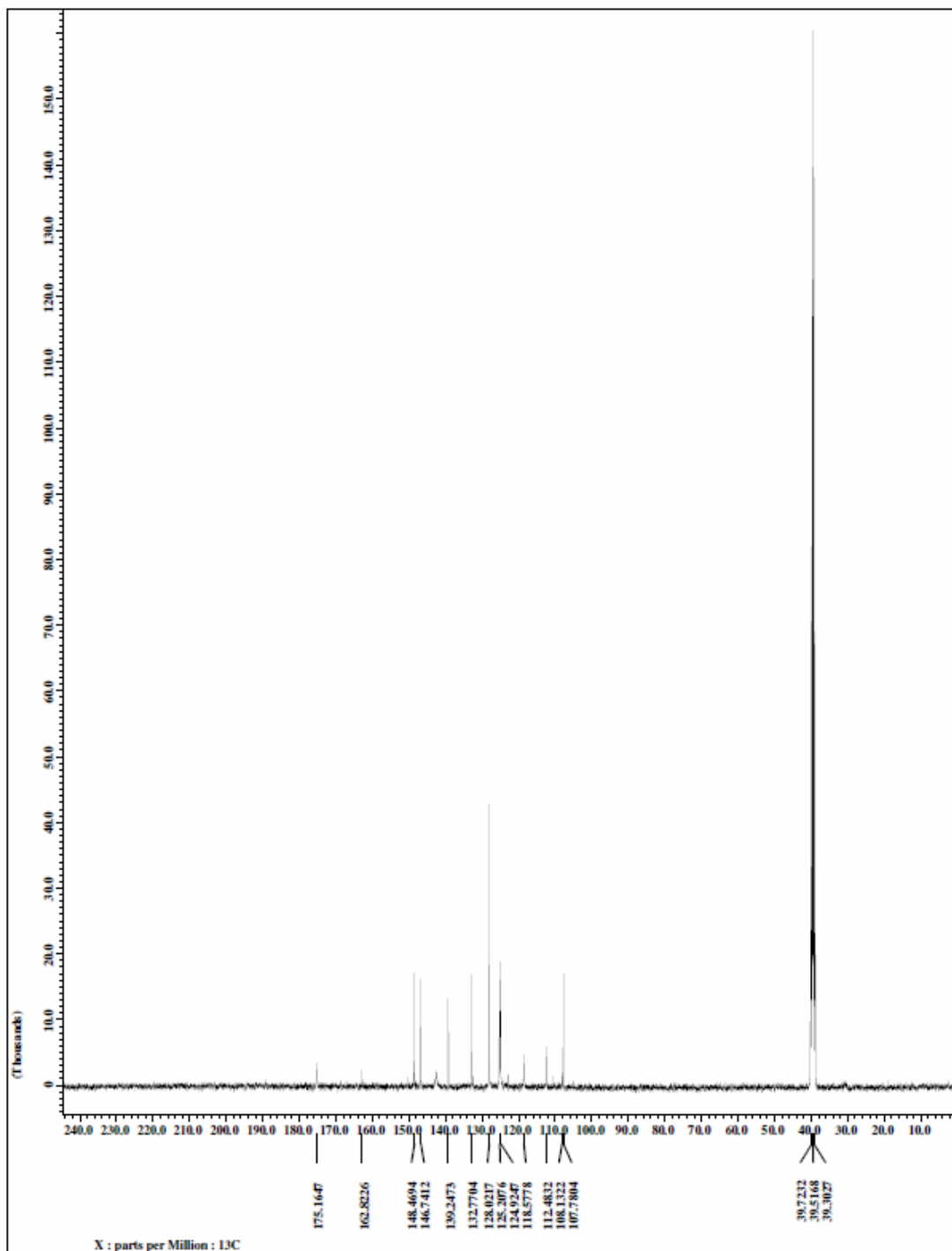


Figura 10 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenaldeído-4-feniltiosemicazona (**1**), (^{13}C , 100MHz, DMSO-d₆).

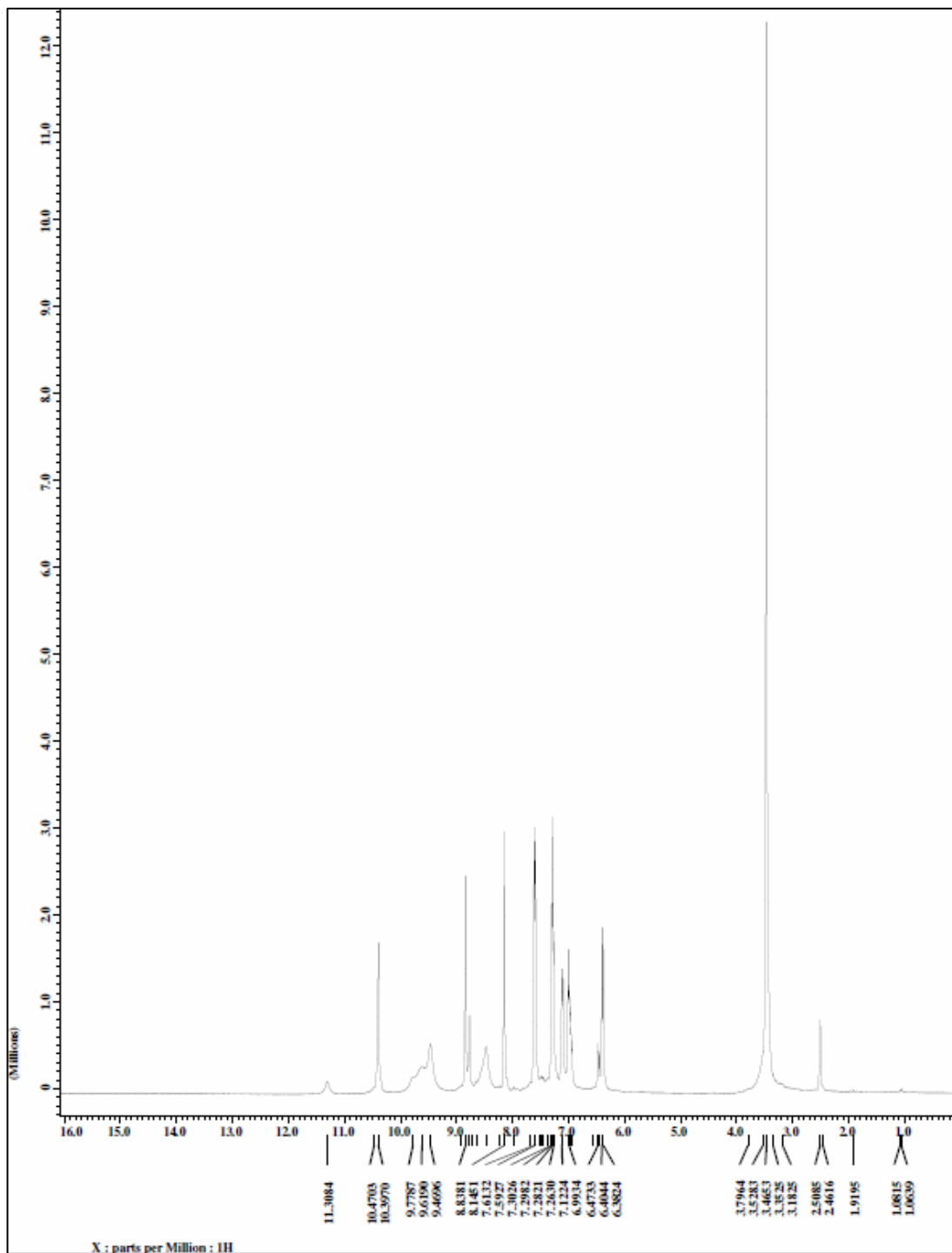
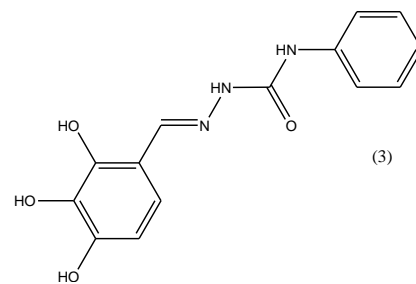


Figura 11 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazonas (3)
 (¹H, 400MHz, DMSO-d₆).

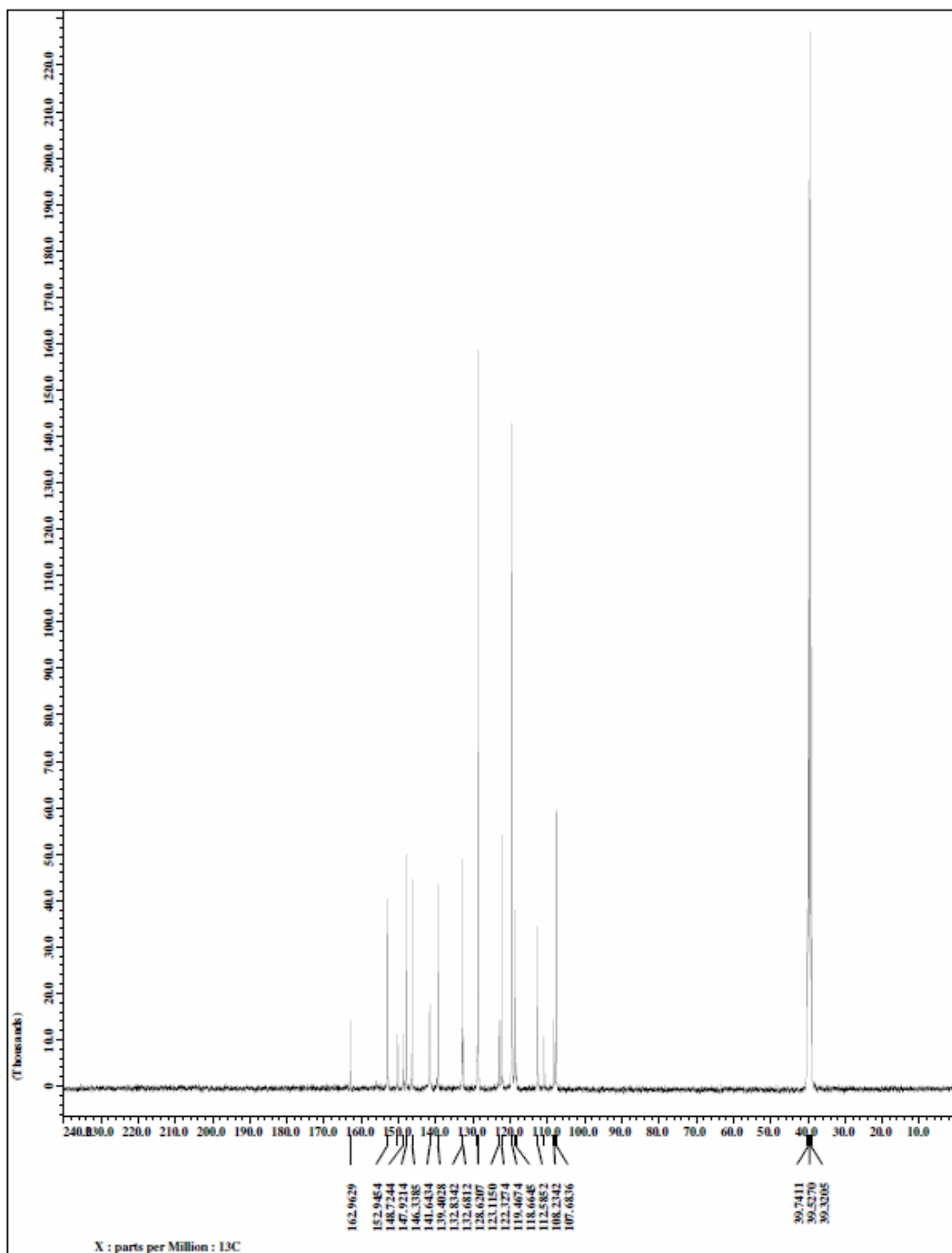
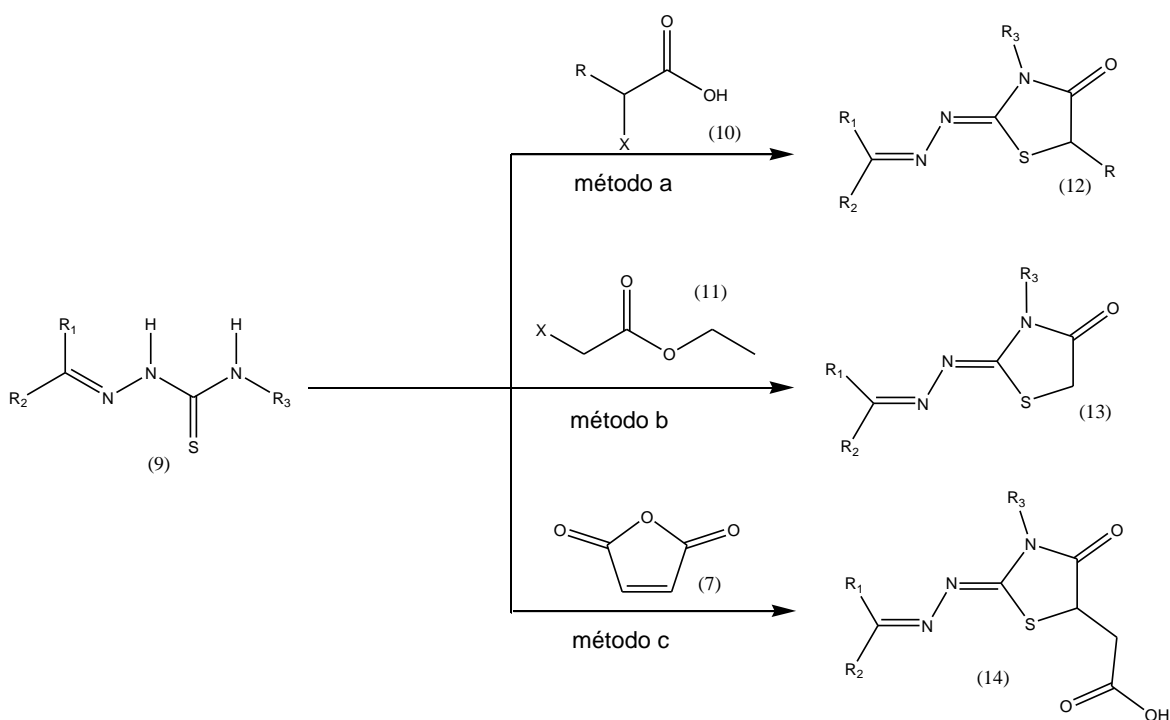


Figura 12 – Espectro da 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazonas (**3**) (^{13}C , 100MHz, DMSO-d6).

6.2 Obtenção da 2-[[[(2,3,4-tridroximetileno)hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina ácido acético (2).

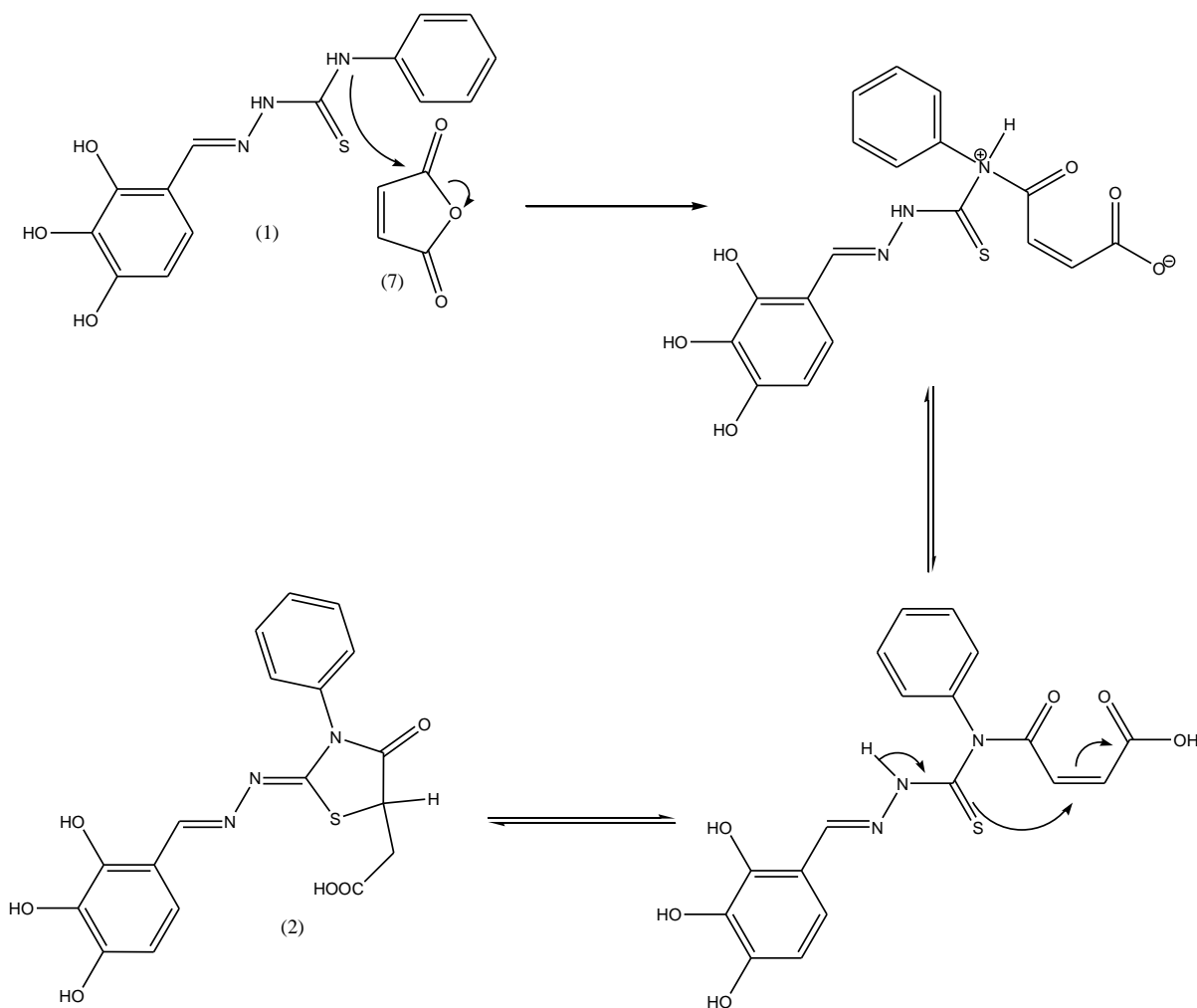
Para síntese de 4-tiazolidinonas pode ser efetuada por vários métodos. Contudo, a preparação destas a partir de tiosemicarbazonas pode ser descrita em basicamente três estratégias: método **a**, utilizando ácidos carboxílicos α -halogenados; método **b**, utilizando ésteres de etila α -halogenados e o método **c**, utilizando anidrido maléico e derivados.



Esquema 5 – Estratégia de síntese da 4-tiazolidinonas.

Para obtenção de **(2)** empregou-se a reação modificada de tia-Michael utilizada por Góes e colaboradores em 2008 onde utilizou-se o anidrido maléico como receptor de elétrons. O produto de partida foi o 2,3,4-trihidroxibenzaldeído-4-feniltiosemicazona **(1)**, em acetato de etila, sob refluxo por 12 horas.

A seguir podemos observar uma proposição de um mecanismo para reação.



Esquema 6 – Mecanismo de obtenção do produto (2).

Obteve-se um sólido amorfo de coloração amarelo com rendimento de 17%. O composto foi caracterizado por RMN.

O aparecimento do sinal em 11,06 ppm no espectro de ^1H referente a hidroxila do ácido (figura 11) e a ausência do sinal referente em 8,45 ppm referente ao hidrogênio da amina ligada ao anel aromático (figura 7) página 21 mostram que a reação ocorreu.

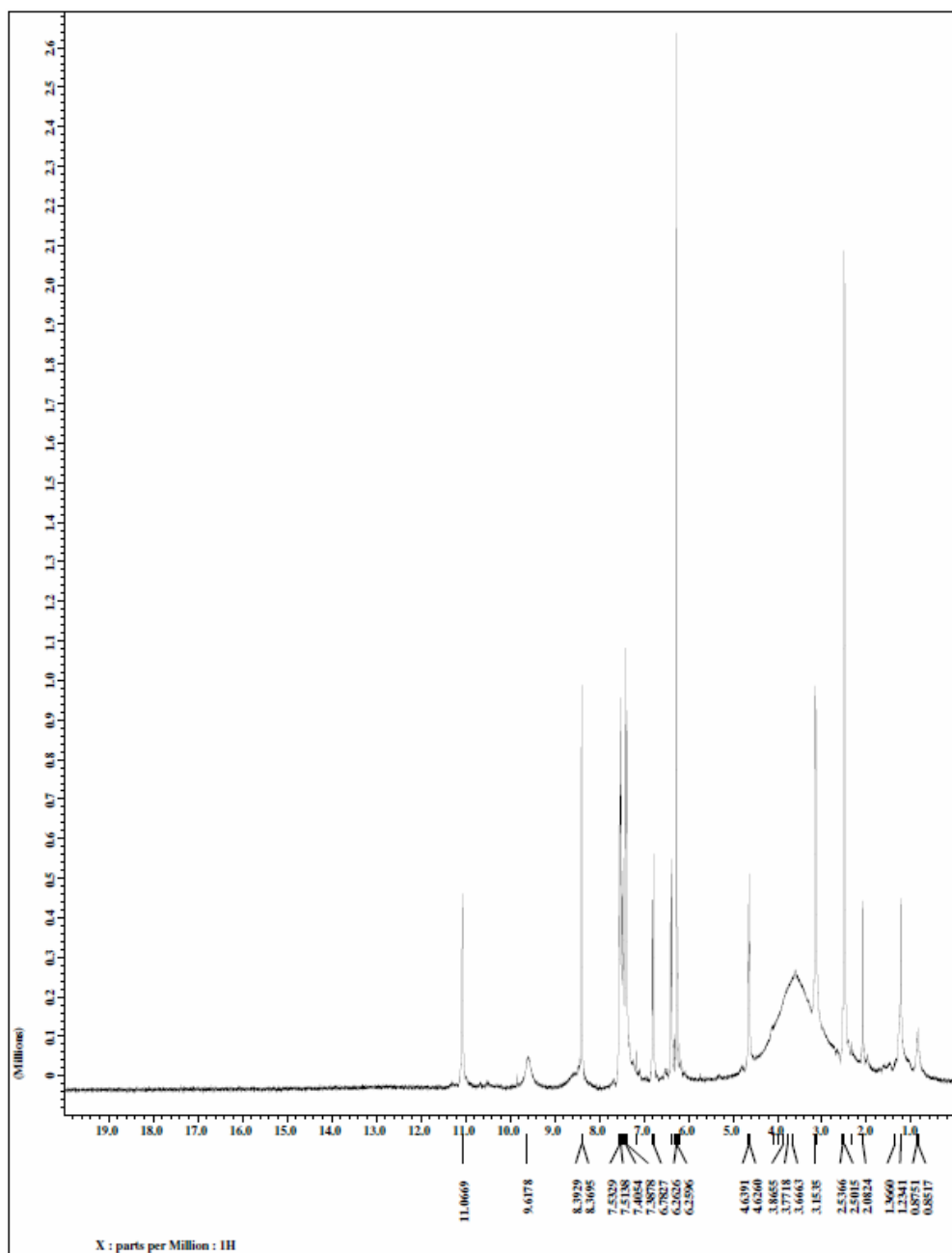
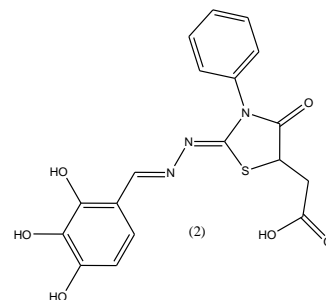


Figura 13 – Espectro da 2-[[2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina acido acético (2) (^1H , 400MHz, DMSO-d₆).

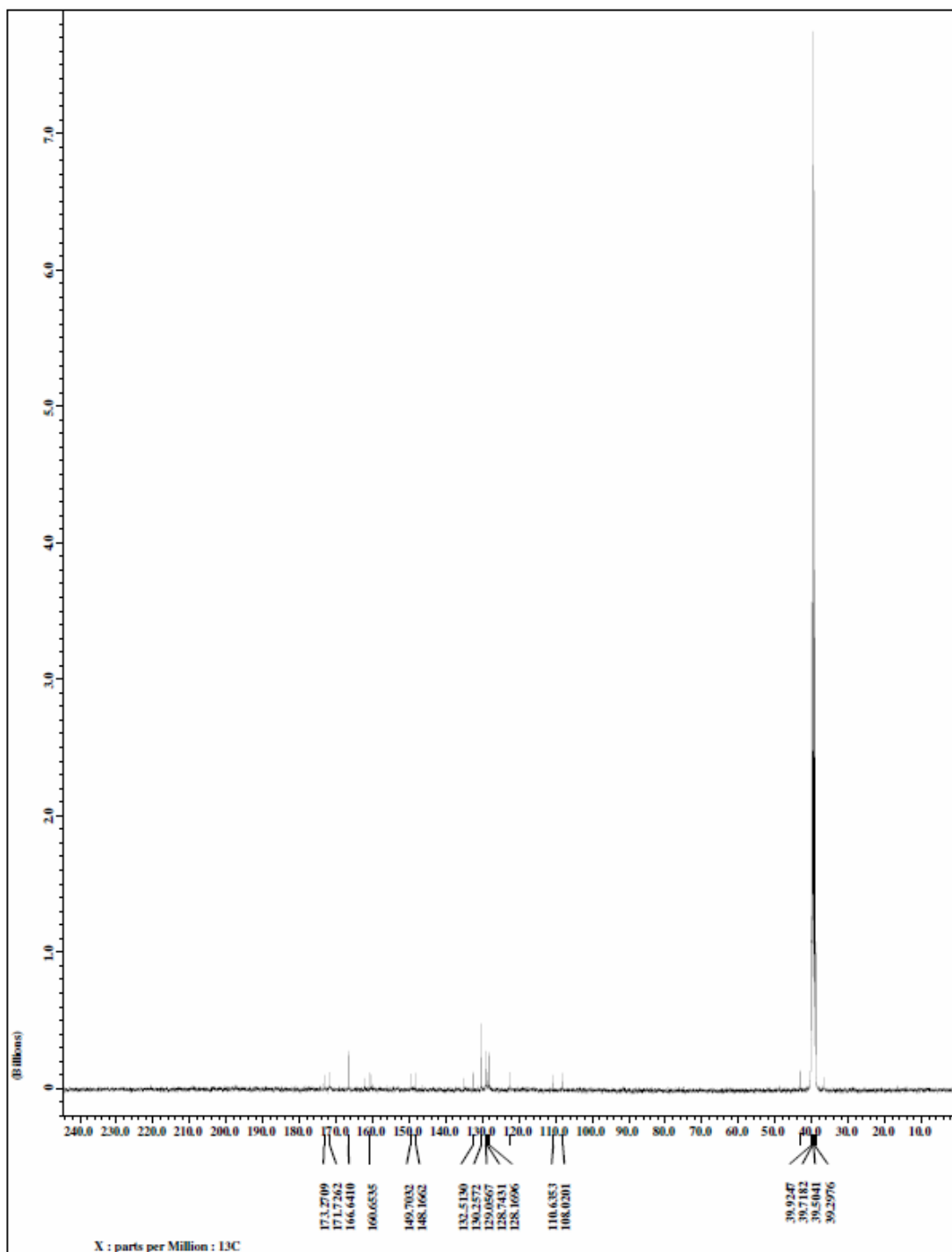


Figura 14 – Espectro da 2-[[[(2,3,4-tridroxi)metileno]hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina ácido acético (**2**) (^{13}C , 400MHz, DMSO-d₆).

6.3 Obtenção dos complexos 8.

Tendo em vista a formação de novos complexos com estruturas análogas a sintetizada, foi realizada a complexação a fim de verificar a atividade antitumoral.

O complexo foi sintetizado a partir de **(1)** com o K_2PtCl_4 (**10**) em uma solução de água/ DMF (1:1), onde se observou a precipitação imediata do produto **(8)**.

O complexo foi caracterizado por infravermelho onde se verificou o deslocamento dos sinais de $1506,11$ e $3155,04\text{ cm}^{-1}$ mostrado abaixo.

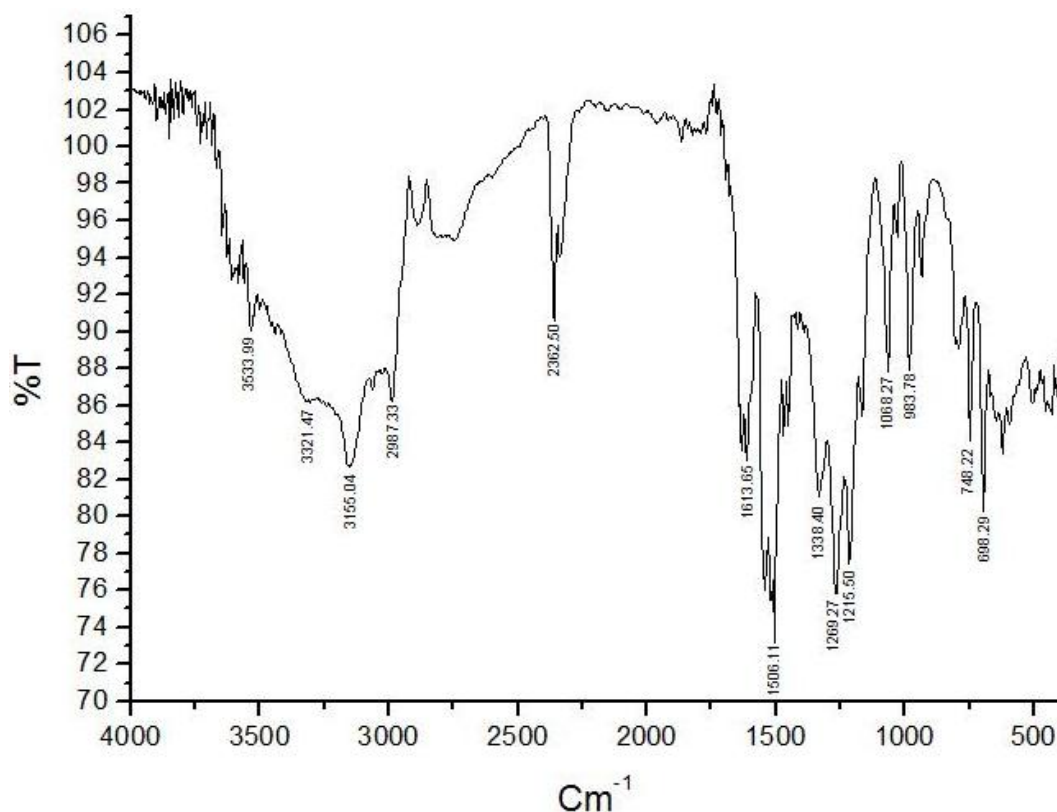


Figura 15 – Espectro de infravermelho do composto **(1)** (pastilha de KBr).

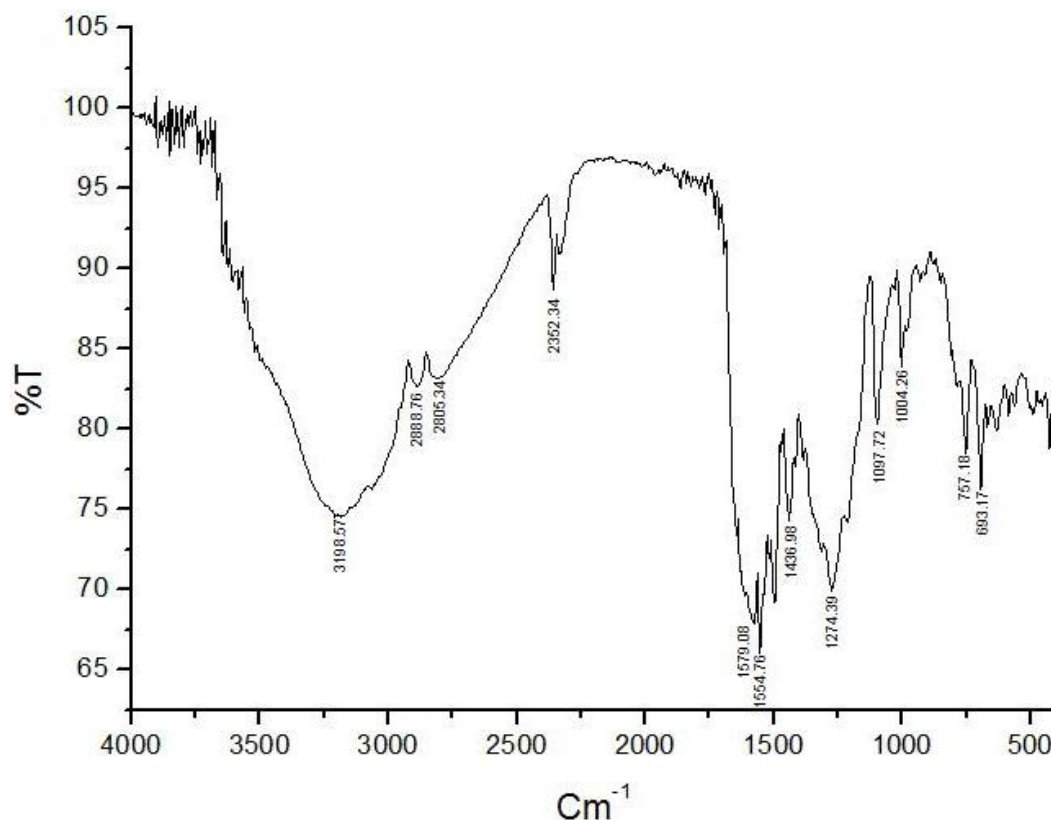
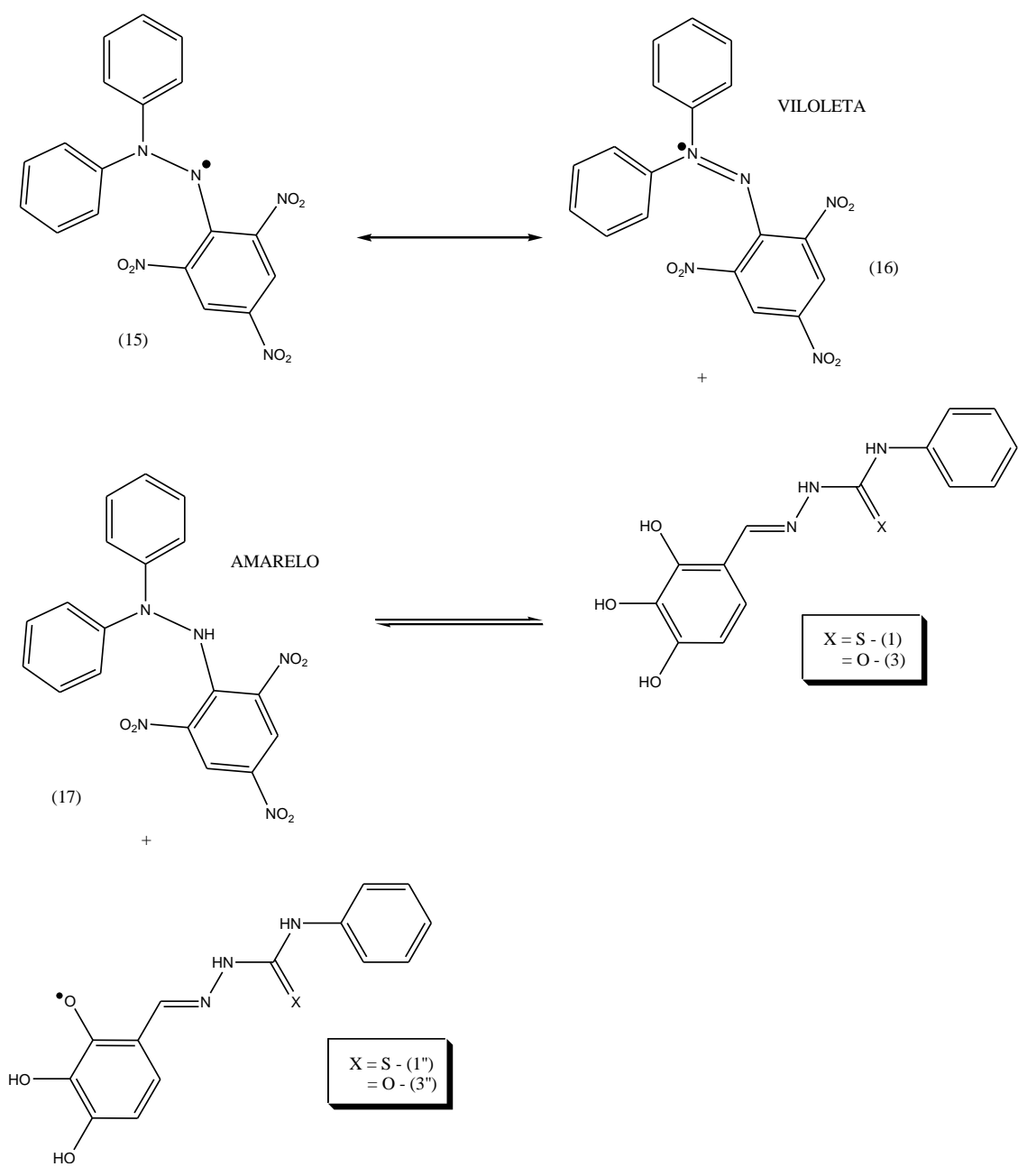


Figura 16 – Espectro de infravermelho do complexo (8) (pastilha de KBr).

6.4 Teste antioxidante (%AAO)

Substâncias antioxidantes desempenham um papel importante na saúde através de seus efeitos na modulação dos processos oxidativos que ocorrem no organismo. A formação de espécies reativas de oxigênio e subsequente oxidação de moléculas biológicas constitui um mecanismo de dano tecidual presente em vários processos patológicos como inflamação, derrame, infarto do miocárdio, arteroesclerose, doença de Alzheimer e Parkinson e em alguns tipos de câncer.

O ensaio fundamenta-se na propriedade do DPPH apresentar uma forte absorção no espectro visível, comprimento de onda de 518 nm, caracterizado por uma coloração violácea intensa, devido à presença de elétrons livres. Quando o DPPH é colocado em presença de substâncias capazes de sequestrar radicais livres, a absorção é inibida, resultando em uma descoloração estequiométrica em relação ao número de elétrons retirados e independente de qualquer atividade enzimática. O grau de descoloração indica a capacidade sequestradora de radical livre.



Esquema 7 – Mecanismo de reação do DPPH com os produtos (1) e (3).

Absorbâncias (ABS) referentes ao teste do composto (1)

Concentrações	1	2	Branco	Controle negativo
250 µg/mL	0,218	0,232	0,057	0,4768
125 µg/mL	0,195	0,185	0,002	0,4768
50 µg/mL	0,202	0,225	0,007	0,4768
25 µg/mL	0,221	0,195	0,007	0,4768

Tabela 3 – Absorbâncias referentes ao teste antioxidante de (1).

Absorbâncias (ABS) referentes ao teste do composto (3)

Concentrações	1	2	Branco	Controle negativo
250 µg/mL	0,156	0,144	0,006	0,4768
125 µg/mL	0,169	0,134	0,013	0,4768
50 µg/mL	0,135	0,130	0,021	0,4768
25 µg/mL	0,110	0,189	0,003	0,4768

Tabela 4 – Absorbâncias referentes ao teste antioxidante de (3).

O cálculo de atividade antioxidante foi feito segundo a fórmula abaixo.

$$\% \text{ AA} = 100 - [(ABS \text{ amostra} - ABS \text{ branco}) \times 100] / ABS \text{ controle negativo}$$

Abaixo a tabela da porcentagem da atividade antioxidante das amostras (1) e (3) e da Rutina que foi usada como padrão.

% AAO			
Concentrações	Composto (1)	Composto (3)	Rutina
250 µg/mL	65,77	69,80	57,9
125 µg/mL	60,57	70,95	52,9
50 µg/mL	53,54	64,97	48,9
25 µg/mL	57,84	69,27	22,0

Tabela 5 – Percentual de atividade antioxidante das amostras (1), (3) e Rutina.

O gráfico a seguir mostra a comparação das atividades das amostras em relação ao padrão em relação à porcentagem de atividade antioxidante.

Observou-se que as duas amostras apresentaram atividades superiores do que em relação à Rutina em todas as concentrações.

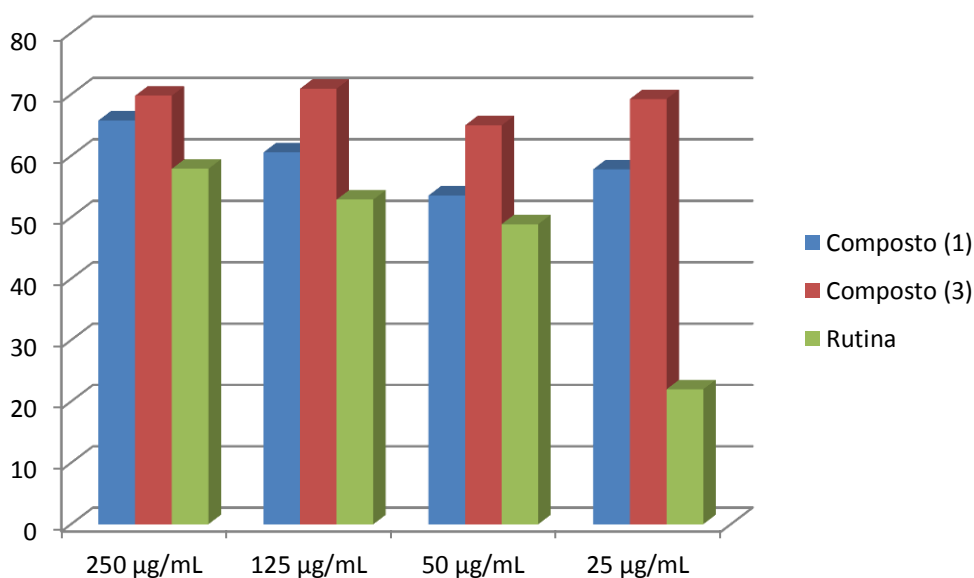


Figura 17 – gráfico de comparação de % AAO entre amostras e padrão.

7. CONCLUSÃO

A síntese de aldo semi e tiosemi carbazonas proporcionou a obtenção de três produtos inéditos, 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-feniltiosemicazona **(1)**, 2-[[[(2,3,4-tridroximetileno)hidrazono]-4-oxo-3-penil-5-tiazolidina ácido acético **(2)**, 2,3,4-tridroxibenzaldeído-4-fenilsemicarbazonas **(3)** que serão utilizados para avaliação biológica frente ao *toxoplasma gondii*.

O estudo da complexação do derivado aldo semi e tiosemicarbazonas sintetizados com sais de platina possibilitarão a relação estrutura-atividade dos compostos e avaliação do seu poder antitumoral.

Foram realizados testes de atividade antioxidante dos compostos sintetizados onde observou-se um bom resultado frente ao padrão usando como parâmetro.

O trabalho em questão necessita continuidade com outros aldeídos presentes em nosso laboratório a fim de avaliarmos o potencial antiparasitário frente as modificações estruturais possíveis.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERALDO, H.; Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **2004**, 27, (3), 461-471.

CBO – Conselho Brasileiro de Oftalmologia – www.cbo.com.br acesso em 09/04/2010.

EL-ASMY, A. A.; GABRY, I. M.; AL-HAZMI, G. A. A.; EL-SHAHAWI, M. S. Spectral, magnetic, thermal and electrochemical studies on new copper(II) thiosemicarbazone complexes *Journal of Coordination Chemistry* **2005**, Vol. 58, (8), 713–733

FIGUEIRÓ-FILHO, E. A.; LOPES, A. H. A.; SENEFONTE, F. R. A.; JÚNIOR, V. G. S.; BOTELHO, C. A.; FIGUEIREDO, M. S.; DUARTE, G. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* **2005**, 27(8): 442-9.

GÓES, A. J. S.; TENÓRIO, R. P.; LIMA J. G.; FARIA A. R.; ALVES A. J.; AQUINO T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância. *Quim. Nova*, **2005**, 28, 1030-1037.

GÓES, A. J. S.; AQUINO, T. M.; LIESEN, A. P.; DA SILVA, R. E. A.; LIMA, V. T.; CARVALHO, C. S.; DE FARIA, A. R.; ARAÚJO, J. M.; DE LIMA, J. G.; ALVES, A. J.; DE MELO, E. D. J. Synthesis, anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activities of benzaldehyde 4-phenyl-3-thiosemicarbazones and 2-[(phenylmethylene)hydrazono]-4-oxo-3-phenyl-5-thiazolidineacetic acids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, 16, 446–456.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNADES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* **2005**; 41 (4): 229-35.

MINISTERIO DA SAÚDE – www.saude.gov.br acessado em 23/06/2010.

NASCIMENTO A. A. P. L.; Síntese e avaliação de atividade anti-Toxoplasma gondii e antimicrobiana de Tiosemicarbazidas, 4-Tiazolidinonas e 1,3,4-Tiadiazóis obtidos a partir do Ester 5-Metil-1H-Imidazol-4-carboxilato de etila. Dissertação de mestrado UFPE, **2007**.

SOARES, P.; HAMMOUD, R. R.; SLAVO N. TOXOPLASMOSE OCULAR - RELATO DE CASO REVICIENCE **2006**, (8) 10-12

TENÓRIO, R. P.; CARVALHO, C. S.; PESSANHA, C. S.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; MELO, E. J. T.; GOES, A. J. S. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. **2005**, 15, 2575–2578.

TENÓRIO, R. P.; Síntese de tiosemicarbazonas substituídas e derivados de 4-tiazolidinonas e avaliação in vitro contra toxoplasma gondii. Dissertação de mestrado UFPE, **2005**.

VARELLA, I. S.; WAGNER, M. B.; DARELA, A. C.; NUNES, L. M.; MÜLLER, R. W. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes, **2003** Jornal de Pediatria -79, (1), 69-74.