

UFMG / ICEx / DQ 847^a

D. 485^a

DÉBORA PEREIRA ARAUJO

**SÍNTESE DE *BIS*-IMINAS AROMÁTICAS E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE BIOLÓGICA CONTRA FUNGOS DE INTERESSE CLÍNICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química – Química Orgânica.

Belo Horizonte

2011

Araujo, Débora Pereira.

Síntese de bis-iminas aromáticas e avaliação da atividade biológica contra fungos de interesse clínico / Débora Pereira Araujo. 2011.

iv, 96 f. : il.

Orientador: Adão Aparecido Sabino.

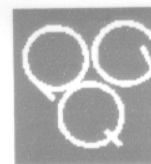
Co-orientador: Ângelo de Fátima.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.

Bibliografia: f. 80-85.

1. Química orgânica - Teses 2. Iminas - Teses 3. Antimicóticos - Teses 4. Síntese orgânica - Teses 5. Atividade antifúngica - Teses I. Sabino, Adão Aparecido, Orientador II. Fátima, Ângelo de, Co-orientador III. Título.

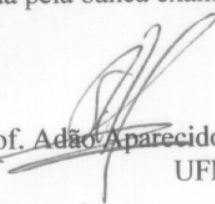
CDU 043

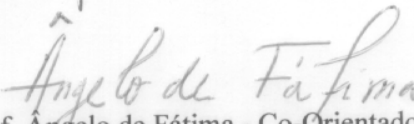


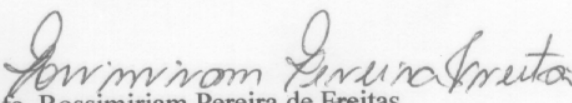
"Síntese de bis-íminas Aromáticas e Avaliação da Atividade Biológica contra Fungos de Interesse Clínico"

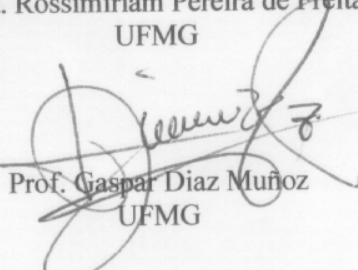
Debora Pereira Araujo

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Adão Aparecido Sabino - Orientador
UFMG


Prof. Angelo de Fátima - Co-Orientador
UFMG


Profa. Rosimíriam Pereira de Freitas
UFMG


Prof. Gaspar Diaz Muñoz
UFMG

Belo Horizonte, 25 de fevereiro de 2011.

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Professor Doutor Adão Aparecido Sabino e co-orientação do Professor Doutor Ângelo de Fátima.

“Não podemos voltar no tempo e mudar o passado, mas podemos mudar nós mesmos agora e construirmos um futuro melhor.”

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus acima de tudo.

Aos meus pais Pedro Marinho Araujo e Sonia Aparecida Pereira da Silva Araujo pelo apoio, dedicação, amor e carinho de uma vida inteira.

À minha querida irmã Letícia Pereira Araujo pelo carinho, incentivo e apoio nos momentos que mais precisei.

Ao meu marido Plínio César de Carvalho Pinto pelo amor, carinho e compreensão nos momentos difíceis.

Ao meu primo Mauro e aos amigos Terezinha e Roberto, pelo incentivo para lutar por meus objetivos.

A todos meus familiares e, principalmente, ao meu irmão Bruno e meus sobrinhos Bruno, Bruna e Clara, pela compreensão das minhas ausências.

Ao professor Adão Aparecido Sabino pela orientação.

Ao co-orientador Ângelo de Fátima e sua esposa Luzia pelas discussões que muito contribuíram para meu crescimento científico e pessoal.

Agradeço a colaboração da Professora Maria Aparecida de Rezende, à mestranda Thaís e à doutoranda Danielle pela contribuição para a realização dos testes biológicos.

Ao professor Rodinei por ter cedido sua infra-estrutura para que as análises de espectrometria de massa fossem realizadas. E a sua aluna de doutorado Júnia, por ter realizado algumas análises.

Aos amigos do laboratório: Esther, Samira, Mariana, Taniris, Cleiton e Francinelly. Em especial aos amigos Fabiano, Daniela, Lucas e Roney que contribuíram de alguma forma para a conclusão do meu trabalho.

Aos amigos do Departamento de Química: Fernando Silva, Luíza, Guilherme, Leandro e Professora Rosemeire Brondi Alves pela amizade e conselhos.

A doutoranda e amiga Sheila Rodrigues Oliveira, pelos conselhos, amizade e por fazer as análises de espectrometria de massa.

As funcionárias Paulete, Kátia e Lílian que ajudaram quando foi preciso.

Ao Professor Mauro Vieira de Almeida da UFJF pela orientação e discussões na Iniciação Científica, que foram muito úteis para meu crescimento científico e pessoal.

A todos que de alguma maneira contribuíram para o trabalho.

Aos órgãos de fomento CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico e características gerais dos fungos	2
1.2 A incidência das doenças fúngicas e a resistência aos medicamentos atuais	3
1.3 Histórico e métodos de obtenção das iminas	5
1.4 A aplicação das iminas	7
2 OBJETIVO	12
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
3.1 Síntese das bis-iminas	14
3.1.1 <i>A primeira série das bis-iminas hidroxiladas</i>	14
3.1.2 <i>A segunda série das bis-iminas hidroxiladas</i>	32
3.1.3 <i>A série das bis-iminas aminadas</i>	45
3.2 Teste biológico	51
4 CONCLUSÃO	54
5 PARTE EXPERIMENTAL	57
5.1 Materiais e métodos	57
5.2 Procedimentos	58
5.2.1 <i>Síntese da primeira série das bis-iminas hidroxiladas</i>	58
5.2.1.1 <i>Obtenção de N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiamina]</i>	58
5.2.1.2 <i>Obtenção de N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]</i>	59
5.2.1.3 <i>Obtenção de N,N'-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]</i>	60

5.2.1.4	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiamina]	61
5.2.1.5	Obtenção de 1-(3-hidroxibenzil)-2-(3-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol	62
5.2.1.6	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]	63
5.2.1.7	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]	64
5.2.1.8	Obtenção de 1-(4-hidroxibenzil)-2-(4-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol	65
5.2.1.9	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis[(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]	66
5.2.1.10	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis[(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]	68
5.2.2	<i>Síntese da segunda série das bis-íminas hidroxiladas</i>	69
5.2.2.1	Obtenção de 3-(2-(3-hidroxifenil)3-isoindolinelidenoamino)fenol	69
5.2.2.2	Obtenção de 4-(2-(4-hidroxifenil)4-isoindolinelidenoamino)fenol	70
5.2.2.3	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiiimina	71
5.2.2.4	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiiimina	72
5.2.2.5	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(4-hidroxibenzeno)isofaldiiimina	73
5.2.2.6	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(2-hidroxibenzeno)teraftaldiimina	74
5.2.2.7	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(3-hidroxibenzeno)teraftaldiimina	75
5.2.2.8	Obtenção de <i>N,N'</i> -bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina	76
5.2.3	<i>Determinação da atividade antifúngica in vitro</i>	77
5.2.3.1	Ensaio biológico contra <i>Candida ssp</i>	77
5.2.3.2	Ensaio biológico contra <i>Aspergillus ssp</i>	79
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
7	ANEXOS	86
7.1	Espectros	I
7.2	Projeto de mestrado	LXXXII

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

a – Aguda

AAc – Ácido acético

AIDS – Síndrome da imunodeficiência adquirida

AUREMN – Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear

CBM – Concentração bactericida mínima (a menor concentração de um composto para matar o microrganismo)

CCD – Cromatografia em camada delgada

CDCl₃ – Clorofórmio deuterado

CID – Dissociação induzida por colisão

CIM – Concentração Inibitória Mínima (a menor concentração de um composto para inibir o crescimento do microrganismo)

CIM₈₀ – É a menor concentração de um compostos que inibiu 80% do crescimento de um microrganismo

CFM – Concentração Fungicida Mínima (a menor concentração de um composto para matar o microrganismo)

cm⁻¹ – Centímetros recíprocos

COSY – Correlation spectroscopy

d – Dupleto

Da – Dalton

DCM – Diclorometano

dd - Duplo dupleto

DEPT – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

Ed. – Editora

EEHCl – Solução de éter-etílico acidificada com ácido clorídrico

ESI-MS – Espectrometria de massas com ionização electrospray

F – Forte

f – Fraca

h – Hora

Hz – Hertz

ICSS – Infecções da corrente sanguínea

IV – Radiação na região do infravermelho

J – Constante de acoplamento em Hertz

L – Larga
m – Médio
m – Multipleteo
 m/z – Relação massa/carga
mL – Mililitro
MM – Massa molar
mmol – Milimol
MS/MS – Análise sequencial de espectrometria de massas
NO – Não obtido
p. – Página
P. A. – "Pro analyse", o que significa que este reagente tem o grau de pureza exigido para não interferir nas análises nas quais será usado
PF – Ponto de Fusão
ppm – Partes por milhão
Rend. – Rendimento
RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RPMI – Meio de cultura desenvolvido no *Roswell Park Memorial Institute*
s – Simpleto
Sir2 – *Silent information regulator 2*
SIRT 2 – *Seven human sirtuin type 2*
sl - Simpleto largo
t – Tripleto
T. a. – Temperatura ambiente
THF – Tetrahidrofurano
TMS – Tetrametilsilano
TMSCl – cloreto de trimetilsilila
UV – Radiação na região do ultravioleta
 γ - Deformação angular fora do plano
 δ – Deslocamento químico em ppm
 ν – Estiramento

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizadas e caracterizadas dezenove iminas com rendimentos entre 53 e 95%, divididas em duas séries, a partir da condensação dos hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*) e da condensação de dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) com aminofenóis (*orto*, *meta* e *para*). Inesperadamente, algumas dessas reações levaram a produtos de ciclização, fornecendo produtos derivados de benzoimidazol e derivados da pirrolidina. Do total dos compostos sintetizados, 5 são inéditos na literatura.

A síntese de uma terceira série de *bis*-iminas (aminadas) também foi proposta, porém a despeito de todos os esforços e tentativas, elas não foram obtidas.

Na segunda parte desse trabalho, os compostos sintetizados foram avaliados *in vitro* contra nove linhagens de fungos de interesse clínico: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Aspergillus clavatus* (isolado clínico), *Aspergillus flavus* (isolado clínico), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (isolado clínico) e *Aspergillus tamari* (isolado clínico).

Os resultados encontrados para as espécies de *Aspergillus* foram melhores do que para as espécies de *Candida*, destacando-se os derivados da pirrolidina que demonstraram ser até 16 vezes mais potente que a droga de referência (o Fluconazol).

Os melhores resultados para as *bis*-iminas não ciclizadas, foram para os compostos, que possuem as hidroxilas na posição *orto*, sugerindo a importância da posição da hidroxila na atividade biológica. Além disso, os compostos da segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas mostraram melhores resultados que a primeira série, demonstrando que a posição do nitrogênio da imina também é importante na atividade biológica.

ABSTRACT

In this work were synthesized and characterized nineteen imines with 53 at 95% of yield, divided into two series, from the condensation of hydroxybenzaldehydes (*ortho*, *meta* and *para*) with phenylenediamines (*ortho*, *meta* and *para*) and between the aromatic dialdehydes (*ortho*, *meta* and *para*) with aminophenols (*ortho*, *meta* and *para*). Unfortunately, some of these reactions afforded cyclized derivatives of benzoimidazole (**5** and **9**) and pyrrolidine (**14** e **16**). Among all the compounds synthesized, five are new in the literature.

The synthesis of a third series of *bis*-imines (amines) also was proposed, but in despite all efforts and attempts, it was not obtained.

In the second part of this work, the synthesized compounds were assayed *in vitro* against nine strains of clinical interest fungi: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Aspergillus clavatus* (clinical isolate), *Aspergillus flavus* (clinical isolate), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (clinical isolate) e *Aspergillus tamari* (clinical isolate).

The results for the *Aspergillus* species were better than for *Candida* species, especially those derived from pyrrolidine showed to be until 16 times more potent than the reference drug (Fluconazole).

The best results for the *bis*-imines not cyclized were for that compounds which have the hydroxyl group in the *ortho* position, suggesting the importance of the hydroxyl position for biological activity. Furthermore, the second series compounds, hydroxylated *bis*-imines, showed better results than first series, demonstrating that the position of the imine nitrogen also influences in the biological activity.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Em 1546, Girolamo Fracastoro, de Verona, sugeriu que as doenças surgiam devido a organismos muito pequenos, que não podiam ser vistos, mas eram transmitidos de uma pessoa para outra (PELCZAR JR *et al.*, V. 1, 1996).

Em 1762, Aton Von Plenciz, de Viena, suspeitou que seres vivos (microrganismos) eram responsáveis por diferentes enfermidades. O médico Oliver W. Holmes (1809-1894) estava convicto que a febre puerperal (infecção que matava milhares de mulheres na época após os partos) era contagiosa e, provavelmente, causada por um microrganismo transmitido de uma mãe para outra, através das parteiras e dos médicos. Quase na mesma época, o médico húngaro Ignaz P. Semmelweis (1818-1865) introduziu o uso de antissépticos na prática obstétrica (BOSSOLAN, 2002).

A necessidade de combater doenças que surgiam com o passar dos anos, estimulou pesquisadores na descoberta de novos fármacos. Em 1898, Felix Hofmann sintetizou o ácido acetil salicílico (AAS) (Figura 1), que marcou o início da era dos fármacos sintéticos. Durante a 2ª Guerra Mundial (1938-1945), ocorreu um grande avanço na química sintética, motivada pela necessidade de tratamento de infecções, dor, processos alérgicos e depressão, doenças às quais os militares estavam expostos durante o período de guerra (JÚNIOR *et al.*, 2006).

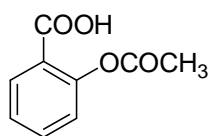


Figura 1 – Estrutura do AAS

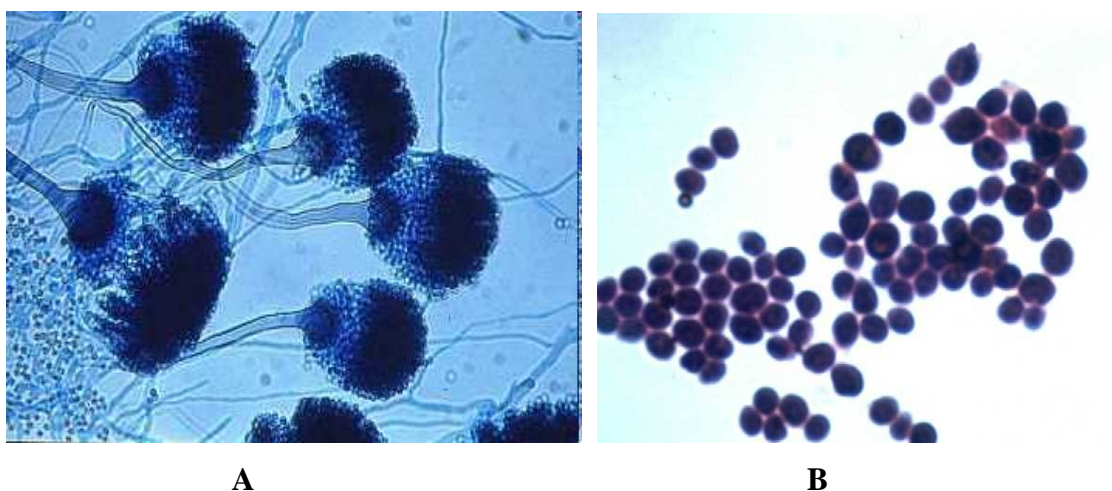
As infecções microbianas representam uma ameaça à saúde pública (CHEN *et al.*, 2009), inclusive em países desenvolvidos, principalmente pelo fato de novas doenças infecciosas estarem continuamente emergindo. Em termos mundiais, as doenças infecciosas são responsáveis por aproximadamente 30% das 56 milhões de mortes anuais (MADIGAN *et al.*, 2004).

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO E CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS FUNGOS

Até meados do século XX, os fungos eram considerados membros primitivos do Reino *Plantae*, provavelmente porque alguns deles eram estruturalmente parecidos com os vegetais superiores. Em 1969, Whittaker e colaboradores, verificaram que os fungos não possuíam características básicas para continuarem no reino vegetal, criando um reino à parte, o Reino Fungi, que compreende os organismos eucarióticos não-fotossintetizantes e sem flagelos (LOYOLA, 2006). Estes organismos são heterotróficos e absorvem seus nutrientes, em vez de ingerí-los. Possuem também parede celular quitinosa e sua reprodução pode ser sexuada ou assexuada (PELCZAR JR. *et al.*, V. 2, 1996).

O Reino Fungi divide-se em dois principais grupos: os fungos filamentosos e os fungos leveduriformes (Figura 2) (CAVALHEIRO, 2003).



Fonte A: <http://atlas.medmicro.info/index.php?Jazyk=en&sekce=4&podsekce=53> (acessado em 03/01/2011)

Fonte B: http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/ (acessado em 03/01/2011)

Figura 2 – Fotos de fungos. **A:** Fungo filamentoso (*Aspergillus fumigatus*); **B:** Fungo leveduriforme (*Candida albicans*)

A unidade fundamental dos fungos filamentosos é uma estrutura filiforme denominada hifa. Um conjunto de hifas forma o micélio. As hifas tem a função de fixação ao substrato, reprodução e digestão extracelular (DA SILVA e COELHO, 2006).

Os fungos leveduriformes são unicelulares e se distinguem dos fungos filamentosos pela maneira de se reproduzirem: por brotamento ou divisão binária (DA SILVA e COELHO, 2006).

1. INTRODUÇÃO

Alguns fungos podem causar doenças em animais e vegetais. No homem os fungos podem causar infecções superficiais que atingem somente a pele, cabelos e unhas, ou infectar tecidos profundos e órgãos internos (BOSSOLAN, 2002), levando ao desenvolvimento de infecções sistêmicas.

Os fungos também atuam na decomposição de matéria orgânica, na produção de alimentos e medicamentos (BOSSOLAN, 2002).

1.2 A INCIDÊNCIA DAS DOENÇAS FÚNGICAS E A RESISTÊNCIA AOS MEDICAMENTOS ATUAIS

Desde 1979, a incidência anual de sepse (infecção sistêmica grave) causada por fungos nos Estados Unidos aumentou mais de 200% (TROFA *et al.*, 2008). Mais de 17 diferentes espécies de *Candida* tem sido identificadas como agentes etiológicos de infecções da corrente sanguínea (ICSs) (PFALLER e DIEKEMA, 2004), e aproximadamente 95% das *Candida* ICSs são causadas por quatro espécies: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (PFALLER e DIEKEMA, 2004).

Os casos de infecções fúngicas tem aumentado significativamente, contribuindo para a causa de morbidade e mortalidade (MASUOKA, 2004) (MARTINS *et al.*, 2009). Os pacientes imunocomprometidos, como portadores de leucemia, linfoma, *diabetes mellitus*, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e pacientes transplantados, possuem uma maior probabilidade de adquirirem infecções fúngicas. (LIMA *et al.*, 2006).

O desenvolvimento de fármacos da classe dos azóis (Figura 3, p. 4) tem considerável impacto contra as infecções fúngicas, porém a necessidade de ministrar altas doses ou combinações destas drogas tem causado o aumento da resistência dos patógenos frente a estes fármacos (CREAVEN *et al.*, 2009) (ROGERS, 2006) (ANDERSON, 2005). Embora a incidência de infecções fúngicas sistêmicas tenha aumentado, a opção por antifúngicos disponíveis continua a ser relativamente limitada, apesar do surgimento de novas classes de compostos (ROGERS, 2006).

1. INTRODUÇÃO

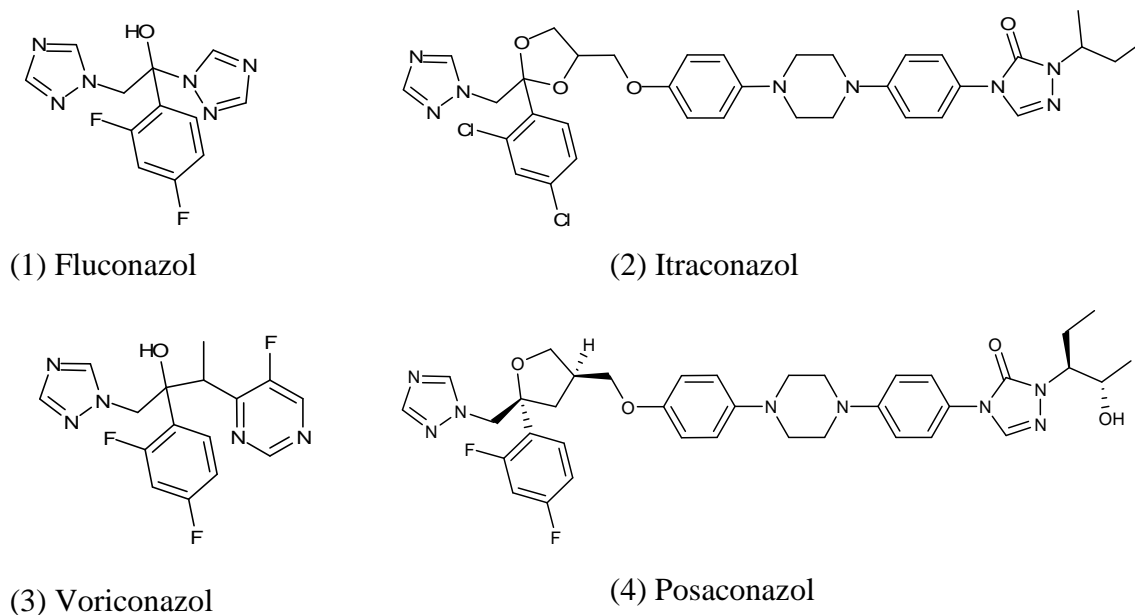


Figura 3 – Alguns exemplos de agentes antifúngicos do tipo azóis disponíveis comercialmente

O fluconazol (Figura 3) é um antifúngico com alta tolerabilidade pelos pacientes, porém cada vez mais ocorrem relatos de resistência do fungo perante esta droga (NGUYEN e YU, 1998). Foi verificada também a resistência de espécies de *Candida* ao tratamento com o fluconazol e itraconazol (Figura 3) (PFALLER *et al.*, 2005), tornando-se um problema maior com a chegada da epidemia de AIDS (ROGERS, 2006).

A anfotericina B (Figura 4) é o fármaco mais utilizado atualmente contra *Cryptococcus neoformans*, entretanto este medicamento possui alta toxicidade, causando diversos efeitos aos pacientes como febre, calafrios, taquicardia, hipertensão arterial, vômitos, principalmente distúrbios renais (MARTINEZ, 2006); (NGUYEN e YU, 1998).

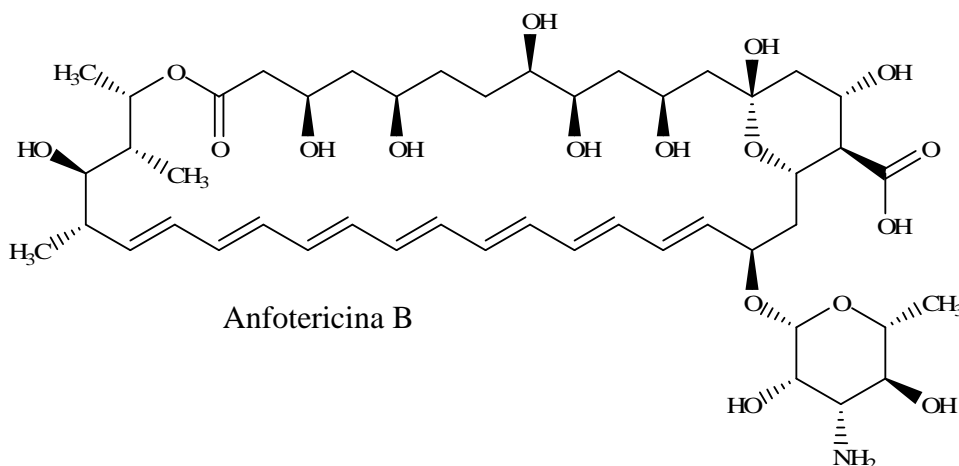


Figura 4 – Estrutura química da anfotericina B

1. INTRODUÇÃO

A procura por fármacos mais eficazes e seguros, que causem menos efeitos colaterais, tem aumentado atualmente (VERÇOZA *et al.*, 2009). A química orgânica medicinal, através dos planejamentos e modificações moleculares, tem contribuído para a maior parte das novas descobertas (VERÇOZA *et al.*, 2009).

1.3 HISTÓRICO E MÉTODOS DE OBTENÇÃO DAS IMINAS

Em 1864, Hugo Schiff na cidade de Pisa (Itália), estudou a reação da anilina com aldeídos, incluindo acetaldeído, valeraldeído, benzaldeído e cinamaldeído, notando a formação de uma nova classe de compostos: as iminas, também conhecidas como bases de Schiff (TIDWELL, 2008). Em 1866, ele também criou o teste de Schiff, que consiste na utilização da fucsina (uma amina) (Figura 5) como reagente, para verificar a presença de aldeídos. A fucsina também é utilizada na bacteriologia no teste de Gram para separar amostras bacterianas em Gram-positivas e Gram-negativas (PN-DST/AIDS/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001) (TIDWELL, 2008).

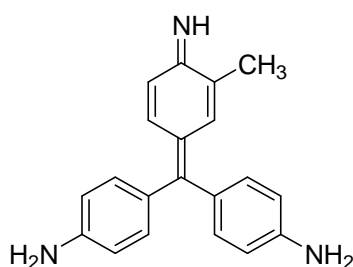
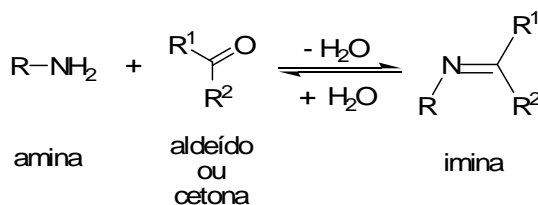


Figura 5 – Estrutura da fucsina ou rosanilina

As iminas são obtidas a partir da reação de condensação entre uma amina primária com aldeído ou cetona (Esquema 1) (CAREY, 2000). Essa classe de compostos químicos contém um átomo de nitrogênio ligado a um carbono através de uma ligação dupla ($R^1R^2C=N-R$). Quando um dos reagentes é aromático, a imina formada é muito estável e conhecida como base de Schiff (FUNISS *et al.*, 1989).



Esquema 1 – Reação de obtenção de uma imina

1. INTRODUÇÃO

As iminas possuem estrutura trigonal plana entre um átomo de carbono sp^2 e um átomo de nitrogênio sp^2 (Figura 6), sendo sua estrutura muito semelhante a de um composto carbonílico como uma cetona ou aldeído (CLAYDEN, 2000).

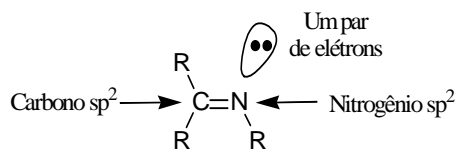
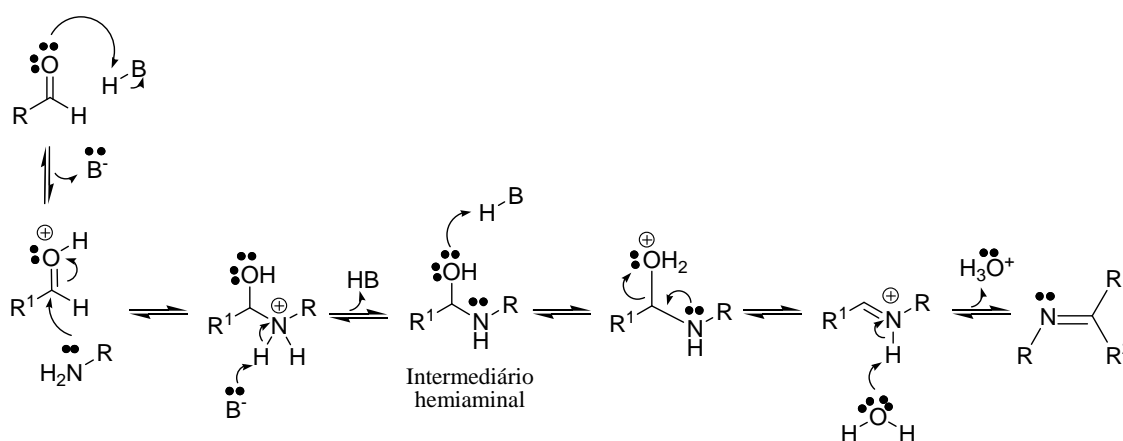


Figura 6 – Estrutura trigonal plana das iminas

No mecanismo proposto para a reação do Esquema 2, o par de elétrons livre do nitrogênio da amina (nucleófilo) ataca o aldeído (ou cetona) formando um intermediário hemiaminal que, por desidratação, forma a imina. Como a reação está em equilíbrio, remoção de moléculas de água é essencial para a formação da imina. A reação normalmente é feita com catálise ácida e o pH ideal para catalisar a reação é entre 4 e 6. Em pH menor que 4, muitos grupos amina estarão na sua forma protonada, e em pH superior a 6, a concentração hidrogeniônica é muito pequena para ocorrer a protonação da hidroxila na etapa da desidratação (CLAYDEN *et al.*, 2000); (CAREY, 2000) (COSTA *et al.*, 2003).

No caso de catálise básica, a desidratação do intermediário hemiaminal ocorre com a desprotonação do nitrogênio concomitante com a liberação de íons hidróxido (CAREY e SUNDBERG, 2007).



Esquema 2 – Proposta mecanística de formação de imina catalisada por ácido

As iminas também podem ser preparadas em condições neutras, no entanto é necessário remover a água formada para deslocar o equilíbrio. Para isso, emprega-se a

1. INTRODUÇÃO

destilação azeotrópica com o sistema Dean-Stark (Figura 10, p. 15) ou agentes secantes como sulfato de sódio anidro, peneira molecular, etc (FUNISS *et al.*, 1989); (CAREY e SUNDBERG, 2007).

As iminas geralmente são lábeis e facilmente sofrem hidrólise para seus reagentes iniciais. A velocidade de hidrólise das iminas depende do pH da solução, da basicidade da amina e da reatividade do aldeído (CAREY e SUNDBERG, 2007).

1.4 A APLICAÇÃO DAS IMINAS

As bases de Schiff constituem uma das classes de compostos mais utilizadas na química orgânica, não só como intermediários sintéticos, mas também na química de coordenação (MAN *et al.*, 2008). Alguns destes compostos possuem uma segunda função imina, podendo ser chamados de *bis*-iminas. Estas *bis*-iminas podem apresentar outros grupos funcionais próximos como, por exemplo, a hidroxila, permitindo a coordenação de íons metálicos. Estas bases de Schiff são ligantes bifuncionais e tetradentados (ONNO), análogas do *N,N'*-etilenobis(salicilidenoiminato) ou salen (Figura 7), que é um ligante muito conhecido na química de coordenação (FATIBELLO-FILHO *et al.*, 2007).

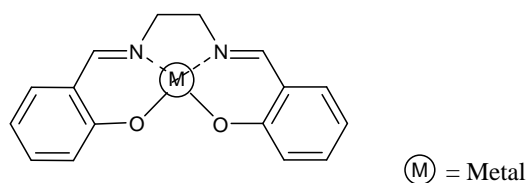
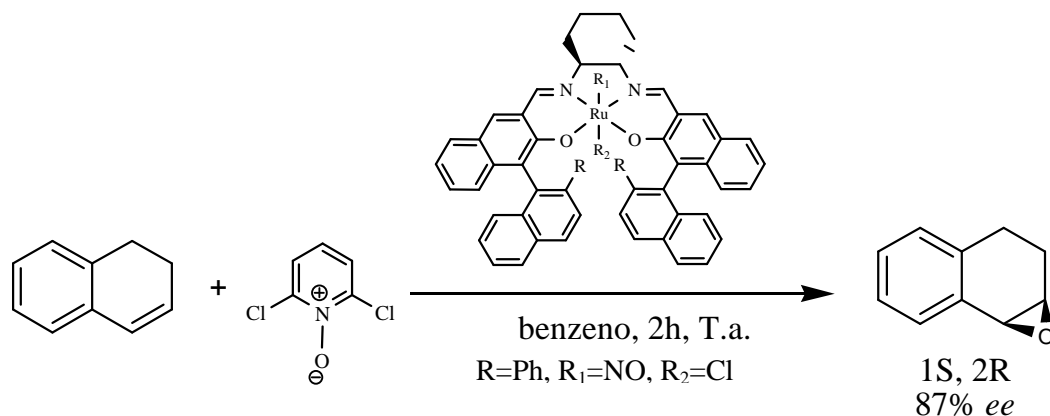


Figura 7 – Estrutura do ligante Salen

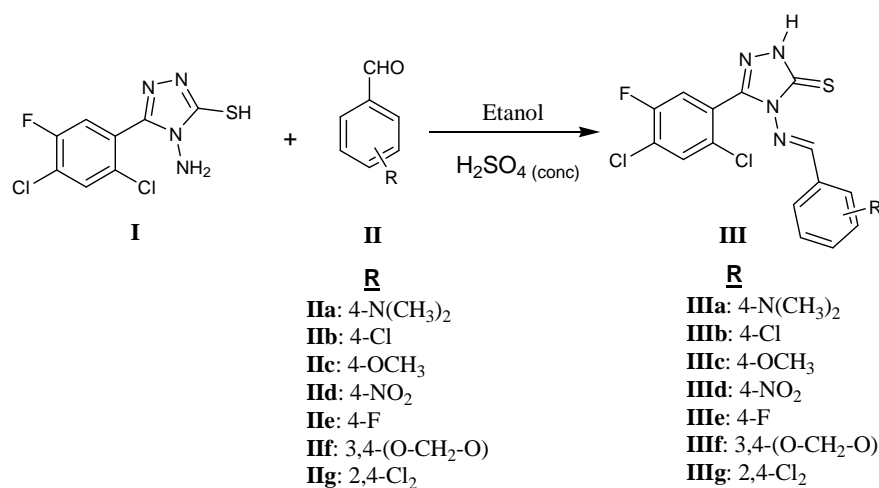
Complexos metálicos contendo ligante tipo Salen (*bis*-imina) são amplamente empregados em catálise, como por exemplo, em reações de epoxidação estereosseletiva (Esquema 3, p. 8) (NAIK *et al.*, 2008); (MAN *et al.*, 2008), ciclopropanação (MILLER *et al.*, 2005); (MAN *et al.*, 2008), Diels-Alder (ODENKIRK *et al.*, 1992), polimerização de alcenos (GIBSON *et al.*, 2007), sulfimidação (MAN *et al.*, 2008), aziridinação (MAN *et al.*, 2008), reações nitroaldólicas (KOWALCZYK *et al.*, 2009), entre outras. Além da utilização destes complexos com ligante tipo Salen em catálise, verificou-se também suas aplicações em construções de sistemas supramoleculares (KLEIJ, 2009) e dispositivos eletrônicos como cristais líquidos (ESTEVES-SOUZA *et al.*, 2004).



Esquema 3 – Reação de epoxidação utilizando uma *bis*-imina como catalisador

Na medicina e na área farmacêutica, as bases de Schiff ganharam grande importância por causa das atividades biológicas e farmacológicas a elas associadas (BHARTI *et al.*, 2010). Esses compostos tem mostrado aplicações biológicas como atividade antitumoral (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006); (ABDALLAH *et al.*, 2009), antibacteriana (ABDALLAH *et al.*, 2009); (BHARTI *et al.*, 2010), antiviral, antituberculosa, antimalárica, vasorrelaxante, analgésica (BHARTI *et al.*, 2010), anticonvulsivante (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006) e antifúngica (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006); (ABDALLAH *et al.*, 2009).

Karthikeyan e colaboradores, baseados na importância das aplicações biológicas de iminas, sintetizaram os compostos **IIIa-IIIg** (Esquema 4) para verificar suas atividades antibacteriana e antifúngica.



Esquema 4 – Síntese das iminas **IIIa-IIIg**

Para a atividade antibacteriana (Tabela 1, p. 9), foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) através da técnica de diluição em caldo e o crescimento foi monitorado

1. INTRODUÇÃO

visualmente e espectrofotometricamente. A concentração bactericida mínima (CBM) foi definida como a menor concentração que matou 99,9% dos fungos presentes no inóculo.

Tabela 1 – CIM e CBM em ($\mu\text{g/mL}$) para os compostos **IIIa-IIIg**

Compostos	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>Klebsiella pneumoniae</i> (isolado clínico)	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
	IIIa	12,5	50	25	100	12,5	25	-
IIIb	12,5	100	12,5	50	12,5	100	-	-
IIIc	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	12,5	12,5	100
IIId	-	-	-	-	12,5	100	-	-
IIIe	6,25	25	6,25	50	-	-	-	-
IIIf	25	100	25	100	25	100	12,5	50
IIIg	12,5	50	12,5	100	12,5	100	-	-

A CIM contra fungos (Tabela 2) também foi determinada pelo método de diluição em caldo e a atividade antifúngica foi comparada com a droga de referência Fluconazol. Para a concentração fungicida mínima (CFM), utilizou-se a menor concentração do composto que matou 99,9% dos fungos presentes no inóculo.

Tabela 2 – CIM e CFM em ($\mu\text{g/mL}$) para os compostos **IIIa-IIIg**

Compostos	<i>Aspergillus fumigatus</i> NICM N° 902		<i>Aspergillus flavus</i> NICM N° 524		<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (isolado clínico)		<i>Penicillium marneffeii</i> (isolado clínico)	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
	IIIa	12,5	100	25	100	12,5	50	12,5
IIIb	12,5	25	25	50	25	100	12,5	100
IIIc	6,25	12,5	6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	12,5
IIId	6,25	25	12,5	100	12,5	50	6,25	25
IIIe	6,25	50	12,5	100	6,25	25	6,25	12,5
IIIf	25	50	12,5	25	25	50	12,5	50
IIIg	6,25	25	-	-	6,25	25	12,5	50

1. INTRODUÇÃO

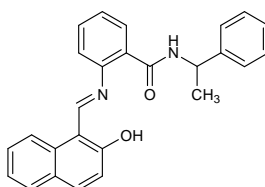
Através dos dados das Tabelas 1 e 2, observa-se que os compostos **IIIc** e **IIIe** se destacaram nos testes biológicos. A imina **IIIc** mostrou boa atividade antibacteriana *in vitro*, com CIM de 6,25 µg/mL, contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Também demonstrou boa atividade antifúngica *in vitro*, com CIM de 6,25 µg/mL, contra *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Penicillium marneffe*, obtendo um resultado tão bom quanto o padrão de referência, o Fluconazol (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

O composto **IIIe** exibiu bons resultados como antibacteriano *in vitro*, com CIM de 6,25 µg/mL, contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Também apresentou boa atividade antifúngica com CIM de 6,25 µg/mL contra *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Penicillium marneffe* (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

O composto **IIIId** mostrou bons resultados antifúngicos *in vitro*, com CIM de 6,25 µg/mL, contra *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium marneffe*. O composto **IIIg**, com CIM de 6,25 µg/mL, também apresentou boa atividade contra *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton mentagrophytes* (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

Kiviranta e colaboradores verificaram que a imina 2-[(2-hidroxi-1-naftalenilmetileno)amino]-N-(1-feniletil)benzamida (Figura 8), usualmente conhecida como sirtinol, era inibidora da SIRT2 (*Seven human sirtuin type 2*).

A SIRT2 é um homólogo da proteína Sir2 (*Silent information regulator 2*) para os seres humanos. A Sir2 é uma proteína nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) encontrada em procariotas e eucariotas. A Sir2 possui várias funções celulares importantes, como por exemplo, é responsável pelos processos biológicos do metabolismo, longevidade, apoptose e desenvolvimento. Verificou-se que inibidores da SIRT2, poderiam ser benéficos para pacientes com doenças neurodegenerativas e câncer (KIVIRANTA *et al.*, 2006).



IV

Figura 8 – Sirtinol (inibidor da SIRT2) (MAI *et al.*, 2005)

Mai e colaboradores observaram também que, análogos do sirtinol (*m*- e *p*-sirtinol), os compostos **V** e **VI** (Figura 9, p. 11), foram 2 a 10 vezes mais potente que o sirtinol, contra enzimas humanas SIRT1 (*Seven human sirtuin type 2 homolog*) e SIRT2 (MAI *et al.*, 2005).

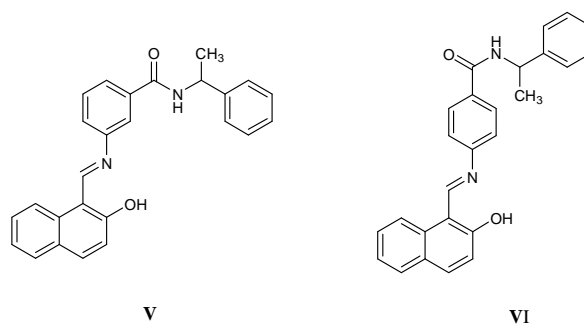
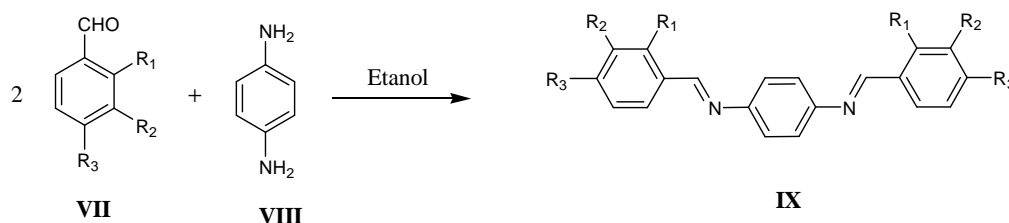


Figura 9 – Estrutura química dos *m*- e *p*-sirtinol (MAI *et al.*, 2005)

Observando as estruturas dos análogos do sirtinol (Figura 9), Kiviranta e colaboradores sintetizaram análogos de *bis*-iminas com um grupo aromático central 1,4-substituído, de acordo com o Esquema 5.



Esquema 5 – Síntese de *bis*-iminas com um grupo aromático central 1,4-disubstituído

Tabela 3 – Estrutura **IX** com seus substituintes e a % de inibição para 200 μ M da proteína SIRT2

Compostos	R ₁	R ₂	R ₃	Inibição para 200 μ M \pm DP ^a %
IXa	H	H	H	35 \pm 1,4
IXb	OH	H	H	56 \pm 8,2
IXc	H	OH	H	12 \pm 0,9
IXd	H	H	OH	22 \pm 1,6
IXe	H	OH	OH	13 \pm 0,2
IXf	OCH ₃	H	H	13 \pm 0,5
IXg	H	OCH ₃	H	20 \pm 1,2
IXh	H	H	OCH ₃	ND ^b

a = Desvio Padrão; b = Não determinado por não ser solúvel

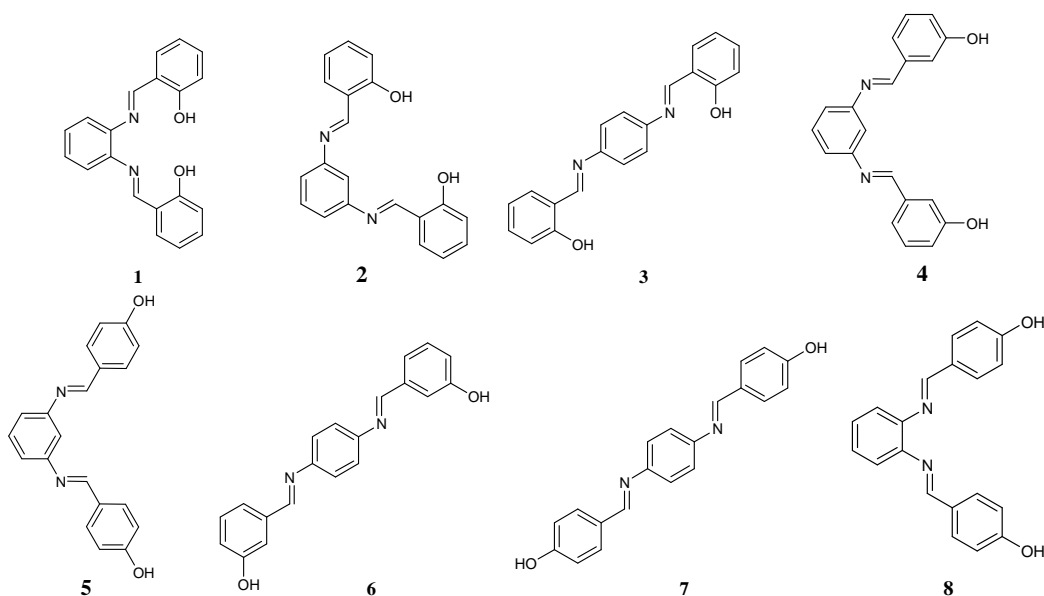
A partir da Tabela 3, observou-se que o composto **IXb** destacou-se por ter mostrado 56% de inibição para 200 μ M da SIRT2. Este composto foi tão potente quanto o sirtinol. O composto não substituído **IXa**, obteve uma inibição de 35%, sendo um moderado inibidor para a proteína SIRT2 (KIVIRANTA *et al.*, 2006).

2. OBJETIVOS

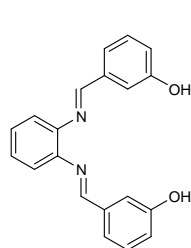
2. OBJETIVOS

Devido ao fato de existir trabalhos na literatura mostrando que iminas apresentam atividade biológica e do grupo já estar trabalhando com esse tipo de sistema, o objetivo deste trabalho foi:

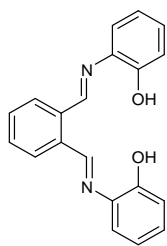
- Sintetizar *bis*-hidroxiiminas aromáticas;
- Sintetizar *bis*-iminas aminadas;
- Avaliar a atividade biológica *in vitro*, dessas *bis*-iminas contra os fungos: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Aspergillus clavatus* (isolado clínico), *Aspergillus flavus* (isolado clínico), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (isolado clínico), *Aspergillus tamari* (isolado clínico);
- Tentar racionalizar o posicionamento relativo das hidroxilas e do grupo imina com a atividade biológica.
- As estruturas propostas neste trabalho para estudo são:



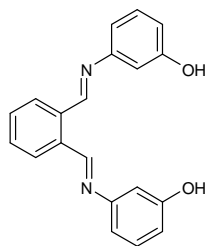
2. OBJETIVOS



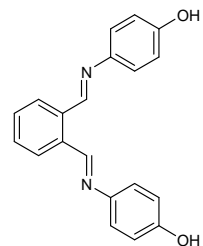
10



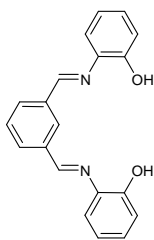
12



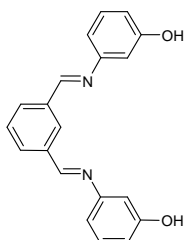
13



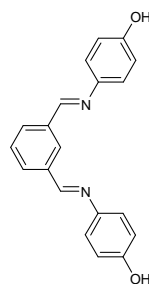
15



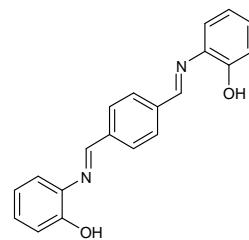
17



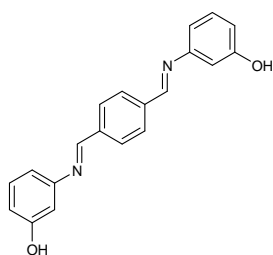
18



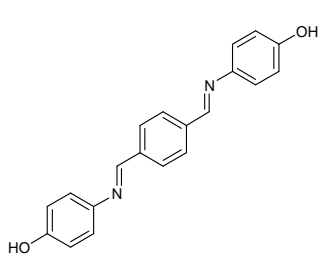
19



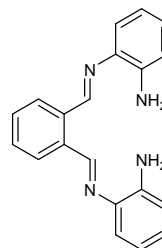
20



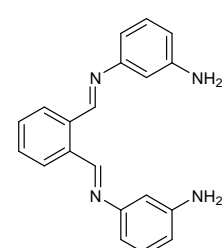
21



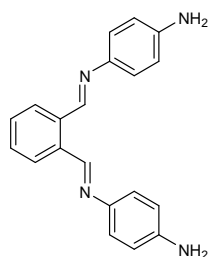
22



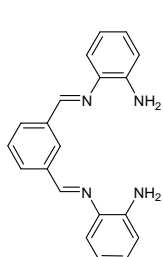
29



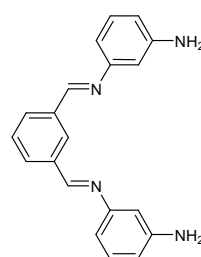
30



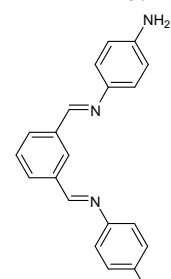
31



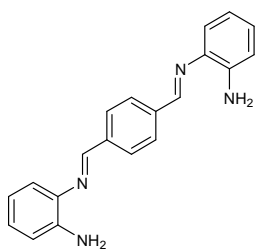
32



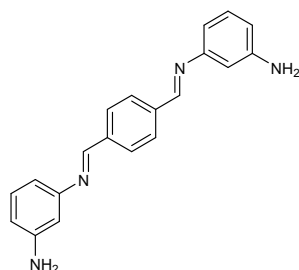
33



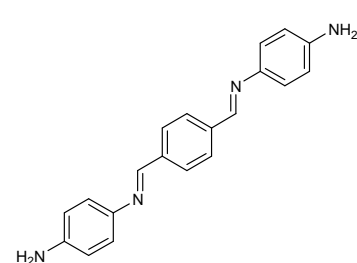
34



35



36

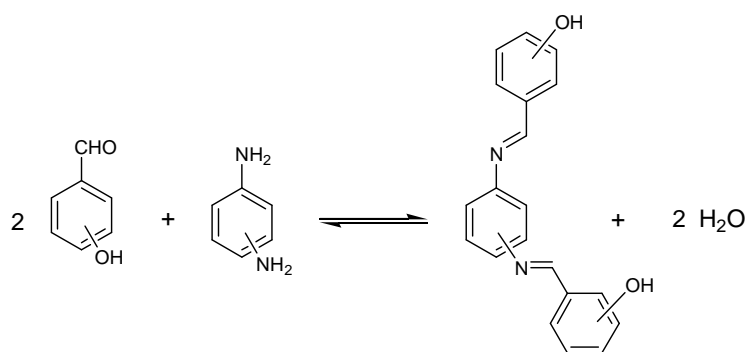


37

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

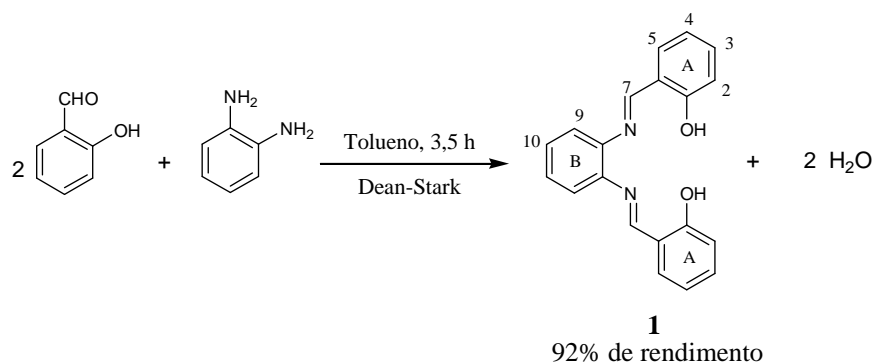
3.1 SÍNTESE DAS *BIS*-IMINAS3.1.1 A primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas

Este trabalho iniciou-se com a síntese das *bis*-iminas hidroxiladas, que foram obtidas através da condensação dos hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com as fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*), de acordo com o Esquema 6:



Esquema 6 – Esquema geral para a síntese da primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas

O primeiro composto sintetizado foi o *N,N'*-*bis*[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina] (**1**) (Esquema 7). A metodologia empregada foi adaptada da literatura para a preparação de mono-iminas aromáticas (BAKER e SHULGIN, 1958), onde utilizou-se o sistema Dean-Stark (Figura 10, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) para a remoção de água durante a reação.



Esquema 7 – Reação de obtenção do composto **1**¹

¹ A numeração dos átomos de carbono adotada para o produto **1** e para os demais compostos, não segue a regra IUPAC. Esta numeração foi utilizada para fins didáticos, facilitando a atribuição e análise dos dados espectroscópicos. A numeração usada na nomenclatura segue a regra IUPAC.

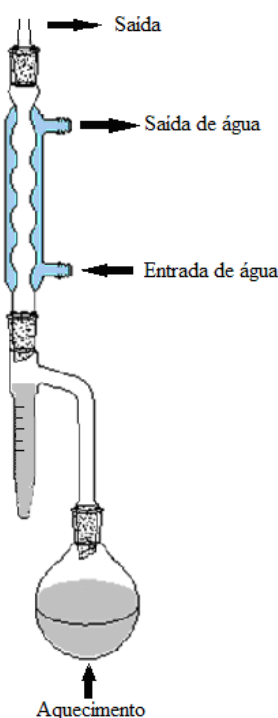


Figura 10 – Sistema Dean-Stark para remoção azeotrópica de água de uma reação

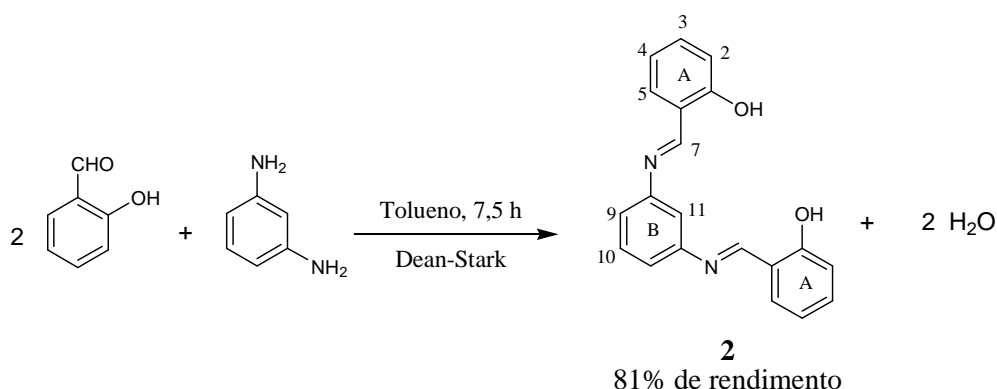
Essa condição forneceu o composto **1** em 92% de rendimento. A confirmação da estrutura do produto obtido foi feita através de análises de RMN de ^1H , ^{13}C , ^{13}C DEPT 135, COSY e HMQC, além de análises de infravermelho.

A análise do espectro de RMN de ^1H (a 400 MHz) (Figura 30, p. II) do produto **1** (Esquema 7, p. 14), mostrou a presença de um simpleto em δ 13,01, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,64 observa-se um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Entre δ 7,39-7,33 tem-se a presença de um multipeto, integrando para seis hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-3, H-5 e H-9. Entre δ 7,26-7,23 observa-se outro multipeto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-10. O dupeto em δ 7,05 ($J = 8,0$ Hz), integrando para dois hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H-2. O triplo dupeto em δ 6,92 ($J = 7,6; 0,8$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-4 (KHANDAR *et al.*, 2007). O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 31, p. III) mostrou a presença de dez sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 32, p. IV), mostrou a presença de sete sinais, confirmando a obtenção do produto **1**.

O composto *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diamina] (**2**) (Esquema 8, p. 16), foi sintetizado da mesma forma que o produto **1**, porém a reação ficou sob refluxo por 7,5 horas, fornecendo o composto desejado em 81% de rendimento. A análise do espectro de

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

RMN de ^1H (a 400 MHz) (Figura 35, p. VIII) revelou a presença de um simpleto em δ 13,08, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,61 há um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Em δ 7,43 observa-se um triplete, integrando para um hidrogênio, que foi atribuído ao hidrogênio H-10. Entre δ 7,39-7,34 verifica-se a presença de um multipletto, integrando para quatro hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-3 e H-5. O multipletto com deslocamento entre δ 7,17-7,13, integrando para três hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H-9 e H-11 do anel aromático B. Em δ 7,02 observa-se um dupletto ($J = 8,0$ Hz), integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-2. O duplo triplete em δ 6,93 ($J = 7,6; 0,8$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-4. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 36, p. IX) mostrou a presença de onze sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 37, p. X), mostrou a presença de oito sinais, ratificando a formação do composto **2**.

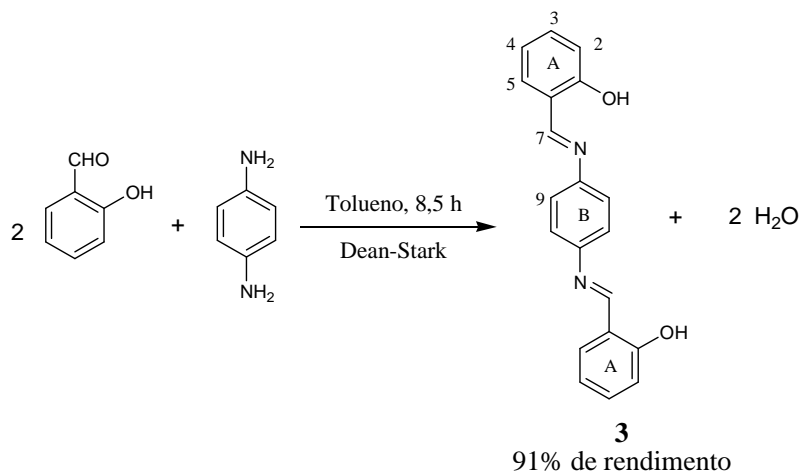


Esquema 8 – Reação de obtenção do composto **2**

O composto *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diamina] (**3**) (Esquema 9, p. 17), foi sintetizado da mesma forma que o produto **1**, porém a reação ficou sob refluxo por 8,5 horas. A análise do espectro de RMN de ^1H (a 400 MHz) (Figura 40, p. XIII) revelou a presença de um simpleto em δ 13,17, integrando para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios das hidroxilas. Um simpleto foi observado em δ 8,67, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Entre δ 7,42-7,37 observa-se um multipletto, integrando para oito hidrogênios, correspondendo aos quatro hidrogênios do anel aromático B (H-9) e aos hidrogênios H-3 e H-5 dos anéis aromáticos A. Em δ 7,04 verifica-se a presença de um dupletto ($J = 8,0$ Hz), integrando para dois hidrogênios, que foi atribuído ao hidrogênio H-2. O triplo dupletto em δ 6,96 ($J = 7,2; 0,8$ Hz), integrando para dois hidrogênios, refere-se aos hidrogênios H-4. O espectro de RMN de ^{13}C

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

(a 50 MHz) (Figura 41, p. XIV) apresentou oito sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 42, p. XV), mostrou a presença de seis sinais, corroborando a formação do composto **3**.



Esquema 9 – Reação de obtenção do composto **3**

A análise dos espectros no infravermelho dos compostos **1** (Figura 29, p. I), **2** (Figura 34, p. VII) e **3** (Figura 39, p. XII), mostrou uma banda larga e fraca em torno de 3440 cm^{-1} , confirmando a presença de hidroxila nas moléculas. Além disso, o fato da banda ser fraca demonstrou a ocorrência de ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila com os pares de elétrons livres do nitrogênio da imina (HOSHINO *et al.*, 1988) (Figura 11). A presença de uma banda intensa em torno de 1620 cm^{-1} é característico de $\nu\text{ C=N}$, ratificando a formação da função imina.

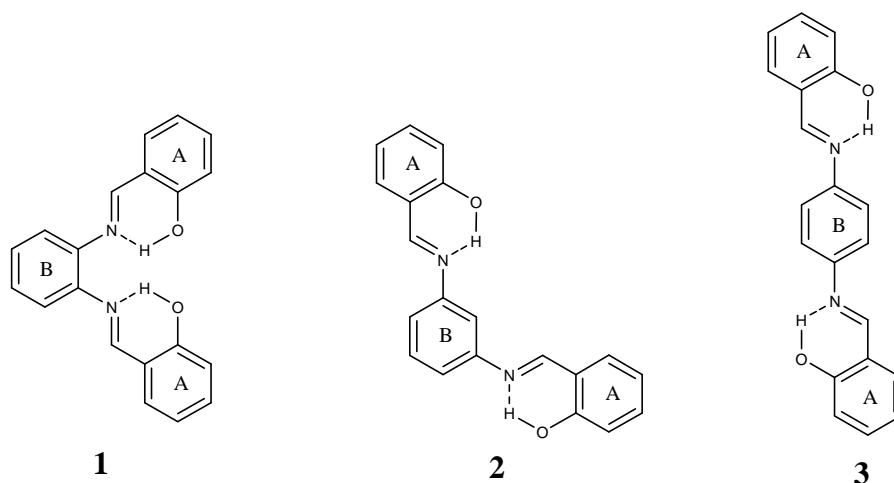
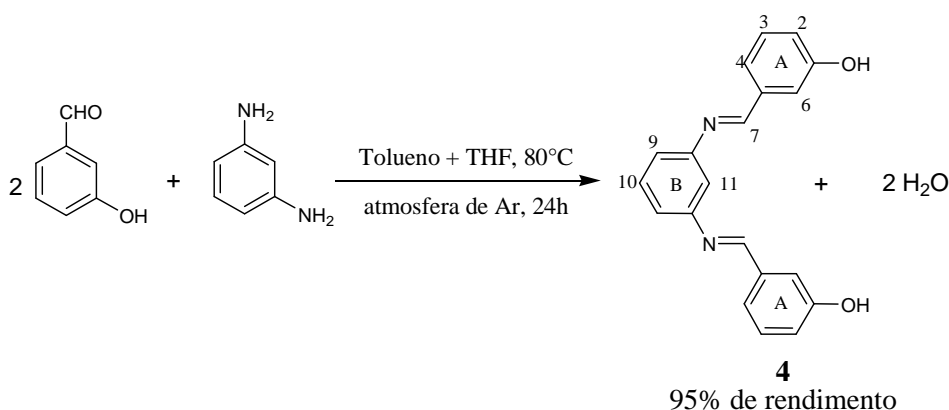


Figura 11 – Ligações de hidrogênio entre o hidrogênio da hidroxila e o nitrogênio das iminas nos compostos **1**, **2** e **3**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a obtenção do composto *N,N'*-bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diamina] (**4**) (Esquema 10), inicialmente utilizaram-se as mesmas condições anteriores. Entretanto, o produto desejado não foi obtido. Frente a este problema, foram feitos vários testes reacionais, variando-se o solvente, o tempo, a temperatura, o pH, uso do ultrassom, com o objetivo de se obter a *bis*-imina **4**. Entre as tentativas detalhadas na Tabela 4, a melhor condição encontrada foi a 9, onde o solvente usado foi tolueno e a *m*-fenilenodiamina foi solubilizada em THF antes de ser adicionada à reação. O produto desejado foi obtido em 95% de rendimento após 24h de reação.



Esquema 10 – Reação de obtenção do composto **4**

Tabela 4 – Condições de reação usada na tentativa de obtenção do composto **4**

Condição	Solvente	Tempo (h)	Condições	R1 ^a (mol)	R2 ^b (mol)	Rend.
1	Tolueno	8	Refluxo	2	1	°NO
2	Tolueno	24	Refluxo	3	1	°NO
3	Tolueno	48	Refluxo	3	1	°NO
4	Tolueno	48	80°C	3	1	°NO
5	Etanol	8	Refluxo	2	1	°NO
6	Etanol	48	Refluxo	3	1	°NO
7	Etanol	8	Refluxo e pH = 5*	3	1	°NO
8	Etanol	6	Ultrassom, a 55°C	3	1	°NO
9	Tolueno + THF	24	80°C, atmosfera inerte	2.2	1	95%

a = 1,3-hidroxibenzaldeído; b = 1,3-fenilenodiamina; c = Não obtido

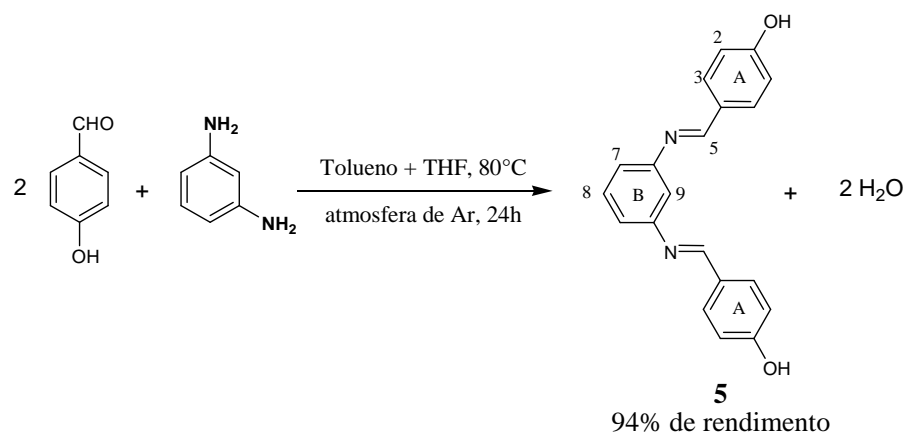
*A solução foi acidificada (pH = 5) com o uso de HCl_(conc)

A análise do espectro de RMN de ¹H (a 200 MHz) (Figura 55, p. XXVIII) revelou a presença de um simpleto em δ 9,91, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,60 observou-se um simpleto, integrando para dois

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Entre δ 7,41-7,32 verificou a presença de um multipeto, integrando para sete hidrogênios, que corresponde aos hidrogênios H-4 e H-6 dos anéis aromáticos A, e aos hidrogênios H-9 e H-10 do anel aromático B. Entre δ 7,13-7,10 observou-se um multipeto, integrando para três hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-2 e H-11. O multipeto entre δ 6,98-6,92, integrando para dois hidrogênios, refere-se aos dois hidrogênios H-3. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 56, p. XXIX) apresentou nove sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 57, p. XXX), apresentou seis sinais, não deixando dúvidas quanto a obtenção do produto **4**.

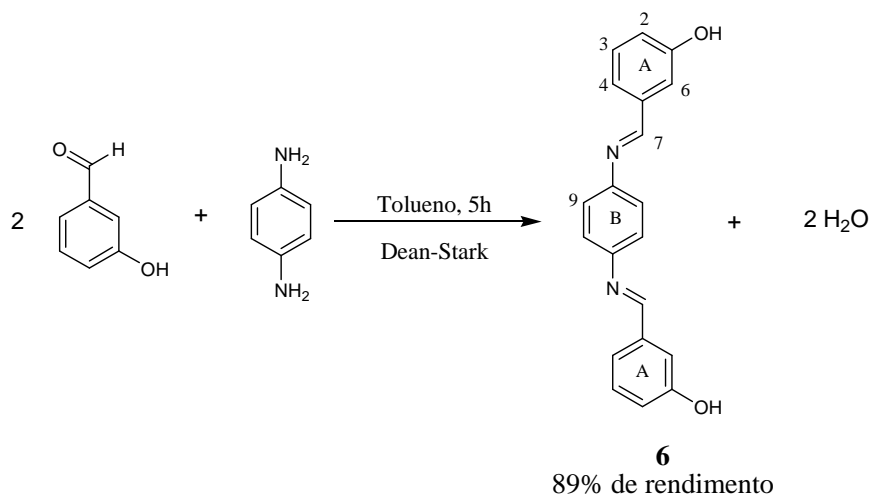
Da mesma forma que o produto **4**, o composto *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diamina] (**5**) (Esquema 11) não foi obtido com os procedimentos reacionais utilizados para a síntese de **1**. Então, utilizaram-se as condições de reação (Condição 9, Tabela 4, p. 18) do composto **4**, onde o solvente usado foi tolueno e a *m*-fenilenodiamina foi solubilizada em THF antes de ser adicionada à reação. A reação também ficou por 24 horas a 80°C e o produto **5** foi obtido com 94% de rendimento. A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 70, p. XLIII) observou a presença de um simpleto em δ 10,17, integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,52 observou-se outro simpleto, integrando para dois hidrogênios, os quais correspondem aos hidrogênios do grupo imina (H-5). Em δ 7,81 verificou a presença de mais um simpleto, integrando para quatro hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios do anel aromático B (H-7, H-8 e H-9). Entre δ 7,37-6,93 observou-se um multipeto, integrando para oito hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios dos anéis aromáticos A (H-2 e H-3). O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 71, p. XLIV) apresentou nove sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 72, p. XLV) apresentou seis sinais, confirmando a obtenção do produto **5**.



Esquema 11 – Reação de obtenção do composto **5**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O composto *N,N'*-bis[(3-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-diamina] (**6**) (Esquema 12), foi sintetizado da mesma forma que **1**, porém a reação ficou sob refluxo por 5 horas. A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 61, p. XXXIV) revelou a presença de um simpleto em δ 9,77, integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,60 observou-se um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Entre δ 7,46-7,38 verificou a presença de um multipletto, integrando para dez hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-3, H-4 e H-6, e aos quatro hidrogênios do anel aromático B (H-9). Em δ 6,99 verificou-se a presença de um dupletto ($J = 5,8$ Hz), integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-2. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 62, p. XXXV) revelou a presença de nove sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 63, p. XXXVI), mostrou a presença de seis sinais, confirmando a obtenção do produto **6**.

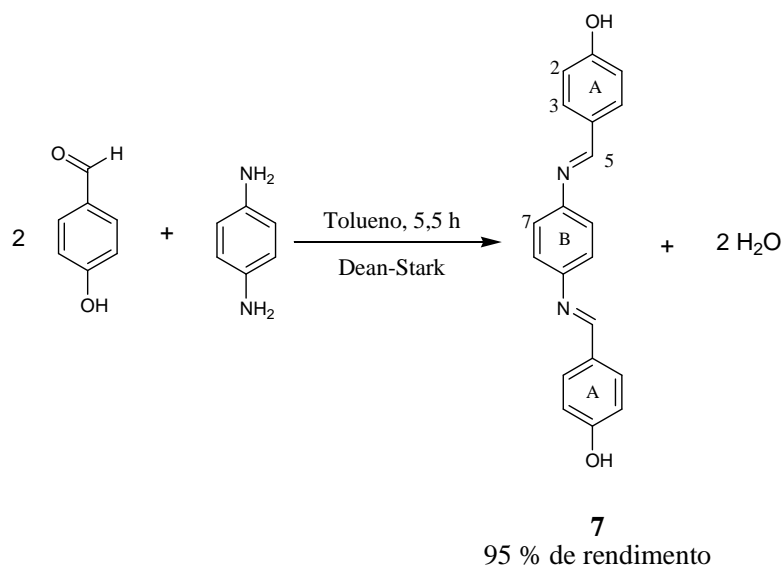


Esquema 12 – Reação de obtenção do composto **6**

O composto *N,N'*-bis[(4-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-diamina] (**7**) (Esquema 13, p. 21), foi sintetizado da mesma forma que **1**, porém a reação ficou sob refluxo por 5,5 horas. Na análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 74, p. XLVII) observou-se a presença de um simpleto em δ 10,18, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. O simpleto em δ 8,49, integrando para dois hidrogênios, corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-5). Em δ 7,79 observou-se um dupletto ($J = 7,6$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios H-3. O simpleto em δ 7,25, integrando para quatro hidrogênios, corresponde aos hidrogênios do anel aromático B (H-7). Em δ 6,92 verificou-se a presença de um dupletto ($J = 7,6$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-2. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz)

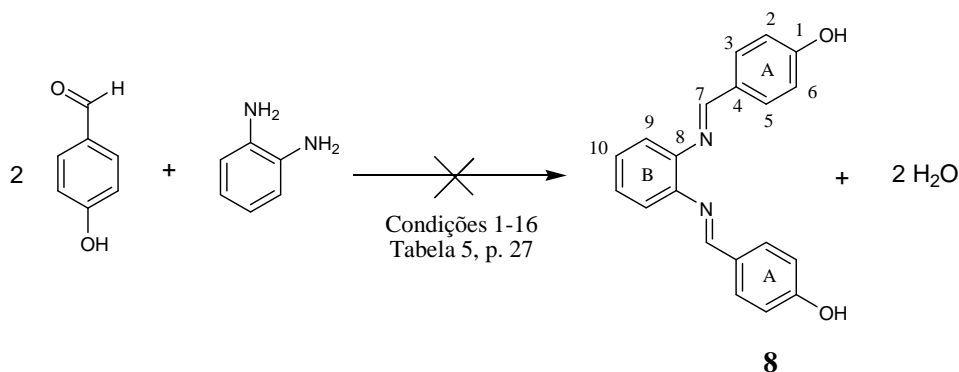
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

(Figura 75, p. XLVIII) observou-se a presença de sete sinais e no subspectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 76, p. XLIX) observou-se quatro sinais, corroborando a obtenção do produto **7**.



Esquema 13 – Reação de obtenção do composto **7**

Para a síntese do composto *N,N'*-bis[4-(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina] (**8**) (Esquema 14), tentou-se utilizar os mesmos procedimentos descritos para a obtenção do composto **1**. Porém, após a caracterização através de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 (Figura 12, p. 22), confirmou-se que não foi formado o produto desejado. No espectro de ^1H (a 200 MHz), observou-se a presença de um simpleto em δ 5,41, integrando para dois hidrogênios, cujo sinal não era compatível com a estrutura esperada de **8**. Também verificou-se a presença de dois sinais de hidroxilas fenólicas diferentes e a ausência do sinal dos hidrogênios das iminas, embora a integração na região de aromáticos indicasse a presença de 12 hidrogênios aromáticos. O espectro de ^{13}C (a 50 MHz) revelou a presença de um sinal em δ 47,09, que através do subspectro de ^{13}C DEPT 135, verificou-se tratar de um carbono metilênico (CH_2), o que também era incompatível com a estrutura do composto **8**.



Esquema 14 – Reação da tentativa de obtenção do composto **8**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

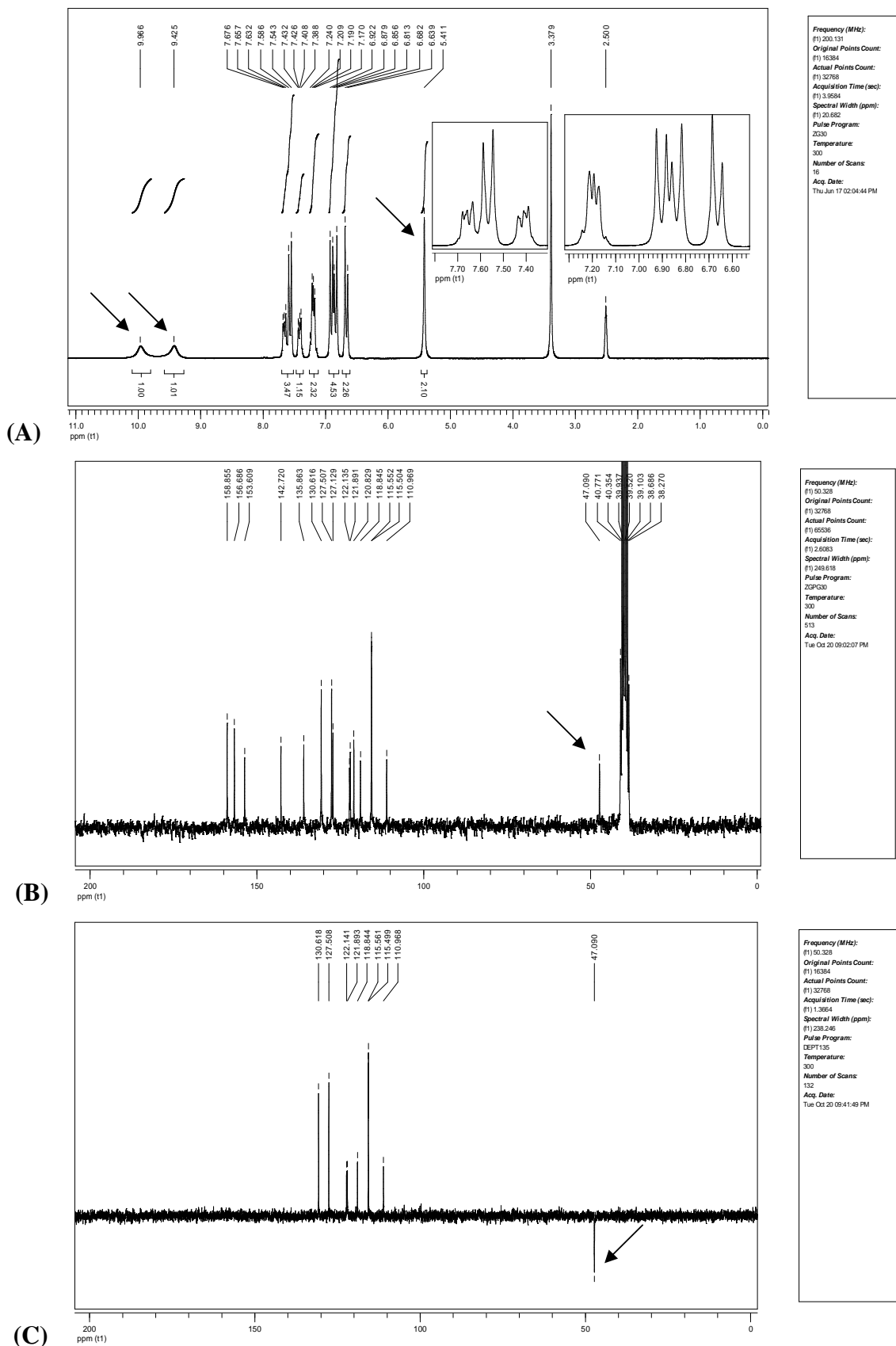


Figura 12 – Espectros de RMN (DMSO- d_6) de ^1H (A), ^{13}C (B) e DEPT 135 (C), para o suposto produto **8**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na elucidação da estrutura do composto obtido foi fundamental a utilização da espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) em modo positivo (Figura 13). Este experimento mostrou a presença de um íon de m/z 317 compatível com a massa molar do produto desejado **8** com um próton $[M + H]^+$. Isso demonstrou que esse composto apresentava a mesma massa do composto **8**, tratando-se de um possível isômero constitucional. Nesse espectro de ESI-MS foi possível observar também os sinais em m/z 632 ($[2M + H]^+$) e m/z 654 ($[2M + Na]^+$), correspondendo ao possível isômero na forma de dímero protonado e com sódio, respectivamente.

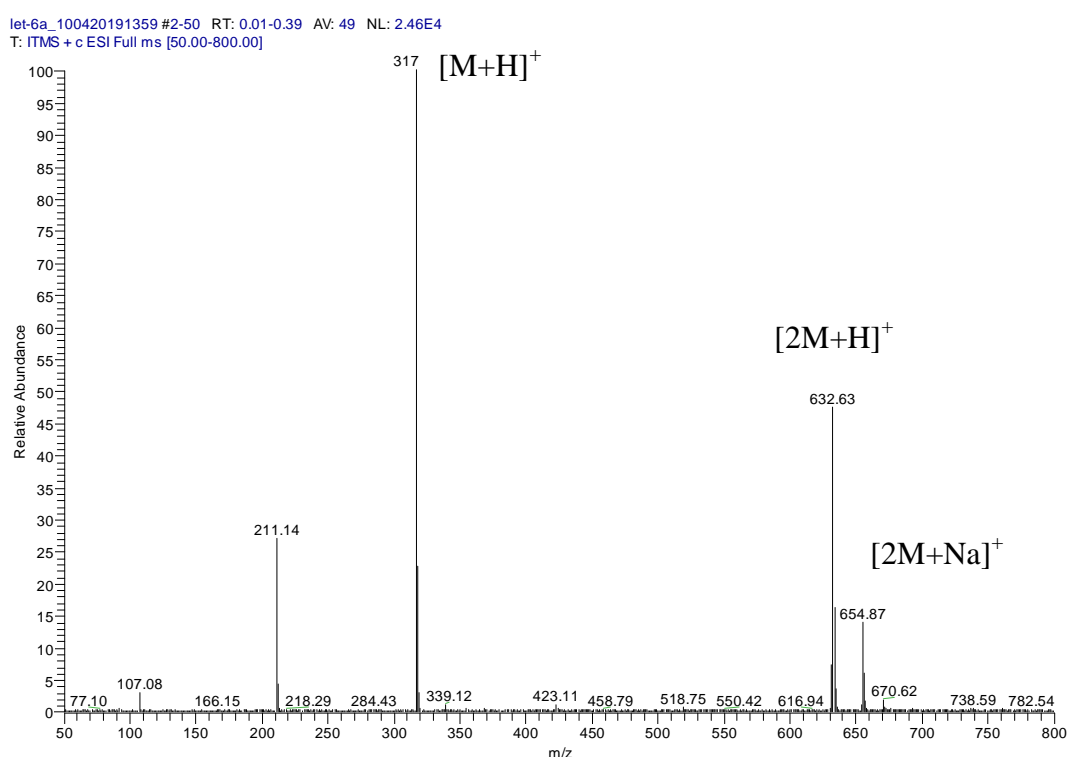


Figura 13 – Espectro de massa (ESI-MS) do possível isômero obtido

O íon de m/z 317 foi selecionado no espectrômetro de massas e submetido a um experimento de dissociação, através da colisão com um gás inerte, neste caso, argônio. Este experimento chamado MS/MS ou CID (dissociação por colisão induzida) forneceu o espectro da Figura 14 (p. 24).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

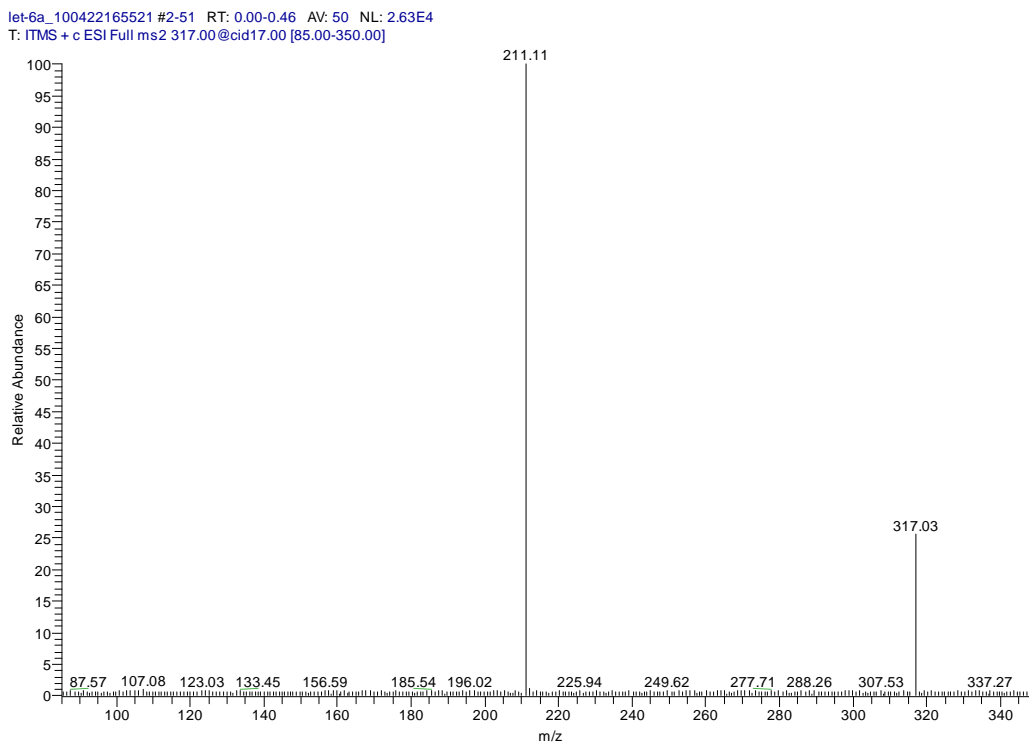
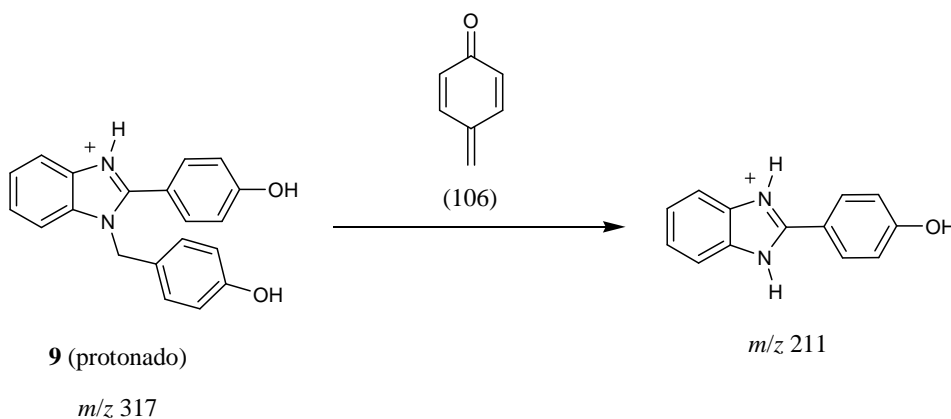


Figura 14 – Espectro MS/MS do cátion m/z 317

Pôde-se observar nesse espectro que a dissociação do íon de m/z 317 forneceu o íon de m/z 211, caracterizando a perda de 106 unidades de massa. Essa informação, aliada aos dados de RMN, levou a proposta de que o produto obtido no lugar de **8** foi o composto **9**, como mostrado no Esquema 15.



Esquema 15 – Proposta de fragmentação do íon de m/z 317

Para fins de comparação, realizou-se a análise de ESI-MS do composto **7**, cujo produto já se sabia não estar ciclizado (Figura 15, p. 25).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

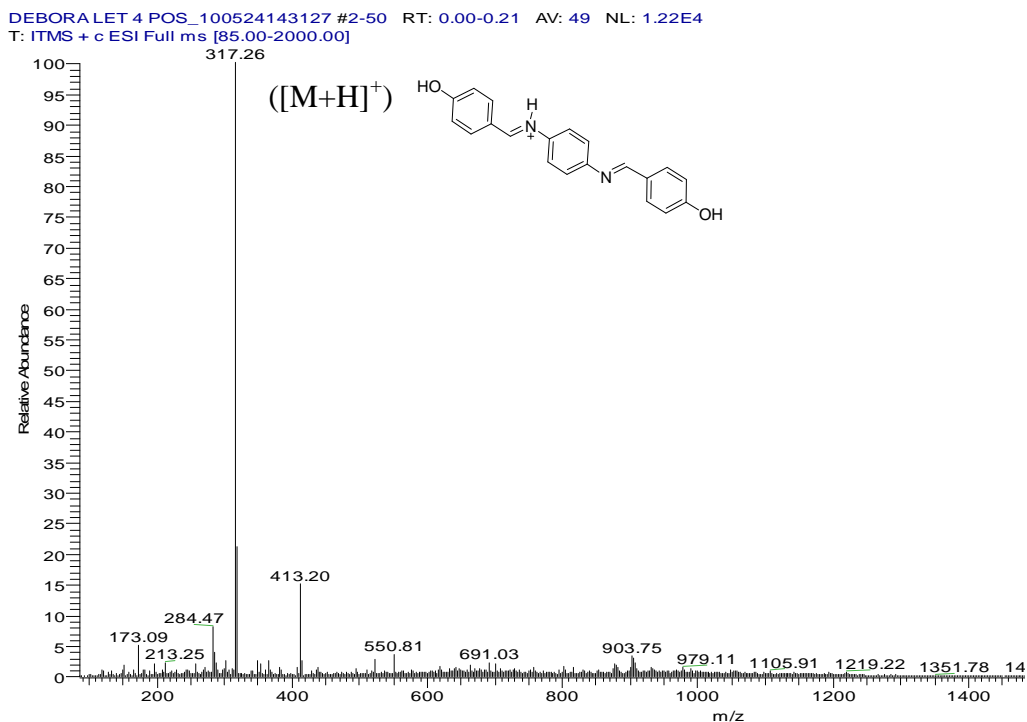


Figura 15 – Espectro de massa (ESI-MS) do composto **7**

O íon de m/z 317 foi submetido ao experimento de MS/MS (Figura 16), mostrando um padrão de fragmentação totalmente diferente e compatível com a estrutura do composto **7** (Esquema 16, p. 26).

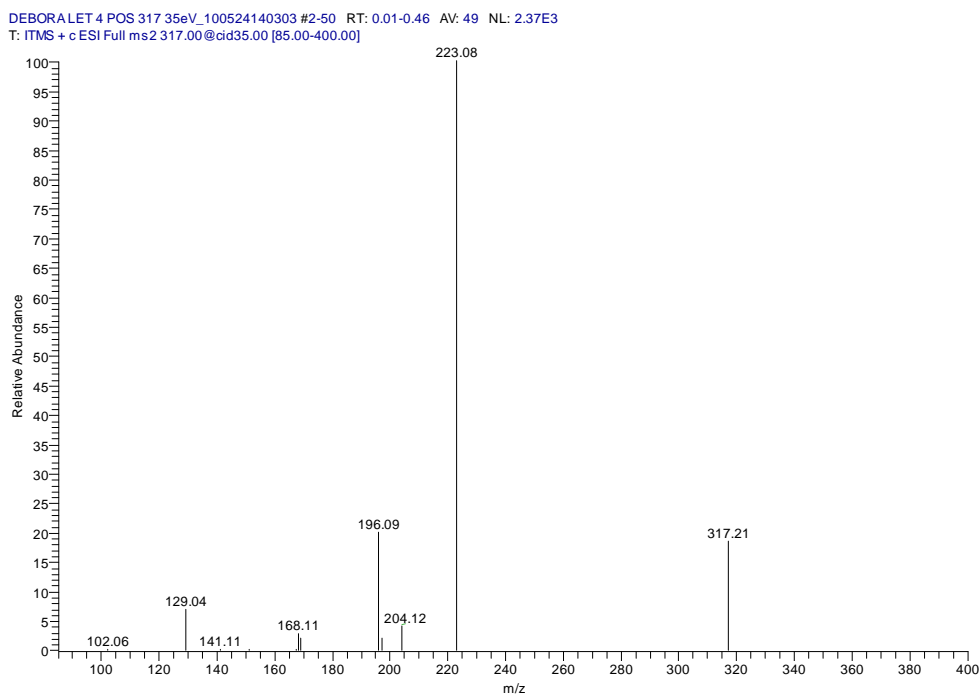
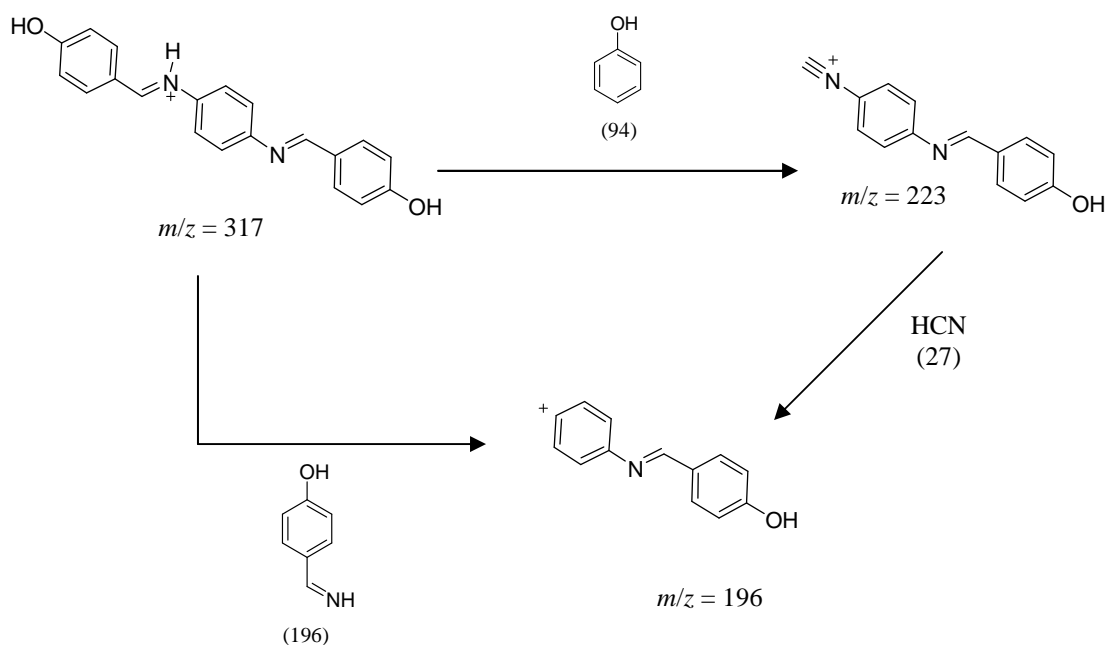


Figura 16 – Espectro MS/MS do cátion m/z 317 (composto **7**)

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

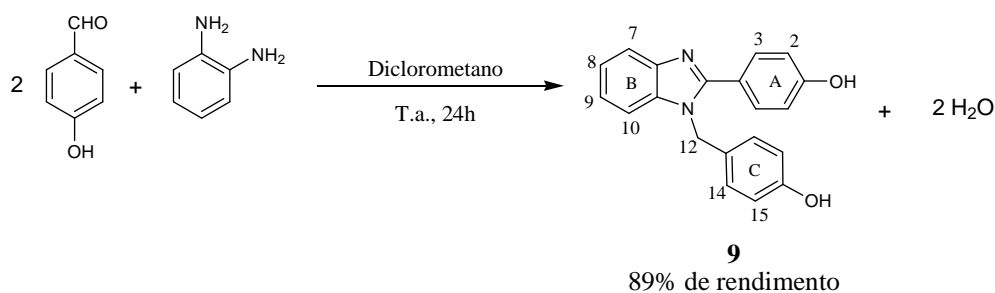


Esquema 16 – Proposta de fragmentação do íon de m/z 317 (composto 7)

Portanto, essa análise comparativa de ESI-MS juntamente com os dados de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, confirmaram a obtenção do composto ciclizado 1-(4-hidroxibenzil)-2-(4-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol (**9**), um derivado de benzoimidazol (Esquema 17, p. 27), que foi obtido em 89% de rendimento.

A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 66, p. XXXIX) mostrou a presença de dois simpletos largos, em δ 9,97 e δ 9,43, integrando para um hidrogênio cada, os quais corresponderam aos hidrogênios das hidroxilas. Entre δ 7,68-7,54 observou-se um multiplete, integrando para três hidrogênios, referente aos hidrogênios H-8 e H-3. O multiplete entre δ 7,43-7,39, integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-9. Entre δ 7,24-7,27 verificou-se a presença de um multiplete, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-7 e H-10. O multiplete entre δ 6,92-6,81, integrando para quatro hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H-2 e H-14. O duplete em δ 6,66 ($J = 8,6$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-15 do anel aromático C. Em δ 5,41 verificou a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-12. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 67, p. XL) mostrou a presença de dezesseis sinais e no subspectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 68, p. XLI) observou-se nove sinais, confirmando a obtenção do produto **9**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES



Esquema 17 – Reação de obtenção do composto **9**

Foram realizadas algumas tentativas variando-se o solvente, o tempo, a temperatura e a proporção dos reagentes (Tabela 5) para a síntese de **8**, porém observou-se apenas a formação do composto **9**.

Tabela 5 – Condições de reação usada na tentativa de obtenção de **8**

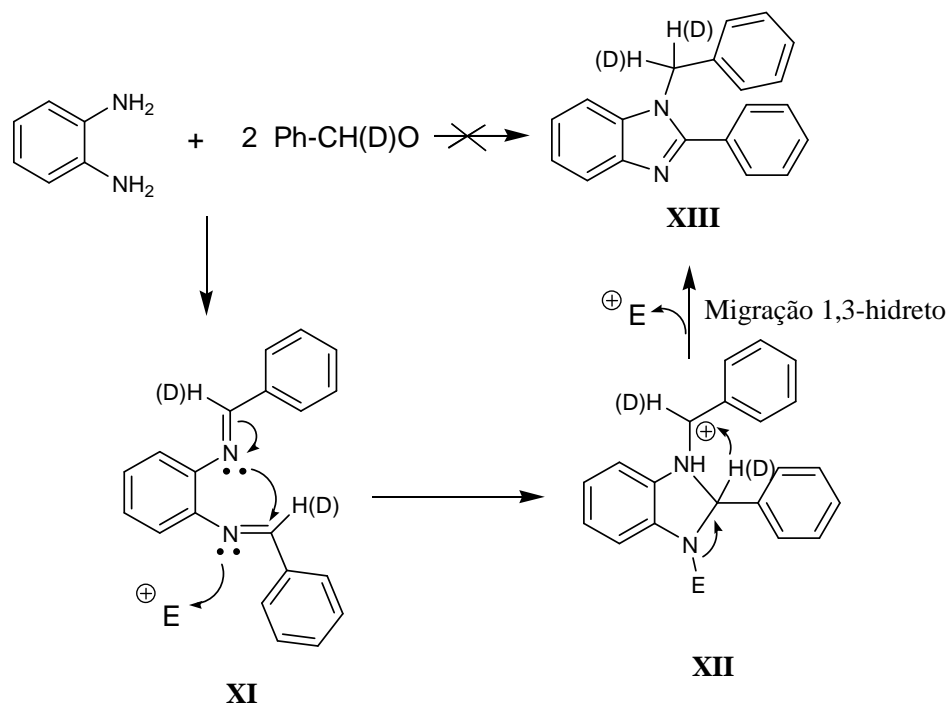
Cond. ^a	Solvente	Tempo (h)	Condições	R1 ^b (mol)	R2 ^c (mol)	Rend. (%)
1	Tolueno	5	Refluxo, 7 mL	2	1	^d NO
2	Tolueno	24	Refluxo, 7 mL	3	1	^d NO
3	Tolueno (4 mL) + DMSO (1 mL)	5	125°C, 7 mL	3	1	^d NO
4	Etanol	8	Refluxo, 7 mL	2	1	Traços
5	Etanol	24	Refluxo, 7 mL	3	1	Traços
6	Etanol	60	Refluxo, 10 mL	2.2	1	Traços
7	Etanol	96	Refluxo, 7 mL	3	1	Traços
8	Etanol	4	Ultrassom, a 55°C, 7 mL	3	1	Traços
9	Etanol	8	T. a. ^e , 7 mL	3	1	^d NO
10	Etanol	0,5	Refluxo, 3 mL	2.2	1	^d NO
11	Etanol	0,5	Refluxo, 1 mL	2.2	1	^d NO
12	Metanol	3	Refluxo e em pH=5	3	1	^d NO
13	Metanol	3	0°C e em pH=5	3	1	^d NO
14	Diclorometano	24	T. a. ^e , 7 mL	3	1	^d NO
15	Diclorometano	0,7	T. a. ^e , 3 mL	2.2	1	^d NO
16	Diclorometano	0,7	T. a. ^e , 1 mL	2.2	1	^d NO

a = Condição; b = 1,4-hidroxi-benzaldeído; c = 1,3-fenilenodiamina;

d = Não obtido; e = Temperatura ambiente

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Uma busca na literatura revelou que existiam precedentes para esse tipo de ciclização quando a fenilenodiamina era *orto*. Wan e colaboradores (2009) propuseram um mecanismo de ciclização (Esquema 18), através da síntese entre o benzaldeído deuterado e a *orto*-fenilenodiamina, acompanhada através de experimentos de RMN.



Esquema 18 – Mecanismo de ciclização de *bis*-imina proposto por Wan e colaboradores

Para o mecanismo proposto, Wan e colaboradores mostraram primeiramente a reação entre o aldeído e a diamina, formando a base de Schiff **XI** como intermediário, na presença de cloreto de trimetilsilila (TMSCl) (catálise eletrofílica). Em seguida, verificaram a migração intramolecular 1,3-hidreto que induziu a formação do benzimidazol 1,2-dissubstituído **XIII**.

Wan e colaboradores (2009) observaram que a ciclização só não ocorria quando o benzaldeído possuía uma hidroxila na posição *orto*, uma vez que a ligação de hidrogênio que ocorre entre o hidrogênio da hidroxila e os pares de elétrons não compartilhados do nitrogênio da imina é suficientemente forte que não permite o par de elétrons livre do nitrogênio atacar o carbono do grupo imino vizinho (como foi o caso do composto **1**).

Para a síntese do composto *N,N'*-bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina] (**10**) (Esquema 19, p. 31), foi utilizado o mesmo procedimento para a obtenção do composto **1**, porém verificou-se que os espectros de RMN (Figura 17, p. 29 e Figura 17', p. 30) eram semelhantes ao do produto **9**, ou seja, o produto formado também era um derivado de benzimidazol (Esquema 20, p. 31). Essa conclusão foi confirmada através do espectro de

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

RMN de ^1H com a presença de um simpleto em δ 5,50, integrando para dois hidrogênios, e do espectro de ^{13}C com um sinal em δ 47,51 referente aos hidrogênios metilênicos (CH_2), confirmados também pelo subespectro de ^{13}C DEPT 135.

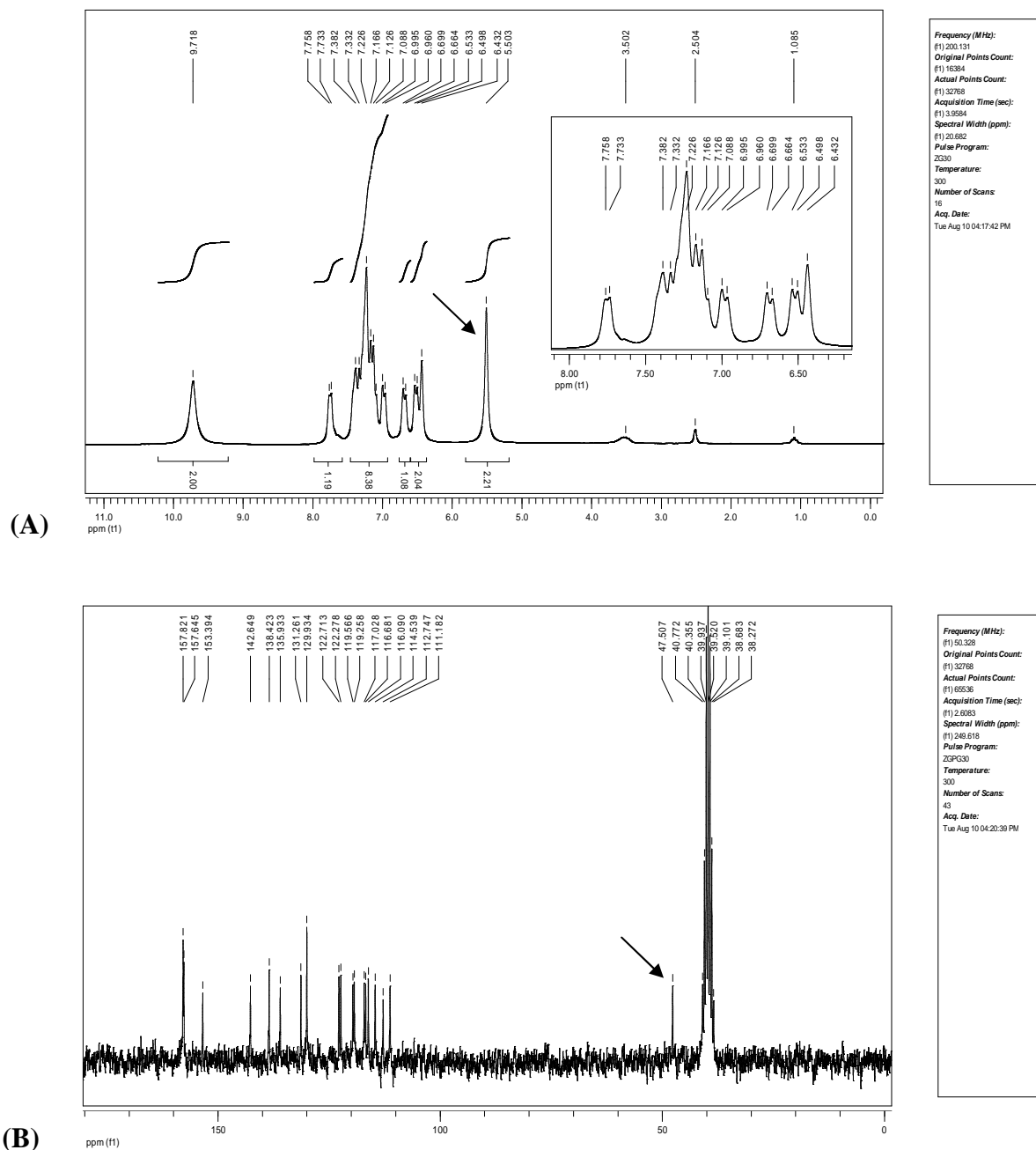


Figura 17 – Espectros de RMN (em DMSO-d_6) de ^1H (A) e ^{13}C (B) para o suposto composto

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

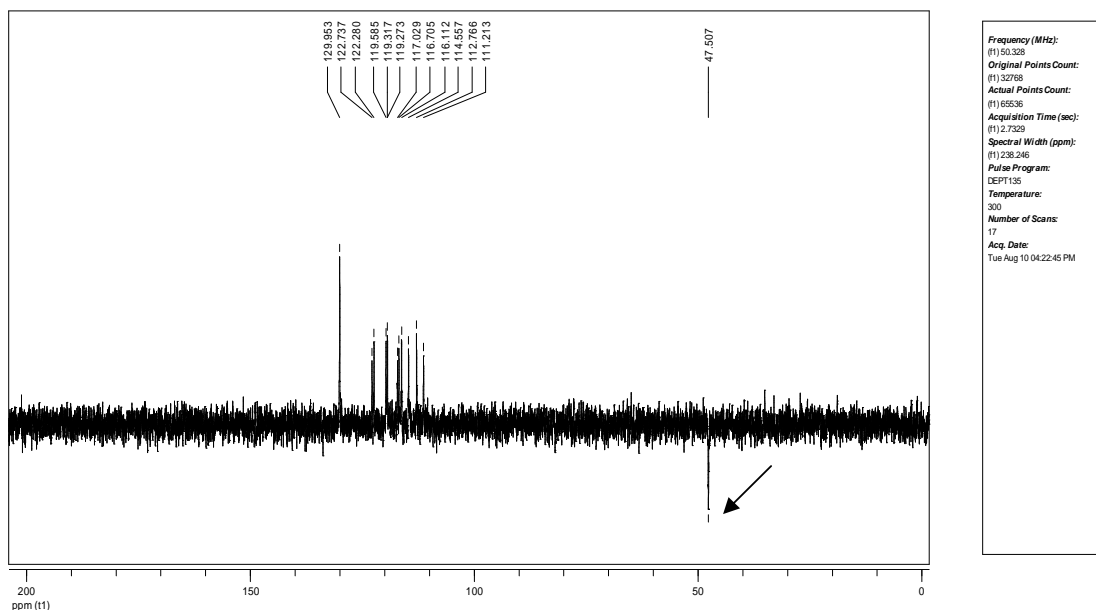
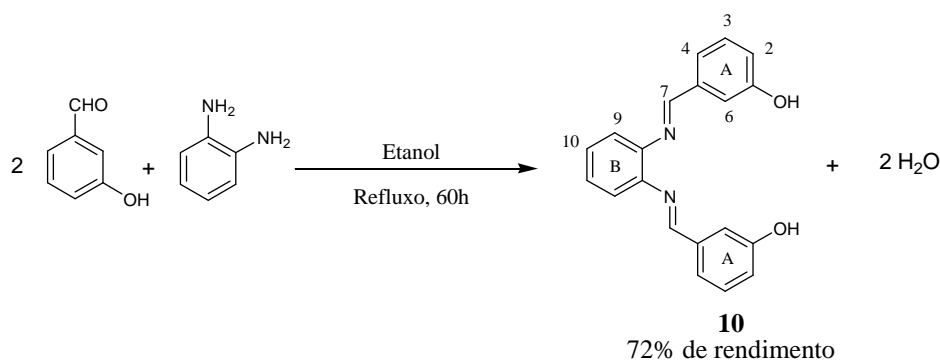


Figura 17' – Subespectro de RMN (em DMSO-d₆) de ¹³C DEPT 135 para o suposto composto **10**

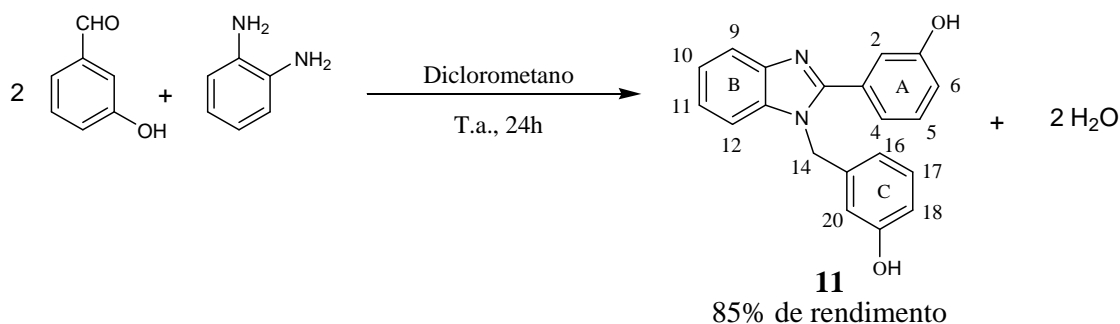
Então, após serem feitas as tentativas de reação descritas na Tabela 5 (p. 27), chegou-se a condição de síntese para conseguir obter o composto **10** (Esquema 19, p. 31). A reação foi realizada em etanol e após 60 horas sob refluxo, o produto **10** foi obtido com 72% de rendimento. A análise do espectro de RMN de ¹H (a 200 MHz) (Figura 45, p. XVIII) revelou a presença de um simpleto em δ 12,82, integrando para dois hidrogênios, correspondente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 9,75 observou-se um outro simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Entre δ 7,61-7,58 verificou a presença de um multipletto, integrando para quatro hidrogênios, que corresponde aos hidrogênios H-6 e H-10. Em δ 7,34 observou-se a presença de um triplete ($J = 7,9$ Hz), integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-3. Entre δ 7,21-7,17 tem a presença de um multipletto, integrando para quatro hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-4 e H-9. Em δ 6,90 observou-se um dupletto ($J = 8,0$ Hz), integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-2. O espectro de RMN de ¹³C (a 50 MHz) (Figura 46, p. IX) mostrou a presença de oito sinais e no subespectro de ¹³C DEPT 135 (Figura 47, p. XX) observou-se cinco sinais, ratificando a obtenção do produto **10**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES



Esquema 19 – Reação de obtenção do composto **10**

A melhor condição de reação para o composto inesperado 1-(3-hidroxibenzil)-2-(3-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol (**11**) (Esquema 20) foi a Condição 13 (Tabela 5, p. 27), formando o produto com 85% de rendimento. O espectro de ^1H (a 200 MHz) (Figura 49, p. XXII), mostrou a presença de um simpleto em δ 9,71, integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 7,74 observou-se um duplete ($J = 5,2$ Hz), integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H-9. O multipletto entre δ 7,38-7,12, integrando para sete hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2, H-4, H-5, H-10, H-11, H-12 e H-17. Em δ 6,97 observou-se um duplete ($J = 7,0$ Hz), integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H-6. O duplete em δ 6,68 ($J = 7,0$ Hz), integrando para um hidrogênio, correspondeu ao hidrogênio H-16. Entre δ 6,53-6,43 verificou-se a presença de outro multipletto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-18 e H-20. Em δ 5,50 verificou-se a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios metilênicos H-14. O espectro de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 50, p. XXIII), revelou a presença de dezenove sinais e no subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 51, p. XXIV), verificou-se a presença de treze sinais, confirmando a obtenção do composto **11**.



Esquema 20 – Reação de obtenção do composto **11**

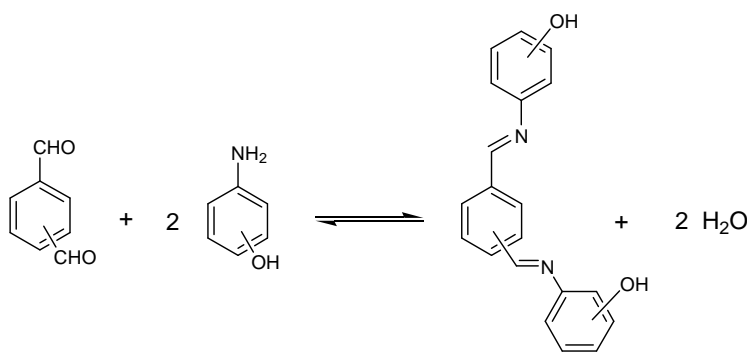
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir da síntese do composto **1** (Esquema 7, p. 14), confirmou-se que a ciclização não ocorre quando a hidroxila presente na *bis*-imina encontra-se na posição *orto*, pela existência da ligação de hidrogênio entre o hidrogênio da hidroxila e os elétrons livres do nitrogênio da imina, como descrito por Wan e colaboradores (2009). Entretanto, no caso dos compostos **8** e **10**, em que as hidroxilas estão na posição *meta* e *para* nas *bis*-iminas, respectivamente, observou-se a ciclização na maioria das condições de reação, confirmando que a ausência da ligação de hidrogênio dificulta a síntese destes produtos não-ciclizados.

Os espectros de infravermelho dos compostos **4** a **11** (Figura 44, p. XVII; Figura 48, p. XXI; Figura 54, p. XXVII; Figura 60, p. XXXIII; Figura 65, p. XXXVIII; Figura 69, p. XLII; Figura 73, p. XLVI) revelaram uma banda larga por volta de 3400 cm^{-1} equivalente ao $\nu\text{ O-H}$ da hidroxila e uma banda intensa em torno de 1610 cm^{-1} correspondente ao $\nu\text{ C=N}$ do grupo imina, ratificando a formação dos produtos descritos.

3.1.2 A segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas

A segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas foi sintetizada com o objetivo de avaliar a influência da posição do nitrogênio do grupo imina nos testes biológicos. A síntese ocorreu através da condensação dos dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) com aminofenóis (*orto*, *meta* e *para*), de acordo com o Esquema 21.

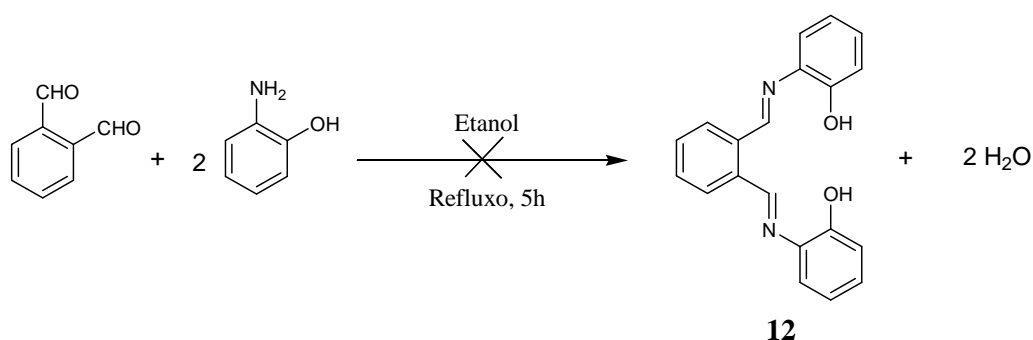


Esquema 21 – Esquema geral para a síntese da segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas

O primeiro composto desta série a ser sintetizado foi o *N,N'*-*bis*(2-hidroxibenzeno) ftalaldiimina (**12**) (Esquema 22, p. 33), onde utilizou-se tolueno como solvente e o sistema Dean-Stark para a remoção de água durante a reação (Figura 10, p. 15). Porém, o produto formado não era solúvel nos solventes disponíveis no laboratório para caracterizá-lo. Após uma busca na literatura, verificou-se que alguns pesquisadores realizavam estas reações em etanol sob refluxo (PATEL *et al.*, 2001); (SELLARAJAH *et al.*, 2004).

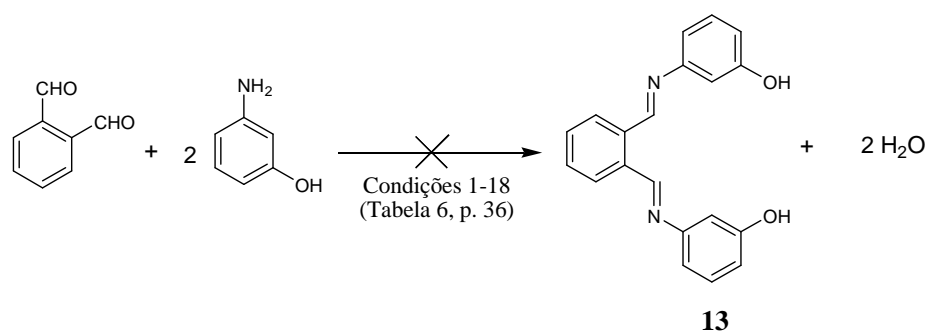
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a síntese do composto **12**, utilizaram-se as condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001), entretanto, o produto desejado não foi obtido puro. Na tentativa de purificá-lo, realizou-se primeiramente a recristalização, com acetato de etila e hexano, mas novamente o produto não foi obtido puro. Então, partiu-se para a purificação em coluna cromatográfica, utilizando diclorometano e acetato de etila (7:3) como eluente, porém o composto decompunha ao passar pela sílica. Portanto, não foi possível obter o composto **12** puro.



Esquema 22 – Equação de reação do composto **12**

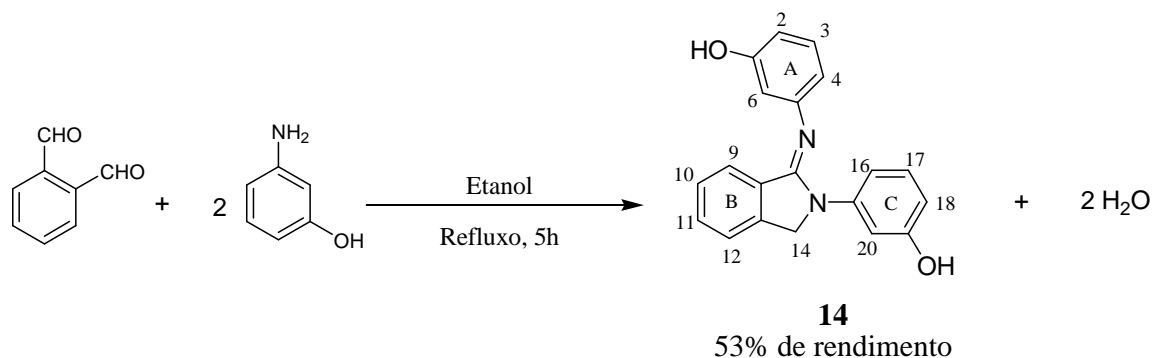
Para a síntese do composto *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)ftaldiimina (**13**) (Esquema 23) tentou-se utilizar as mesmas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001), porém através dos experimentos de RMN (Figura 18, p. 34), verificou-se que não foi formado o produto desejado. Assim como ocorreu nos compostos **4** e **8**, novamente observou-se a ocorrência de ciclização. No espectro de RMN de ^1H em foi verificada a presença de um simpleto em δ 4,98, integrando para dois hidrogênios, e um sinal em δ 52,61 no espectro de RMN de ^{13}C , que através do DEPT 135 confirmou-se ser um carbono metilênico (CH_2).



Esquema 23 – Tentativa de reação para a obtenção do composto **13**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através da análise destes espectros, concluiu-se que o composto obtido era 3-(2-(3-hidroxifenil)3-isoindolinelidenoamino)fenol (**14**) (Esquema 24), com 53% de rendimento. A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 79, p. LI) do produto **14**, mostrou a presença de dois simpletos em δ 9,46 e δ 9,37, integrando para um hidrogênio cada, os quais correspondem aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 7,79 tem a presença de um simpleto, integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio H-6. O multiplete entre δ 7,59-7,42, integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-11 e H-12. Entre δ 7,32-7,11 observou-se a presença de outro multiplete, integrando para quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios H-3, H-4, H-10 e H-17. O duplete em δ 6,73 ($J = 7,6$ Hz), integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-16. Em δ 6,54 encontra-se um duplete ($J = 7,4$ Hz), integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-2 e H-18. O simpleto largo em δ 6,36, integrando para dois hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H-16 e H-20. Em δ 4,98 verificou a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-14. O espectro de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 80, p. LII) revelou a presença de vinte sinais e no subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 81, p. LIII), verificou-se a presença de treze sinais, confirmando a presença do composto **14**.



Esquema 24 – Reação de obtenção do composto **14**

Algumas variações nas condições de reação como o solvente, o tempo, a temperatura e a proporção dos reagentes (Tabela 6, p. 36), foram realizadas de forma a obter o composto **13**, porém sem êxito.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 6 – Condições de reação usadas na tentativa de obtenção de **13**

Cond.*	Solvente	Tempo (h)	Condições	R 1 ^a (mol)	R 2 ^b (mol)	Rend.
1	Tolueno	5	Refluxo	2	1	°NO
2	Tolueno	24	Refluxo	3	1	°NO
3	Tolueno	48	80°C	2	1	°NO
4	Etanol	5	Refluxo	2	1	°NO
5	Etanol	48	Refluxo	3	1	°NO
6	Etanol	96	Refluxo	2	1	°NO
7	Etanol	24	T. a. ^c	2	1	°NO
8	Etanol	5	0°C	2	1	°NO
9	Etanol	8	Refluxo, HCO ₂ H ^f	2	1	°NO
10	Etanol	5	Refluxo e em pH=5 ^d	2	1	°NO
11	Metanol	8	Refluxo	2	1	°NO
12	Metanol	24	T. a. ^c	2	1	°NO
13	Metanol	5	0°C	2	1	°NO
14	Metanol	8	Refluxo, HCO ₂ H ^f	2	1	°NO
15	Metanol	5	Refluxo e em pH=5 ^d	2	1	°NO
16	Acetona	8	T. a. ^c	2	1	°NO
17	DMSO	8	T. a. ^c	2	1	°NO
18	Diclorometano	24	T. a. ^c	2	1	°NO

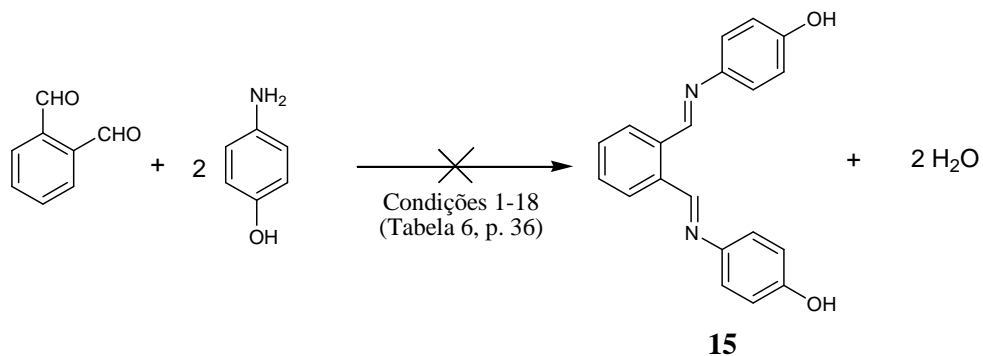
*Condição; a = 1,3-hidroxianilina; b = Ftaldialdeído; c = Temperatura ambiente;

d = A solução foi acidificada (pH = 5) com o uso de HCl_(conc); e = Não obtido

f = As condições desta reação foram descrita por Chitanda e colaboradores (2008)

Para a síntese do composto *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)ftaldiimina (**15**) (Esquema 25, p. 37), tentou-se utilizar as mesmas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001), porém após a caracterização através de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT 135 (Figura 19, p. 37 e Figura 19', p. 38), verificou-se que o aspecto dos espectros era semelhante ao do composto **14**, ou seja, havia ocorrido a ciclização novamente. No espectro de ¹H, observou-se a presença de um simpleto em δ 4,92, integrando para dois hidrogênios, e o espectro de ¹³C revelou a presença de um sinal em δ 52,83, que através do espectro de ¹³C DEPT 135 confirmou-se ser um carbono metilênico. Então, utilizaram-se as condições de reação descritas na Tabela 6, mas também sem êxito.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES



Esquema 25 – Tentativa de síntese do composto **15**

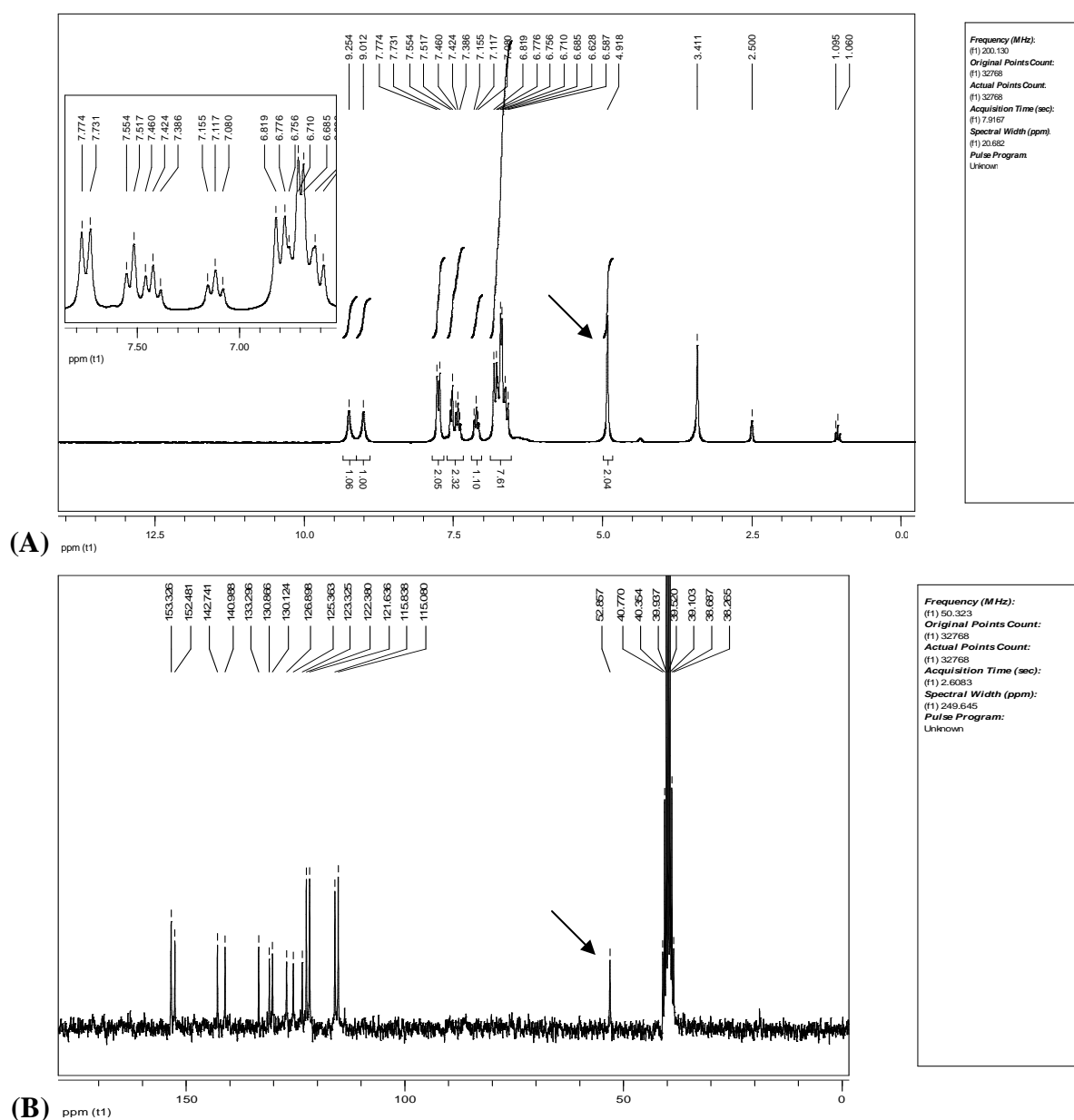


Figura 19 – Espectros de RMN (em DMSO- d_6) de ^1H (A) e ^{13}C (B) do suposto composto **15**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

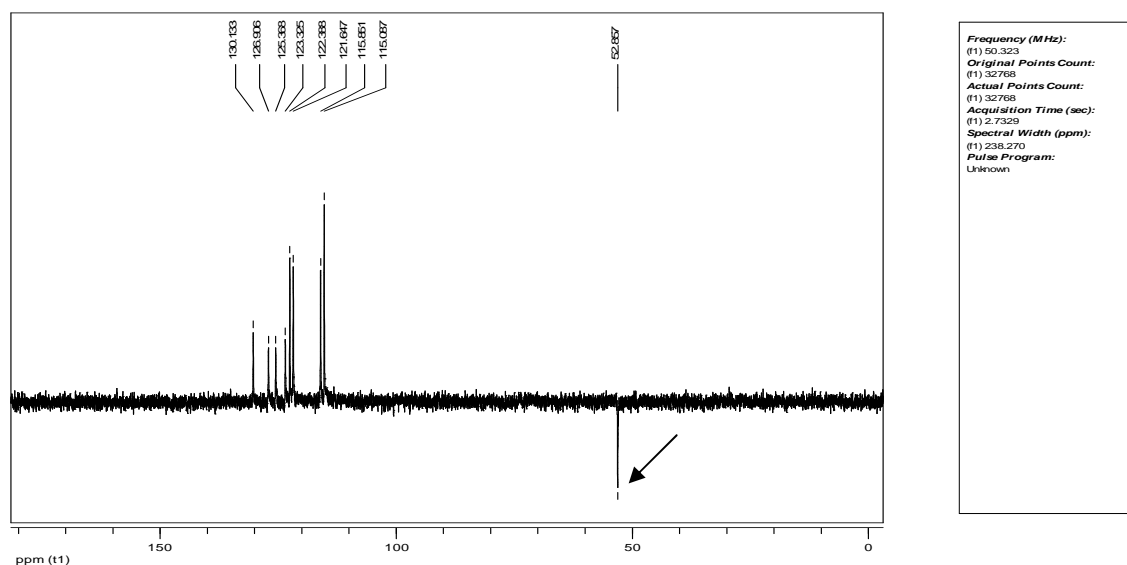
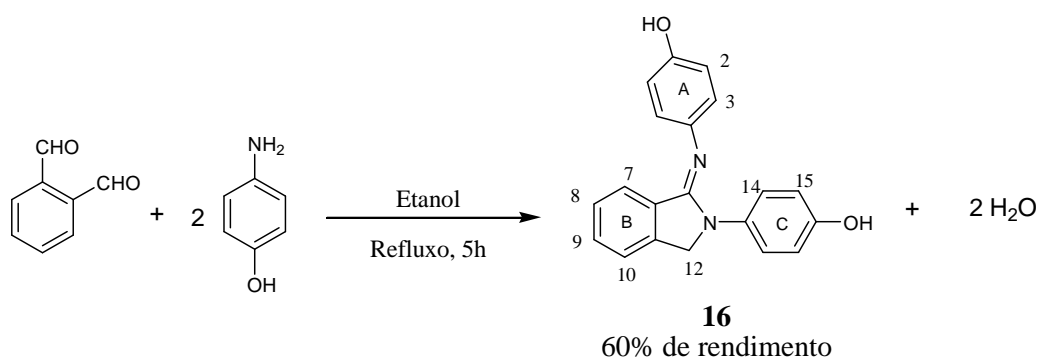


Figura 19' – Subespectro de RMN (em DMSO-d₆) de ¹³C DEPT 135 do suposto composto **15**

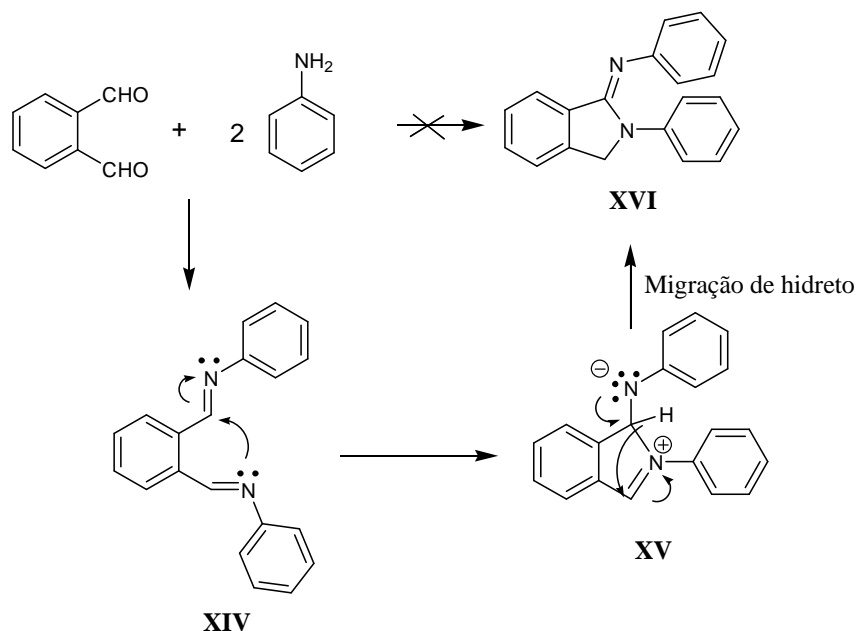
Através da análise dos experimentos de RMN, concluiu-se que o produto ciclizado formado era o 3-(2-(3-hidroxifenil)3-isoindolinelidenoamino)fenol (**16**) (Esquema 26), com 60% de rendimento. A análise do espectro de RMN de ¹H (a 200 MHz) (Figura 83, p. LV) do produto **16**, mostrou a presença de dois simples em δ 9,25 e δ 9,01, integrando para um hidrogênio cada, os quais correspondem aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 7,75 observou a presença de um duplete ($J = 8,6$ Hz), integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-3. Entre δ 7,55-7,39 observou-se um multiplete, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-10 e H-9. O triplete em δ 7,12 ($J = 7,5$ Hz), integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-8. O multiplete entre δ 6,82-6,59, integrando para sete hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2, H-10, H-14 e H-15. Em δ 4,92 verificou a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-12. O espectro de RMN de ¹³C (a 50 MHz) (Figura 84, p. LVI) revelou a presença de dezesseis sinais e no subespectro de ¹³C DEPT 135 (Figura 85, p. LVII), verificou a presença de nove sinais, ratificando a obtenção do produto **16**.



Esquema 26 – Reação de obtenção do composto **16**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O mecanismo de ciclização proposto pelo nosso grupo (Esquema 27) para esta segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas foi baseado no mecanismo proposto na primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas (Esquema 18, p. 28).



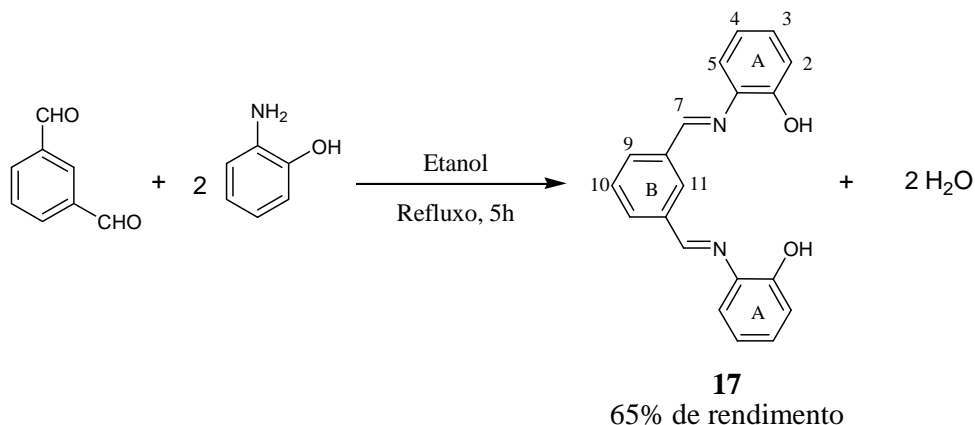
Esquema 27 - Mecanismo de ciclização de *bis*-imina proposto pelo nosso grupo

Para o mecanismo proposto, primeiramente observou-se a reação entre o ftaldeído e a anilina, formando a base de Schiff **XIV** como intermediário. Em seguida, verificou-se a migração intramolecular de hidreto e a formação de um derivado da pirrolidina (**XVI**).

O composto *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiiimina (**17**) (Esquema 28, p. 40) foi sintetizado nas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001), em 65% de rendimento. A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 87, p. LIX) do produto **17**, mostrou a presença de um simpleto em δ 9,14, integrando para dois hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,80 observou-se a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Em δ 8,68 verificou a presença de um outro simpleto, integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio H-11. O duplete em δ 8,18 ($J = 7,6$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-9. O triplete em δ 7,64 ($J = 7,6$ Hz), integrando para um hidrogênio, corresponde ao hidrogênio H-10. O duplete em δ 7,26 ($J = 7,4$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-5. O triplete em δ 7,12 ($J = 7,5$ Hz), integrando para dois hidrogênios, refere-se aos hidrogênios H-3. Entre δ 6,97-6,83 verificou a presença de um multiplete, integrando para quatro hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-2 e H-4. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 88, p. LX) revelou a

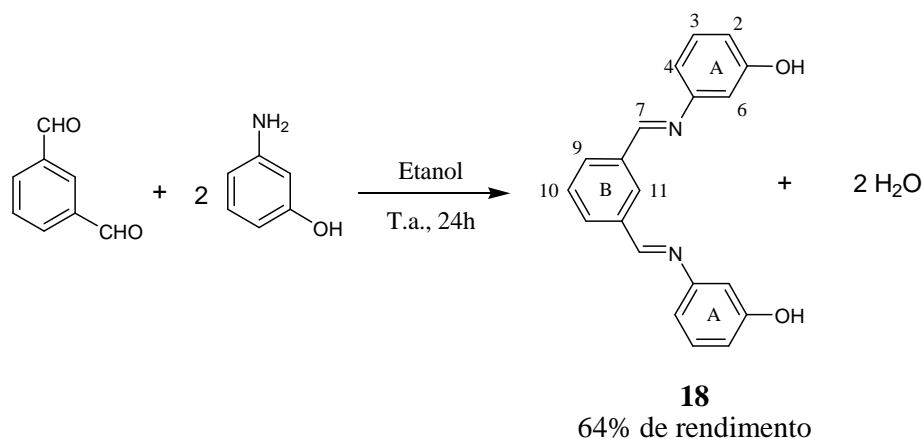
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

presença de dez sinais e o subspectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 89, p. LXI), mostrou a presença de sete sinais, não deixando dúvidas quanto a obtenção do produto **17**, todos condizentes com o produto formado.



Esquema 28 – Reação de obtenção do composto **17**

Para a síntese do composto *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiiimina (**18**) (Esquema 29), utilizaram-se as mesmas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001), porém o produto formado era sempre um sólido escuro e totalmente insolúvel em todos os solventes disponíveis no laboratório, o que impossibilitou a análise do produto. Suspeitou-se que pudesse ter ocorrido polimerização nas condições empregadas. Acreditando que o produto desejado deveria ser solúvel em algum solvente, a exemplo de outras *bis*-iminas isoméricas obtidas, partiu-se para a variação das condições de reação como solvente, temperatura e tempo de reação, e após várias tentativas, obteve-se o produto desejado **18** em 64% de rendimento, sob a condição reacional 7 (Tabela 6, p. 41).



Esquema 29 – Reação de obtenção do composto **18**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 6 – Condições de reação usada na tentativa de obtenção de **18**

Reação	Solvente	Tempo (h)	Condições	Rend. (%)
1	Tolueno, 10 mL	5	Refluxo	NO ^b
2	Tolueno, 10 mL	24	Refluxo	NO ^b
3	Tolueno, 10 mL	24	80°C	NO ^b
4	Etanol, 10 mL	5	Refluxo	NO ^b
5	Etanol, 10 mL	48	Refluxo	NO ^b
6	Etanol, 10 mL	8	T. a. ^a	NO ^b
7	Etanol, 10 mL	24	T. a. ^a	64
8	Metanol, 10 mL	5	Refluxo	NO ^b

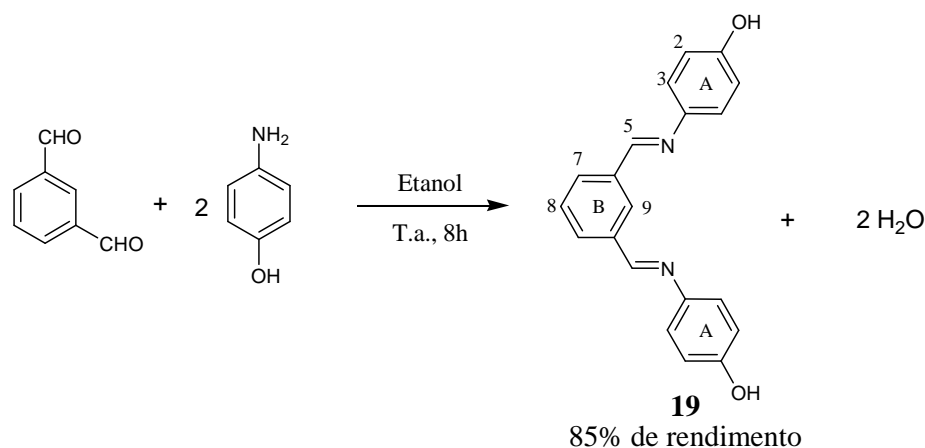
a = Temperatura ambiente; b = Não obtido

A análise do espectro de RMN de ¹H do composto **18** (a 200 MHz) (Figura 91, p. LXII) verificou-se a presença de um simpleto em δ 9,56, integrando para dois hidrogênios, equivalente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,67 observou-se um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Em δ 8,49 verificou-se a presença de um simpleto, integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-11. O duplete em δ 8,06 ($J = 7,0$ Hz), integrando para dois hidrogênios, corresponde aos hidrogênios H-9 do anel aromático B. O tripleto em δ 7,66 ($J = 6,9$ Hz), integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-10. Entre δ 7,25-7,18 observou-se um multipeto, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-3. O multipeto entre δ 6,75-6,69, integrando para seis hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2, H-4 e H-6. O espectro de RMN de ¹³C (a 50 MHz) (Figura 92, p. LXIII) revelou a presença de onze sinais e o subespectro de ¹³C DEPT 135 (Figura 93, p. LXIV) mostrou a presença de oito sinais, ratificando a obtenção do produto **18**.

O composto *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**19**) (Esquema 30, p. 42) foi sintetizado nas condições da Reação 6 (Tabela 6), pelo fato de ter demonstrado a mesma dificuldade de síntese encontrada para o composto **18**. Essa condição forneceu o produto em 85% de rendimento. Através da análise do espectro de RMN de ¹H (a 200 MHz) (Figura 95, p. LXVII) do produto **19**, verificou-se a presença de um simpleto em δ 9,56, integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,70 observou-se um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-5). Em δ 8,44 observou-se um simpleto, integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio H-9. Em δ 7,98 verificou-se a presença de um duplete ($J = 7,6$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

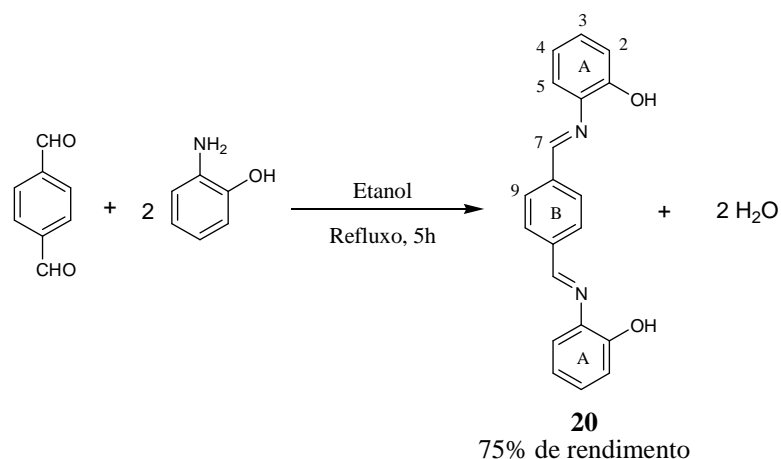
Hz), integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H-7. O tripleto em δ 7,60 ($J = 7,6$ Hz), integrando para um hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-8. O duplete em δ 7,26 ($J = 8,6$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, refere-se aos hidrogênios H-3. O duplete em δ 6,83 ($J = 8,6$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 96, p. LXVIII) revelou a presença de nove sinais e no subspectro de ^{13}C DEPT (Figura 97, p. LXIX) mostrou presença de seis sinais, confirmando a obtenção do produto **19**.



Esquema 30 – Reação de obtenção do composto **19**

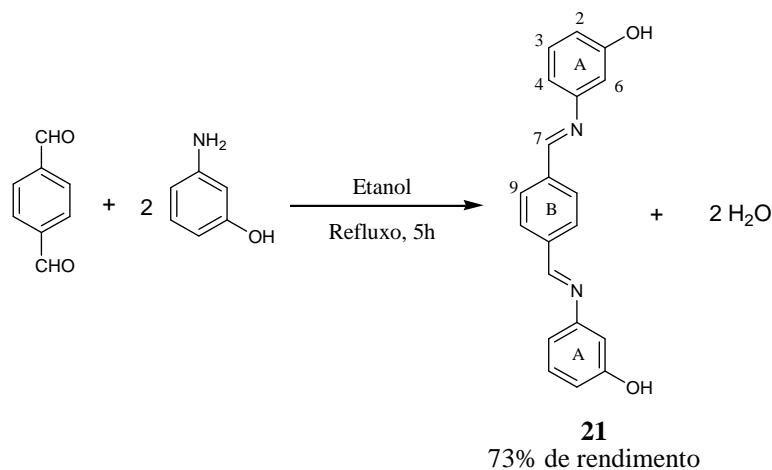
O composto *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)tereftaldiimina (**20**) (Esquema 31, p. 43) foi sintetizado nas mesmas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001). A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 99, p. LXXI) revelou a presença de um simpleto em δ 9,10, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,80 observou-se a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Em δ 8,17 verificou-se a presença de um simpleto, integrando para quatro hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-9 do anel aromático B. Em δ 7,27 observou-se a presença de um duplete ($J = 7,6$ Hz), integrando para dois hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-5. O tripleto em δ 7,12 ($J = 7,4$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-3. Entre δ 6,95-6,82 verificou-se a presença de um multiplete, integrando para quatro hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-2 e H-4. O espectro de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 100, p. LXXII) revelou a presença de nove sinais e o subspectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 101, p. LXXIII) mostrou a presença de seis sinais, não deixando dúvidas quanto a obtenção do produto **20**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES



Esquema 31 – Reação de obtenção do composto **20**

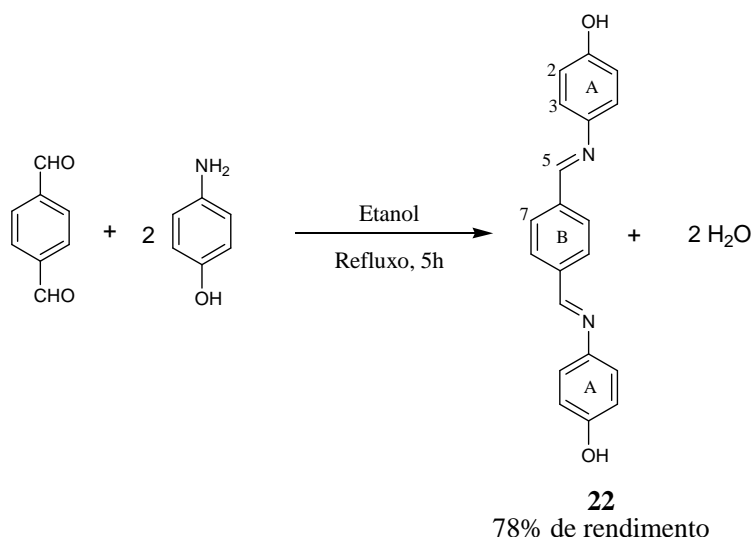
Para a obtenção do composto *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)tereftaldiimina (**21**) (Esquema 32) foram utilizadas as mesmas condições de reação descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001). O espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 103, p. LXXV) revelou a presença de um simpleto em δ 9,60, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,64 ocorreu a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-7). Em δ 8,05 verificou-se a presença de um simpleto, integrando para quatro hidrogênio, que foi atribuído aos hidrogênios H-9 do anel aromático B. O tripleto em δ 7,22 ($J = 7,6$ Hz), integrando para dois hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-3. O multipletto entre 6,75-6,72, integrando para seis hidrogênios, corresponde aos hidrogênios aromáticos H-2, H-4 e H-6. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 104, p. LXXVI) revelou a presença de nove sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 105, p. LXXVII) mostrou a presença de seis sinais, ratificando a obtenção do produto **21**.



Esquema 32 – Reação de obtenção do composto **21**

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O composto *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno) teraftaldiimina (**22**) (Esquema 33) foi sintetizado nas condições descritas na literatura (PATEL *et al.*, 2001). A análise do espectro de RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 107, p. LXXIX) revelou a presença de um simpleto em δ 9,59, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Em δ 8,67 observou-se a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do grupo imina (H-5). Em δ 7,99 verificou-se a presença de outro simpleto, integrando para quatro hidrogênios, que foi atribuído aos hidrogênios H-7 do anel aromático B. Em δ 7,27 observou-se a presença de um duplete ($J = 8,2$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios H-3. O duplete em δ 6,83 ($J = 8,4$ Hz), integrando para quatro hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-2. O espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 108, p. LXXX) mostrou a presença de sete sinais e o subespectro de ^{13}C DEPT 135 (Figura 109, p. LXXXI) revelou a presença de quatro sinais, ratificando a obtenção do produto **22**.



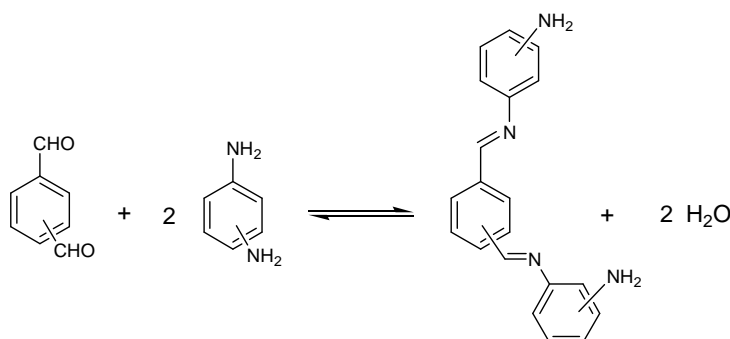
Esquema 33 – Reação de obtenção do composto **22**

Os espectros de infravermelho desta série (Figura 77, p. L; Figura 81, p. LIV; Figura 85, p. LVIII; Figura 89, p. LXII; Figura 93, p. LXVI; Figura 97, p. LXX; Figura 101, p. LXXIV) foram semelhantes aos espectros da série anterior, revelando principalmente uma banda larga por volta de 3400 cm^{-1} característica de estiramento O–H da hidroxila e uma banda intensa por volta de 1610 cm^{-1} referente ao estiramento C=N do grupo imina, confirmando a formação dos produtos descritos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1.3 A série das bis-iminas aminadas

A última série das *bis*-iminas a serem obtidas seriam as *bis*-iminas aminadas (Esquema 34), que possuíam um grupo NH₂ no lugar das hidroxilas fenólicas. No entanto, as primeiras tentativas resultaram na obtenção de um sólido escuro e totalmente insolúvel em todos solventes disponíveis no laboratório, a exemplo de que já havia ocorrido com a síntese das *bis*-iminas **18** e **19**. Resolveu-se então variar as condições reacionais com o objetivo de obter o produto desejado e estas tentativas estão detalhadas na Tabela 7. Infelizmente todas as tentativas levavam sempre a este sólido escuro e totalmente insolúvel, que provavelmente deveria ser algum produto de polimerização.



Esquema 34 – Esquema geral de síntese da série das *bis*-iminas aminadas

Tabela 7 – Condições de reação usada na tentativa de obtenção de *bis*-iminas aminadas

Condição	Solvente	Tempo	Condições	R 1 ^b (mmol)	R 2 ^c (mmol)	*Rend. (%)
1	Tolueno, 7mL	8 h	Refluxo	1	2	^d NO
2	Tolueno, 10 mL	24 h	80°C	1	2	^d NO
3	Tolueno, 7 mL	48 h	T. a. ^a	1	3	^d NO
4	Etanol, 7 mL	8 h	Refluxo	1	2	^d NO
5	Etanol, 10 mL	8 h	T. a. ^a	1	3	^d NO
6	Etanol, 10 mL	48 h	T. a. ^a	1	2	^d NO
7	Metanol, 10 mL	8 h	Refluxo	1	2	^d NO

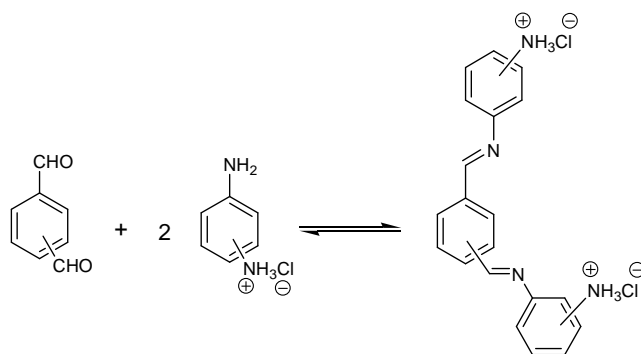
a = Temperatura ambiente; b = (*o*-, *m*- e *p*-) benzaldaldeído; c = (*o*-, *m*- e *p*-) fenilendiamina;

d = Não obtido; *Rendimento

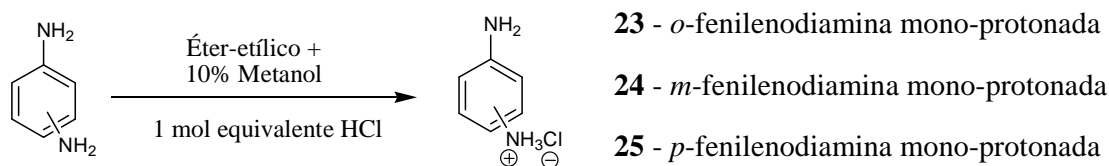
Se a suspeita da ocorrência de polimerização estivesse correta, precisaríamos proteger um dos grupos NH₂ da fenilendiamina para que somente um grupo amino realizasse a adição nucleofílica (Esquema 35, p. 46). Para isso, protegeu-se um dos nitrogênios das diaminas

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

aromáticas (compostos **23**, **24** e **25**) na forma de um sal de amônio (Esquema 36) (Campbell e Nguyen, 2001).



Esquema 35 – Esquema de síntese das *bis*-iminas aminadas através das fenilenodiaminas mono-protonadas



Esquema 36 – Esquema de síntese das fenilenodiaminas mono-protonadas **23**, **24** e **25**

A mono-protonação do nitrogênio iniciou-se com a formação de uma solução de éter-etílico acidificada (EEHCl) com ácido clorídrico (HCl) (ARNÁIZ, 1995). Para isso, foi gerado HCl gasoso, gotejando 113 mL de ácido clorídrico 36,5 g/mol em 134 g de cloreto de cálcio (CaCl₂) (Figura 20).

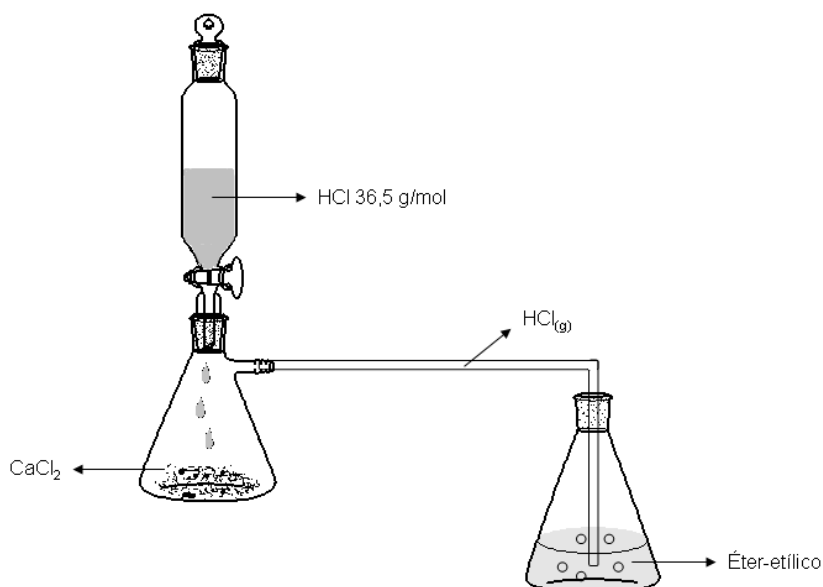


Figura 20 – Montagem para gerar ácido clorídrico gasoso

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após a acidificação do éter-etílico, realizou-se uma titulação ácido-base com solução de hidróxido de sódio padronizada (0,9895 mol/L) para verificar sua concentração, que foi de 0,6810 mol/L. As fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*) foram colocadas cada uma num balão de 250 mL de fundo redondo com 127 mL de éter-etílico e 20 mL de metanol, sob agitação magnética vigorosa e temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 73,42 mL de EEHCl, formando-se um precipitado que foi filtrado a vácuo (Tabela 8).

Tabela 8 – Condições de reação para **23**, **24** e **25**

Compostos	Massa (g) / mmol	Tempo (h)	Rend. (%)
23	5,400 / 50	2,0	94
24	5,400 / 50	2,5	95
25	5,400 / 50	2,0	97

A mono-protonação das fenilenodiaminas foi sugerida através de experimentos de RMN, o qual pode ser observado pelo RMN de ^1H (a 200 MHz) (Figura 21 e Figura 21', p. 48) da *o*-fenilenodiamina e do composto **23**. Comparando os dois espectros, verificou-se que o deslocamento químico dos grupos amino que antes era de δ 4,40, passou a ser de δ 5,75 e suas integrais, que antes eram de quatro hidrogênios, passaram a ser de cinco, respectivamente.

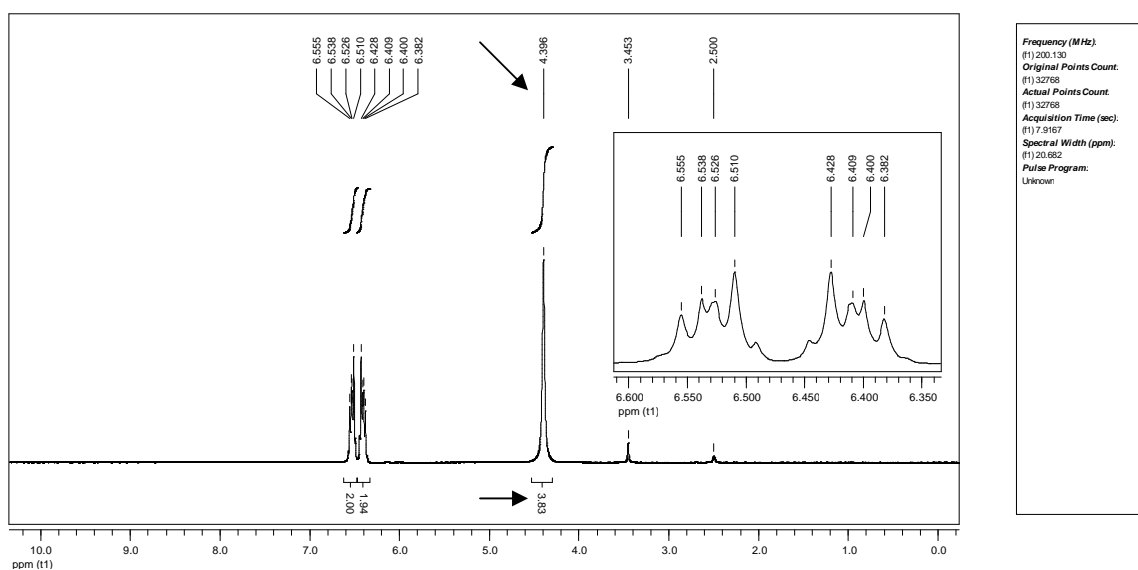


Figura 21 – Espectro de RMN (em DMSO- d_6) de ^1H da *o*-fenilenodiamina

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

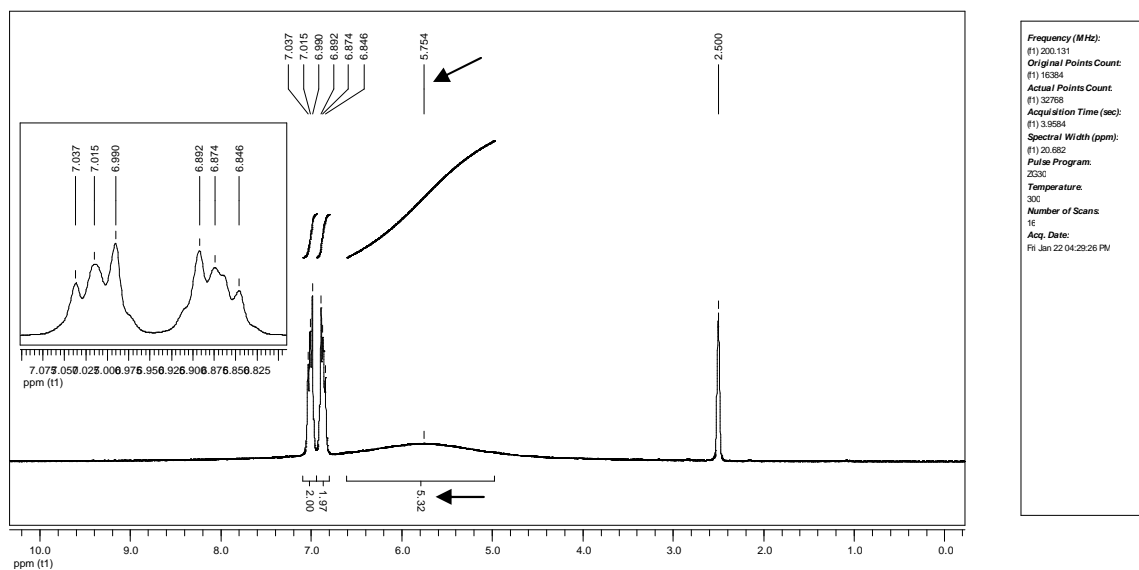


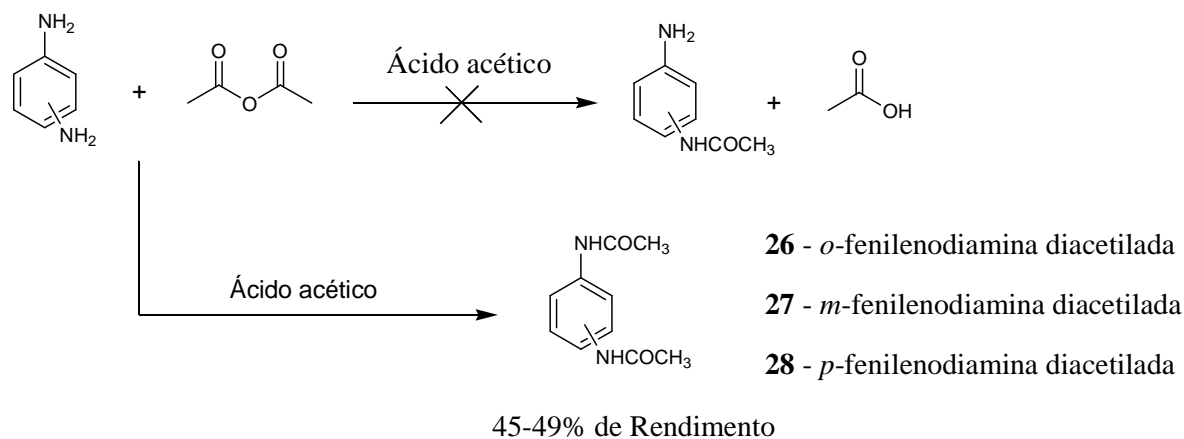
Figura 21' – Espectro de RMN (em DMSO- d_6) de ^1H do composto **23**

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **24** e **25** tiveram as mesmas diferenças entre seus espectros e de seus precursores, como foi observado para o composto **23** e seu precursor (na Figura 21' e Figura 21 (p. 47), respectivamente).

Concluída a proteção das (*orto*, *meta* e *para*) fenilendiaminas, iniciaram-se as sínteses com os (*orto*, *meta* e *para*) benzaldaldeídos (Esquema 35, p. 46), utilizando-se as mesmas condições de reação descritas na Tabela 7 (p. 45), porém os produtos formados também não eram solúveis em nenhum solvente existente no laboratório para caracterizá-los.

Como não foi possível obter as *bis*-iminas aminadas através da mono-protonação, pensou-se em realizar a síntese com um outro tipo de grupo protetor. Então, protegeu-se um dos NH_2 com um grupo acetil, de acordo com o Esquema 37. As condições de reação utilizadas para a tentativa da mono-acetilação estão descritas na Tabela 9 (p. 49). Porém, foi formado a fenilendiamina diacetilada em todas as condições reacionais, como pode-se observar nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figura 22, p. 49; e Figura 22', p. 50), do exemplo escolhido, o composto **28**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

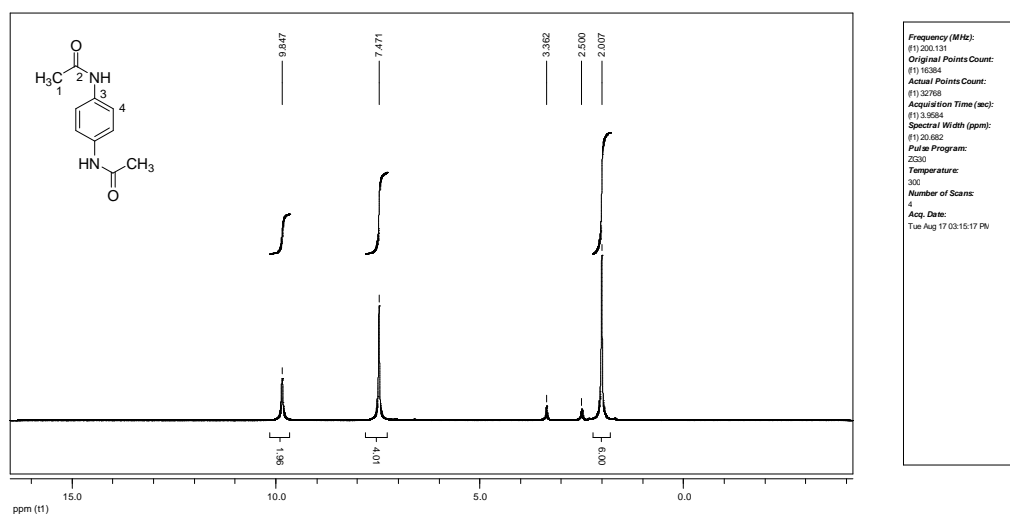


Esquema 37 – Esquema da reação de acetilação das fenilenodiaminas

Tabela 9 – Condições de reação para mono-acetilação de fenilenodiaminas

Condição	Solvente	Tempo (h)	Condições*	(MeCO) ₂ O (mol)	R ^e (mol)
1	AAc ^a , 1.03mL	1,5	Refluxo	1.2	1.0
2	AAc ^a , 1.03mL	3	T. a. ^c	1.2	1.0
3	AAc ^a (1.03mL) + DCM ^b (20mL)	8	T. a. ^c	1.2	1.0

a = Ácido acético; b = Diclorometano; c = Temperatura ambiente;
e = Fenilenodiamina; *Em todos os casos, o anidrido acético foi adicionado aos poucos



3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

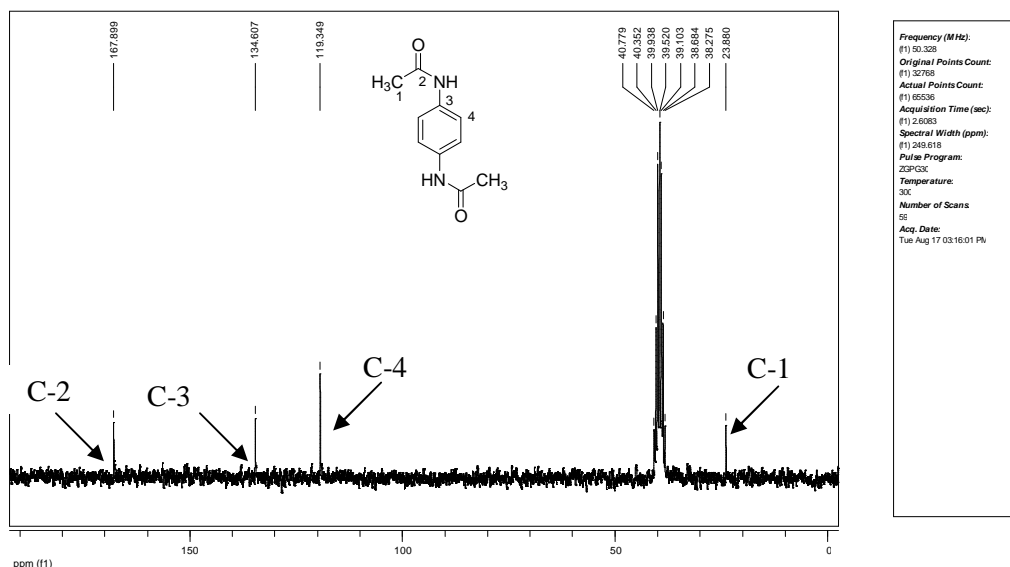
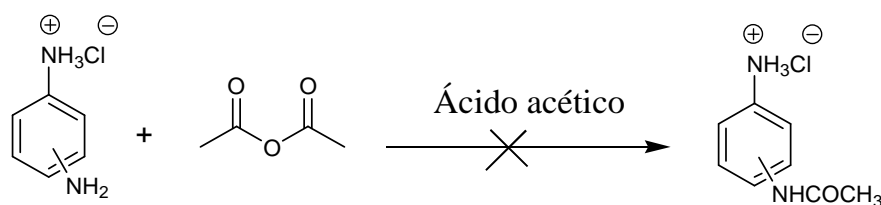


Figura 22' – Espectro de RMN (em DMSO-d₆) de ¹³C do composto **28**

Observou-se no RMN de ¹H (a 200 MHz) para o composto **28** a permanência de simetria na molécula, com a presença de um simpleto em δ 7,47, integrando para quatro hidrogênios, o qual corresponde aos hidrogênios do anel aromático (H-4, Figura 22, p. 49). Em δ 9,85 verificou-se a presença de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, que corresponde aos hidrogênios dos grupos amida (N-H). Em δ 2,01 observou-se um simpleto, integrando para seis hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios do grupo metila.

Então, tentou-se mono-acetilizar as fenilendiaminas mono-protonadas **23**, **24** e **25** (Esquema 38), com as mesmas condições de reação descritas na Tabela 9 (p. 49), porém também formou-se as fenilendiaminas di-acetiladas.



Esquema 38 – Esquema da mono-acetilação das fenilendiaminas mono-protonadas **23**, **24** e

3.2 TESTE BIOLÓGICO

Os compostos **1** a **22** foram testados de acordo com o “Método de referência para testes de diluição em caldo” (M27-A2 do NCCLS, 22) (M38-A do NCCLS, 22) contra *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Aspergillus clavatus* (isolado clínico), *Aspergillus flavus* (isolado clínico), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (isolado clínico) e *Aspergillus tamari* (isolado clínico). Os testes foram realizados no Laboratório de Micologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, sob supervisão da professora Maria Aparecida de Resende.

No resultado da avaliação biológica foi observada a menor concentração dos compostos que inibiu 80% do crescimento do microrganismo (CIM₈₀). Estes resultados estão descritos na Tabela 10 (p. 53), onde pode verificar que os melhores resultados (com CIM₈₀ menor) são dos compostos **14** a **22**, que pertencem à segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas. Logo, pressupõe-se que a posição do nitrogênio da imina pode influenciar na eficácia do composto contra o microrganismo.

O destaque para a avaliação biológica foi para os compostos **14** e **16** (Figura 24, p. 52), que demonstraram os melhores resultados. Através do gráfico de barras da Figura 23 (p. 52), pode-se observar que os compostos **14** e **16** foram mais potentes que o Fluconazol contra a linhagem de *Aspergillus* testada, com exceção para o *Aspergillus flavus*, para o qual estes compostos apresentaram o mesmo valor do Fluconazol. O interessante é que estes compostos são os derivados da pirrolidina, formados através do processo de ciclização das *bis*-iminas em questão, cuja síntese não havia sido planejada. O composto **14** manifestou CIM <8 µg/mL contra o *Aspergillus clavatus*, 16 µg/mL para o *Aspergillus niger* e 32 µg/mL para o *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus tamari*, demonstrando ser 8, 4 e 2 vezes mais eficiente que o Fluconazol. O compostos **16** teve CIM de 4 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL e 32 µg/mL contra *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus tamari* e *Aspergillus fumigatus*, respectivamente, mostrando ser até 16 vezes mais potente que a droga de referência.

O produto **21** (Figura 24, p. 52) obteve uma CIM de 32 µg/mL contra o *Aspergillus clavatus* e *Aspergillus niger*, mostrando um resultado duas vezes mais eficaz que a droga de referência. Esse mesmo composto apresentou resultados promissores contra *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus*. Entre os compostos da segunda série que tiveram atividade biológica moderada, estão os produtos **17-20** e **22** (Figura 24, p. 52), contra o *Aspergillus clavatus* e *Aspergillus niger*

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

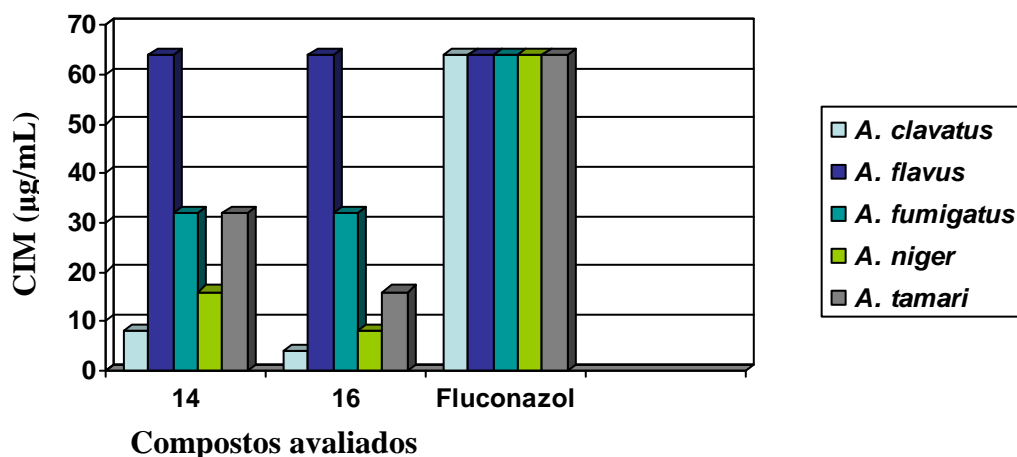


Figura 23 – Gráfico de barras comparando a atividade biológica com CIM_{80} (em $\mu\text{g/mL}$) dos compostos 14, 16 e o Fluconazol (droga de referência)

Da primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas, apenas o composto 1 (Figura 24) obteve um resultado promissor na avaliação biológica, demonstrando ser tão eficiente quanto o Fluconazol contra *Aspergillus niger* e contra *Candida Krusei*.

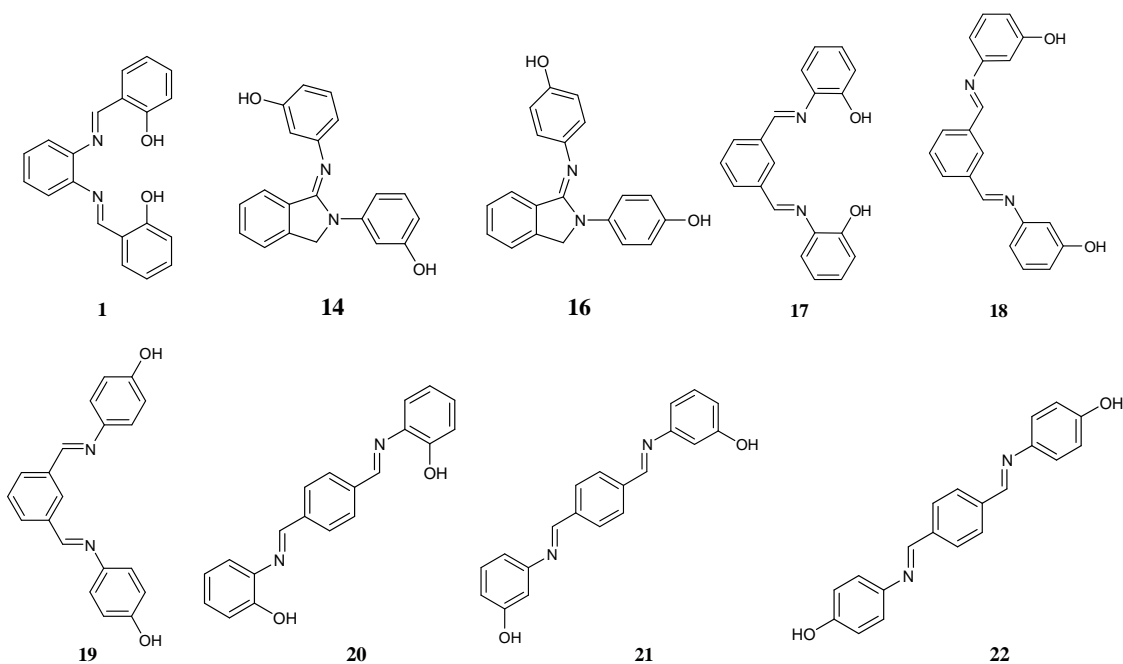


Figura 24 – Estrutura química dos compostos promissores na avaliação biológica

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 10 – Avaliação biológica dos compostos **1 a 22**

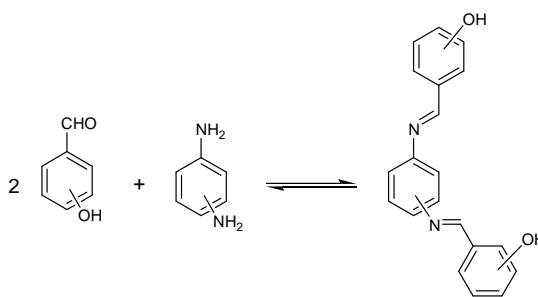
Compostos	Valores de CIM ₈₀ (µg/mL)									
	<i>A. clavatus</i> *	<i>A. flavus</i> *	<i>A. fu.</i>	<i>A. fu.</i> *	<i>A. niger</i> *	<i>A. tam.</i> *	<i>C. alb.</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. parap.</i>	<i>C. trop.</i>
1	>128	>128	128	128	64	>128	128	32	64	128
2	>128	>128	>128	>128	>128	>128	128	128	64	128
3	>128	>128	>128	>128	>128	>128	128	128	64	128
11	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
4	>128	>128	128	>128	128	>128	64	64	128	128
6	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
9	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
5	>128	>128	>128	>128	>128	>128	128	128	128	128
7	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128
14	<8	64	32	64	16	32	<16	<16	<16	<16
16	4	64	32	64	8	16	<16	<16	<16	<16
17	64	>64	>64	>64	64	>64	128	128	128	128
18	64	>64	>64	>64	64	>64	>128	>128	>128	>128
19	64	>64	>64	>64	64	>64	64	64	64	128
20	64	>64	>64	>64	64	>64	128	128	128	>128
21	32	64	64	64	32	64	128	64	32	>128
22	64	>64	>64	>64	64	>64	128	64	64	>128
Fl.	64	>64	64	64	64	>64	2	32	1	2

A. clavatus = *Aspergillus clavatus*, *A. flavus* = *Aspergillus flavus*, *A. fu.* = *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *A. niger* = *Aspergillus niger*, *A. tam.* = *Aspergillus tamari*, *C. alb.* = *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. krusei* = *Candida krusei* (ATCC 20298), *C. parap.* = *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *C. trop.* = *Candida tropicalis* (ATCC 750), Fl = Fluconazol, *isolado clínico

4. CONCLUSÃO

A fim de obter iminas com atividade biológica, foram sintetizadas neste trabalho duas séries de *bis*-iminas hidroxiladas e tentou-se sintetizar uma série de *bis*-iminas aminadas, mas sem êxito.

Na primeira série foram obtidas oito *bis*-iminas hidroxiladas (Figura 25) através da condensação entre hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) e fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*), de acordo com o Esquema 39. Porém, inesperadamente, observou-se que as *bis*-iminas que partiam da *o*-fenilenodiamina e dos *m*- e *p*-hidroxibenzaldeído ciclizavam, formando os derivados de benzoimidazol **9** e **11**, cujas estruturas foram inequivocamente atribuídas através das técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas.



Esquema 39 – Esquema geral para a síntese da primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas

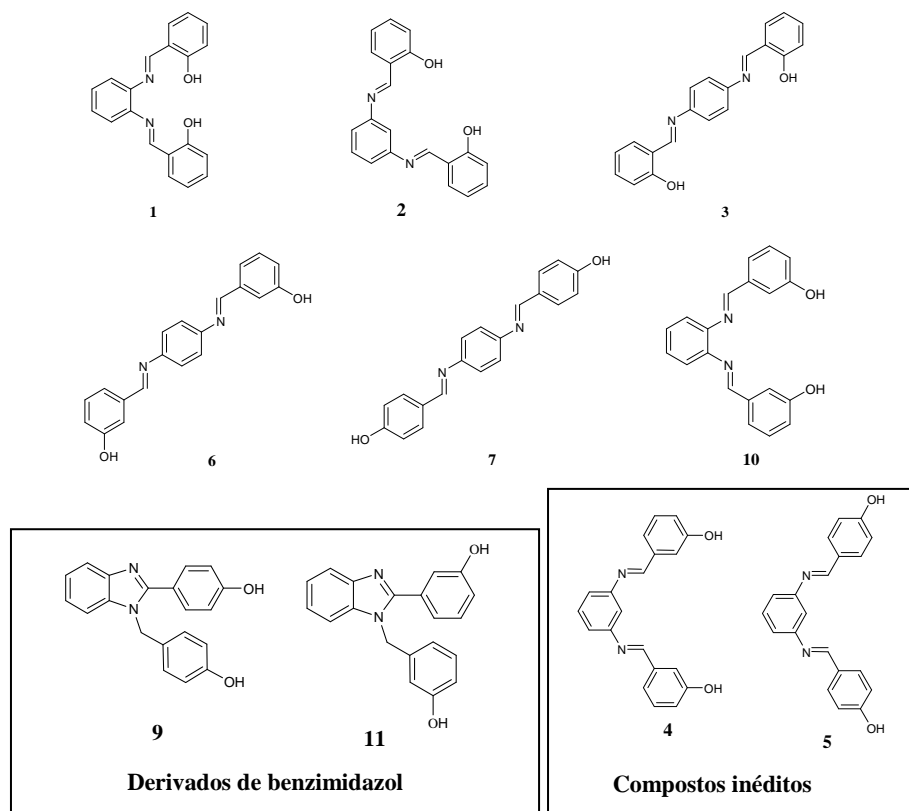
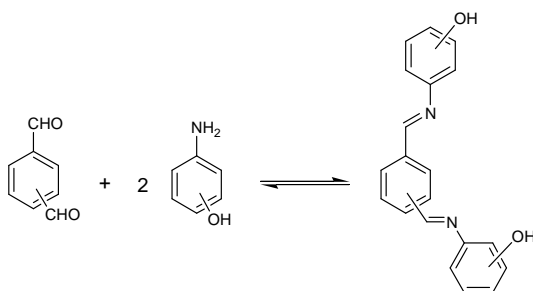


Figura 25 – Compostos sintetizados na primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas

4. CONCLUSÃO

Nesta primeira série, mesmo ocorrendo a ciclização dos compostos que partiam da *o*-fenilenodiamina e dos *m*- e *p*-hidroxibenzaldeído, ainda foi possível obter o composto **10** (*o*-fenilenodiamina + *m*-hidroxibenzaldeído) variando as condições de reação.

Na segunda série foram obtidas sete *bis*-iminas hidroxiladas (Figura 27) através da condensação entre dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) e hidroxianilinas (*orto*, *meta* e *para*), de acordo com o Esquema 40. Porém, como já havia sido observado na primeira série, verificou-se novamente a ciclização dos produtos que partiam do *o*-ftalaldeído e *m*- e *p*-hidroxianilina formando os derivados da pirrolidina **14** e **16**.



Esquema 40 – Esquema geral para a síntese da segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas

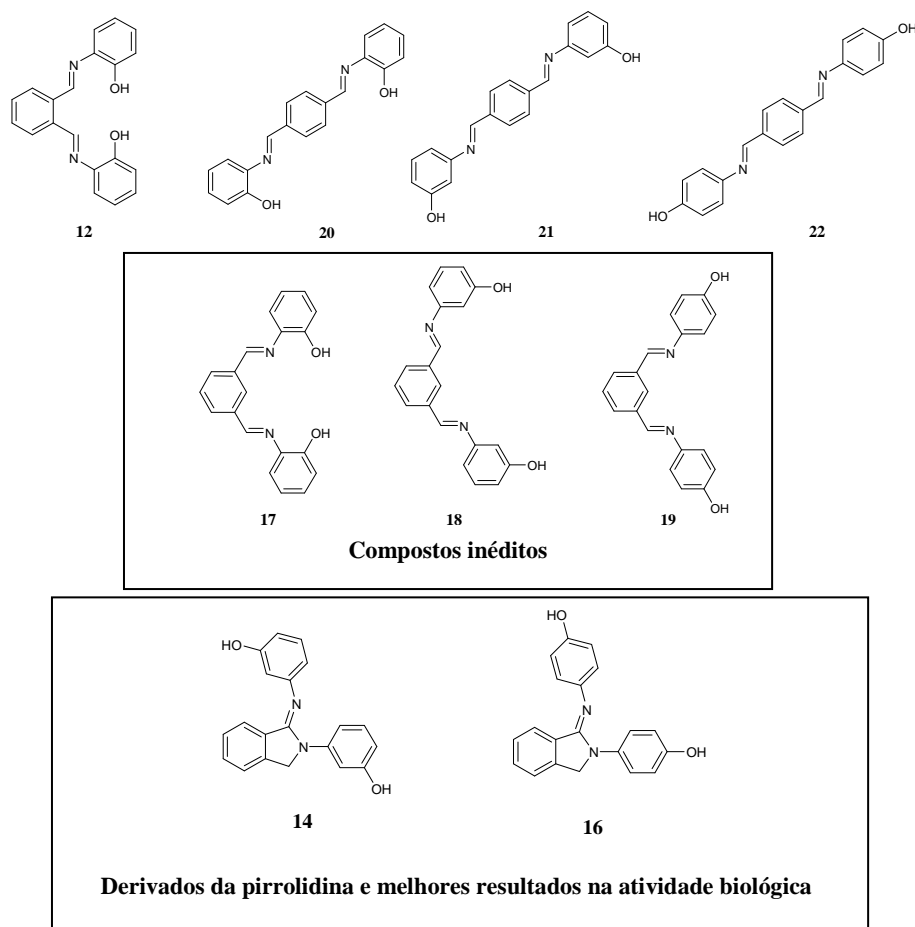
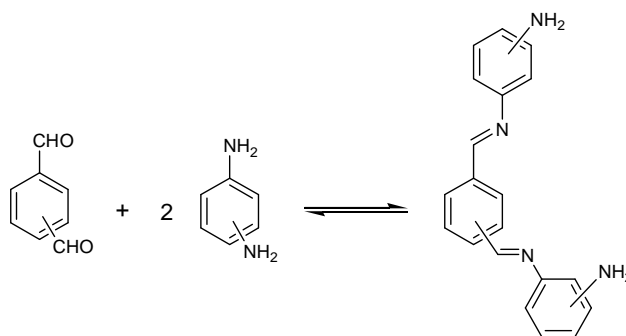


Figura 26 – Compostos sintetizados na segunda série das *bis*-iminas hidroxiladas

4. CONCLUSÃO

A última série das *bis*-iminas seriam as aminadas (Esquema 41), porém não foi possível sintetizá-las apesar das várias tentativas.



Esquema 41 – Esquema geral para a síntese da série das *bis*-iminas aminadas

Os compostos sintetizados foram testados contra os fungos *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Aspergillus clavatus* (isolado clínico), *Aspergillus flavus* (isolado clínico), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (isolado clínico), *Aspergillus tamari* (isolado clínico).

Da primeira série das *bis*-iminas hidroxiladas, apenas o composto **1** (Figura 25, p. 54) (iminas e hidroxilas na posição *orto*) mostrou uma atividade biológica promissora contra *Aspergillus niger* e *Candida Krusei*.

Os melhores resultados da avaliação biológica foram para os produtos da segunda série, destacando-se os compostos **14** e **16** (Figura 26, p. 55). O interessante é que estes compostos são os derivados da pirrolidina, cujos produtos não foram planejados. O composto **14** manifestou CIM de <8 µg/mL contra o *Aspergillus clavatus*, 16 µg/mL para o *Aspergillus niger* e 32 µg/mL para o *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus tamari*, demonstrando ser 8, 4 e 2 vezes mais eficiente que o Fluconazol (droga de referência). O composto **16** obteve CIM de 4 µg/mL contra *Aspergillus clavatus*, 8 µg/mL para o *Aspergillus niger*, 16 µg/mL para o *Aspergillus tamari* e 32 µg/mL contra o *Aspergillus fumigatus*, mostrando ser até 16 vezes mais potente que a droga de referência. Além disso, os compostos **17-22** (Figura 26, p. 55) mostraram resultados promissores contra as espécies de fungos testadas.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de fusão (PF) foram determinados no aparelho Gehaka PF1500.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados no aparelho Shimadzu IR-408 (Departamento de Química, UFMG) e os compostos foram pastilhados com KBr, na proporção de 1:100, utilizando prensa hidráulica. As atribuições das bandas no infravermelho foram feitas com o auxílio de dados da literatura (BARBOSA, 2007); (SILVERSTEIN *et al.*, 2000); (LOPES e FASCIO, 2004). Nessas atribuições foram utilizadas as seguintes abreviações:

ν - estiramento; δ - deformação angular no plano; γ - deformação angular fora do plano; F - forte; m - média; f - fraca; L - larga; a - aguda.

As análises elementares (CNH) foram realizadas num Analisador Elementar Perkin-Elmer (Departamento de Química, UFMG), que permite a determinação de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C foram registrados nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX/400 E DPX/200. Como referência interna foi utilizado o tetrametilsilano ou, em alguns casos, o sinal residual do próprio solvente deuterado. Os deslocamentos químicos foram apresentados em δ e as multiplicidades (dos espectros de RMN ^1H), foram apresentadas de maneira abreviada, segundo recomendações da AUREMN (Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear).

d - dupletto; m - multipletto; s - simpleto; sl - simpleto largo; t - tripletto; td - triplo dupletto.

Para a Cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada sílica gel 60 F₂₅₄ MERCK em folha de alumínio. As purificações por cromatografia em coluna foram feitas utilizando sílica gel 0,060-0,200 mm (ACROS ORGANICS). As análises das CCD foram feitas com métodos físicos, utilizando um transiluminador ultravioleta com comprimento de onda entre 254 e 365 nm, e métodos químicos através da revelação com iodo.

Para os testes biológicos foram utilizadas incubadoras de bancada Qualitas (Mod. Q120A3), agitador de tubos PHOENIX AP56 e espectrofotômetro MICRONAL B542.

Em algumas reações foi utilizado o ultrassom Elamsonic E30 H.

Os solventes utilizados foram purificados de acordo com (AMAREGO e CHAI, 2003), exceto etanol e metanol que foram utilizados P. A.

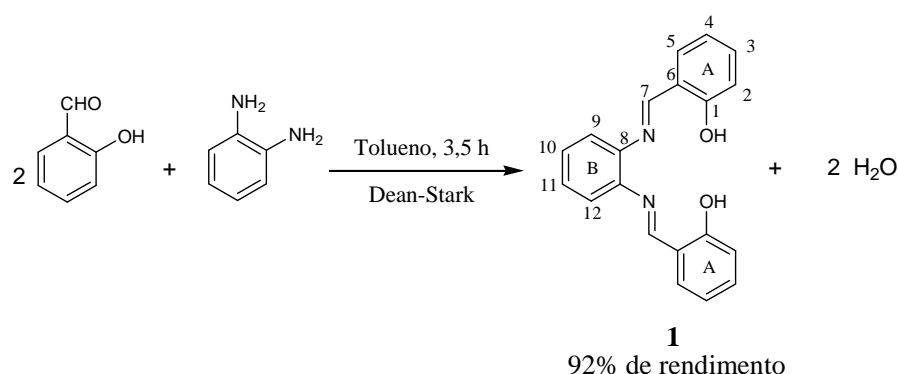
5. PARTE EXPERIMENTAL

A numeração utilizada na nomenclatura segue a regra da IUPAC, no entanto, a numeração utilizada nas estruturas químicas não segue a regra da IUPAC, sendo utilizada apenas para fins de clareza na atribuição e detalhamento dos dados espectroscópicos.

5.2 PROCEDIMENTOS

5.2.1 Síntese da primeira série das bis-iminas hidroxiladas (compostos de 1 a 11)

5.2.1.1 Obtenção de *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiamina]



Esquema 42 – Esquema de síntese para o composto **1**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 2-hidroxibenzaldeído (122,0 mg; 1,0 mmol), conectado ao sistema Dean-Stark (Figura 11, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) e a um condensador, adicionaram-se 7 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,2-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 3,5 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido sob pressão reduzida com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com metanol gelado e filtrado sob vácuo, fornecendo um sólido laranja com 92% de rendimento (145,36 mg; 0,460 mmol).

PF: 164-166 °C

PF lit. (KHANDAR *et al.*, 2007): 174 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,63; H = 4,88; N = 8,85

5. PARTE EXPERIMENTAL

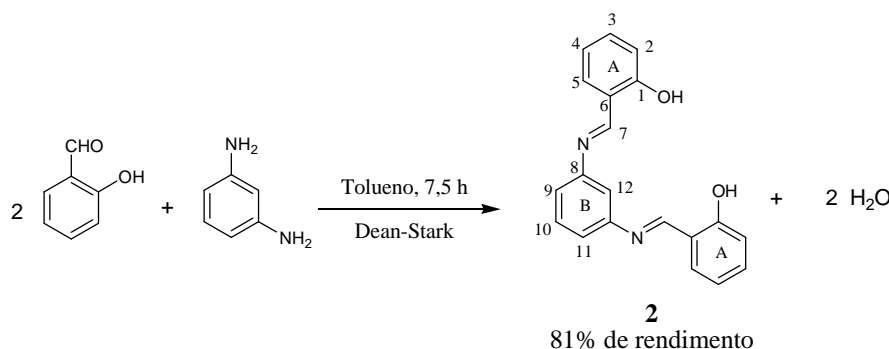
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3446 (f, L; ν O – H); 3054 e 2988 (f, a; ν =C – H), 1614 (F; ν C=N), 1585-1449 (m, F; ν C=C), 1277 (F; δ O – H), 1192 (F; ν C – O), 1151-977 (m, F; δ =C – H), 934-787 (m, F; γ =C – H), 761 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 400 MHz, CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,92 (td, 2H, 7,6 e 0,8); 7,05 (d, 2H, 8,0); 7,26-7,23 (m, 2H); 7,39-7,33 (m, 6H); 8,64 (s, 2H); 13,01 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, CDCl_3 , atribuição): 117,71 (C-2); 119,15 (C-4); 119,40 (C-6); 119,89 (C-9 e C-12); 127,88 (C-10 e C-11); 132,52 (C-5); 133,54 (C-3); 142,72 (C-8); 161,51 (C-1); 163,88 (C-7).

5.2.1.2 Obtenção de *N,N'*-bis[(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]



Esquema 43 – Esquema de síntese para o composto **2**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 2-hidroxibenzaldeído (122,0 mg; 1,0 mmol), conectado ao sistema Dean-Stark (Figura 11, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) e a um condensador, adicionaram-se 7 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,3-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 7,5 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido sob baixa pressão com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com metanol gelado e filtrado sob vácuo, fornecendo um sólido amarelo com 81% de rendimento (127,98 mg; 0,405 mmol).

PF: 108-110 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,74; H = 5,27; N = 8,90

5. PARTE EXPERIMENTAL

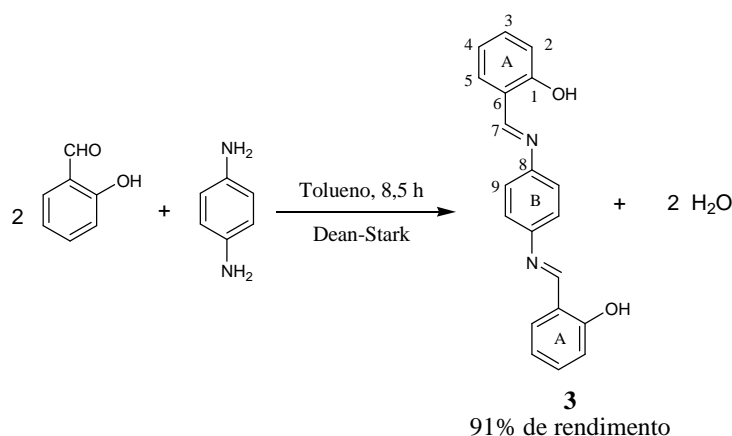
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3435 (f, L; ν O – H); 3051 e 2990 (f, a; ν =C – H), 1621 (F; ν C=N), 1592-1449 (m, F; ν C=C), 1282 (F; δ O – H), 1195 (F; ν C – O), 1152-915 (m; δ =C – H), 898-688 (m, F; γ =C – H), 755 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 400 MHz, CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,93 (td, 2H, 7,6 e 0,8); 7,02 (d, 2H, 8,0); 7.17-7.13 (m, 3H); 7,39-7,34 (m, 4H); 7,43 (t, 1H, 7,8); 8,61 (s, 2H); 13,08 (s, 2H)

RMN ^{13}C (a 50 MHz, CDCl_3 , atribuição): 114,05 (C-2); 117,23 (C-12); 119,03 (C-6); 119,17 (C-9 ou C-11); 119,59 (C-4); 130,21 (C-5); 132,53 (C-10); 133,40 (C-3); 149,38 (C-8); 161,12 (C-1); 163,17 (C-7).

5.2.1.3 Obtenção de *N,N'*-bis[(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]



Esquema 44 – Esquema de síntese para o composto **3**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 2-hidroxi-benzaldeído (122,0 mg; 1,0 mmol), conectado ao sistema Dean-Stark (Figura 11, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) e a um condensador, adicionaram-se 7 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,4-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 8,0 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido sob pressão reduzida com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com metanol gelado e filtrado sob vácuo, fornecendo um sólido laranja com 91% de rendimento (143,78 mg; 0,455 mmol).

5. PARTE EXPERIMENTAL

PF: 208-210 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,26; H = 4,70; N = 9,21

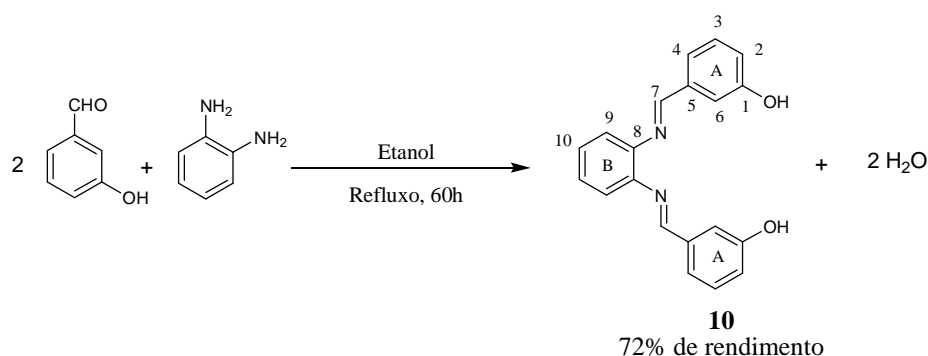
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3436 (f, L; ν O – H); 3053 e 2999 (f, a; ν =C – H), 1611 (F; ν C=N), 1571-1492 (m, F; ν C=C), 1282 (m; δ O – H), 1189 (F; ν C – O), 1161-907 (m, f; δ =C – H), 833-734 (m, F; γ =C – H), 750 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 400 MHz, CDCl_3 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,96 (td, 2H, 7,2 e 0,8); 7,04 (d, 2H, 8,0); 7,42-7,37 (m, 8H); 8,67 (s, 2H); 13,17 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, CDCl_3 , atribuição): 117,30 (C-2); 119,18 (C-4); 122,27 (C-9); 132,34 (C-5); 133,32 (C-3); 147,13 (C-6 e C-8); 161,14 (C-1); 162,36 (C-7).

5.2.1.4 Obtenção de *N,N'*-bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiamina]



Esquema 45 – Esquema de síntese para o composto **10**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 3-hidroxibenzaldeído (183,0 mg; 1,5 mmol), adicionaram-se 10 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,2-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 60 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O etanol foi removido sob baixa pressão com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano e acetato de etila (8:2) e filtrado sob vácuo, fornecendo um sólido branco com 72% de rendimento (113,76 mg; 0,36 mmol).

5. PARTE EXPERIMENTAL

PF: 246-248°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,24; H = 4,04; N = 8,49

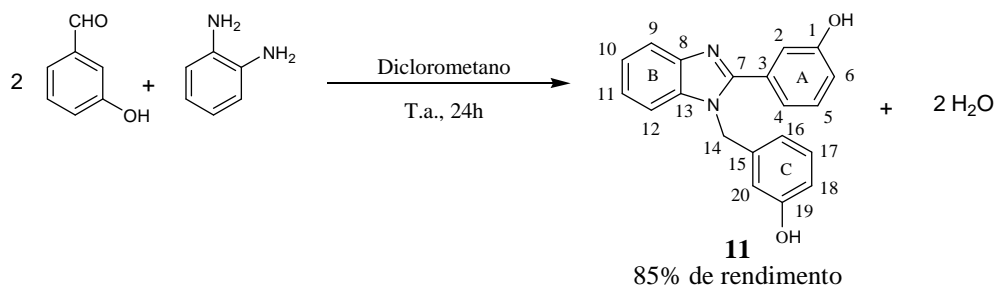
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3278 (F, L; ν O – H); 3058 e 2944 (f, a; ν =C – H), 1590 (F; ν C=N), 1490-1446 (F; ν C=C), 1270 (F; δ O – H), 1232 (F; ν C – O), 1112-888 (f, m; δ =C – H), 788-678 (m, F; γ =C – H), 736 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,90 (d, 2H, 8,0); 7,21-7,17 (m, 4H); 7,34 (t, 2H, 7,90); 7,61-7,58 (m, 4H); 9,75(s, 2H); 12,82 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 113,38 (C-2 e C-6); 117,01 (C-4); 117,26 (C-9); 122,08 (C-3 e C-10); 130,04 (C-7); 131,44 (C-5); 151,40 (C-8); 157,81 (C-1).

5.2.1.5 Obtenção de 1-(3-hidroxibenzil)-2-(3-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol



Esquema 46 – Esquema de síntese para o composto **11**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 3-hidroxibenzaldeído (183,0 mg; 1,5 mmol), adicionaram-se 10 mL de diclorometano sob agitação magnética vigorosa. Adicionou-se em seguida, a 1,2-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou à temperatura ambiente por 24 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O diclorometano foi removido sob baixa pressão com o auxílio de um rotavaporador. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (8:2) e filtrado a vácuo, fornecendo um sólido branco com 85% de rendimento (134,3 mg; 0,426 mmol).

5. PARTE EXPERIMENTAL

PF: 256-258 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,38; H = 4,10; N = 8,59

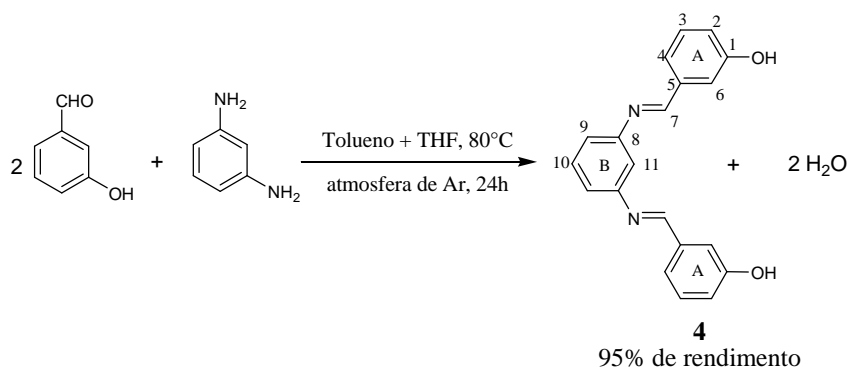
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3431 (F, L; ν O – H); 3063 e 2927 (m, a; ν =C – H), 1635 (m; ν C=N), 1590-1459 (F; ν C=C), 1243 (F; δ O – H), 1235 (F; ν C – O), 998-795 (f, m; δ =C – H), 768-678 (m, F; γ =C – H), 745 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 5,50 (s, 2H); 6,53-6,43 (m, 2H); 6,68 (d, 1H, 7,0); 6,97 (d, 1H, 7,0); 7,38-7,12 (m, 7H); 7,74 (d, 1H, 5,2); 9,71 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 47,51 (C-14); 111,19 (C-18); 112,75 (C-2); 114,54 (C-20); 116,09 (C-12); 116,69 (C-9); 117,03 (C-6); 119,26 (C-4); 119,57 (C-16); 122,28 (C-11); 122,72 (C-10); 129,94 (C-5 e C-17); 131,27 (C-3); 135,94 (C-13); 138,43 (C-15); 142,66 (C-8); 153,40 (C-7); 157,65 (C-19); 157,83 (C-1).

5.2.1.6 Obtenção de *N,N'*-bis[(3-hidroxi benzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]



Esquema 47 – Esquema de síntese para o composto **4**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL com três bocas, contendo o 3-hidroxi benzaldeído (134,2 mg; 1,1 mmol) e conectado a um refluxo, adicionaram-se 6 mL de tolueno sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida à 80°C e, em seguida, foi adicionada aos poucos a 1,3-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) solubilizada em 2,0 mL de THF. A reação ficou sob atmosfera inerte de argônio por 8 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD. Após 24 horas, o solvente foi removido sob pressão

5. PARTE EXPERIMENTAL

reduzida com o auxílio de um rota-evaporador. O sólido formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (9,5:0,5) e filtrado sob vácuo, formando um sólido bege com rendimento de 95% (150,1 mg; 0,475 mmol).

PF: decompõe em 159°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,99; H = 4,79; N = 8,29

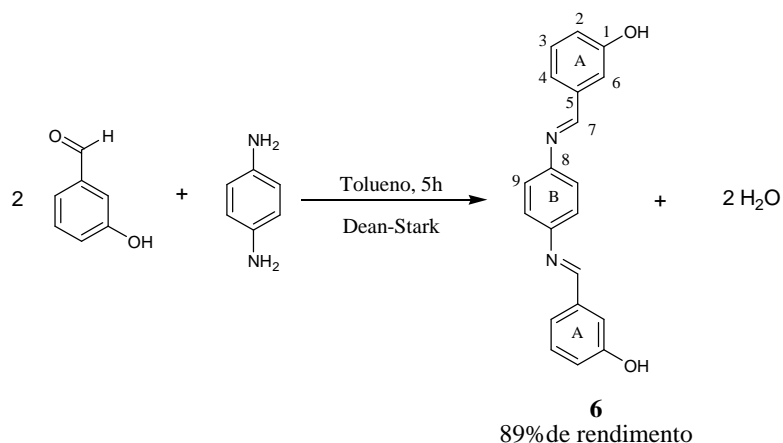
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3418 (F, a; ν O – H); 3066 e 3026 (f, a; ν =C – H), 1674 (m; ν C=N), 1624-1474 (m, F; ν C=C), 1270 (m; δ O – H), 1156 (m; ν C – O), 1140-898 (f, m; δ =C – H), 884-792 (f, m, F; γ =C – H), 784 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,98-6,92 (m, 2H); 7,13-7,10 (m, 3H); 7,41-7,32 (m, 7H); 8,60 (s, 2H); 9,91 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 112,91 (C-6 e C-11); 114,38 (C-2 e C-9); 118,92 (C-4); 120,45 (C-3); 129,89 (C-10); 137,40 (C-5); 152,46 (C-8); 157,74 (C-1); 161,19 (C-7)

5.2.1.7 Obtenção de *N,N'*-bis[(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]



Esquema 48 – Esquema de síntese para o composto **6**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 3-hidroxibenzaldeído (122 mg; 1 mmol), conectado ao sistema Dean-Stark (Figura 11, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) e a um condensador, adicionaram-se 7 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa. A

5. PARTE EXPERIMENTAL

mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,4-fenilenodiamina (54 mg; 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 5 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido sob baixa pressão e com a ajuda de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (9:1) e filtrado sob vácuo, resultando num sólido amarelo com 89% de rendimento (140,62 mg; 0,445 mmol).

PF: decompôs em 230 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,72; H = 4,18; N = 9,05

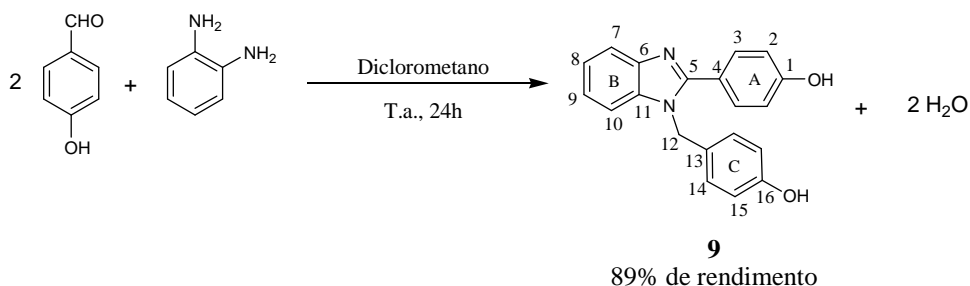
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3434 (F, L; ν O – H); 3048 e 2910 (f, a; ν =C – H), 1622 (F; ν C=N), 1594-1456 (m, F; ν C=C), 1388 (f; δ O – H), 1208 (F; ν C – O), 1290-1084 (f; δ =C – H), 996-782 (f, m, F; γ =C – H), 682 (m, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,99 (d, 2H, 5,8); 7,46-7,38 (m, 10H); 8,60 (s, 2H); 9,77 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 114,29 (C-6); 118,81 (C-2); 120,44 (C-4); 122,06 (C-9); 129,91 (C-3); 137,53 (C-5); 149,30 (C-8); 157,75 (C-1); 160,03 (C-7).

5.2.1.8 Obtenção de 1-(4-hidroxibenzil)-2-(4-hidroxifenil)-1H-benzo[d]imidazol



Esquema 49 – Esquema de síntese para o composto **9**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 4-hidroxibenzaldeído (183,0 mg, 1,5 mmol), adicionaram-se 7 mL de diclorometano sob agitação magnética vigorosa. Adicionou-se em seguida, a 1,2-fenilenodiamina (54,0 mg, 0,5 mmol) e a mistura ficou à

5. PARTE EXPERIMENTAL

temperatura ambiente por 24 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O diclorometano foi removido sob baixa pressão com o auxílio de um rotavaporador. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (8:2) e filtrado sob vácuo, resultando num sólido branco com 89% de rendimento (140,62 mg; 0,445 mmol).

PF: 214-216 °C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,46; H = 4,90; N = 9,20

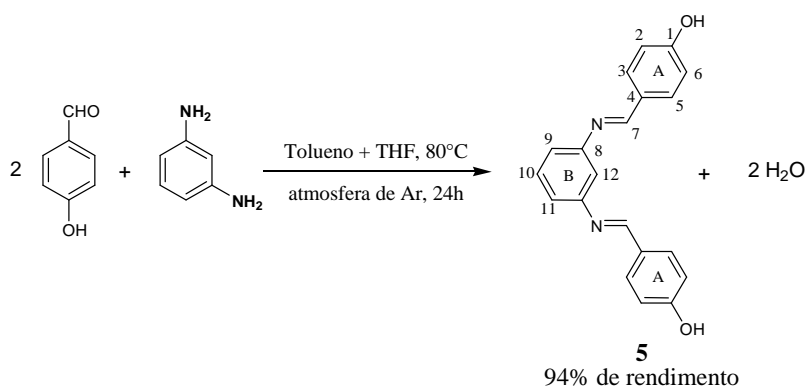
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3436 (F, L; ν O – H); 3028 e 2924 (f, a; ν =C – H), 1638 (f; ν C=N), 1612-1462 (m, F; ν C=C), 1444 (F; δ O – H), 1266 (F; ν C – O), 1252-1104 (f, m; δ =C – H), 990-782 (f, m, F; γ =C – H), 746 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 5,41 (s, 2H); 6,66 (d, 2H, 8,6); 6,92-6,81 (m, 4H); 7,24-7,17 (m, 2H); 7,43-7,39 (m, 1H); 7,68-7,54 (m, 3H); 9,43 (s, 1H); 9,97 (s, 1H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 47,09 (C-14); 110,97 (C-12); 115,50 (C-9); 115,55 (C-17 e C-19); 118,85 (C-2 e C-6); 120,83 (C-4); 121,89 (C-10); 122,14 (C-11); 127,13 (C-15); 127,51 (C-3 e C-5); 130,62 (C-16 e C-20); 135,86 (C-13); 142,72 (C-8); 153,61 (C-7); 156,69 (C-18); 158,86 (C-1).

5.2.1.9 Obtenção de *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina]



Esquema 50 – Esquema de síntese para o composto **5**

5. PARTE EXPERIMENTAL

Em um balão de fundo redondo de 50 mL com três bocas, contendo o 4-hidroxibenzaldeído (134,2 mg; 1,1 mmol) e conectado a um refluxo, adicionaram-se 6 mL de tolueno sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida a 80°C e, em seguida, foi adicionada aos poucos a 1,4-fenilenodiamina (54,0 mg; 0,5 mmol) solubilizada em 2,0 mL de THF. A reação ficou sob atmosfera inerte de argônio por 8 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD. Após 24 horas, o solvente foi removido sob baixa pressão com o auxílio de um rota-evaporador. O sólido formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (9,5:0,5) e filtrado sob vácuo, formando um sólido verde com rendimento de 94% (148,5 mg; 0,470 mmol).

PF: decompõe em 186°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

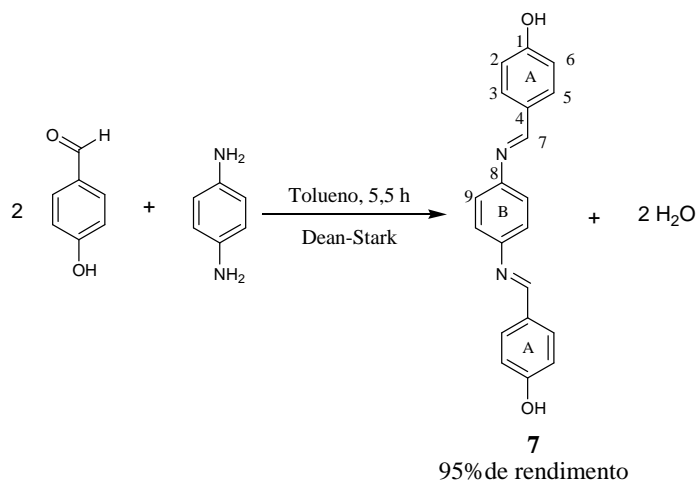
CHN encontrado: C = 75,17; H = 4,56; N = 8,52

Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3444 (m, L; ν O – H); 3076 e 3060 (f, a; ν =C – H), 1602 (F; ν C=N), 1572-1446 (m, F; ν C=C), 1288 (F; δ O – H), 1238 (F; ν C – O), 1156-894 (f, m; δ =C – H), 836-774 (f, m, F; γ =C – H), 836 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 7,37- 6,93 (m, 8H); 7,81 (s, 4H); 8,52 (s, 2H); 10,17 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 112,84 (C-2 e C-6); 115,77 (C-12); 118,31(C-9 e C-11); 127,57 (C-4); 129,76 (C-3 e C-5); 130,82 (C-10); 152,98 (C-8); 160,28 (C-7); 160,78 (C-1).

5.2.1.10 Obtenção de *N,N'*-bis[(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina]

Esquema 51 – Esquema de síntese para o composto 7

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo o 4-hidroxibenzaldeído (122 mg, 1 mmol), conectado ao sistema Dean-Stark (Figura 11, p. 15) (DEAN e STARK, 1920) e a um condensador, adicionaram-se 7 mL de tolueno anidro sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Adicionou-se em seguida, a 1,4-fenilenodiamina (54 mg, 0,5 mmol) e a mistura ficou sob refluxo por 5,5 horas. Após este período, por intermédio de CCD, observou-se o término da reação. O tolueno foi removido sob pressão reduzida com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi lavado com uma solução de diclorometano/acetato de etila (9:1) e filtrado sob vácuo, formando um sólido amarelo com 95% de rendimento (150,1 mg; 0,475 mmol).

PF: decompõe em 260°C

P.F. lit. (MORMANN *et al.*, 1997): 261°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,69; H = 4,90; N = 8,76

Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3434 (m, L; ν O – H); 3048 e 3024 (m, a; ν =C – H), 1622 (F; ν C=N), 1594-1456 (f, F; ν C=C), 1276 (m; δ O – H), 1208 (m; ν C – O), 1172-870 (f, m; δ =C – H), 856-782 (f, m, F; γ =C – H), 856 (m, γ O – H).

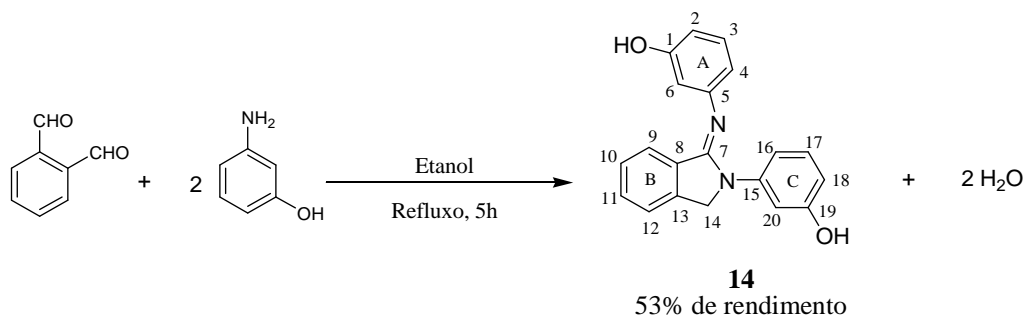
RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,92 (d, 4H, 7,6); 7,25 (s, 4H); 7,79 (d, 4H, 7,6); 8,49 (s, 2H); 10,18 (s, 2H).

5. PARTE EXPERIMENTAL

RMN ¹³C (a 50 MHz, DMSO-d₆, atribuição): 115,77 (C-2 e C-6); 121,86 (C-9); 127,69 (C-4); 130,72 (C-3 e C-5); 149,35 (C-8); 159,11 (C-1); 160,69 (C-7).

5.2.2 Síntese da segunda série das bis-iminas hidroxiladas

5.2.2.1 Obtenção de 3-(2-(3-hidroxifenil)3-isoindolinelidenoamino)fenol



Esquema 52 – Esquema de síntese para o composto **14**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 3-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o ftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou sob refluxo por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob pressão reduzida até a metade do volume inicial com o auxílio de um rotavaporador. A solução foi colocada na geladeira e após 24 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, com 53% de rendimento (83,7 mg; 0,265 mmol).

PF: 218-220°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 74,67; H = 4,80; N = 8,53

Dados espectroscópicos:

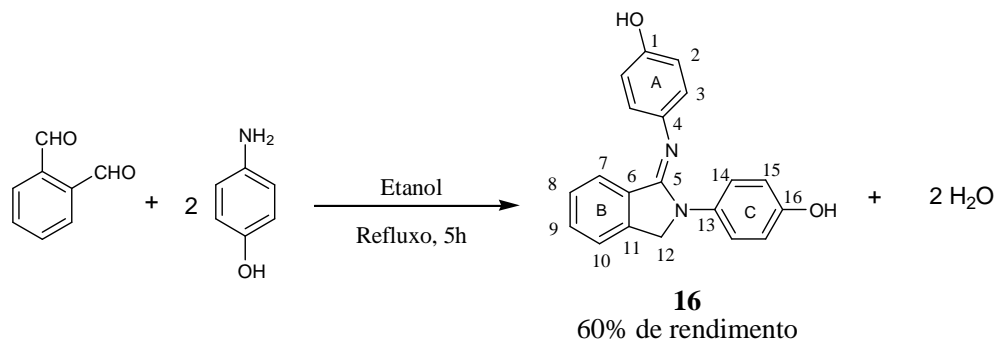
IV (cm⁻¹): 3426 (F, L; ν O – H); 3080 e 3054 (f, a; ν =C – H), 1630 (F; ν C=N), 1586-1454 (m, F; ν C=C), 1384 (f; δ O – H), 1218 (m; ν C – O), 1128-946 (f, m; δ =C – H), 864-694 (f, m, F; γ =C – H), 776 (m, γ O – H).

RMN ¹H (a 200 MHz, DMSO-d₆, δ_H , multiplicidade, integração, *J* (Hz)): 4,98 (s, 2H); 6,36 (sl, 2H); 6,54 (d, 2H, 7,4); 6,73 (d, 1H, 7,6); 7,32-7,11 (m, 4H); 7,59-7,42 (m, 2H); 7,79 (s, 1H); 9,37 (s, 1H); 9,46 (s, 1H).

5. PARTE EXPERIMENTAL

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 52,61 (C-14); 107,15 (C-20); 107,54 (C-18); 109,40 (C-16); 109,99 (C-6); 110,21 (C-2); 111,52 (C-4); 123,42 (C-9); 125,57 (C-10); 127,05 (C-12); 129,29 (C-11); 129,96 (C-17); 130,56 (C-3); 130,67 (C-8); 140,81 (C-13); 142,44 (C-15); 151,83 (C-5); 152,51 (C-19); 157,58 (C-1); 158,31 (C-7).

5.2.2.2 Obtenção de 4-(2-(4-hidroxifenil)4-isoindolinelidenoamino)fenol



Esquema 53– Esquema de síntese para o composto **16**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 4-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o ftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado à reação. A mistura ficou sob refluxo por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob baixa pressão até a metade do volume inicial com o auxílio de um rota-evaporador. A solução foi colocada na geladeira e após 12 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, com 60% de rendimento (94,8 mg; 0,300 mmol).

PF: 222-224°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 73,49; H = 4,71; N = 8,50

Dados espectroscópicos:

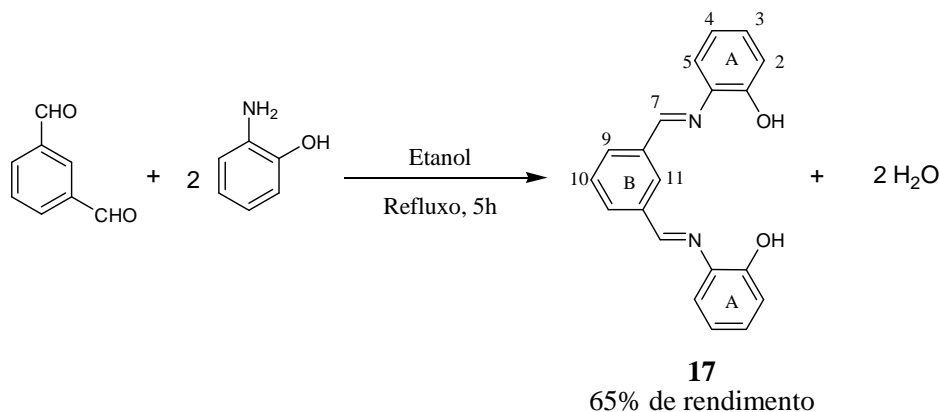
IV (cm^{-1}): 3388 (F, L; ν O – H); 3058 e 3026 (f, a; ν =C – H), 1620 (F; ν C=N), 1580-1452 (F; ν C=C), 1384 (f; δ O – H), 1248 (F; ν C – O), 1202-1066 (f, **m**; δ =C – H), 896-704 (f, **m**; γ =C – H), 828 (**m**, γ O – H).

5. PARTE EXPERIMENTAL

RMN ¹H (a 200 MHz, DMSO-d₆, δ_H, multiplicidade, integração, *J* (Hz)): 4,92 (s, 2H); 6,82-6,59 (m, 7H); 7,12 (t, 2H, 7,5); 7,55-7,39 (m, 2H); 7,75 (d, 2H, 8,6); 9,01 (s, 1H); 9,25 (s, 1H).

RMN ¹³C (a 50 MHz, DMSO-d₆, atribuição): 52,83 (C-12); 115,05 (C-14); 115,81 (C-15); 121,59 (C-2); 122,36 (C-3); 123,31 (C-7); 125,33 (C-8); 126,89 (C-10); 130,10 (C-9); 130,85 (C-6); 133,28 (C-13); 140,97 (C-11); 142,74 (C-4); 152,44 (C-16); 153,29 (C-1); 153,35 (C-5).

5.2.2.3 Obtenção de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiimina



Esquema 54 – Esquema de síntese para o composto **17**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 2-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o isoftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou sob refluxo por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob pressão reduzida até a metade do volume inicial com o auxílio de um rotavaporador. A solução foi colocada na geladeira e após 8 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, com 65% de rendimento (102,7 mg; 0,325 mmol).

PF: 151-152°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,79; H = 4,13; N = 9,17

5. PARTE EXPERIMENTAL

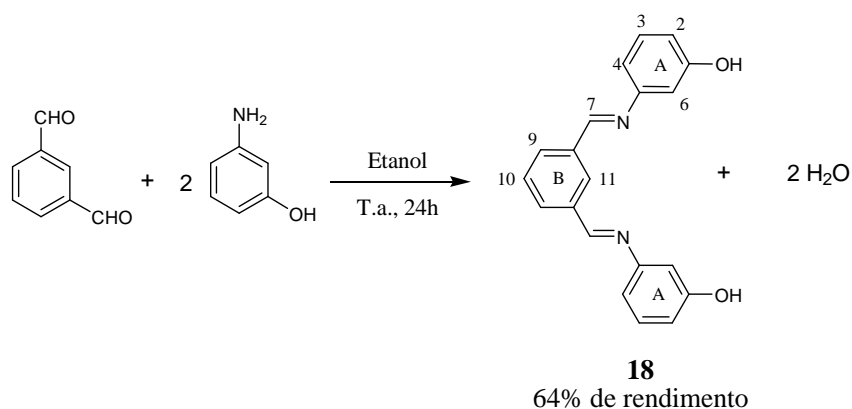
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3430 (F, L; ν O – H); 3044 e 3024 (f, a; ν =C – H), 1626 (F; ν C=N), 1586-1438 (f, F; ν C=C), 1250 (F; δ O – H), 1244 (F; ν C – O), 1174-836 (f, m; δ =C – H), 802-738 (f, m; γ =C – H), 762 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,97-6,83 (m, 4H); 7,12 (t, 2H, 7,5); 7,26 (d, 2H, 7,4); 7,64 (t, 1H, 7,6); 8,18 (d, 2H, 7,6); 8,68 (s, 1H); 8,80 (s, 2H); 9,14 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 116,22 (C-2); 119,31 (C-4); 119,68 (C-5); 127,78 (C-3); 129,18 (C-12); 131,48 (C-9 e C-11); 136,91 (C-8); 137,74 (C-6); 151,40 (C-1); 158,76 (C-7).

5.2.2.4 Obtenção de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiimina



Esquema 55 – Esquema de síntese para o composto **18**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 3-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. Em seguida, o isofalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou à temperatura ambiente por 24 horas e através de CCD, observou-se o término da reação. O solvente foi removido sob baixa pressão e sem aquecimento, com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi dissolvido em acetonitrila e a solução foi deixada na geladeira por 12 horas, formando-se um precipitado laranja que foi filtrado sob vácuo, resultando num sólido com 64% de rendimento (101,1 mg; 0,320 mmol).

5. PARTE EXPERIMENTAL

PF: 202-204°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,23; H = 5,31; N = 8,23

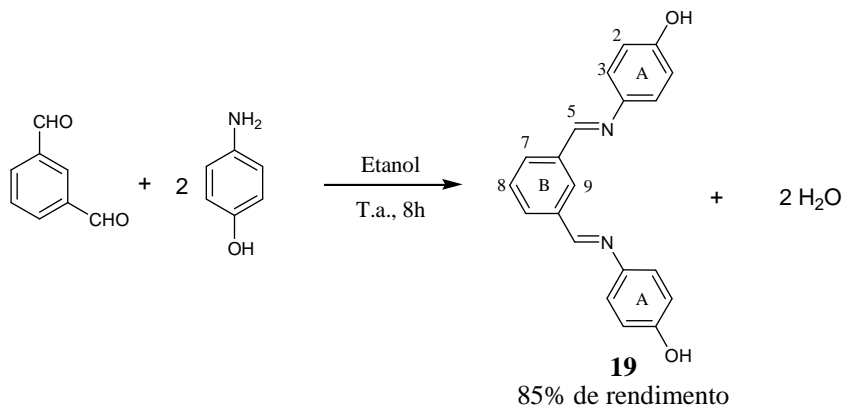
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3412 (F, L; ν O – H); 3062 e 3022 (f, a; ν C – H), 1602 (F; ν C=N), 1586-1436 (f, F; ν C=C), 1276 (F; δ O – H), 1236 (m; ν C – O), 1144-958 (f, m; δ =C – H), 850-768 (f, m; γ =C – H), 686 (m, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,75-6,69 (m, 6H); 7,25-7,18 (m, 2H); 7,66 (t, 1H, 6,9); 8,06 (d, 2H, 7,0); 8,49 (s, 1H); 8,67 (s, 2H); 9,56 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 107,96 (C-6); 111,71 (C-); 113,27 (C-4), 128,11 (C-12); 129,36 (C-10); 129,93 (C-3); 131,55 (C-9 e C-11); 136,56 (C-8); 152,58 (C-5); 158,13 (C-1); 159,77 (C-7).

5.2.2.5 Obtenção de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaldiimina



Esquema 56 – Esquema de síntese para o composto **19**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 4-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. Em seguida, o isoftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou à temperatura ambiente por 8 horas e através de CCD, observou-se o término da reação. O solvente foi removido sob pressão reduzida e sem aquecimento, com o auxílio de um rota-evaporador. O produto formado foi dissolvido em acetonitrila e reservado

5. PARTE EXPERIMENTAL

na geladeira por 8 horas, formando-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, resultando num sólido com 85% de rendimento (134,3 mg; 0,425 mmol).

PF: 220-222°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 76,05; H = 4,32; N = 9,10

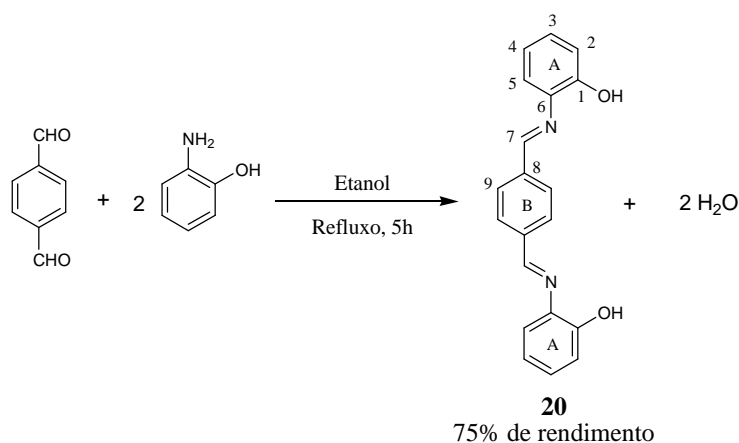
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3398 (F, L; ν O – H); 3060 e 3028 (f, a; ν =C – H), 1622 (F; ν C=N), 1604-1480 (f, m, F; ν C=C), 1242 (F; δ O – H), 1214 (m; ν C – O), 1158-974 (f, m; δ =C – H), 882-692 (f, m; γ =C – H), 834 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,83 (d, 4H, 8,6); 7,26 (d, 4H, 8,6); 7,60 (t, 1H, 7,6); 7,98 (d, 2H, 7,6); 8,44 (s, 1H); 8,70 (s, 2H); 9,56 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 115,79 (C-2 e C-6); 122,68 (C-3 e C-5); 127,41 (C-12); 129,23 (C-10); 130,65 (C-9 e C-11); 136,98 (C-8); 142,40 (C-4); 156,53 (C-1); 156,61 (C-7).

5.2.2.6 Obtenção de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)teraftaldiimina



Esquema 57 – Esquema de síntese para o composto **20**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 2-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o teraftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou sob refluxo

5. PARTE EXPERIMENTAL

por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob baixa pressão até a metade do volume inicial com o auxílio de um rotavaporador. A solução foi colocada na geladeira e após 24 horas formou-se um precipitado laranja que foi filtrado sob vácuo, com 75% de rendimento (118,5 mg; 0,375 mmol).

PF: 202-204°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,52; H = 3,07; N = 8,94

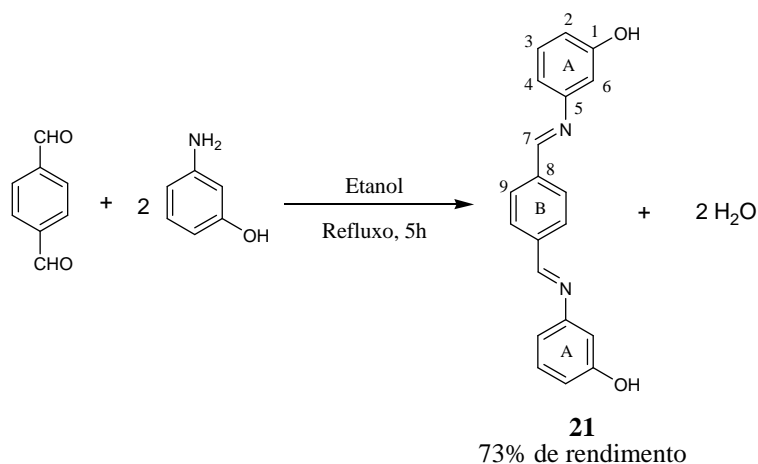
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3428 (F, L; ν O – H); 3072 e 3044 (f, a; ν =C – H), 1622 (F; ν C=N), 1588-1380 (m, F; ν C=C), 1242 (F; δ O – H), 1288 (m; ν C – O), 1150-924 (f, m; δ =C – H), 844-776 (f, m; γ =C – H), 732 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,95-6,82 (m, 4H); 7,12 (t, 2H, 7,4); 7,27 (d, 2H, 7,6); 8,17 (s, 4H); 8,80 (s, 2H); 9,10 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 116,15 (C-2); 119,13 (C-4); 119,52 (C-5); 127,79 (C-3); 129,07 (C-9); 137,62 (C-8); 138,61 (C-6); 151,45 (C-1); 158,49 (C-7).

5.2.2.7 Obtenção de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)teraftaldiimina



Esquema 58 – Esquema de síntese para o composto **21**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 3-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o teraftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi

5. PARTE EXPERIMENTAL

dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou sob refluxo por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob pressão reduzida até a metade do volume inicial com o auxílio de um rotavaporador. A solução foi colocada na geladeira e após 12 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, com 73% de rendimento (115,3 mg; 0,365 mmol).

PF: 239-241°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 75,98; H = 4,24; N = 9,10

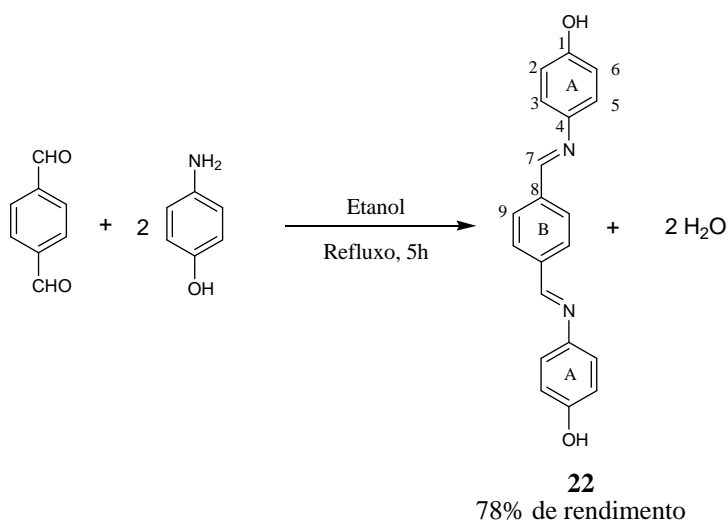
Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3430 (**m**, L; ν O – H); 3054 e 3016 (f, a; ν =C – H), 1600 (F; ν C=N), 1582-1418 (**m**, F; ν C=C), 1276 (F; δ O – H), 1240 (**m**; ν C – O), 1150-854 (f, **m**; δ =C – H), 772-680 (f, **m**; γ =C – H), 854 (**m**, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,75-6,72 (m, 6H); 7,22 (t, 2H, 7,6); 8,05 (s, 4H); 8,64 (s, 2H); 9,60 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 108,06 (C-6); 111,83 (C-2); 113,48 (C-4); 129,05 (C-9); 130,01 (C-3); 138,43 (C-8); 152,60 (C-5); 158,17 (C-1); 159,64 (C-7).

5.2.2.8 Obtenção de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina



Esquema 59 – Esquema de síntese para o composto **22**

5. PARTE EXPERIMENTAL

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo a 4-hidroxianilina (436 mg, 4,0 mmol), foram adicionados 8 mL de etanol sob agitação magnética vigorosa. A mistura foi aquecida até a total solubilização. Em seguida, o teraftalaldeído (268 mg, 2,0 mmol) foi dissolvido em 2 mL de etanol e adicionado aos poucos à reação. A mistura ficou sob refluxo por 5 horas e, após este período, observou-se o término da reação através de CCD. O solvente foi removido sob pressão reduzida até a metade do volume inicial com o auxílio de um rota-evaporador. A solução foi armazenada na geladeira e após 24 horas formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob vácuo, com 78% de rendimento (123,2 mg; 0,390 mmol).

PF: 228-230°C

CHN calculado: C = 75,93; H = 5,10; N = 8,85

CHN encontrado: C = 70,23; H = 4,01; N = 8,65

Dados espectroscópicos:

IV (cm^{-1}): 3422 (F, L; ν O – H); 3062 e 3026 (f, a; ν =C – H), 1620 (F; ν C=N), 1596-1498 (f, F; ν C=C), 1246 (F; δ O – H) 1194-888 (f, m; δ =C – H), 840-768 (f, m; γ =C – H), 826 (F, γ O – H).

RMN ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6 , δ_{H} , multiplicidade, integração, J (Hz)): 6,83 (d, 4H, 8,4); 7,27 (d, 4H, 8,2); 7,99 (s, 4H); 8,67 (s, 2H); 9,59 (s, 2H).

RMN ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6 , atribuição): 115,81 (C-2 e C-6); 122,75 (C-3 e C-5); 128,58 (C-9); 138,42 (C-8); 142,41 (C-4); 156,32 (C-1); 156,65 (C-7).

5.2.3 Determinação da atividade antifúngica *in vitro*

Todos os testes biológicos foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Microbiologia, no Instituto de Ciências Biológicas – UFMG, sob orientação da professora Maria Aparecida de Resende.

5.2.3.1 Ensaio biológico contra *Candida sp*

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo (M27-A2 do NCCLS, 2002), sendo que para o teste foram utilizados

5. PARTE EXPERIMENTAL

os fungos: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida Krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 750).

Inicialmente, os microrganismos foram repicados no meio de cultura ágar batata dextrose com uma alça de platina, ficando a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, as colônias foram suspensas em 5mL de solução salina estéril (8,5 g/mL NaCl; salina a 0,85%) e a suspensão resultante foi agitada no vórtex durante 15 segundos. A densidade celular foi ajustada com a ajuda de um espectrofotômetro acrescentando solução salina suficiente para obter a transmitância entre 75-77%, em comprimento de onda de 530nm. Este procedimento fornece uma suspensão padrão de levedura contendo 10^6 células por mL. A suspensão utilizada é produzida fazendo-se uma diluição de 1:50 seguida de uma diluição de 1:20 da suspensão padrão com meio líquido RPMI 1640, resultando numa concentração 10^5 células por mL.

Antes de ser colocado o inóculo nas microplacas, foram realizadas cinco diluições em RPMI 1640 das substâncias teste, entre as concentrações 8, 16, 32, 64 e 128 $\mu\text{g/mL}$. Destas amostras diluídas, foram adicionadas 100 μL de cada concentração num poço, sendo que todos os testes foram feitos em duplicata (Figura 27). Após a adição de 100 μL do inóculo junto às amostras, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas para a realização da leitura, sendo esta realizada visualmente. Foram também acrescentadas à microplaca: um controle de esterilidade, onde foi adicionado ao poço 200 μL de RPMI 1640, e um controle de crescimento, que foi adicionado ao poço 100 μL do inóculo e 100 μL de RPMI 1640.

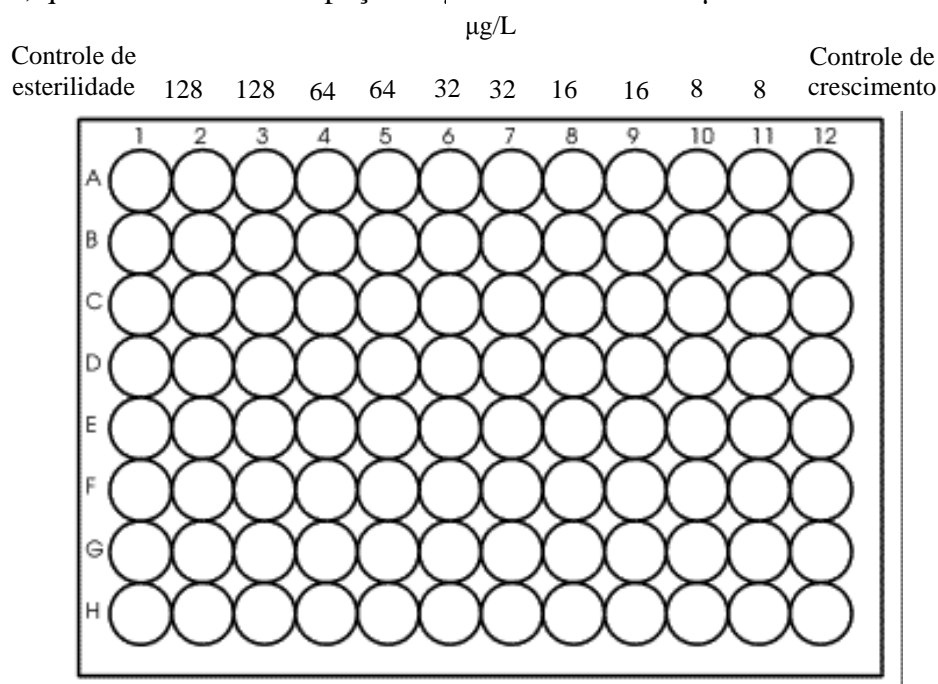


Figura 27 – Distribuição das amostras na microplaca de 96 poços

5.2.3.2 Ensaio biológico contra *Aspergillus sp*

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo para fungos filamentosos (M38-A do NCCLS, 2002), sendo que para o teste foram utilizados os fungos: *Aspergillus clavatus* (isolado clínico), *Aspergillus flavus* (isolado clínico), *Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger* (isolado clínico), *Aspergillus tamari* (isolado clínico).

O ensaio biológico *in vitro* para as espécies de *Aspergillus* é muito parecido com o de *Candida*, porém os microrganismos foram repicados no meio de cultura ágar batata dextrose com uma alça de platina, ficando a 35°C por 7 dias. Após o período de incubação, as colônias foram suspensas em 1mL de solução salina estéril a 0,85% e acrescentou-se uma gota de Tween 20. A mistura resultante foi retirada e transferida para um tubo de ensaio estéril. Após 3 a 5 minutos, as partículas mais pesadas se depositaram no fundo e a suspensão foi transferida novamente para outro tubo estéril, que foi agitada no vórtex durante 15 segundos. A densidade celular foi ajustada com a ajuda de um espectrofotômetro acrescentando solução salina suficiente para obter a transmitância entre 80-82%, em comprimento de onda de 530nm. A suspensão utilizada foi produzida fazendo-se uma diluição de 1:50 com o meio líquido RPMI 1640, resultando numa concentração de 10⁴ células por mL.

As diluições das amostras e a distribuição dos inóculos nas microplacas foram feitas da mesma forma que para as espécies de *Candida* (Figura 27, p. 78). E as placas também ficaram incubadas a 35°C por 48 horas para a realização da leitura que foi realizada visualmente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, S. M.; MOHAMED, G. G.; ZAYED, M. A.; EL-ELA, M. S. A. *Spectrochimica Acta (Part A)* (2009), 73, 833-840.

ALI, P.; MESHAM, J.; TIWARI, V.; DONGRE, R.; SHEIKH, J.; AHMED, M. *Der Pharma Chemica* (2010), 2, 138-147.

AMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. *Purification of Laboratory Chemicals*, (2003), 5ª Edição, Ed. Butterworth Heinemann Press.

ANDERSON, J. B. *Nature Reviews (Microbiology)* (2005), 3, 547-556.

ARNÁIZ, F. J. *Journal of Chemical Education* (1995), 72, 1139.

BAKER, A. W.; SHULGIN, A. T. *Journal American Chemical Society* (1958), 81, 1523-1529.

BARBOSA, L. C. A. *Espectroscopia no Infravermelho* (2007), Editora UFV.

BHARTI, S. K.; NATH, G.; TILAK, R.; SINGH, S. K. *European Journal of Medicinal Chemistry* (2010), 45, 651-660.

BOSSOLAN, N. R. S. *Introdução à microbiologia (USP-Instituto de Física de São Carlos)* (2002).

CAMPBELL, E. J.; NGUYEN, S. T. *Tetrahedron Letters* (2001), 42, 1221-1225.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. *Advanced Organic Chemistry / Part A: Structure and Mechanisms* (2007), 5ª Edição, Ed. Oxford University Press, 645-653.

CAREY, F.A. *Organic Chemistry* (2000), 4ª Edição, Ed. McGraw Hill, 881-882.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAVALHEIRO, R. A. Dissertação: “*Estudo de metabolismo de energia em leveduras de interesse médico*” (2003).

CHEN, Y.; LIU, C.; LU, J.; KING, C. R.; HSUEH, P. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2009), 64, 1226-1229.

CHITANDA, J. M.; PROKOPCHUK, D. E.; QUAIL, J. W.; FOLEY, S. R. *Organometallics* (2008), 27, 2337-2345.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic Chemistry* (2000), 1ª Edição, Ed. Oxford, 108-356.

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. *Substâncias Carboniladas e Derivados* (2003), Ed. Bookman.

CREAVEN, B. S.; DEVEREUX, M.; KARCZ, D.; KELLETT, A.; MCCANN, M.; NOBLE, A.; WALSH, M. *Journal of Inorganic Biochemistry* (2009), 103, 1196-1203.

DA SILVA, R. R.; COELHO, G. D. *Fungos: Principais grupos e aplicações biotecnológicas (Instituto de Botânica-SP)* (2006).

DEAN, E. W.; STARK, D. D. *Industrial and Engineering Chemistry* (1920), 12, 486-490.

ESTEVES-SOUZA, A.; ECHEVARRIA, A.; SANT'ANNA, C. M. R.; NASCIMENTO, M. G. *Química Nova* (2004), 27, 72-75.

FATIBELLO-FILHO, O.; DOCKAL, E. R.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; TEIXEIRA, M. F. S. *Analytical Letters* (2007), 40, 1825-1852.

FUNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G; TATCHELL, A. R *Vogel's Textbook of Practical Organica Chemistry* (1989), 5ª Edição, Ed. Longman Scientific & Technical: New York, 601-782.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GANJALI, M. R.; MOGHADDAMB, M. R.; NOROUZI, P.; SHIRYANI-ARANI, S.; DANESHGAR, P.; ADIB, M.; SOBHI, H. R. *Analytical Letters* (2006), 39, 683-695.

GIBSON, V. C.; REDSHAW, C.; SOLAN, G. A. *Chemical Reviews* (2007), 107, 1745-1776.

HOSHINO, N.; INABE, T.; MITANI, T.; MARUYAMA, Y. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* (1988), 61, 4207-4214.

JÚNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. *Química Nova* (2006), 29, 326-337.

KARTHIKEYAN, M. S.; PRASAD, D. J.; POOJARY, B.; BHAT, K. S.; HOLLA, B. S.; KUMARI, N. S. *Bioorganic Medicinal Chemistry* (2006), 14, 7482-7489.

KHANDAR, A. A.; SHAABANI, B.; BELAJ, F.; BAKHTIARI, A. *Inorganica Chimica Acta* (2007), 360, 3255-3264.

KIVIRANTA, P. H.; LEPPÄNEN, J.; KYRYLENKO, S.; SALO, H. S.; LAHTELA-KAKKONEN, M.; TERVO, A. J.; WITTEKINDT, C.; SUURONEN, T.; KUUSISTO, E.; JÄRVINEN, T.; SALMINEN, A.; POSO, A.; WALLÉN, E. A. A. *Journal of Medicinal Chemistry* (2006), 49, 7907-7911.

KLEIJ, A. W. *Dalton Transactions* (2009), 4635-4639.

KOWALCZYK, R.; KWIATKOWSKI, P.; EWSKI, J. S.; JURCZAK, J. *Journal of Organic Chemistry* (2009), 74, 753-756.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. *Revista Brasileira de Farmacologia* (2006), 16, 197-201.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. *Química Nova* (2004), 27, 670-673.

LOYOLA, A. B. A. T. Tese: “Avaliação da suscetibilidade de *Aspergillus ssp* e *Fusarium ssp* a antifúngicos por microdiluição em caldo e sistema de monitorização de crescimento de hifas (Biocell-Tracer®)” (2006).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock* (2004), 10ª Edição, Ed. Pearson, Capítulo 21.

MAI, A.; MASSA, S.; LAVU, S.; PEZZI, R.; SIMEONI, S.; RAGNO, R.; MARIOTTI, F. R.; CHIARI, F.; CAMILLONI, G.; SINCLAIR, D. A. *Journal of Medicinal Chemistry* (2005), 48, 7789-7795.

MAN, W.; KWONG, H.; LAM, W. W. Y.; XIANG, J.; WONG, T.; LAM, W.; WONG, W.; PENG, S.; LAU, T. *Inorganic Chemistry* (2008), 47, 5936-5944.

MARTINEZ, R. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* (2006), 32, 449-460.

MARTINS, C. V. B.; DA SILVA, D. L.; NERES, A. T. M.; MAGALHÃES, T. F. F.; WATANABEL, G. A.; MODOLO, L. V.; SABINO, A. A.; DE FÁTIMA, A.; RESENDE, M. A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2009), 63, 337-339.

MASUOKA, J. *Clinical Microbiology Reviews* (2004), 17, 281-310.

MÉTODO DE REFERÊNCIA PARA TESTES DE DILUIÇÃO EM CALDO PARA A DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE LEVEDURAS À TERAPIA ANTIFÚNGICA (2002), M27-A2 do NCCLS, 22 (15).

MÉTODO DE REFERÊNCIA PARA TESTES DE DILUIÇÃO EM CALDO PARA A DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE A TERAPIA ANTIFÚNGICA DOS FUNGOS FILAMENTOSOS (2002), M38-A do NCCLS, 22 (16).

MILLER, J. A.; GROSS, B. A.; ZHURAVEL, M. A.; JIN, W.; NGUYEN, S. T. *Angewandte Chemie International Edition* (2005), 44, 3885-3889.

MORMANN, W.; BRÖCHEC, M.; SCHWARZ, P. *Macromolecular Chemistry and Physics* (1997), 198, 3615-3624.

NAIK, P. U.; MCMANUS, G. J.; ZAWOROTKO, M. J.; SINGER, R. D. *Dalton Transactions Communication* (2008), 4834-4836.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NGUYEN, M. H.; YU, C. Y. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy* (1998), 42, 471-472.

ODENKIRK, W.; RHEINGOLD, A. L.; BOSNICH, B. *Journal American Chemical Society* (1992), 114, 6392-6398.

PATEL, N. H.; PATEL, K. M.; PATEL, K. N.; PATEL, M. N. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* (2001), 31, 1031-1039.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. *Microbiologia conceitos e aplicações* (1996), V 1, 2ª Edição, Ed. Makron Books, 124-135.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. *Microbiologia conceitos e aplicações* (1996), V 2, 2ª Edição, Ed. Makron Books, 124-271.

PFALLER, M. A.; BOYKEN, L.; HOLLIS, R. J.; MESSER, S. A.; TENDOLKAR, S., DIEKEMA, D. J. *Journal of Clinical Microbiology* (2005), 43, 3807-3810.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. *Journal of Clinical Microbiology* (2004), 42, 4419-4431.

PN-DST/AIDS/Ministério da Saúde, *Técnica de Coloração de Gram* (2001).

ROGERS, T. R. *International Journal of Antimicrobial Agents* (2006), 27S, S7-S11.

SELLARAJAH, S.; LEKISHVILI, T.; BOWRING, C.; THOMPSETT, A. R.; RUDYK, H.; BIRKETT, C. R.; BROWN, D. R.; GILBERT, I. H. *Journal of Medicinal Chemistry* (2004), 47, 5515-5534.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos* (2007), 7ª Edição, Ed. LTC.

TIDWELL, M. *Angewandte Chemie International Edition* (2008), 47, 1016-1020.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

TROFA, D.; GÁCSEK, A.; NOSANCHUK, J. D. *Clinical Microbiology Reviews* (2008), 21, 606-625.

VERÇOZA, G. L.; FEITOZA, D. D.; ALVES, A. J.; DE AQUINO, T. M.; DE LIMA, J. G. *Química Nova* (2009), 32, 1405-1410.

WAN, J.; GAN, S.; WU, J.; PAN, Y. *Green Chemistry* (2009), 11, 1633-1637.

<http://atlas.medmicro.info/index.php?Jazyk=en&sekce=4&podsekce=53> (acessado em 03/01/2011)

http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/miller_melo/ (acessado em 03/01/2011)

7. ANEXOS

7.1 ESPECTROS

7.1.1 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 1

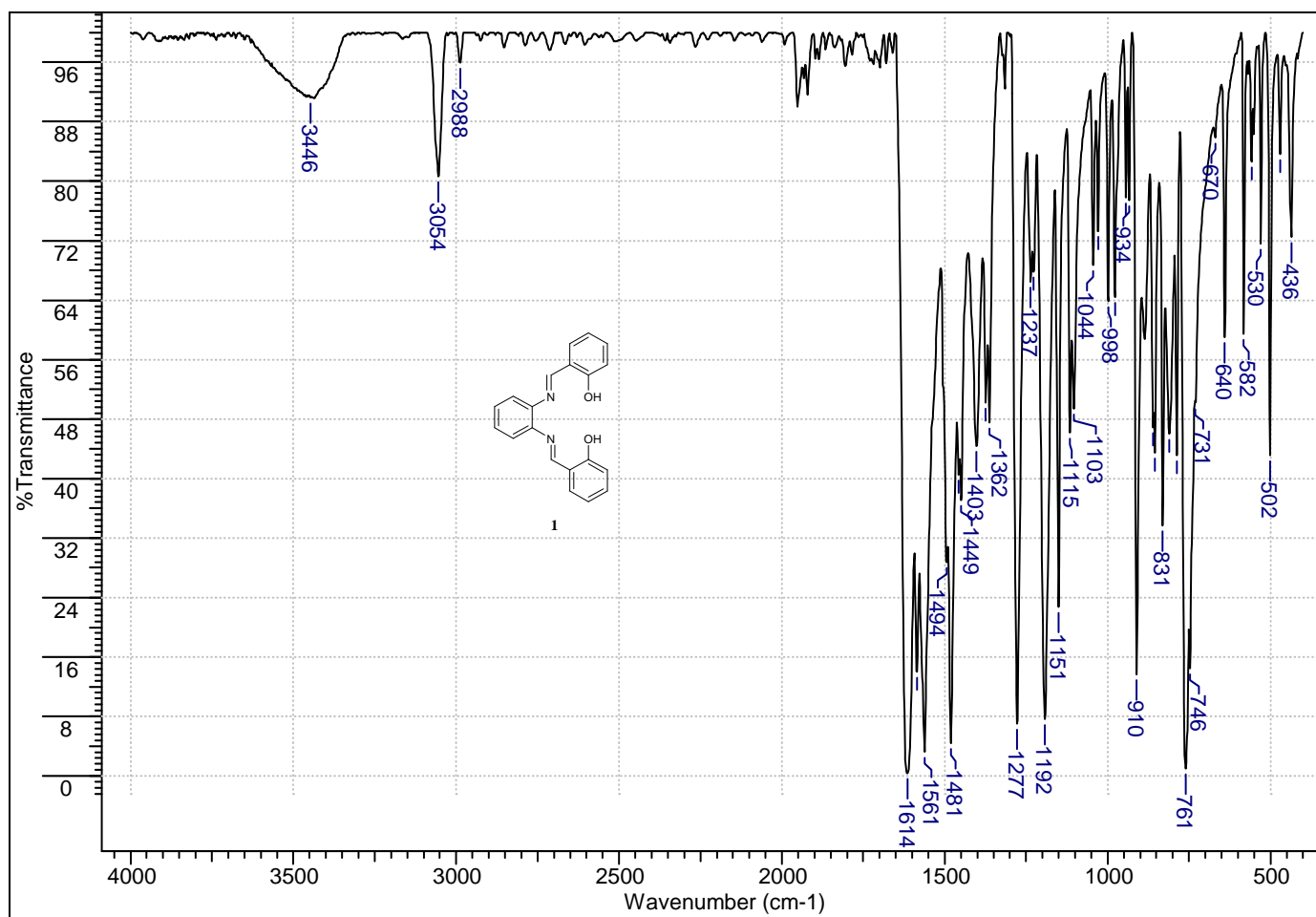
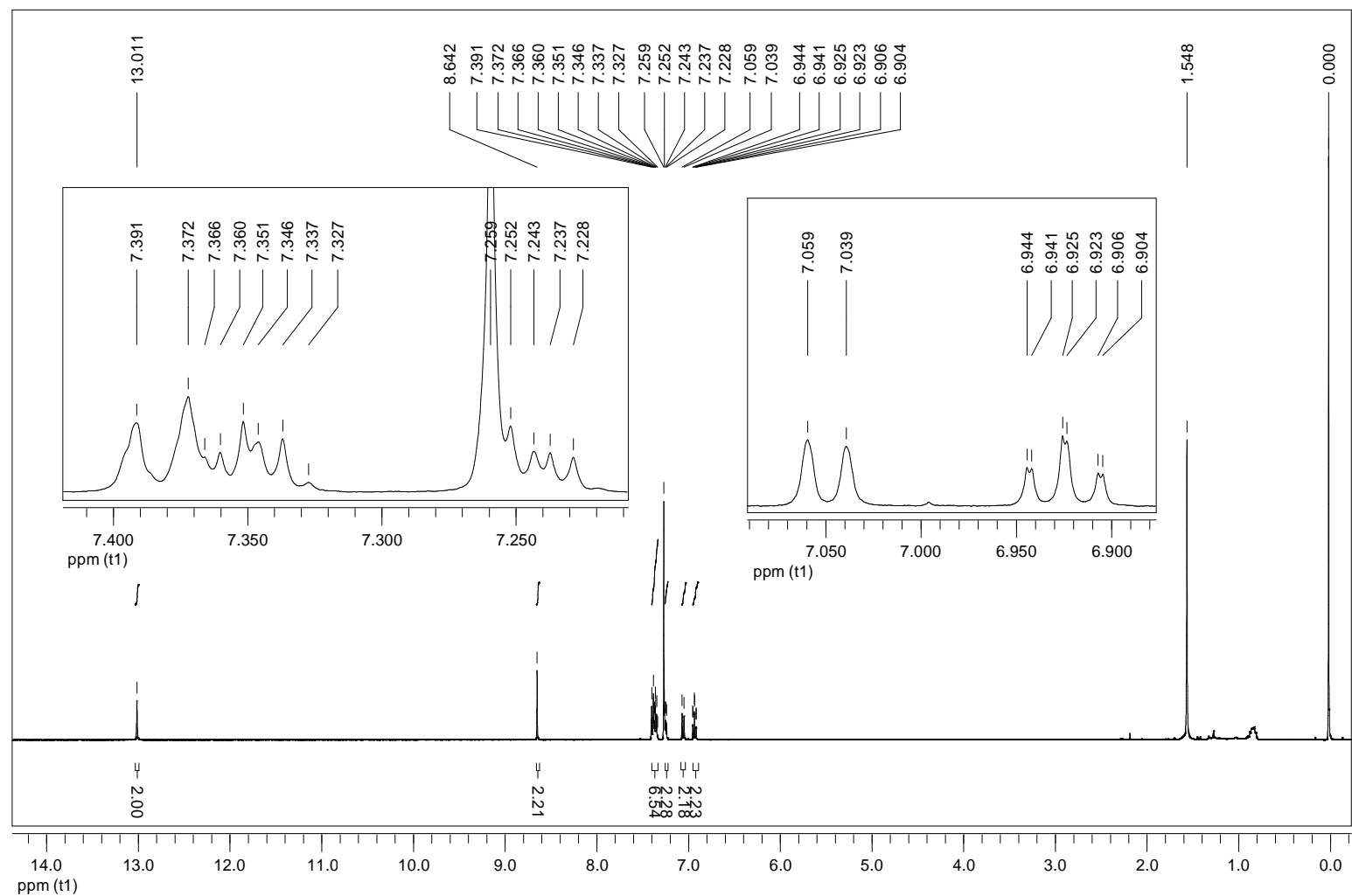
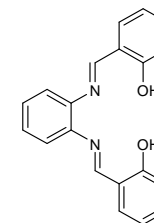


Figura 28 – Espectro de infravermelho do composto 1 pastilhado com KBr



Frequency (MHz):
(f1) 400.132
Original Points Count:
(f1) 32768
Actual Points Count:
(f1) 65536
Acquisition Time (sec):
(f1) 3.9584
Spectral Width (ppm):
(f1) 20.689
Pulse Program:
ZG30
Temperature:
300
Number of Scans:
16
Acq. Date:
Mon Dec 21 10:34:59 AM

**1****Figura 30** – Espectro de RMN de ^1H do composto **1** em CDCl_3

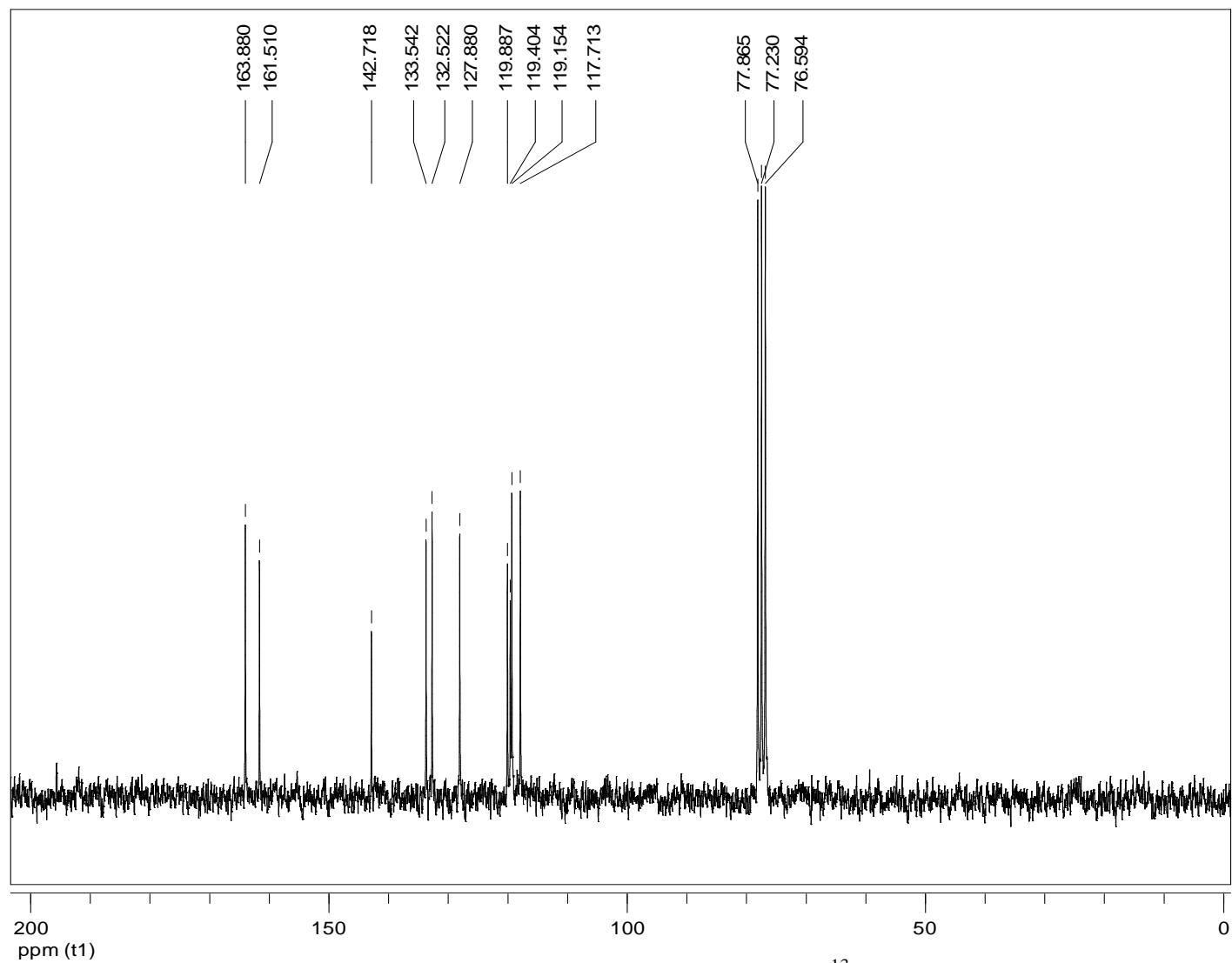
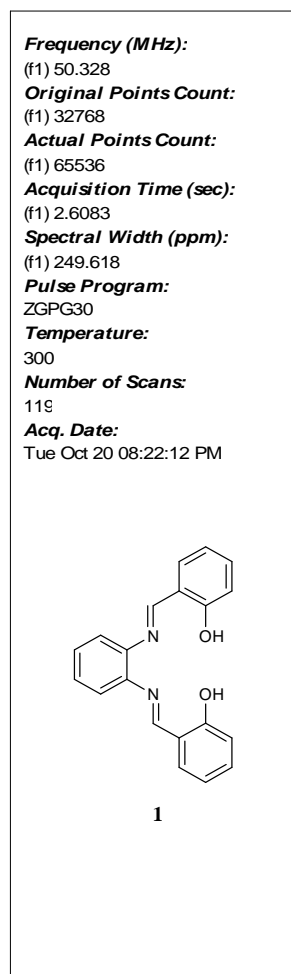


Figura 31 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** em CDCl_3



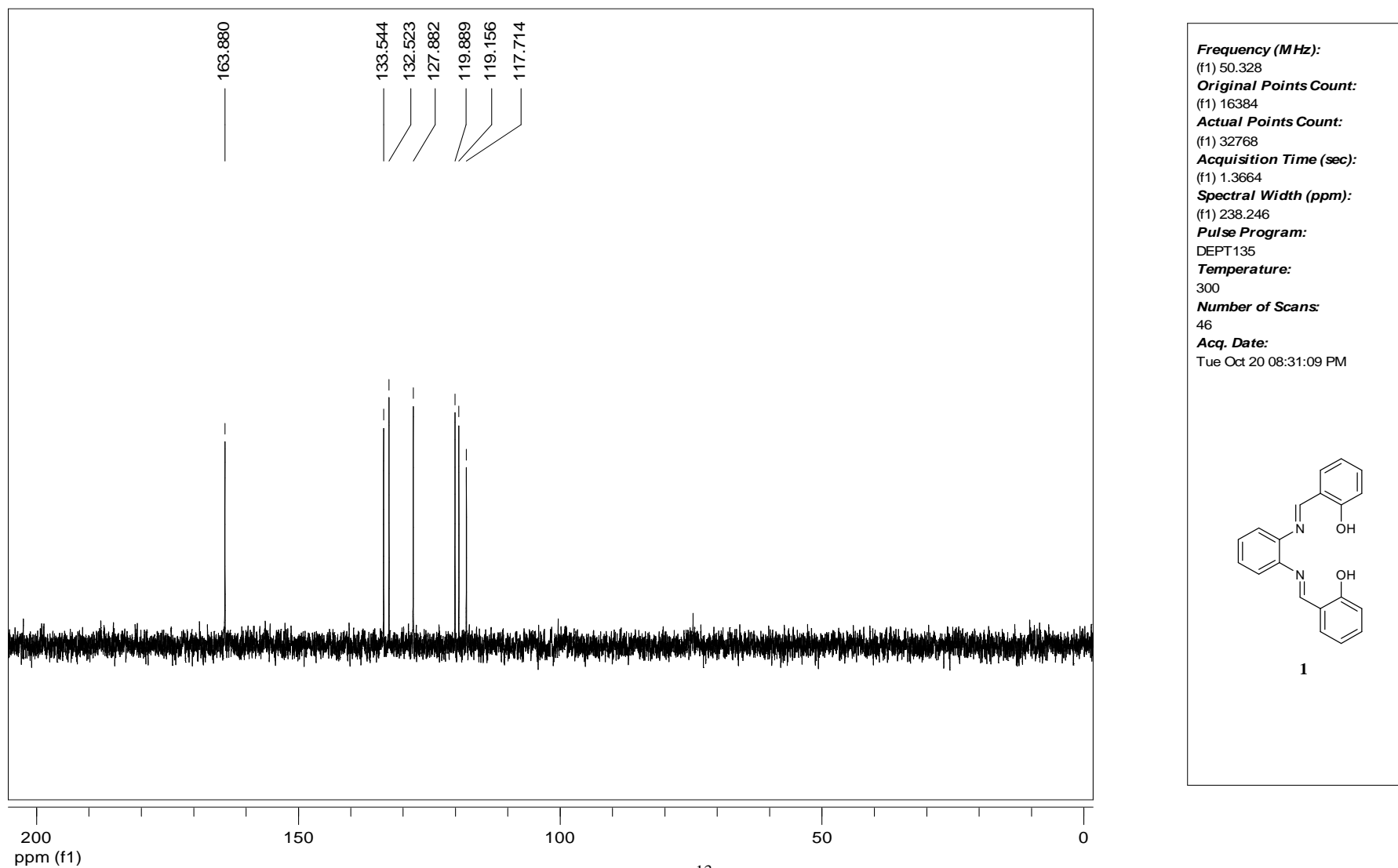


Figura 32 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **1** em CDCl_3

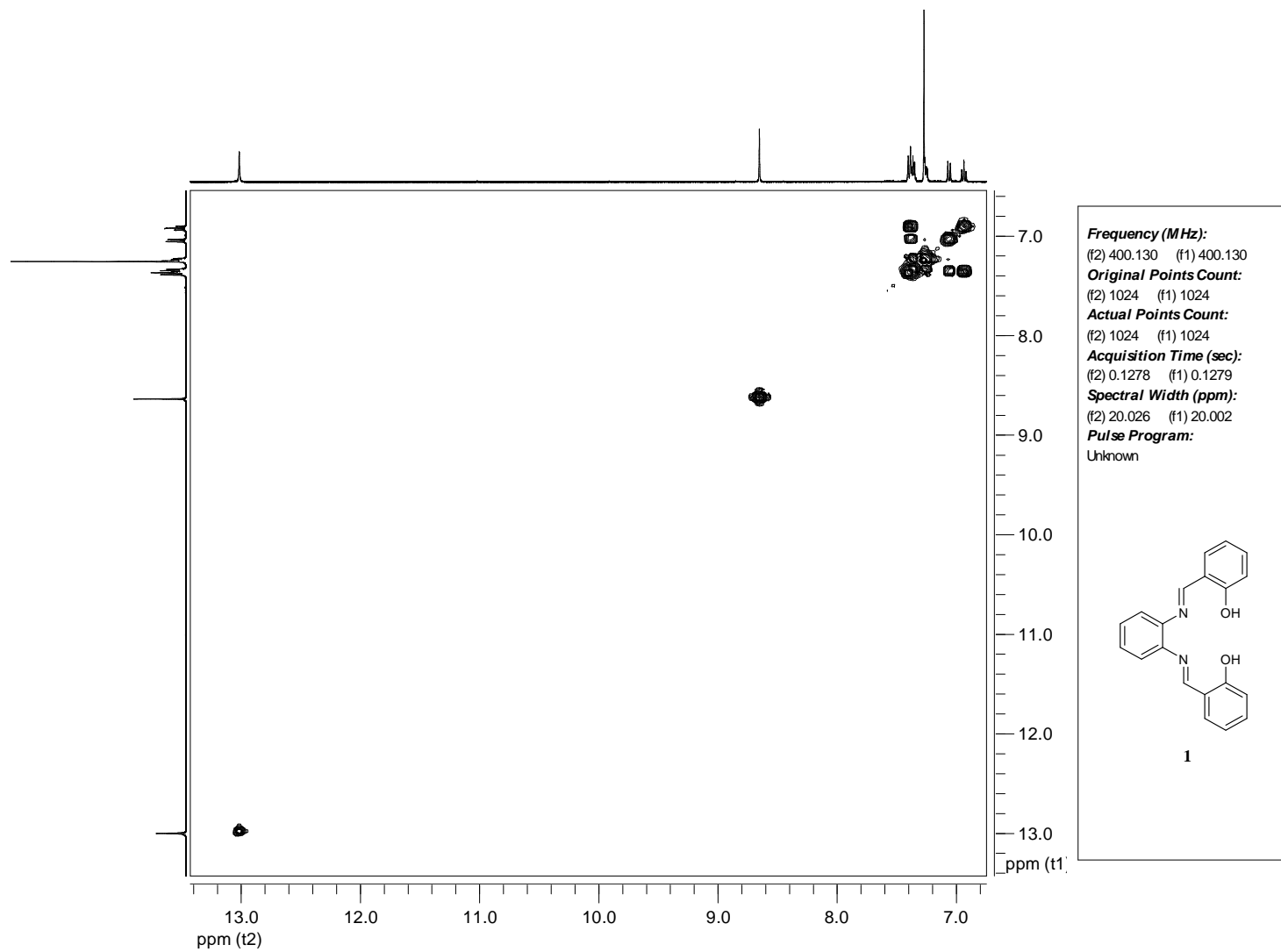


Figura 33 – Mapa de contornos COSY do composto **1** em CDCl_3

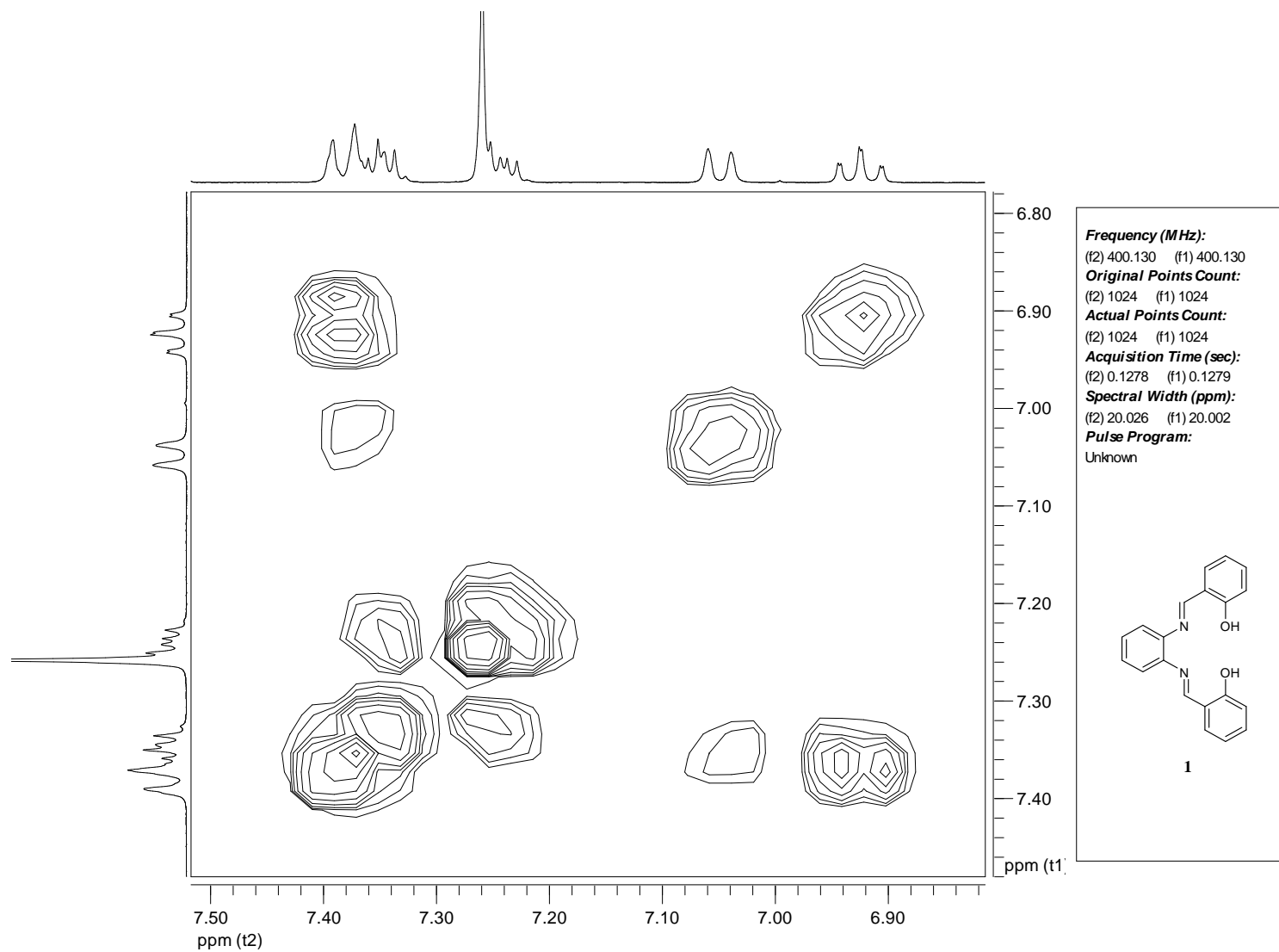


Figura 33' – Mapa de contornos COSY do composto **1** em CDCl_3

7.1.2 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 2

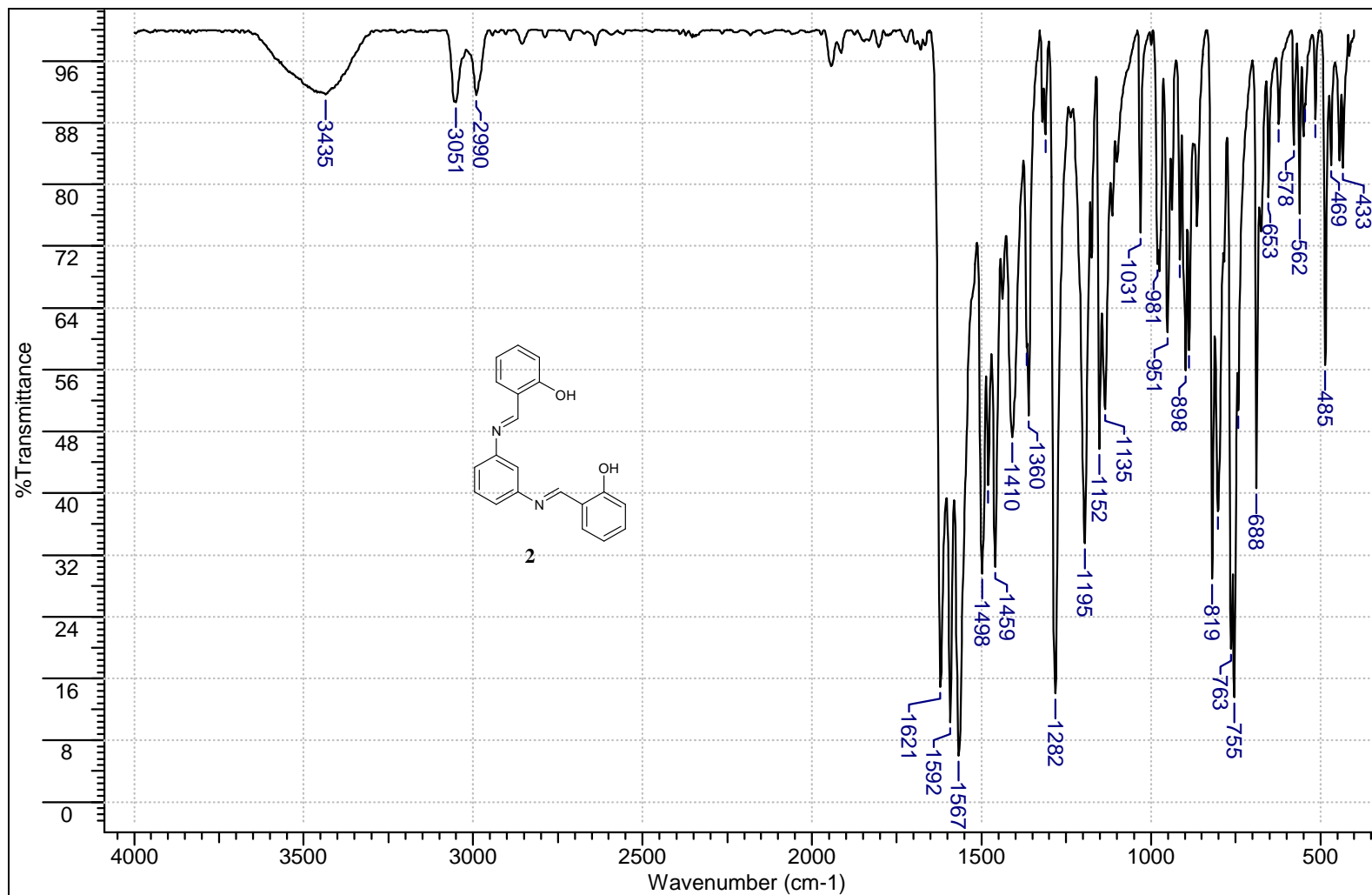
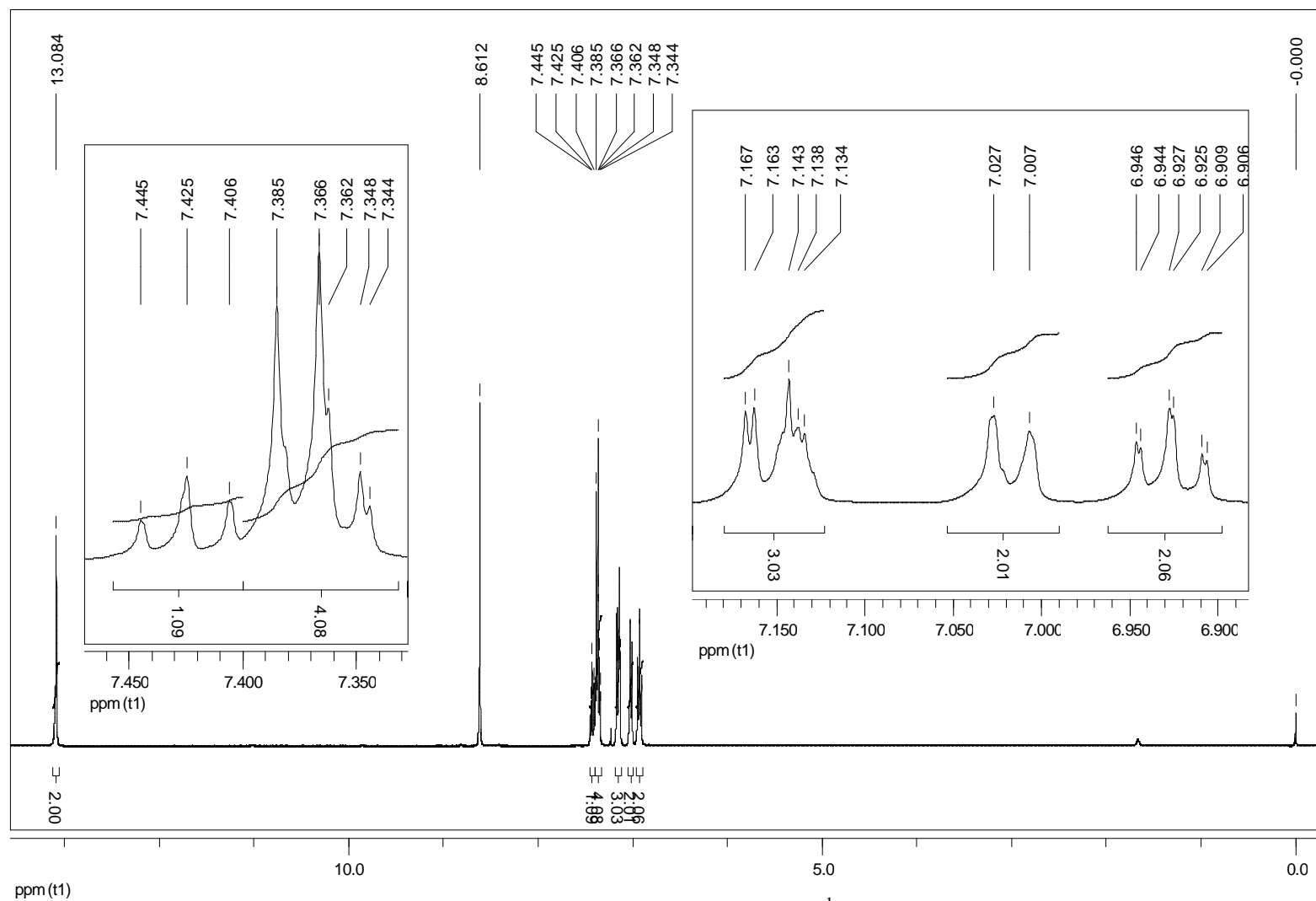


Figura 34 – Espectro de infravermelho do composto 2 pastilhado em KBr



Frequency (MHz).
 (f1) 400.132
Original Points Count.
 (f1) 32768
Actual Points Count.
 (f1) 65536
Acquisition Time (sec).
 (f1) 3.9584
Spectral Width (ppm).
 (f1) 20.689
Pulse Program.
 zg30
Temperature.
 30C
Number of Scans
 16
Acq. Date
 Mon Dec 21 10:18:39 AM

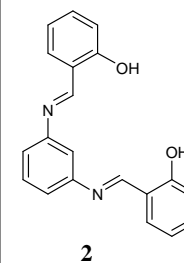


Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H do composto 2 em CDCl_3

7. ANEXOS

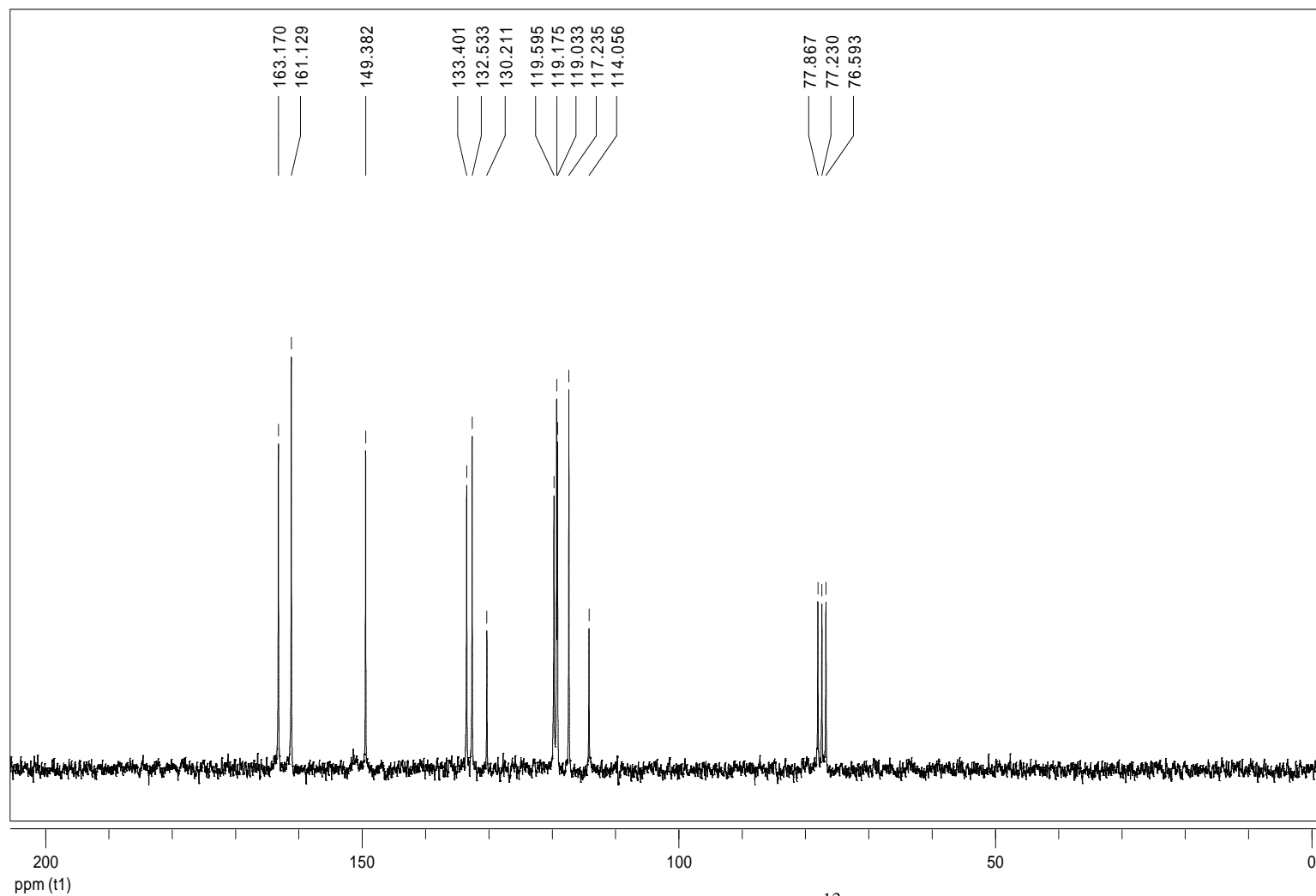
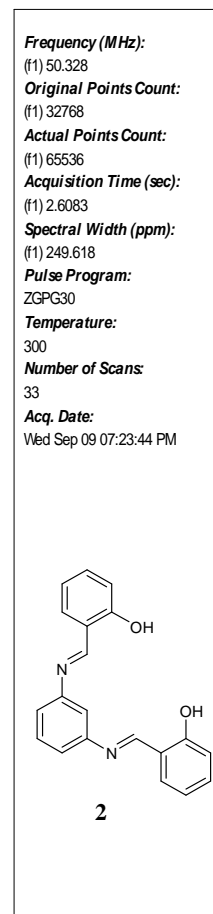


Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **2** em CDCl_3



7. ANEXOS

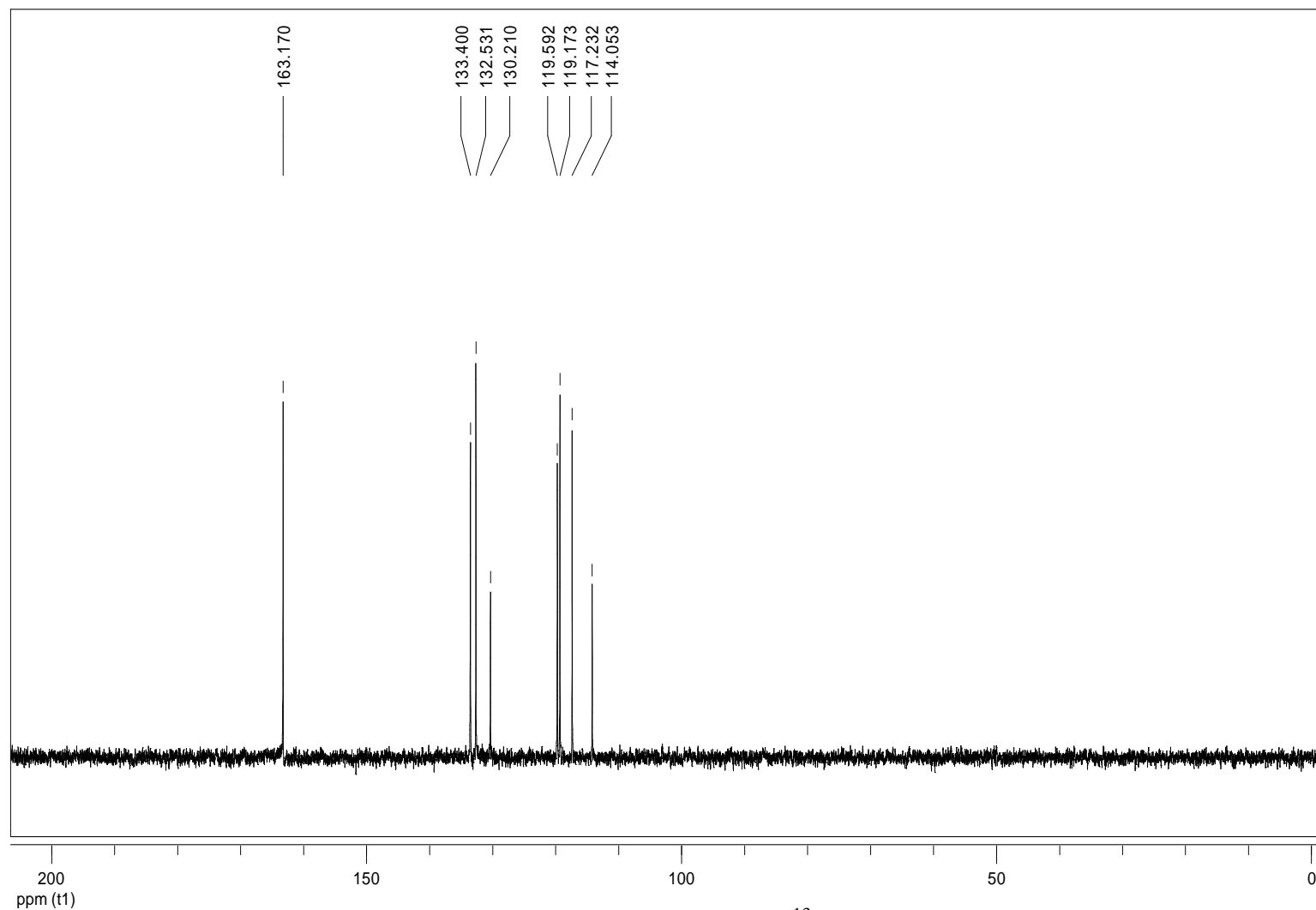
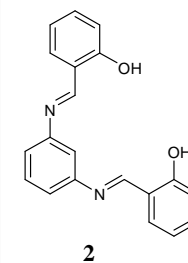


Figura 37 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **2** em CDCl_3

Frequency (MHz):
 (f1) 50.328
Original Points Count:
 (f1) 16384
Actual Points Count:
 (f1) 32768
Acquisition Time (sec):
 (f1) 1.3664
Spectral Width (ppm):
 (f1) 238.246
Pulse Program:
 DEPT135
Temperature:
 300
Number of Scans:
 13
Acq. Date:
 Wed Sep 09 07:25:58 PM



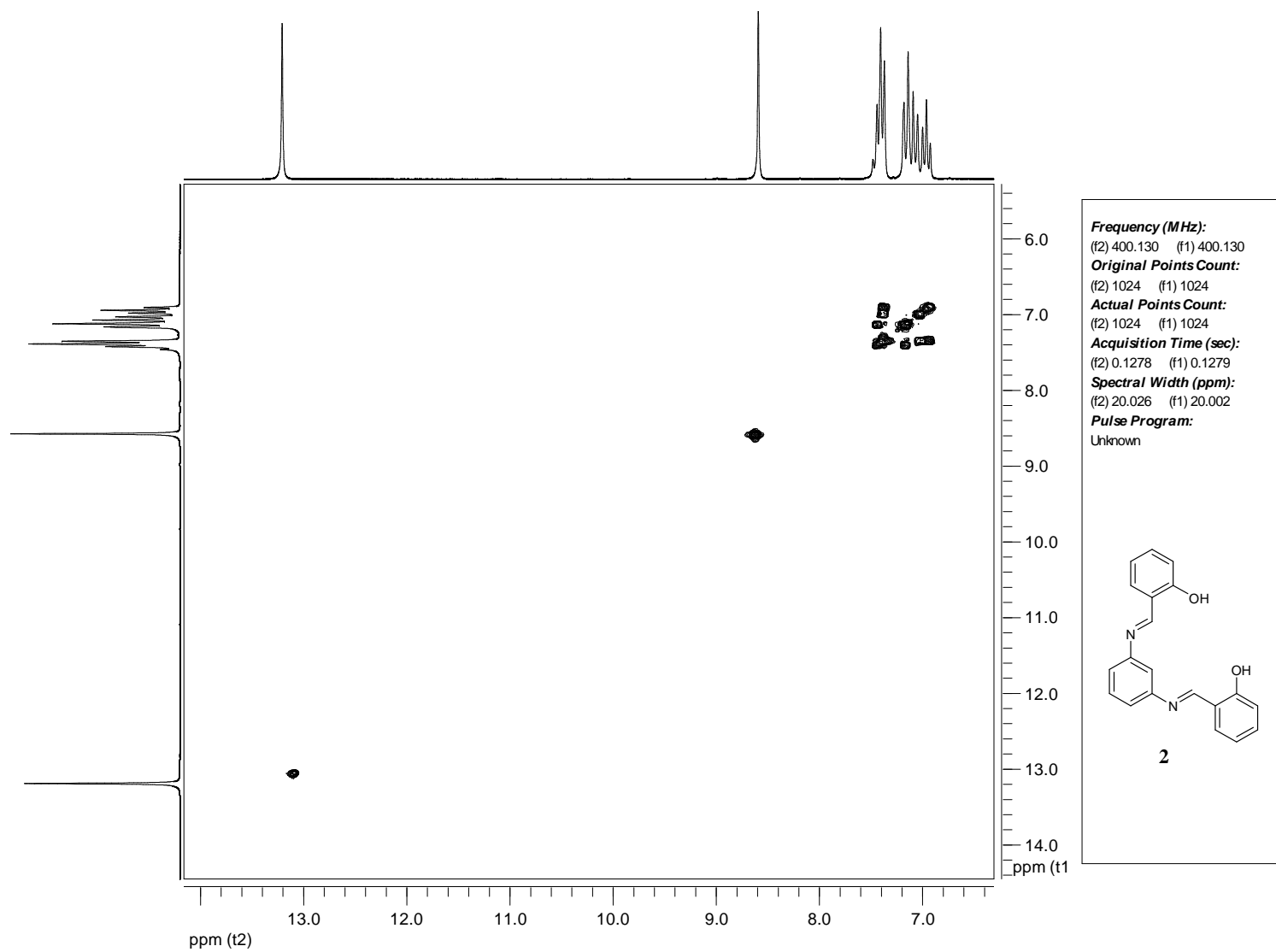


Figura 38 – Mapa de contornos COSY do composto **2** em CDCl_3

7.1.3 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 3

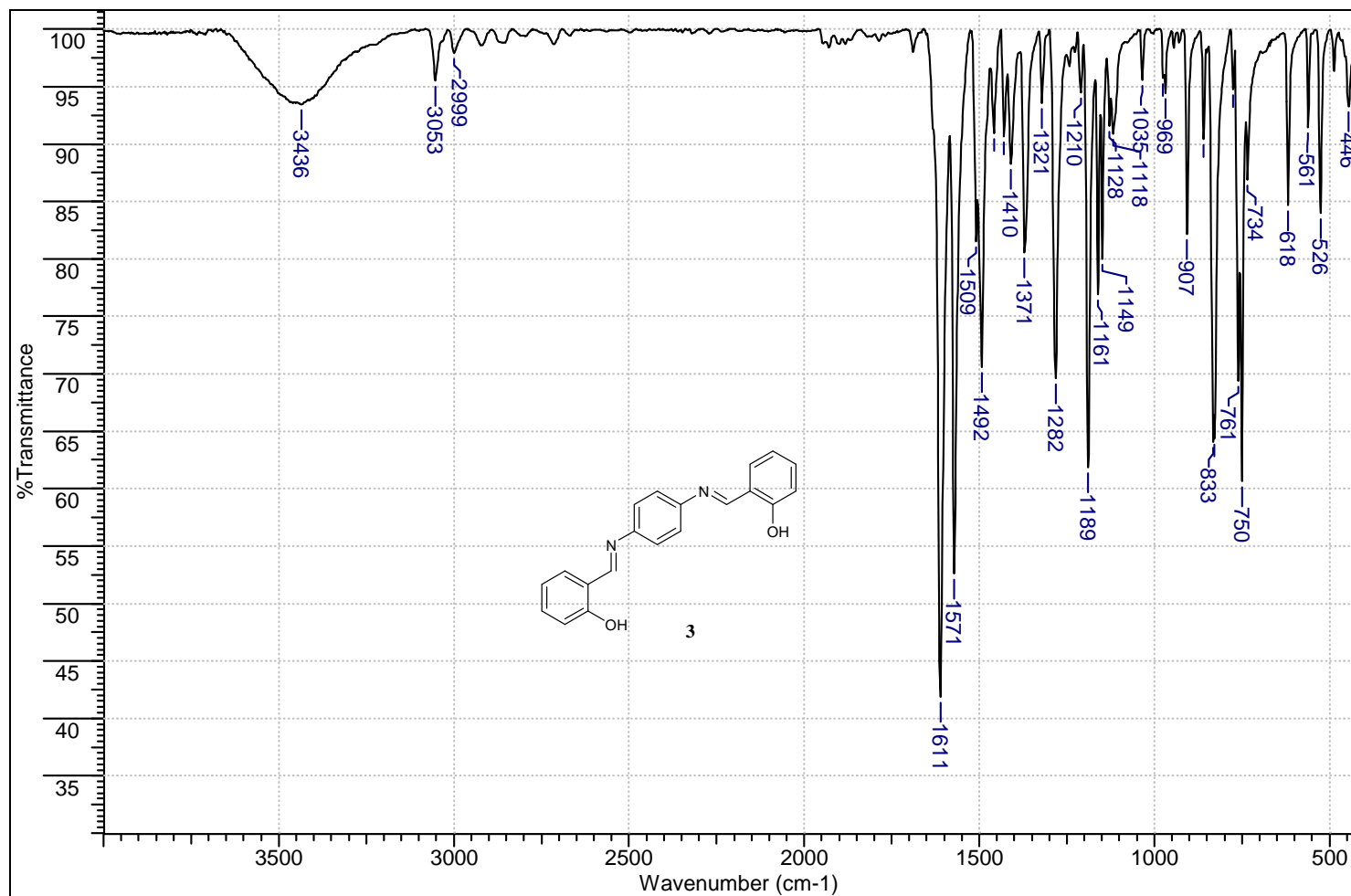
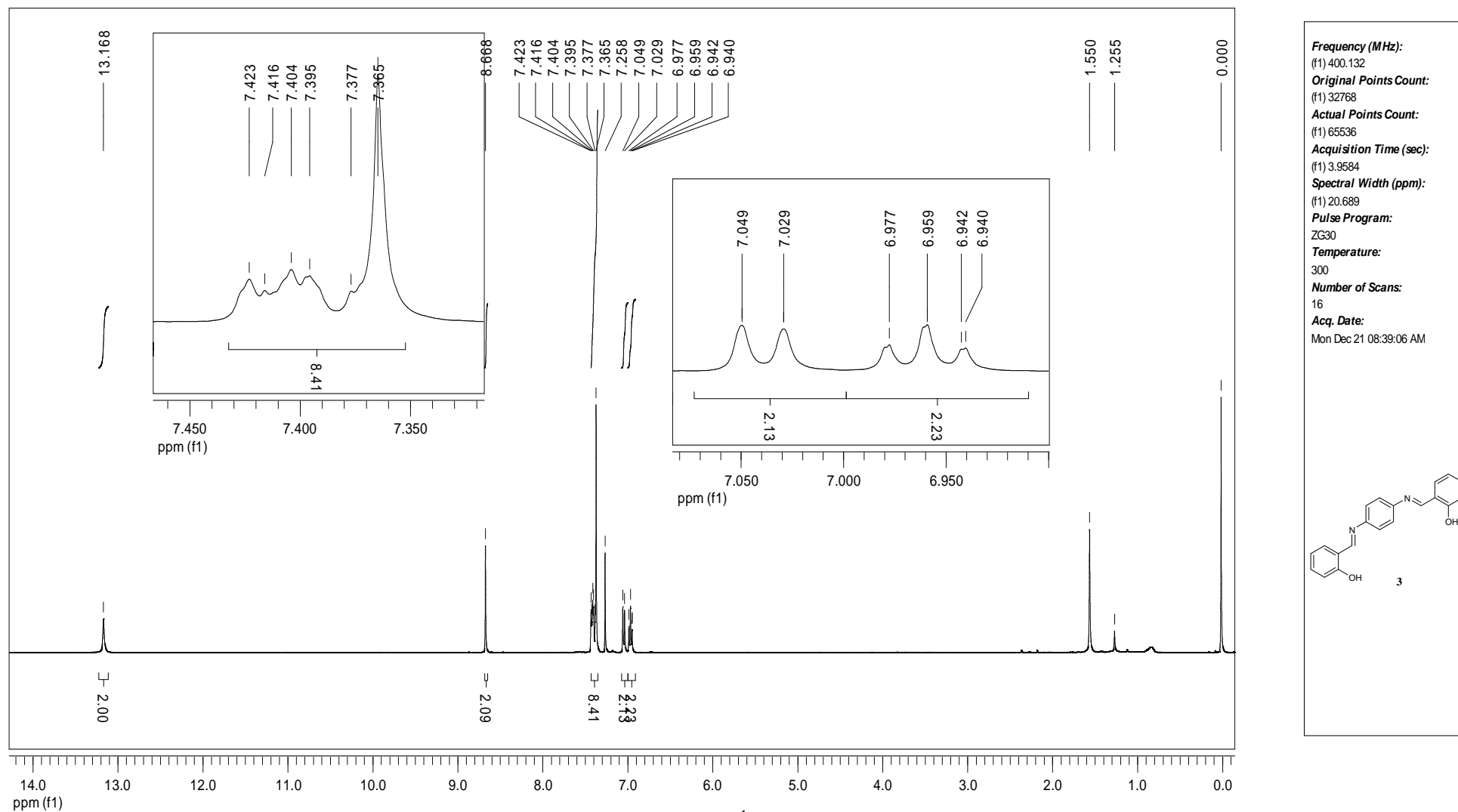


Figura 39 – Espectro de infravermelho do composto 3 pastilhado em KBr

Figura 40 – Espectro de RMN de ^1H do composto **3** em CDCl_3

7. ANEXOS

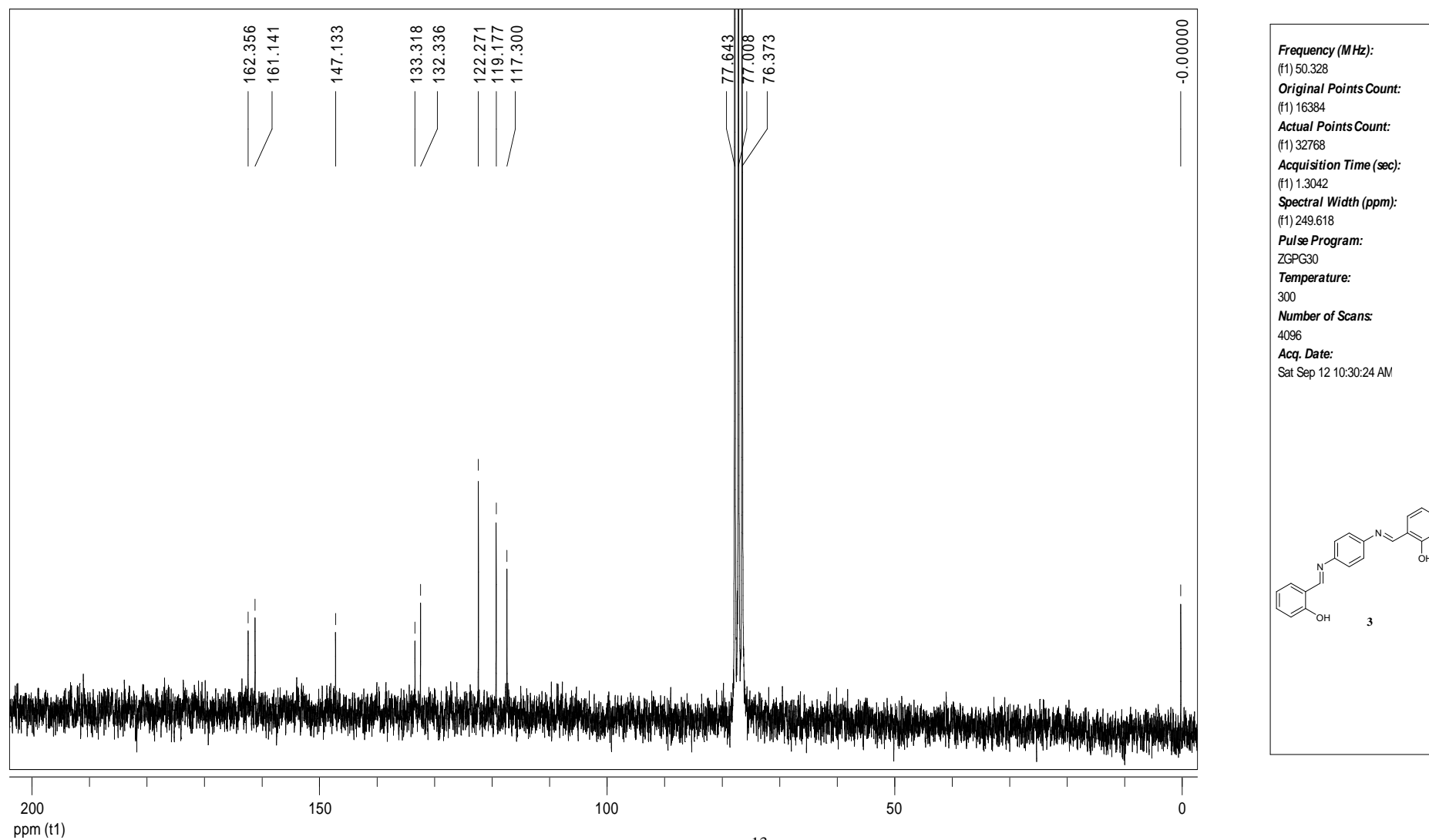


Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** em CDCl_3

7. ANEXOS

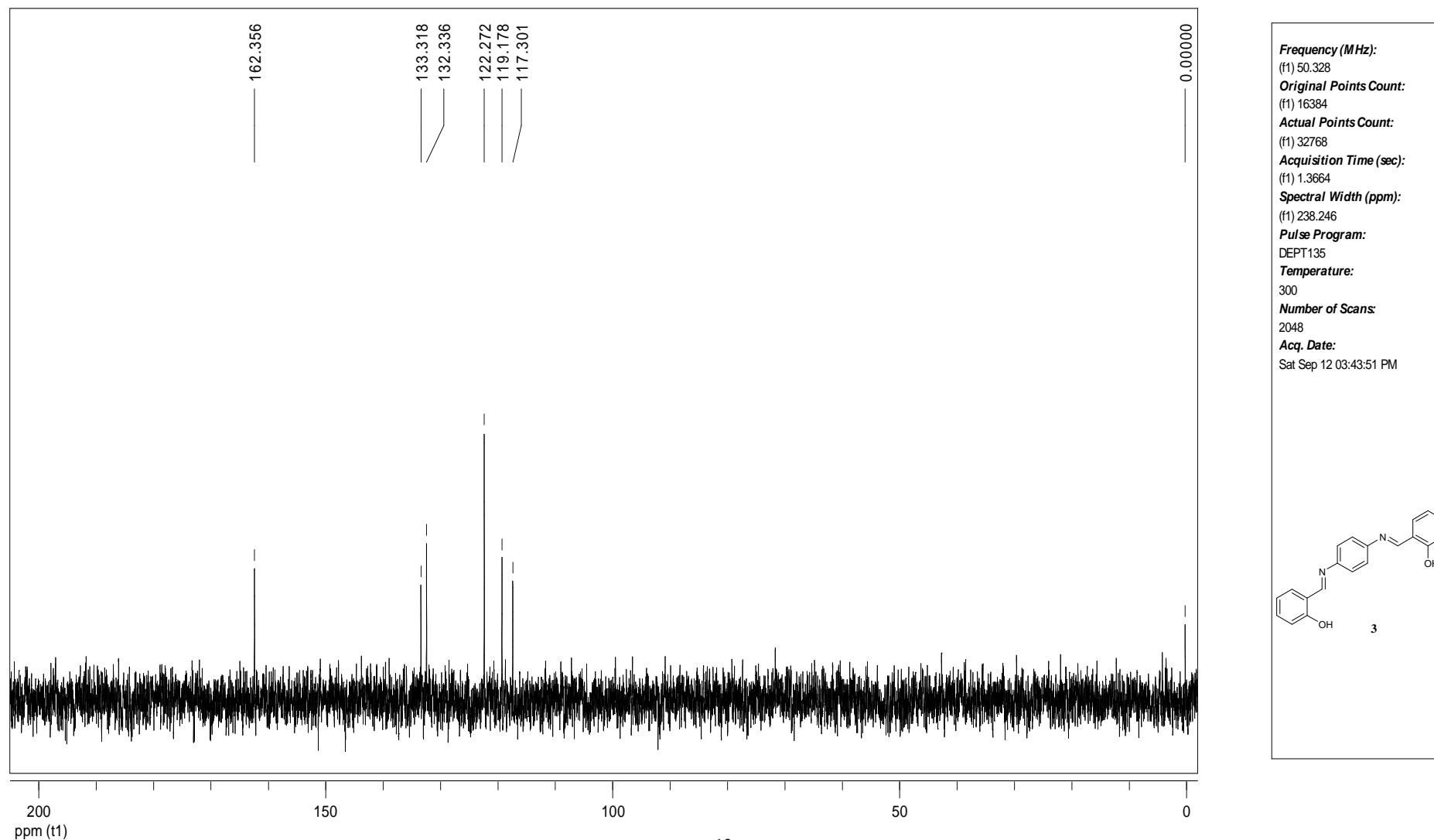


Figura 42 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **3** em CDCl_3

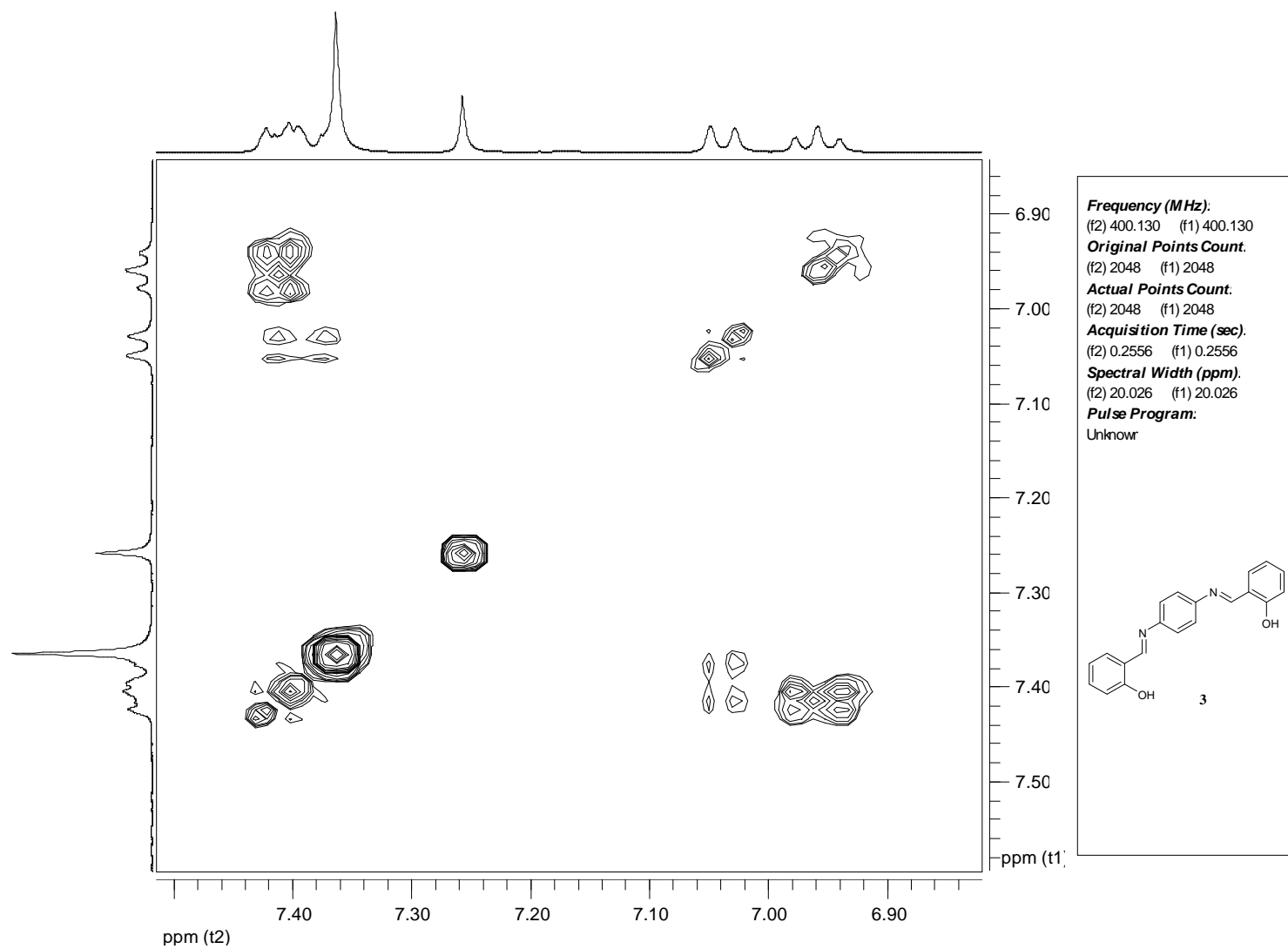


Figura 43 – Mapa de contornos COSY do composto 3 em CDCl₃

7.1.4 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 10

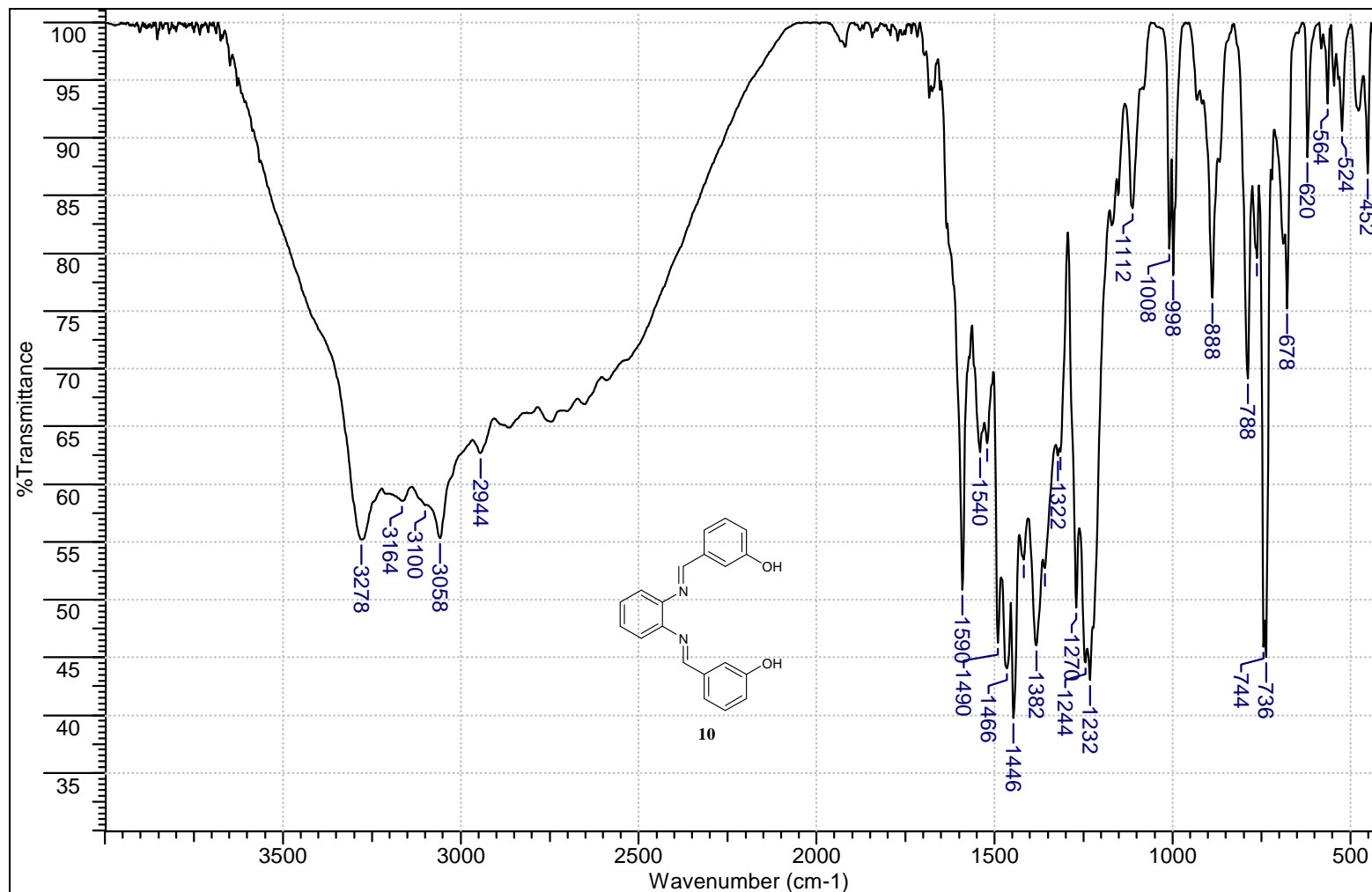


Figura 44 – Espectro de infravermelho do composto 10 pastilhado em KBr

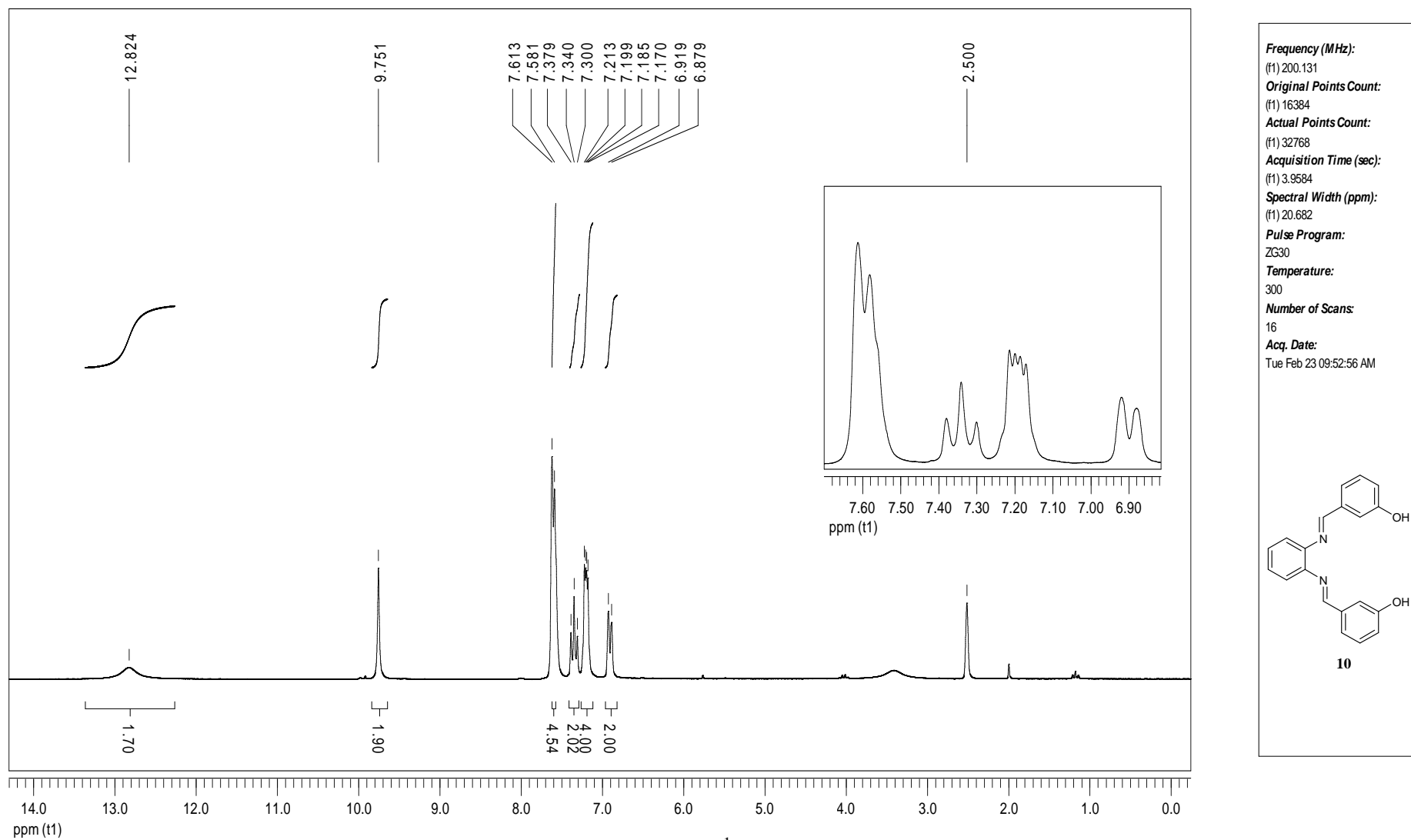


Figura 45 – Espectro de RMN de ^1H do composto **10** em DMSO-d_6

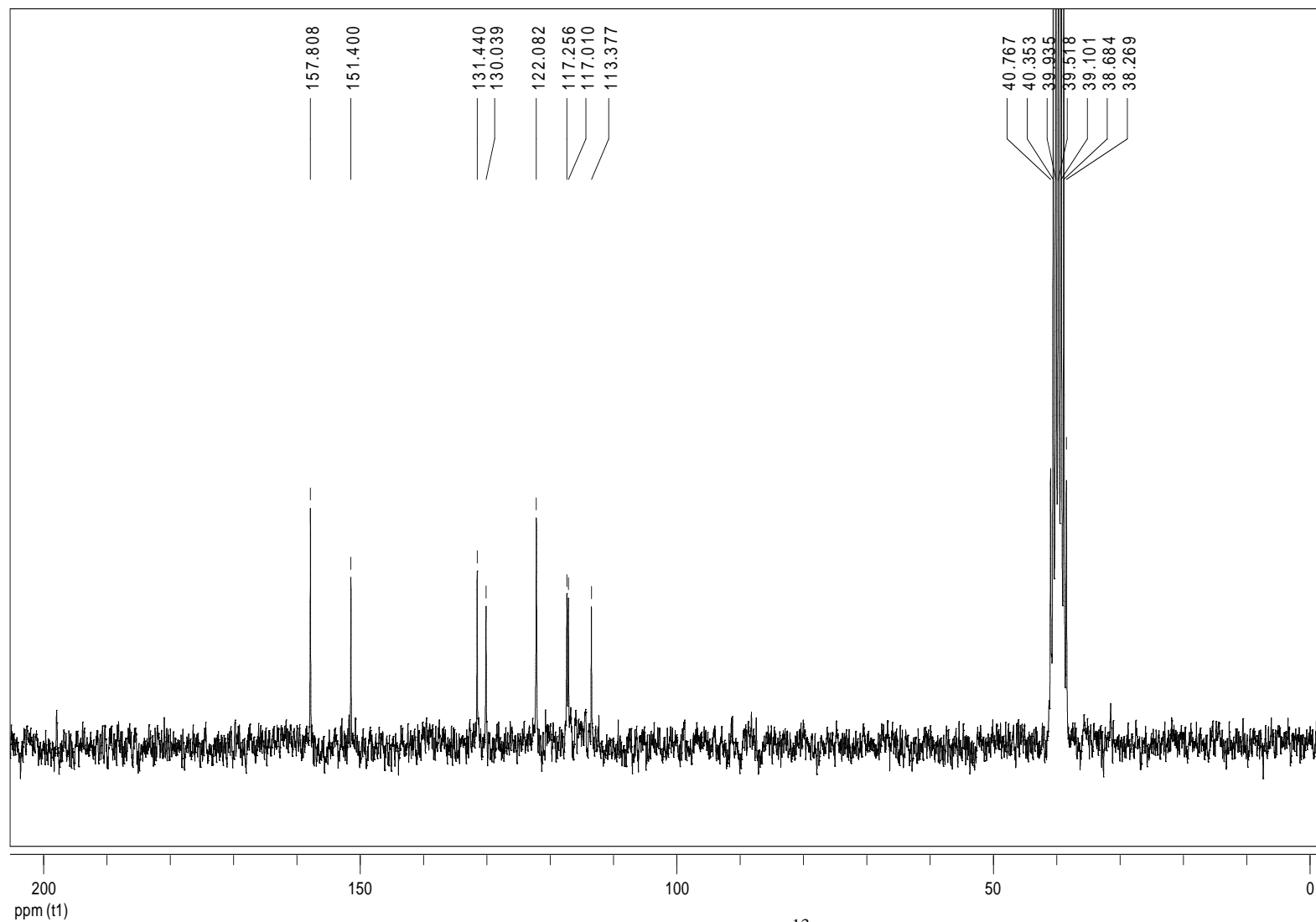
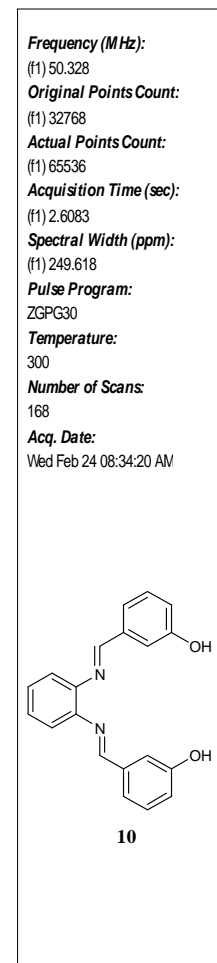


Figura 46 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **10** em DMSO-d_6



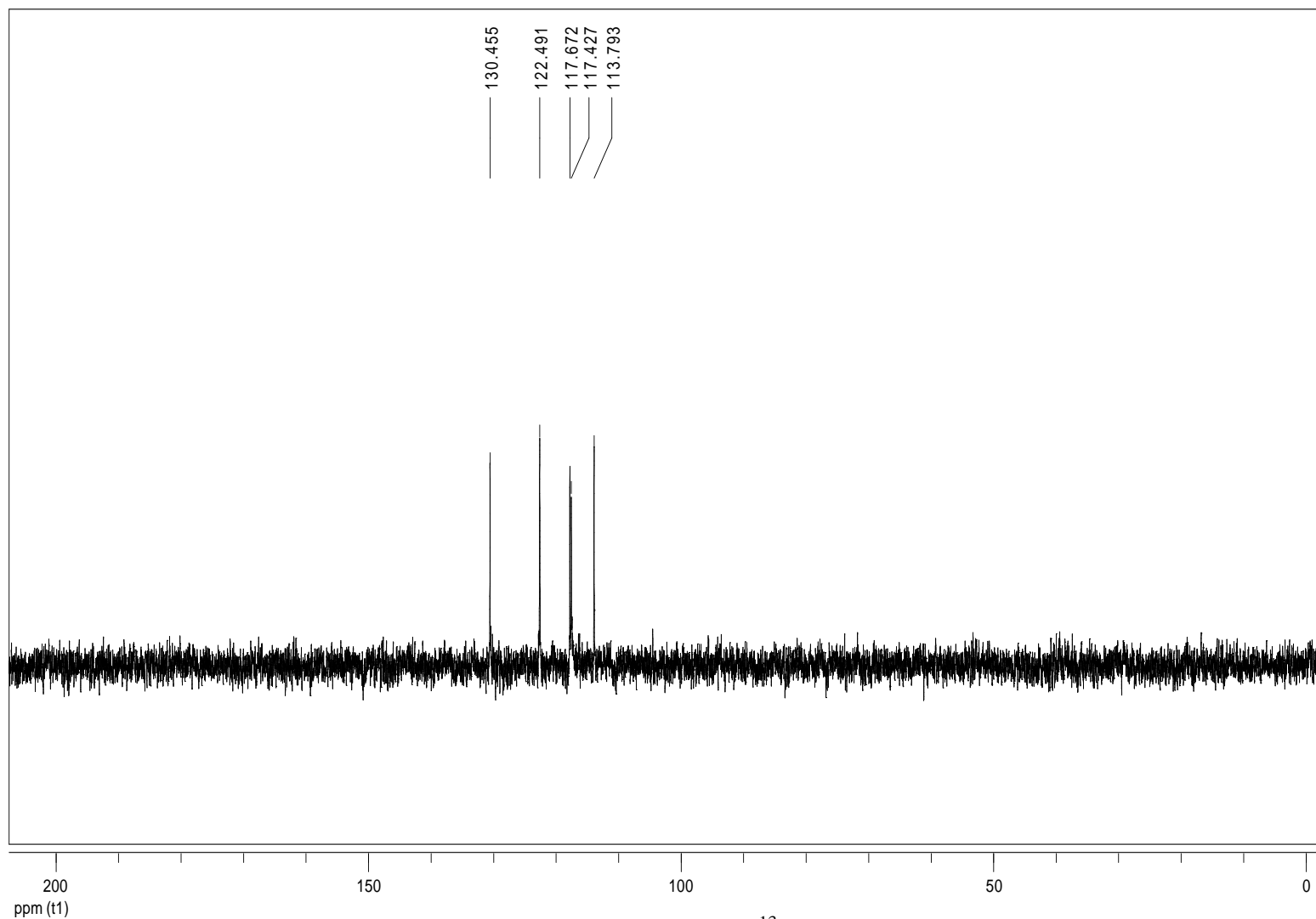
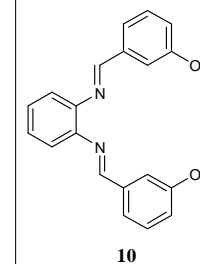


Figura 47 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **10** em DMSO-d_6

Frequency (MHz):
(f1) 50.328
Original Points Count:
(f1) 32768
Actual Points Count:
(f1) 65536
Acquisition Time (sec):
(f1) 2.7329
Spectral Width (ppm):
(f1) 238.246
Pulse Program:
DEPT135
Temperature:
300
Number of Scans:
58
Acq. Date:
Wed Feb 24 08:47:40 AM



7.1.5 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 11

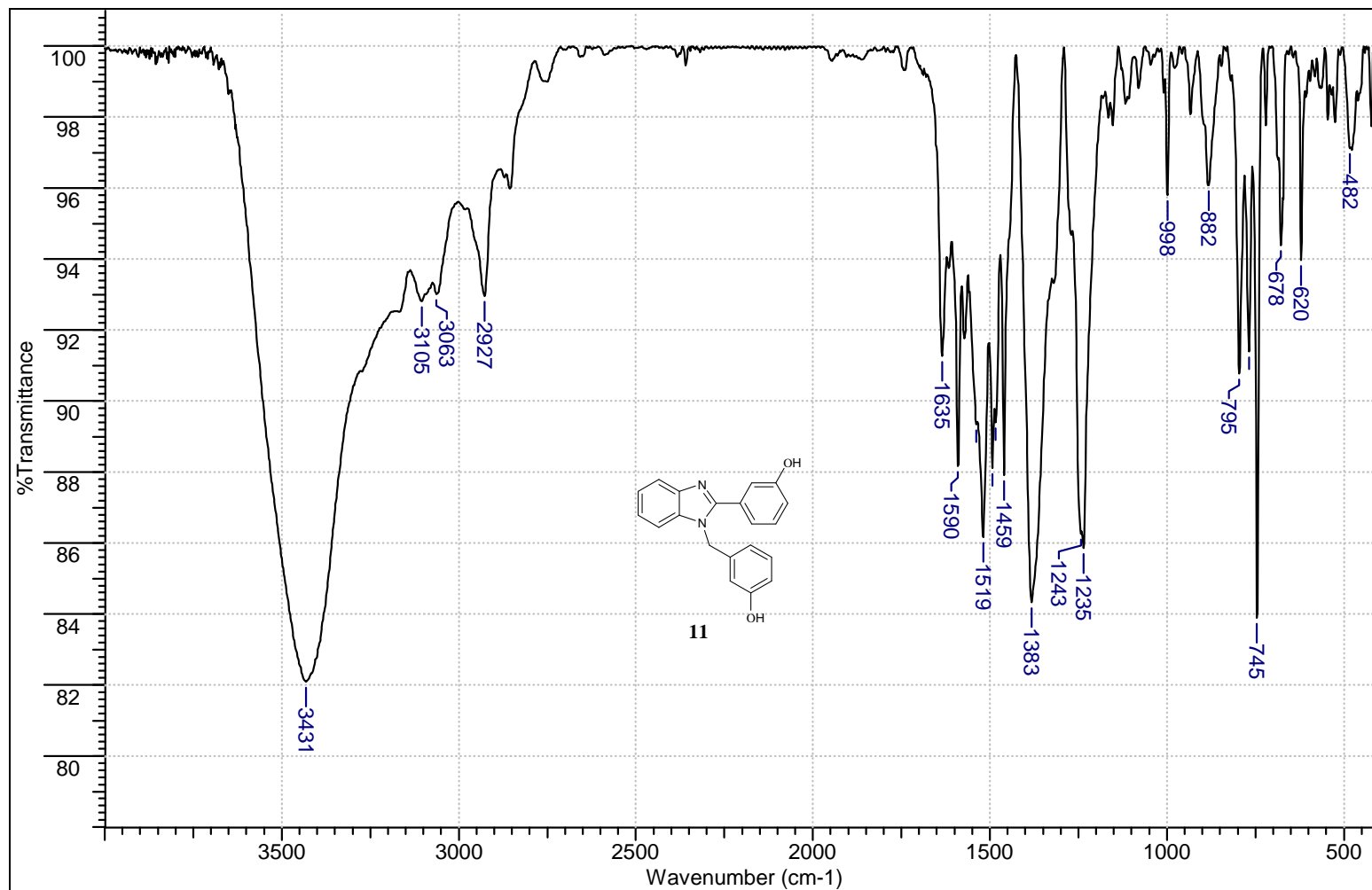


Figura 48 – Espectro de infravermelho do composto 11 pastilhado em KBr

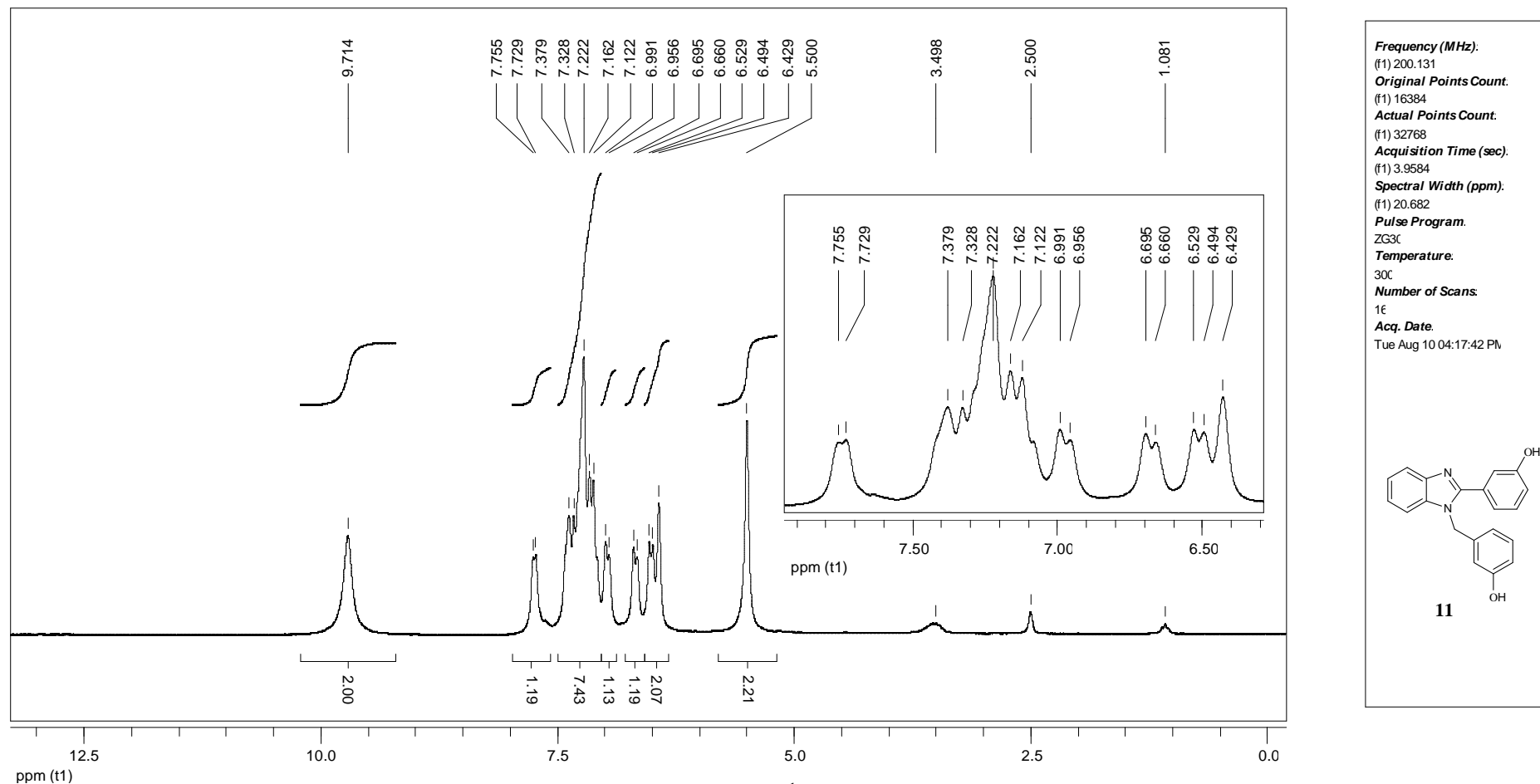


Figura 49 – Espectro de RMN de ^1H do composto **11** em DMSO-d_6

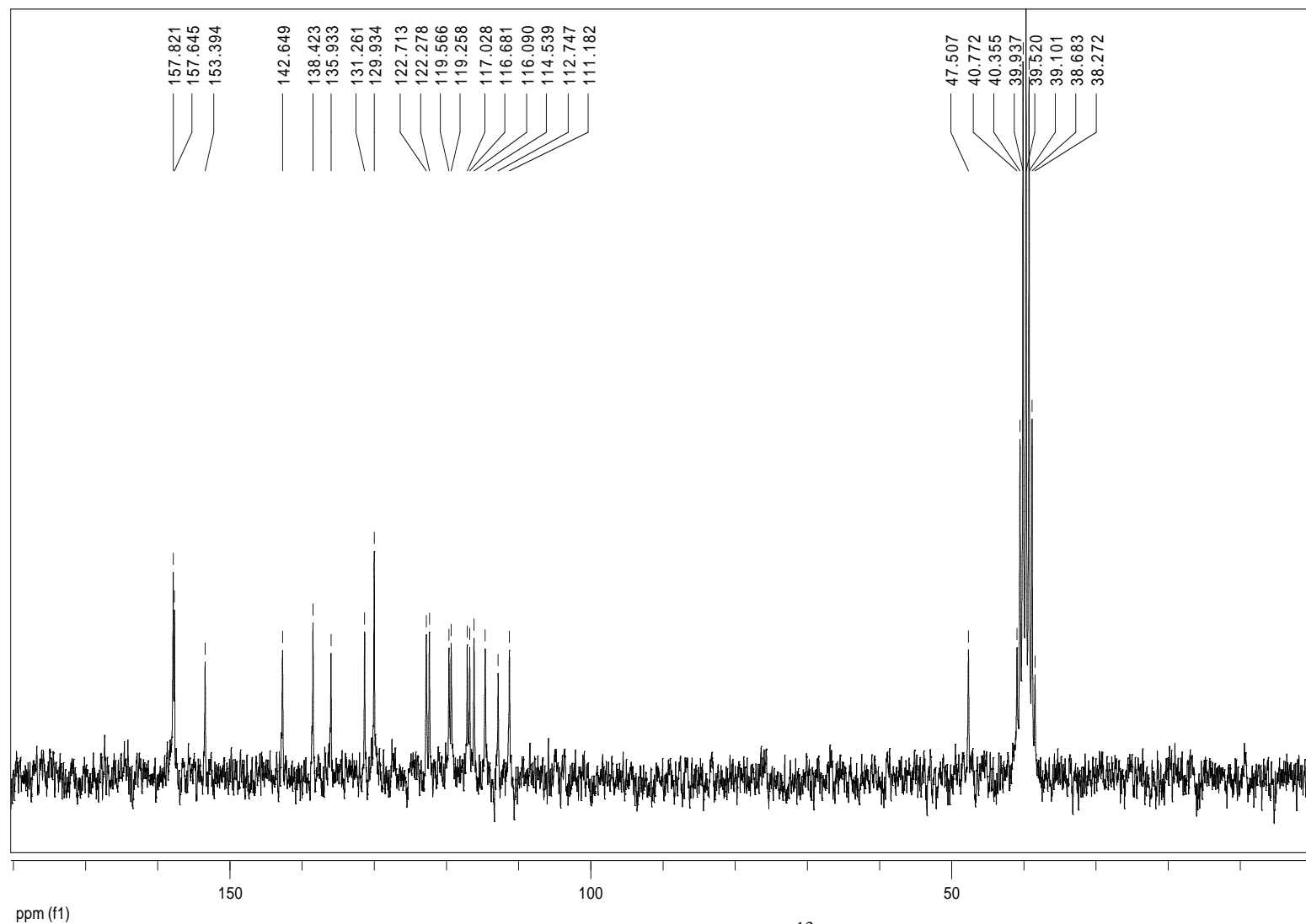
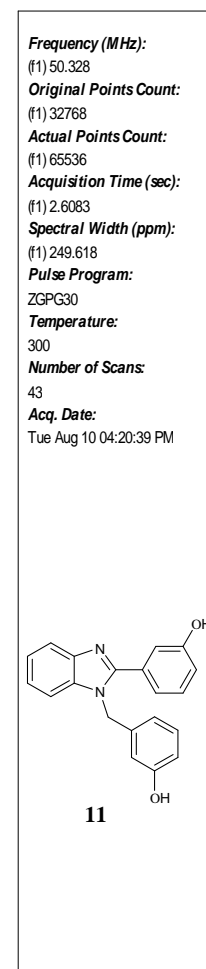


Figura 50 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **11** em DMSO-d_6



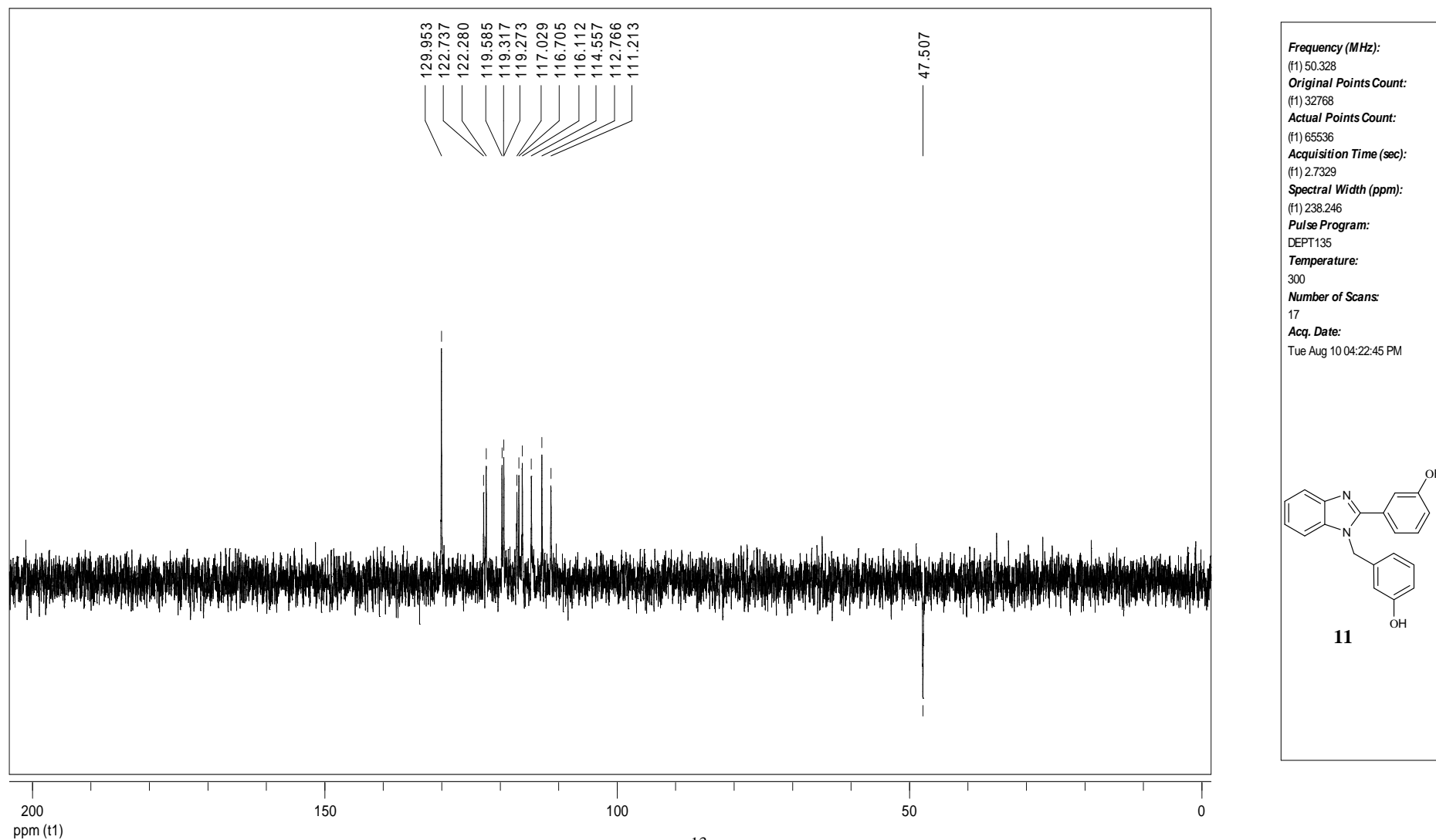


Figura 51 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **11** em DMSO-d_6

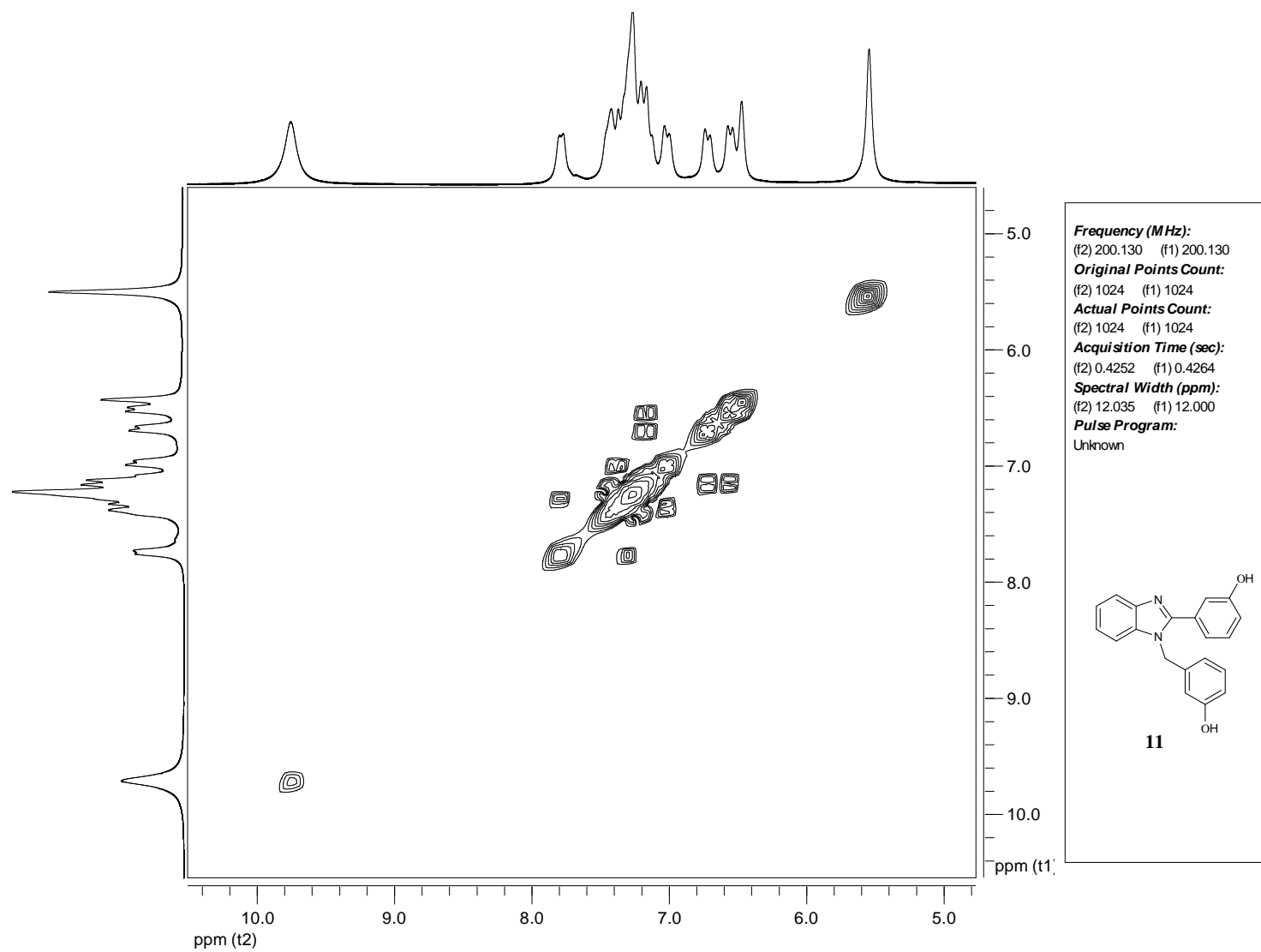


Figura 52 – Mapa de contornos COSY do composto **11** em DMSO-d₆

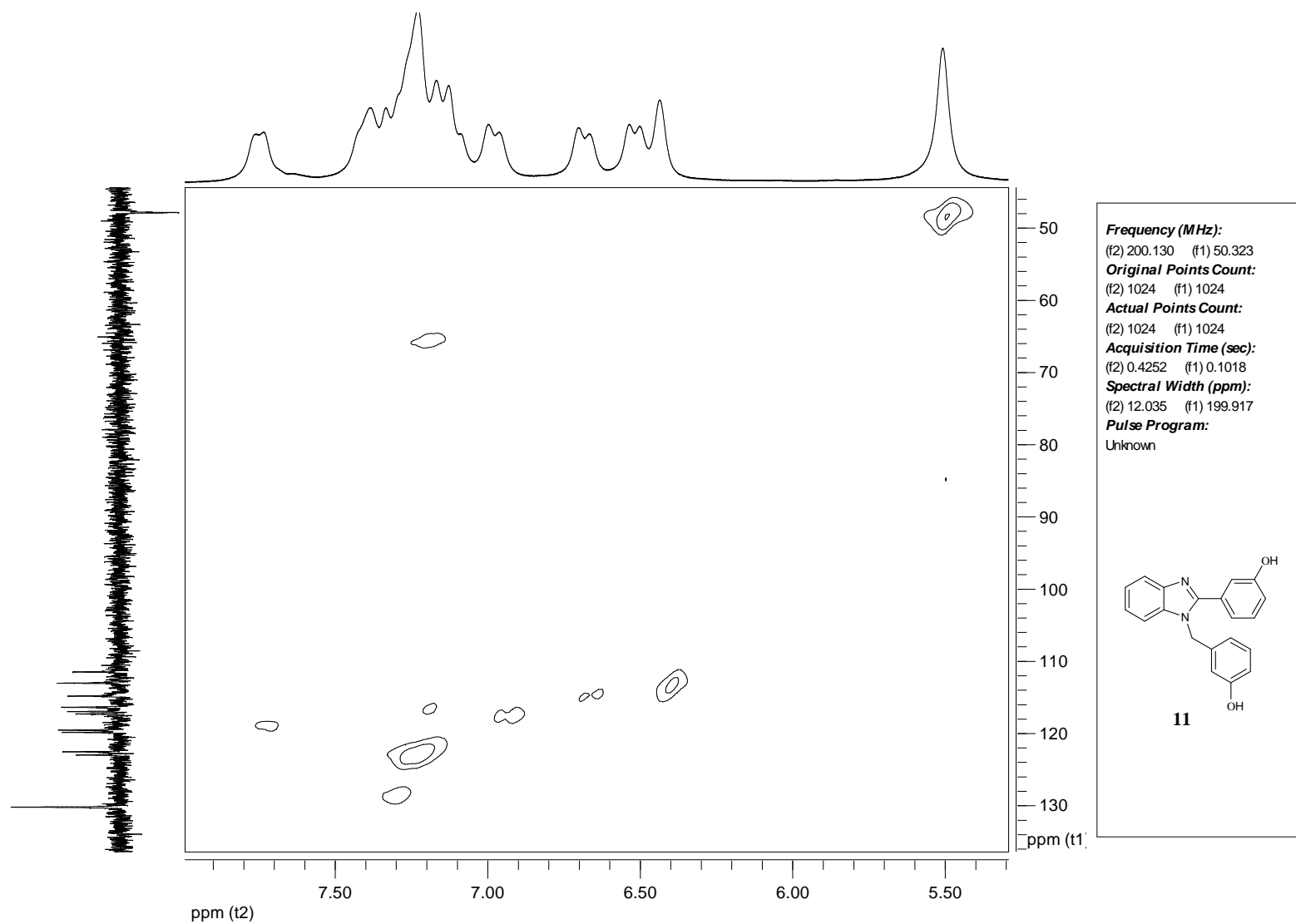


Figura 53 – Mapa de contornos HMQC do composto **11** em DMSO-d₆

7.1.6 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 4

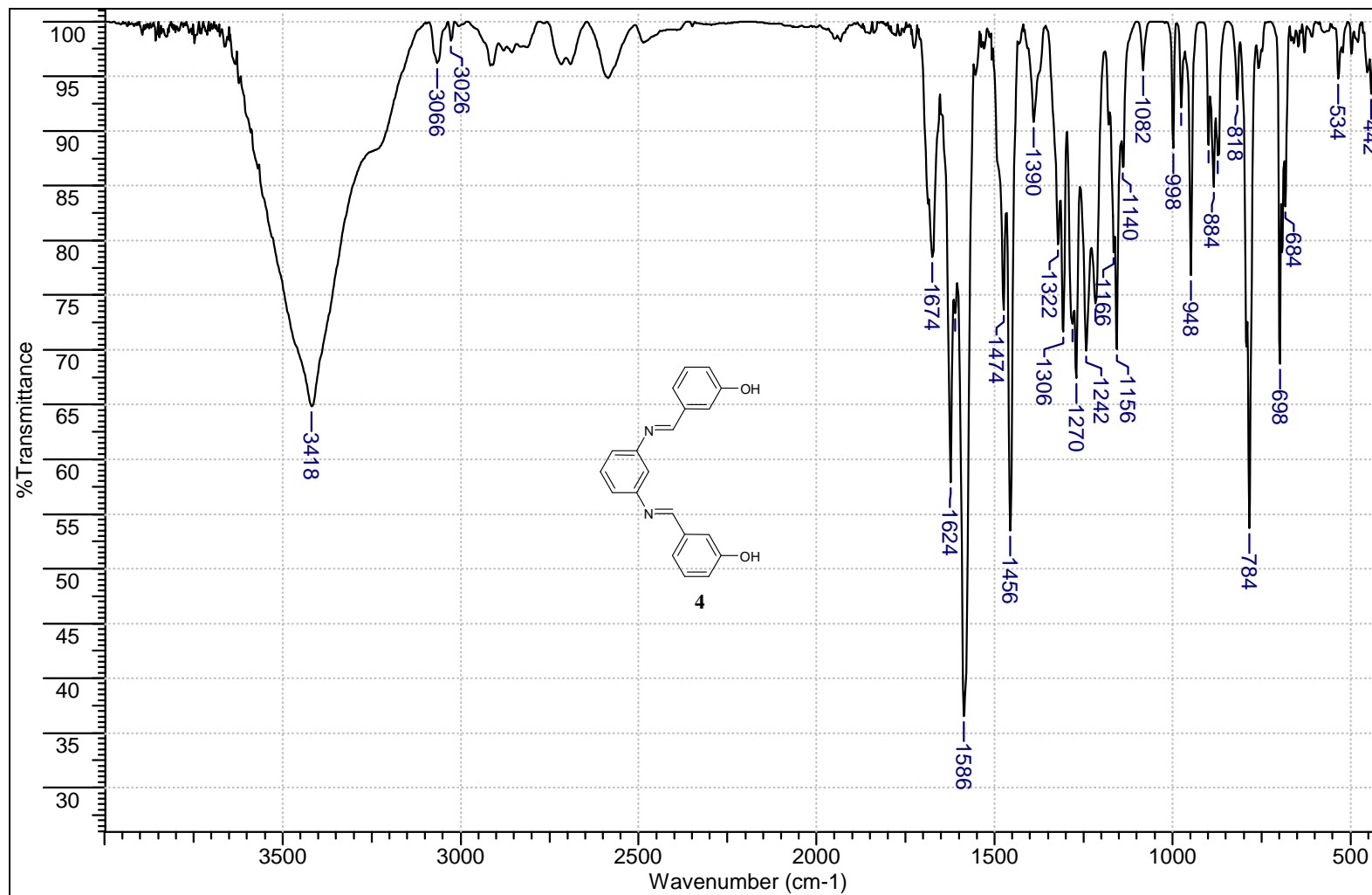


Figura 54 – Espectro de infravermelho do composto 4 pastilhado em KBr

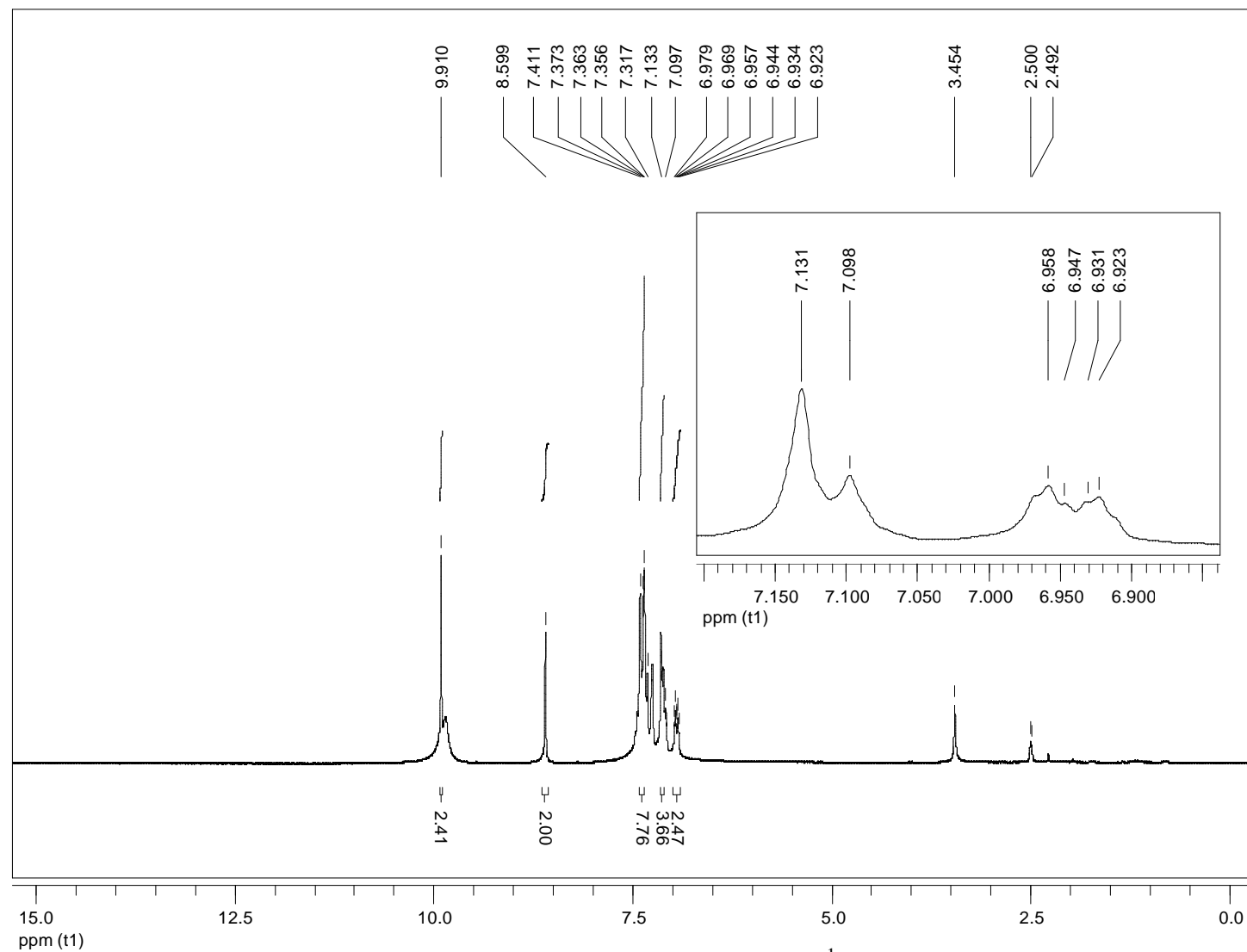
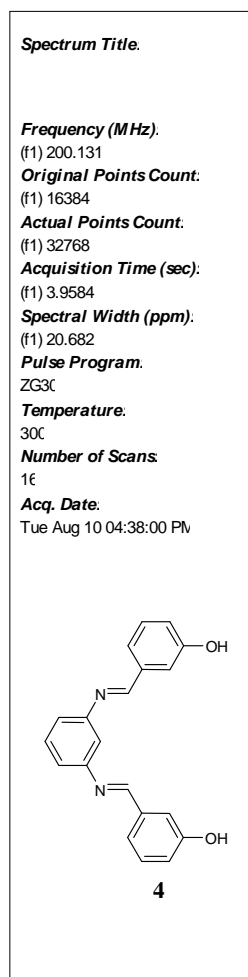
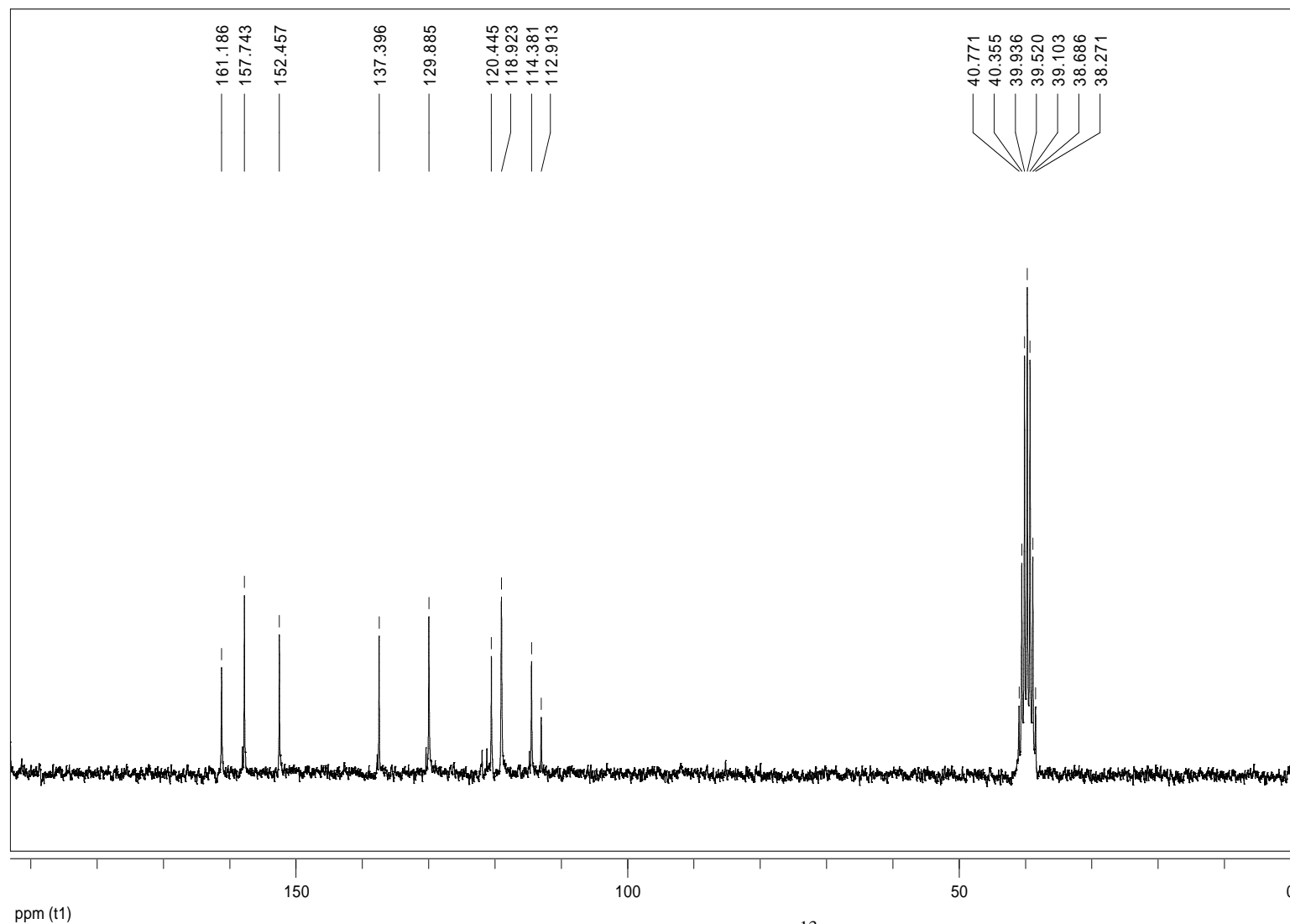


Figura 55 – Espectro de RMN de ^1H do composto **4** em DMSO-d_6



7. ANEXOS



Frequency (MHz):
 (f1) 50.328
Original Points Count:
 (f1) 32768
Actual Points Count:
 (f1) 65536
Acquisition Time (sec):
 (f1) 2.6083
Spectral Width (ppm):
 (f1) 249.618
Pulse Program:
 ZGPG30
Temperature:
 300
Number of Scans:
 167
Acq. Date:
 Wed Oct 27 03:54:14 PM

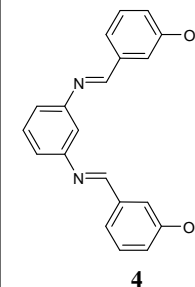


Figura 56 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4 em DMSO-d_6

7. ANEXOS

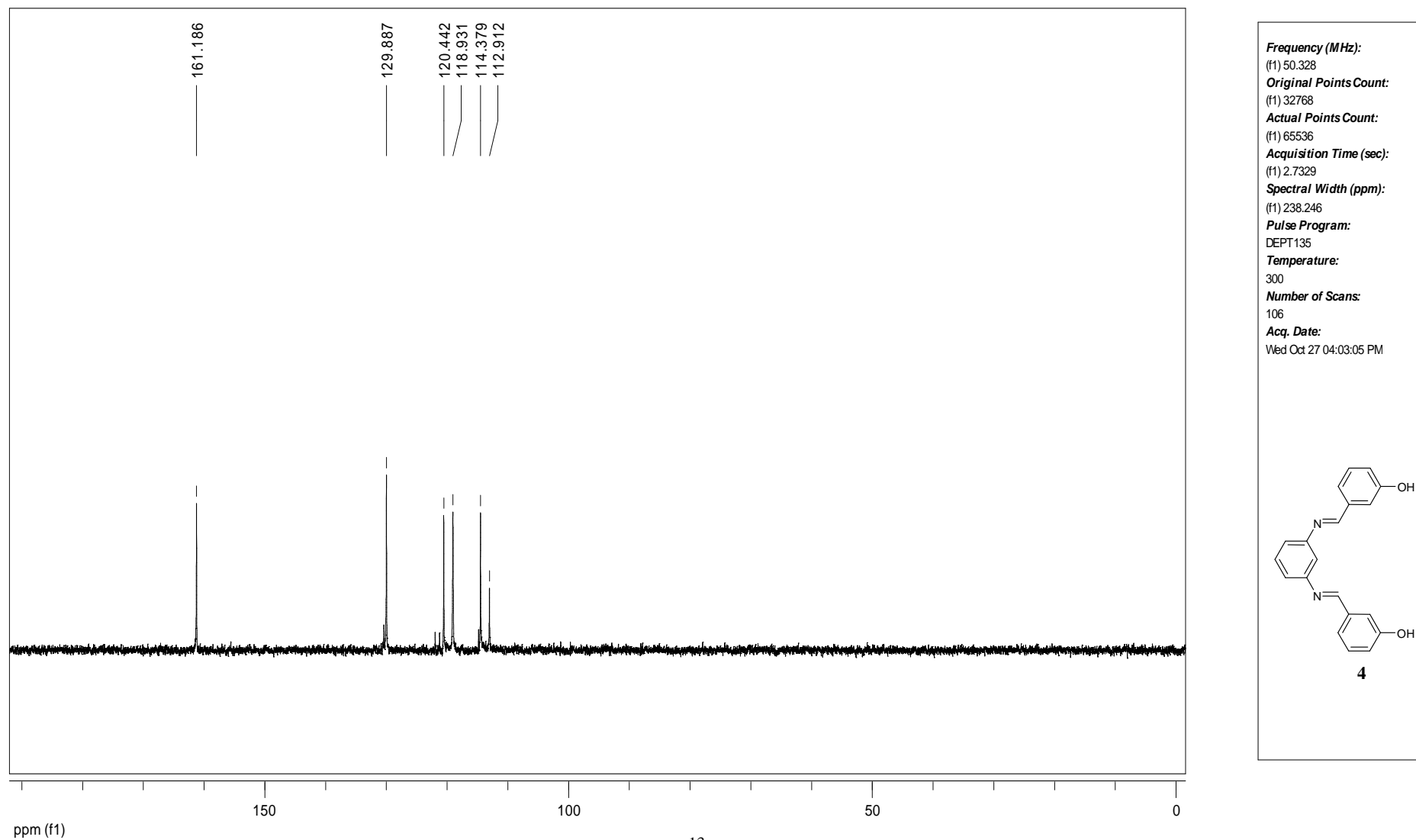
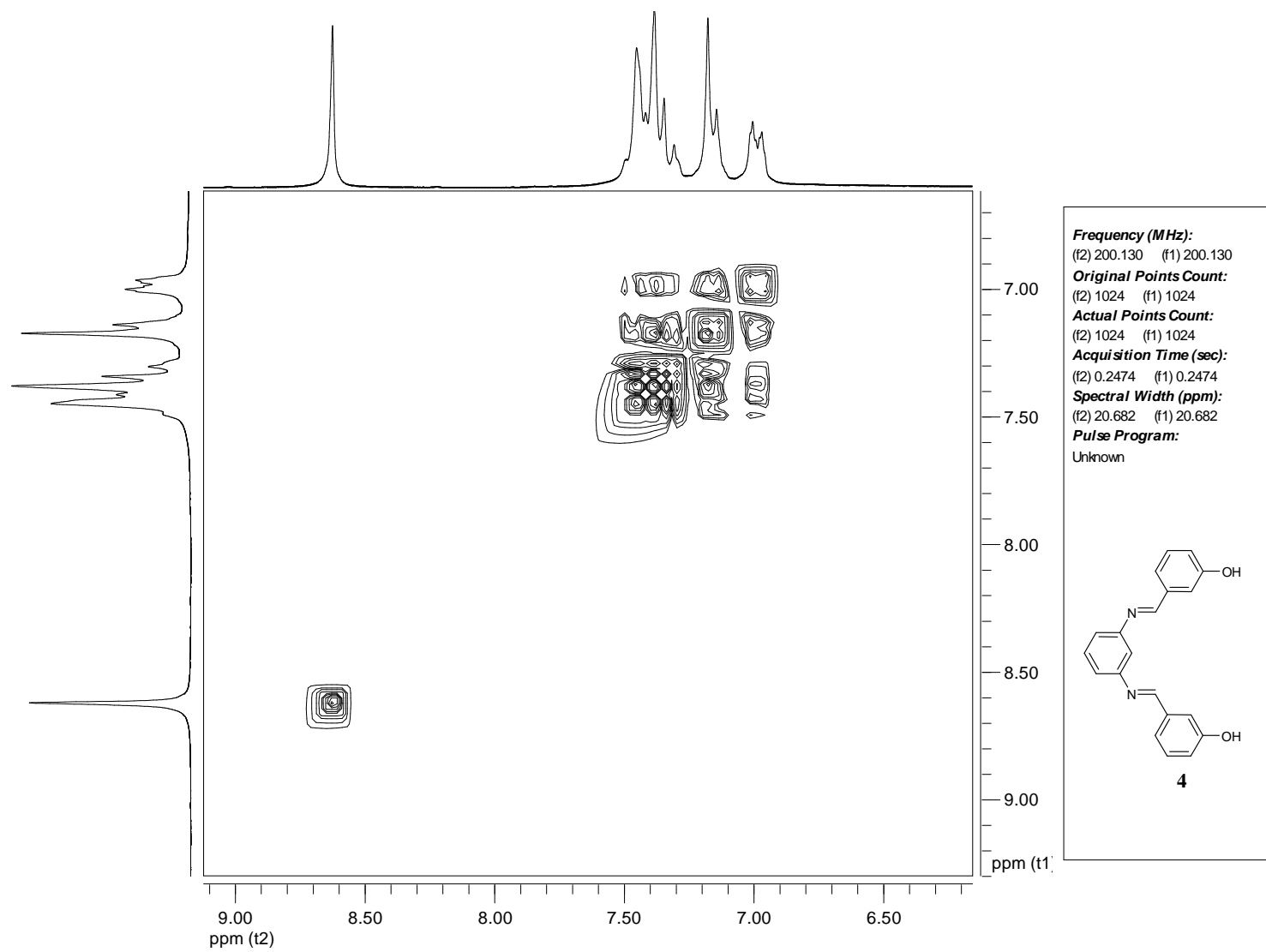


Figura 57 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **4** em DMSO-d_6



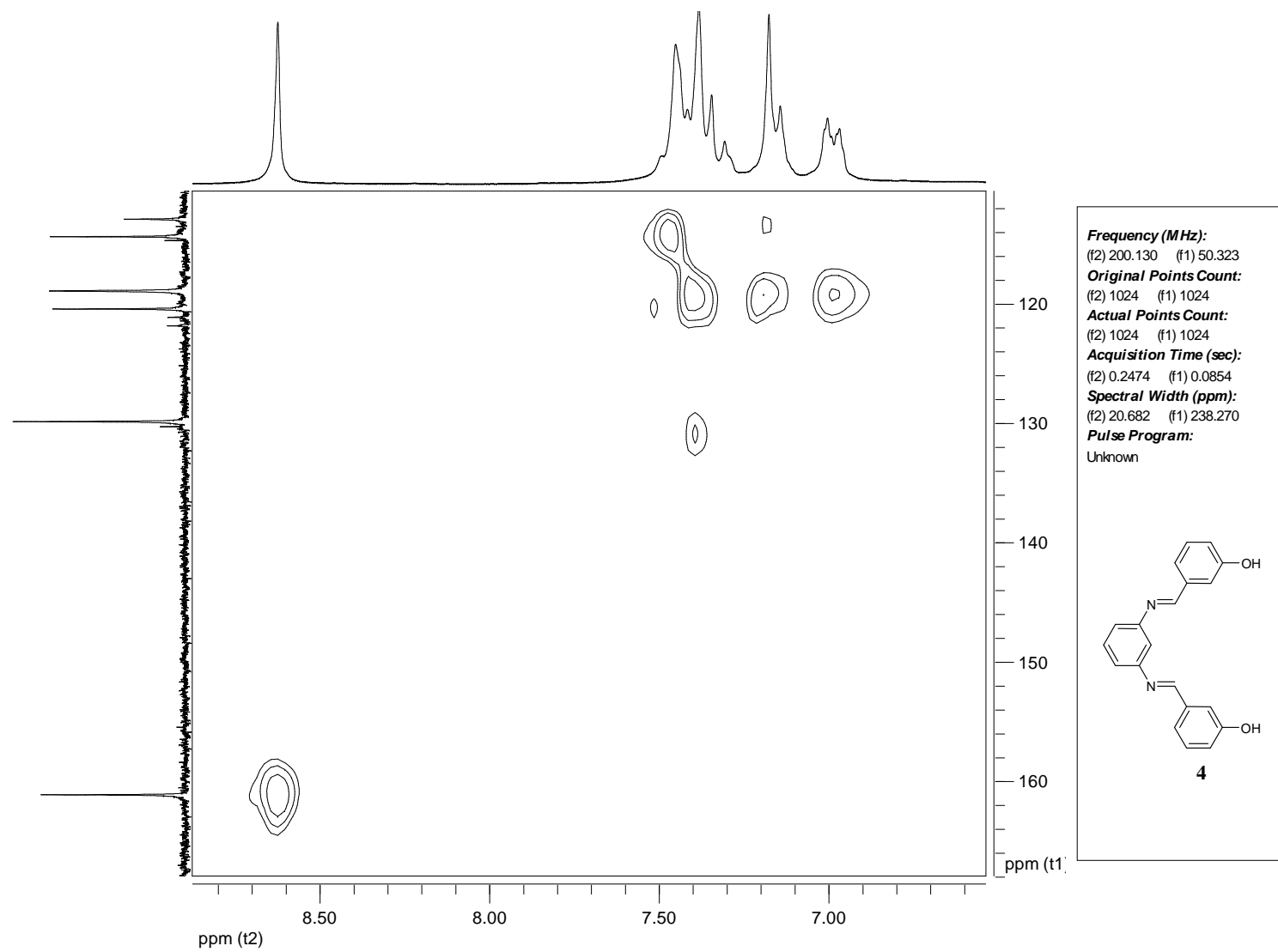


Figura 59 – Mapa de contornos HMQC do composto 4 em DMSO-d₆

7.1.7 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 6

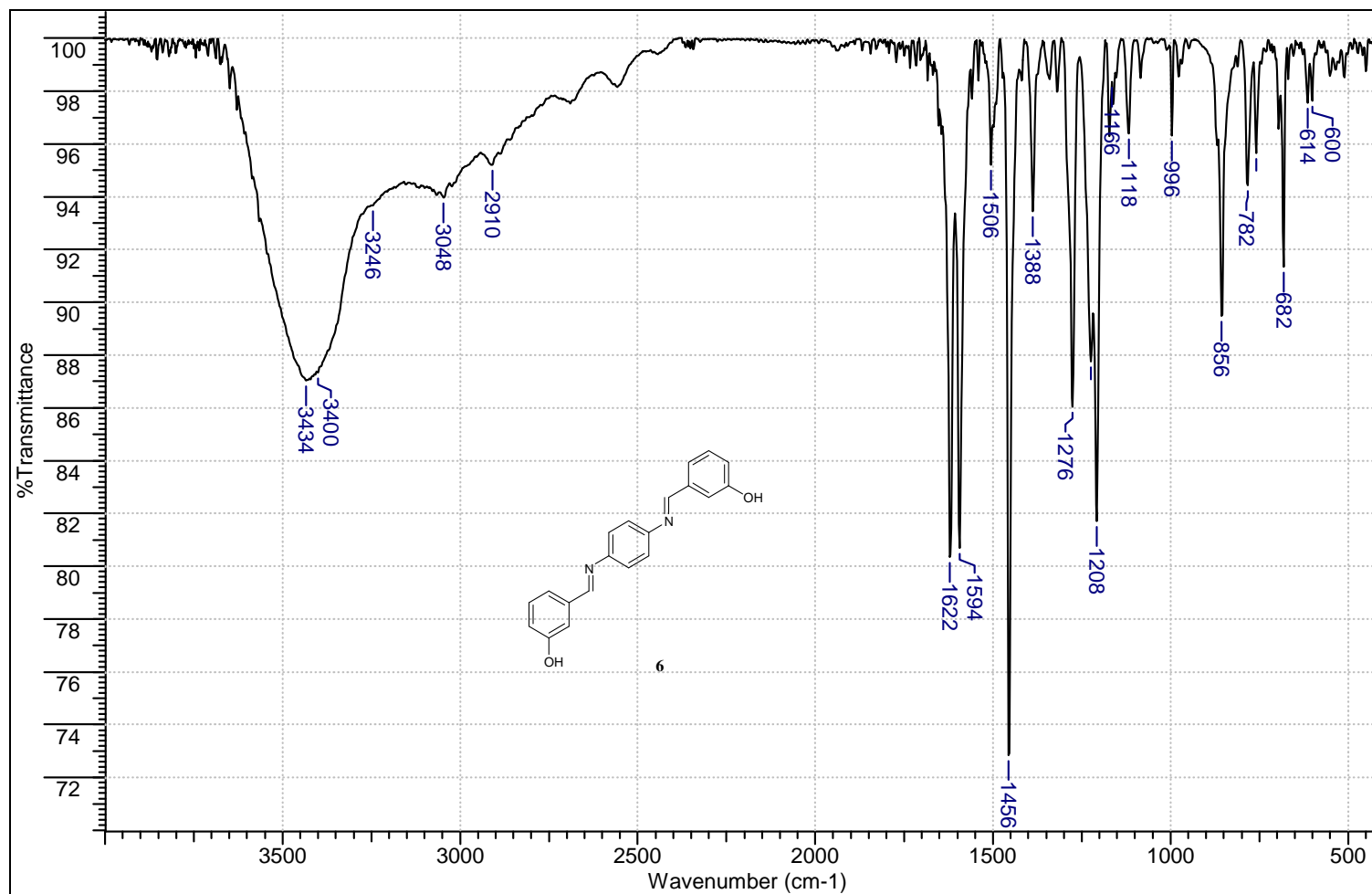
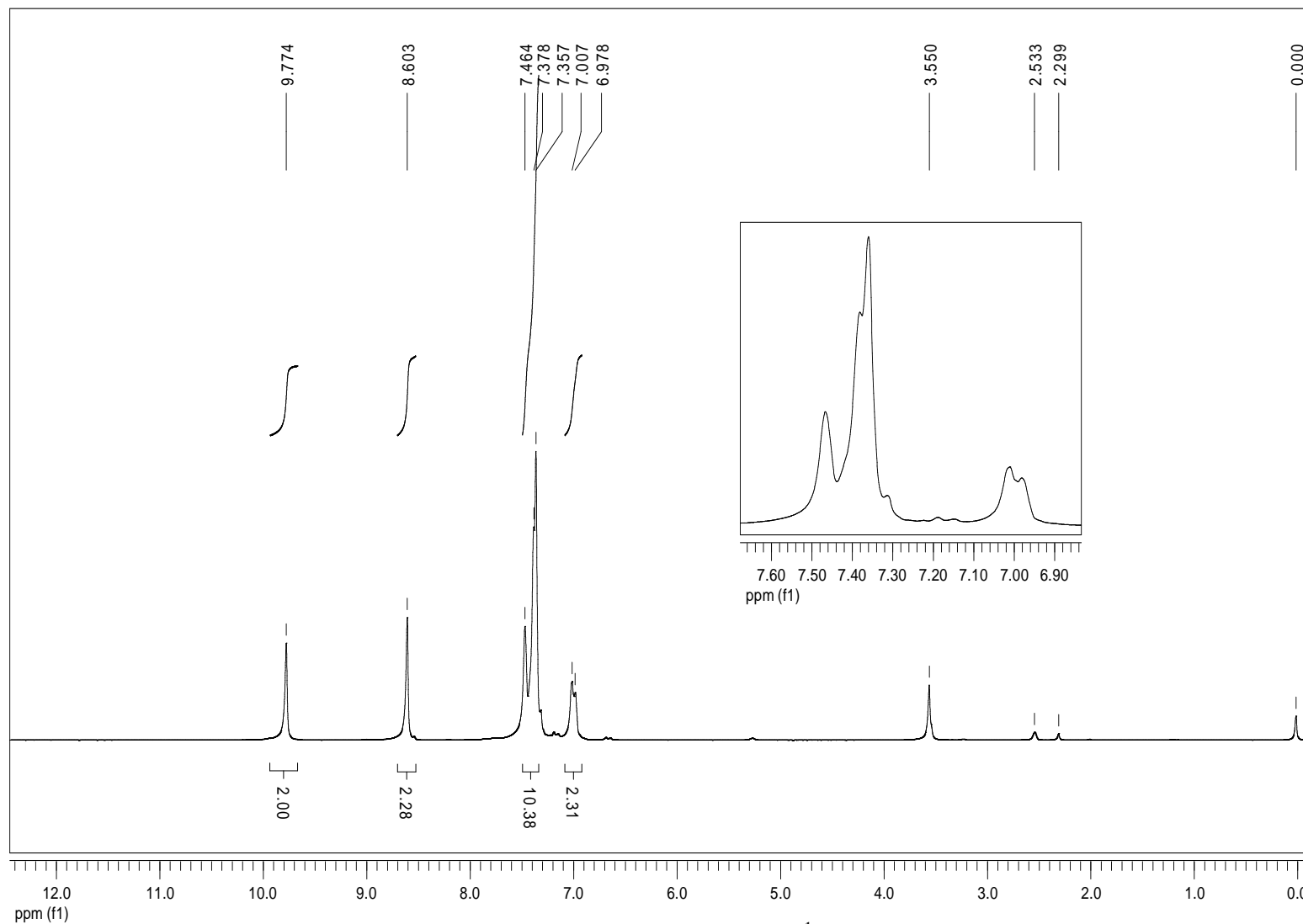


Figura 60 – Espectro de infravermelho do composto 6 pastilhado em KBr

7. ANEXOS



Frequency (MHz):
 (f1) 200.131
Original Points Count:
 (f1) 16384
Actual Points Count:
 (f1) 32768
Acquisition Time (sec):
 (f1) 3.9584
Spectral Width (ppm):
 (f1) 20.682
Pulse Program:
 ZG30
Temperature:
 300
Number of Scans:
 16
Acq. Date:
 Wed Dec 09 05:32:34 PM

6

Figura 61 – Espectro de RMN de ¹H do composto 6 em DMSO-d₆

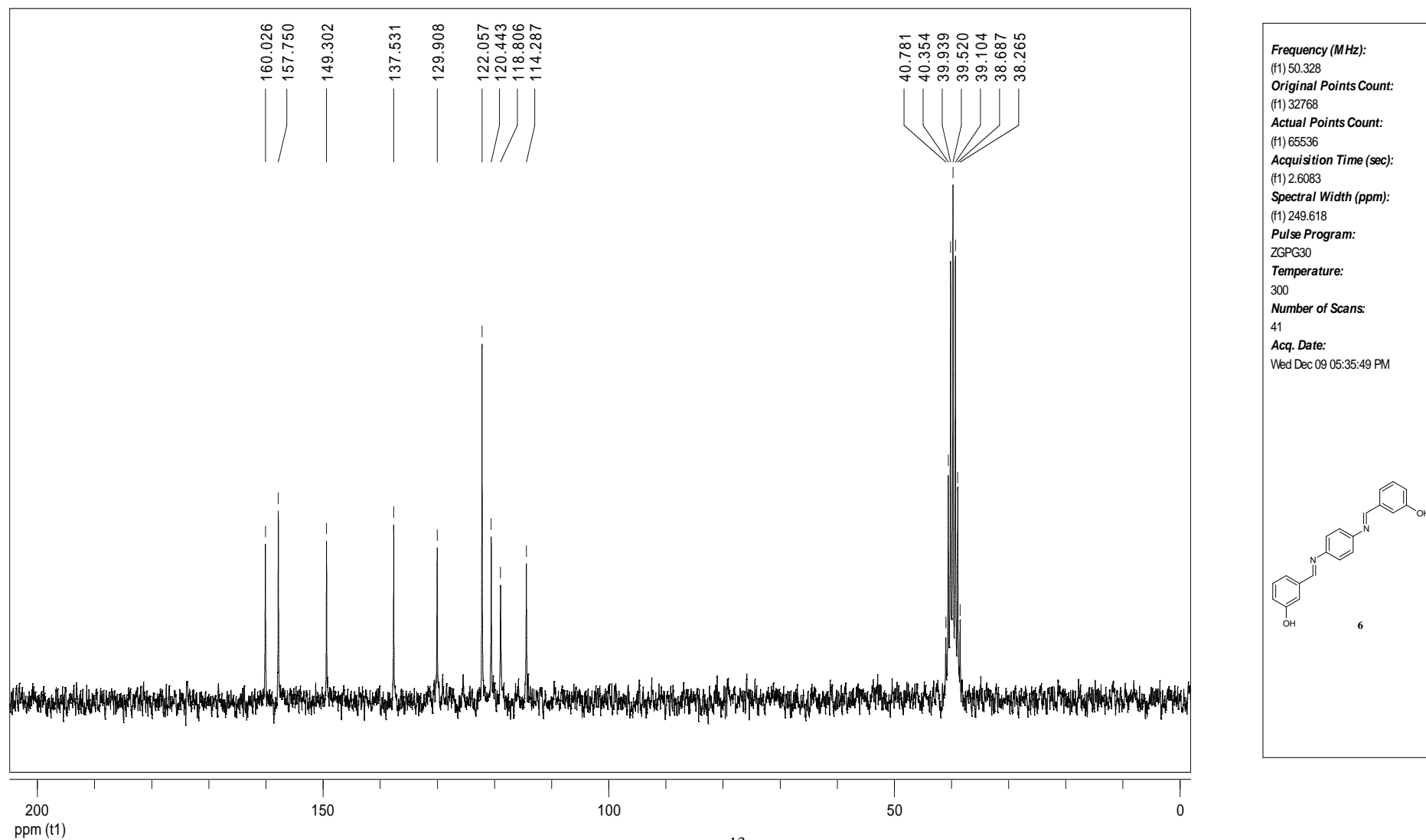


Figura 62 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6 em DMSO-d_6

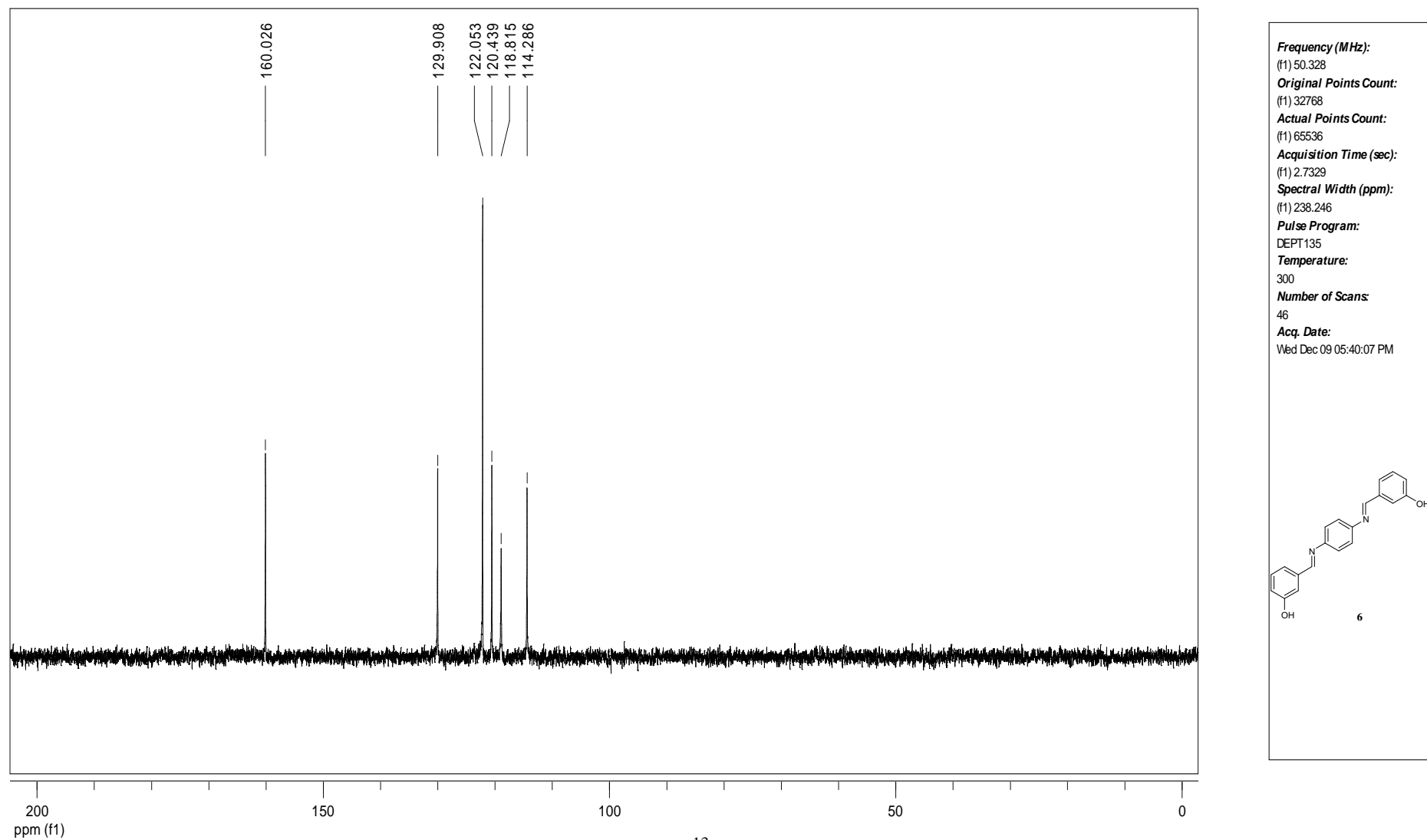


Figura 63 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **6** em DMSO-d_6

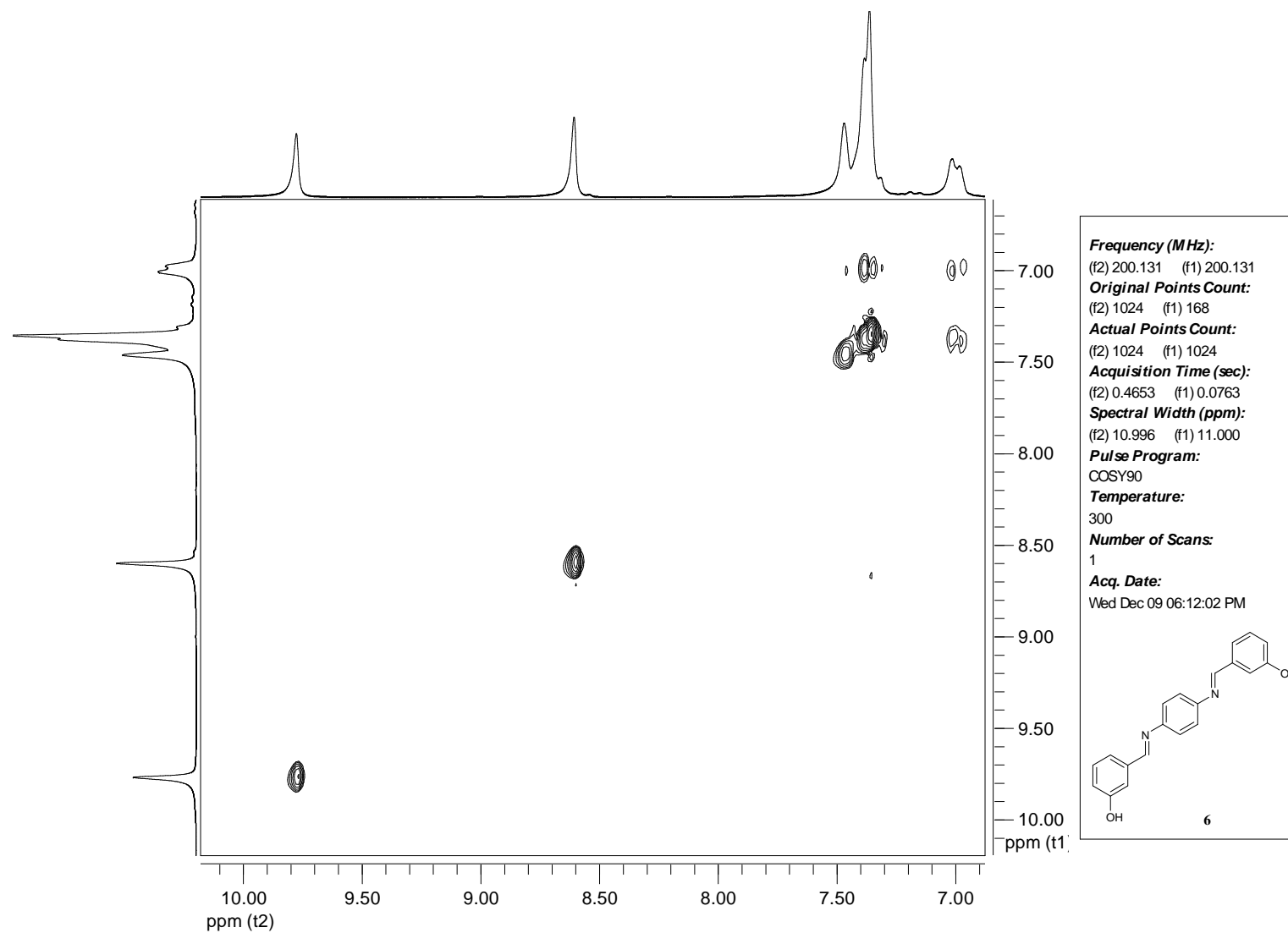


Figura 64 – Mapa de contornos COSY do composto **6** em DMSO-d₆

7.1.9 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 9

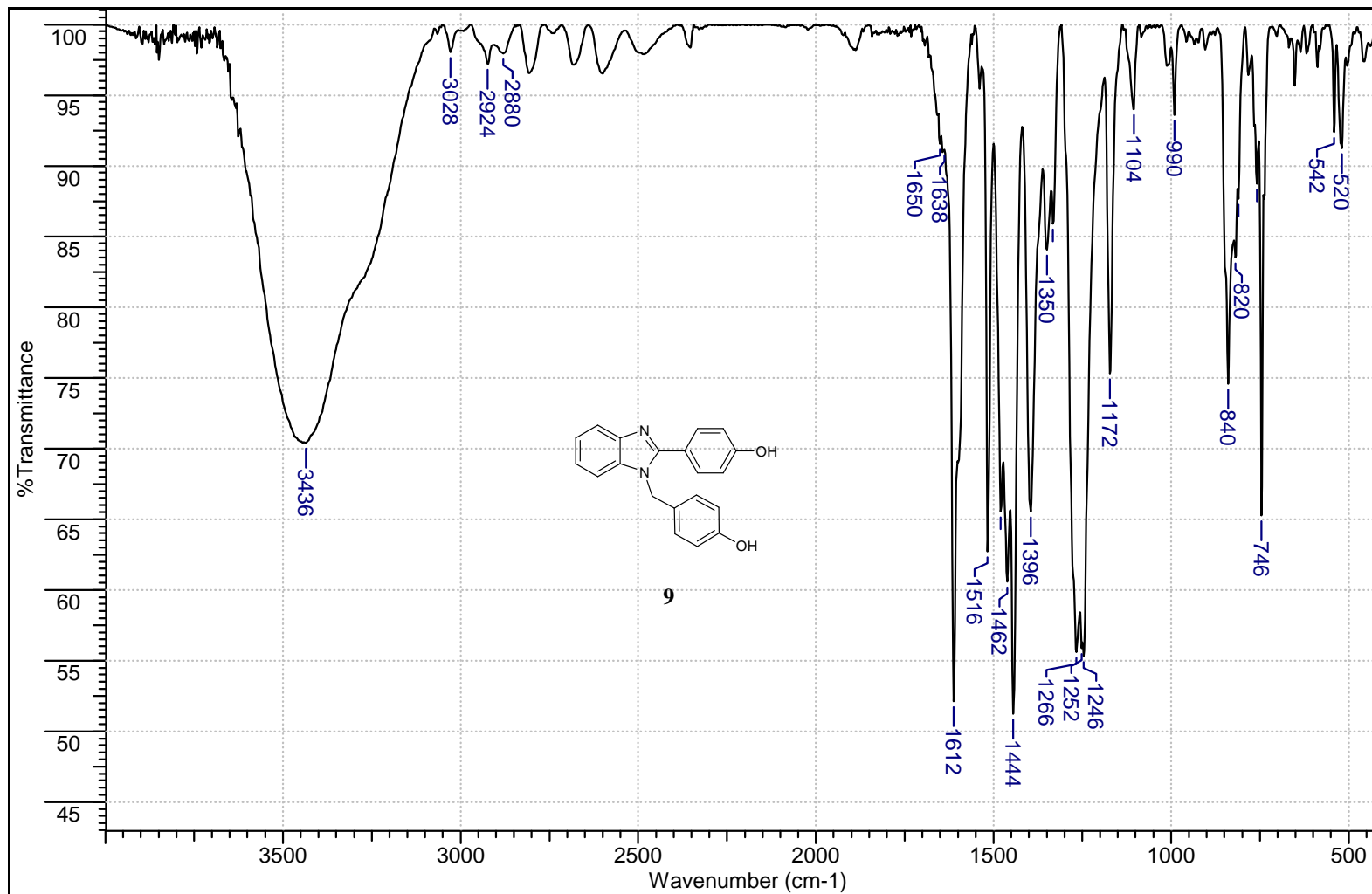
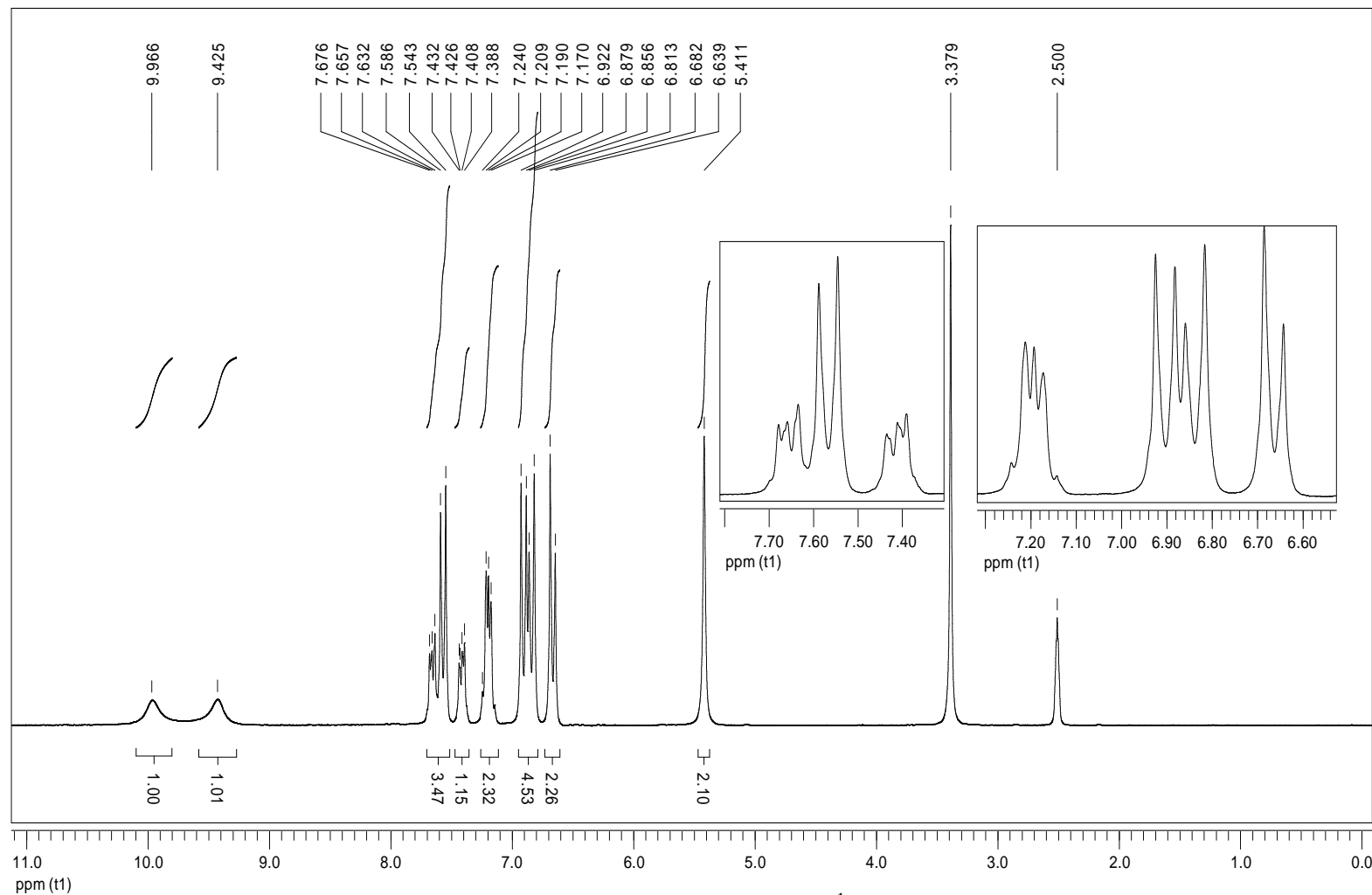
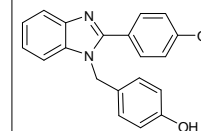


Figura 65 – Espectro de infravermelho do composto 9 pastilhado em KBr

7. ANEXOS



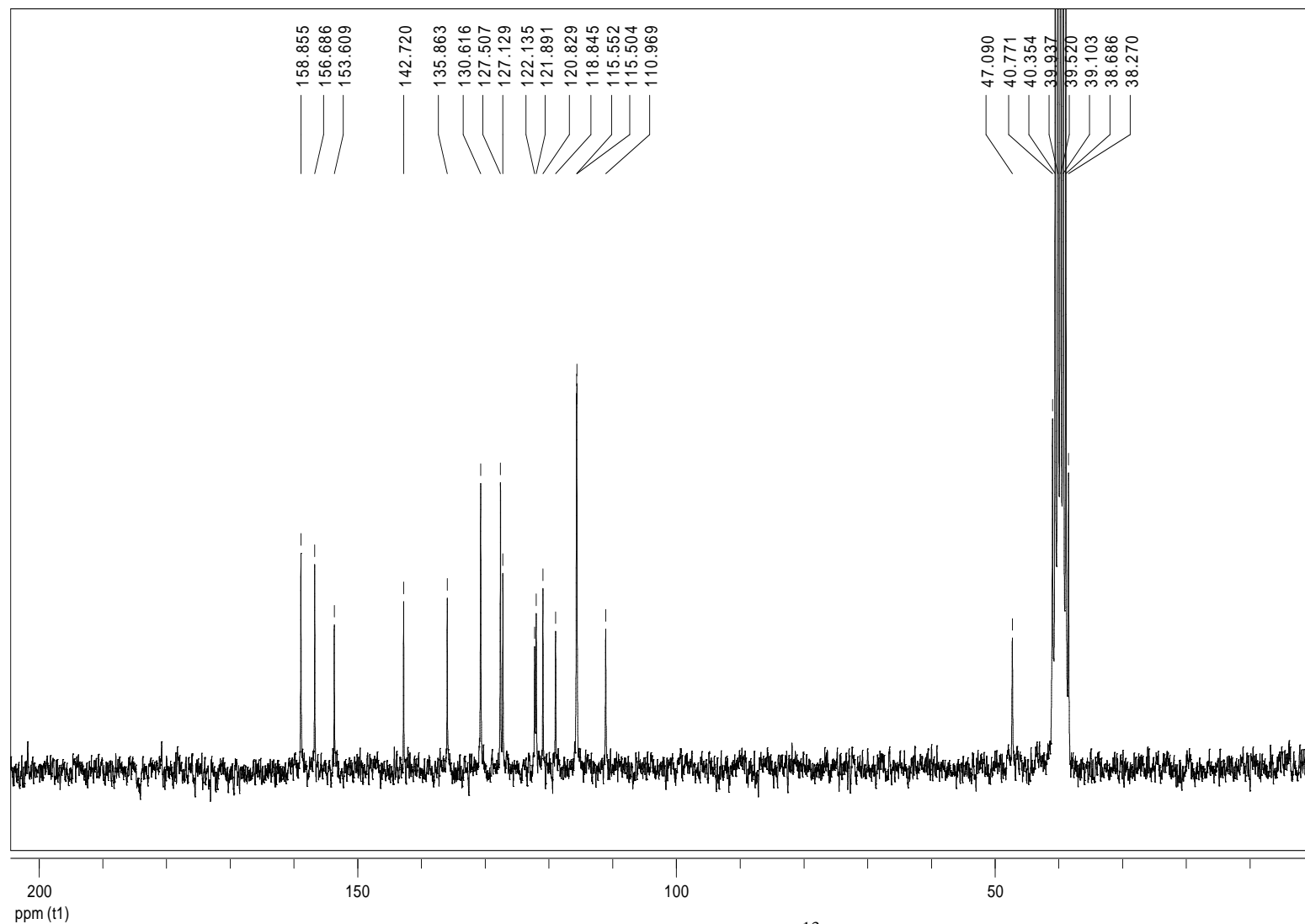
Frequency (MHz):
 (f1) 200.131
Original Points Count:
 (f1) 16384
Actual Points Count:
 (f1) 32768
Acquisition Time (sec):
 (f1) 3.9584
Spectral Width (ppm):
 (f1) 20.682
Pulse Program:
 ZG30
Temperature:
 300
Number of Scans:
 16
Acq. Date:
 Thu Jun 17 02:04:44 PM



9

Figura 66 – Espectro de RMN de ¹H do composto 9 em DMSO-d₆

7. ANEXOS



Frequency (MHz):
 (f1) 50.328
Original Points Count:
 (f1) 32768
Actual Points Count:
 (f1) 65536
Acquisition Time (sec):
 (f1) 2.6083
Spectral Width (ppm):
 (f1) 249.618
Pulse Program:
 ZGPC30
Temperature:
 300
Number of Scans:
 513
Acq. Date:
 Tue Oct 20 09:02:07 PM

Oc1ccc(cc1)CN2C(=N)c3ccccc3N2Cc4ccc(O)cc4

9

Figura 67 – Espectro de RMN de ¹³C do composto 9 em DMSO-d₆

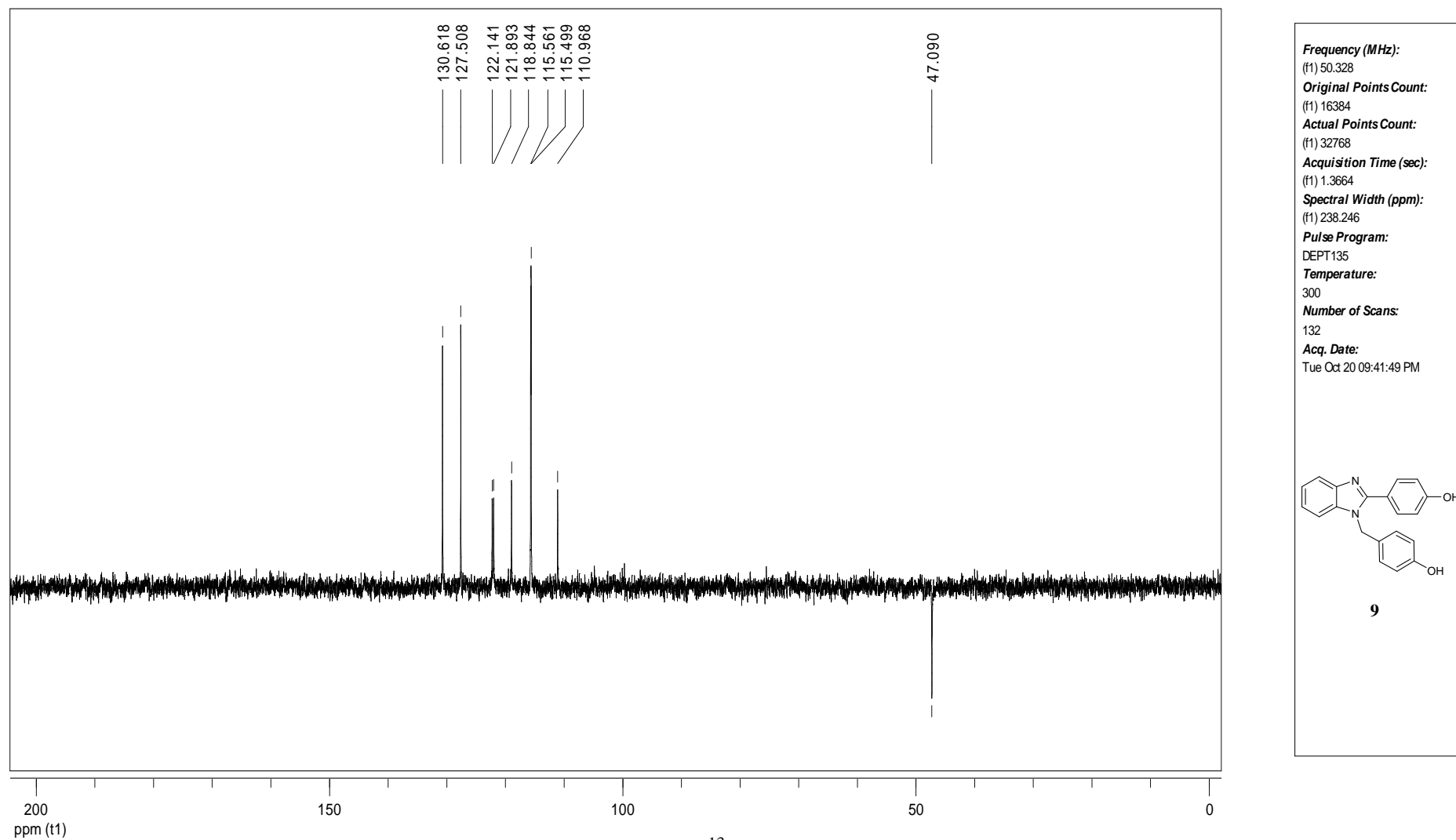


Figura 68 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **9** em DMSO-d_6

7.1.10 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 5

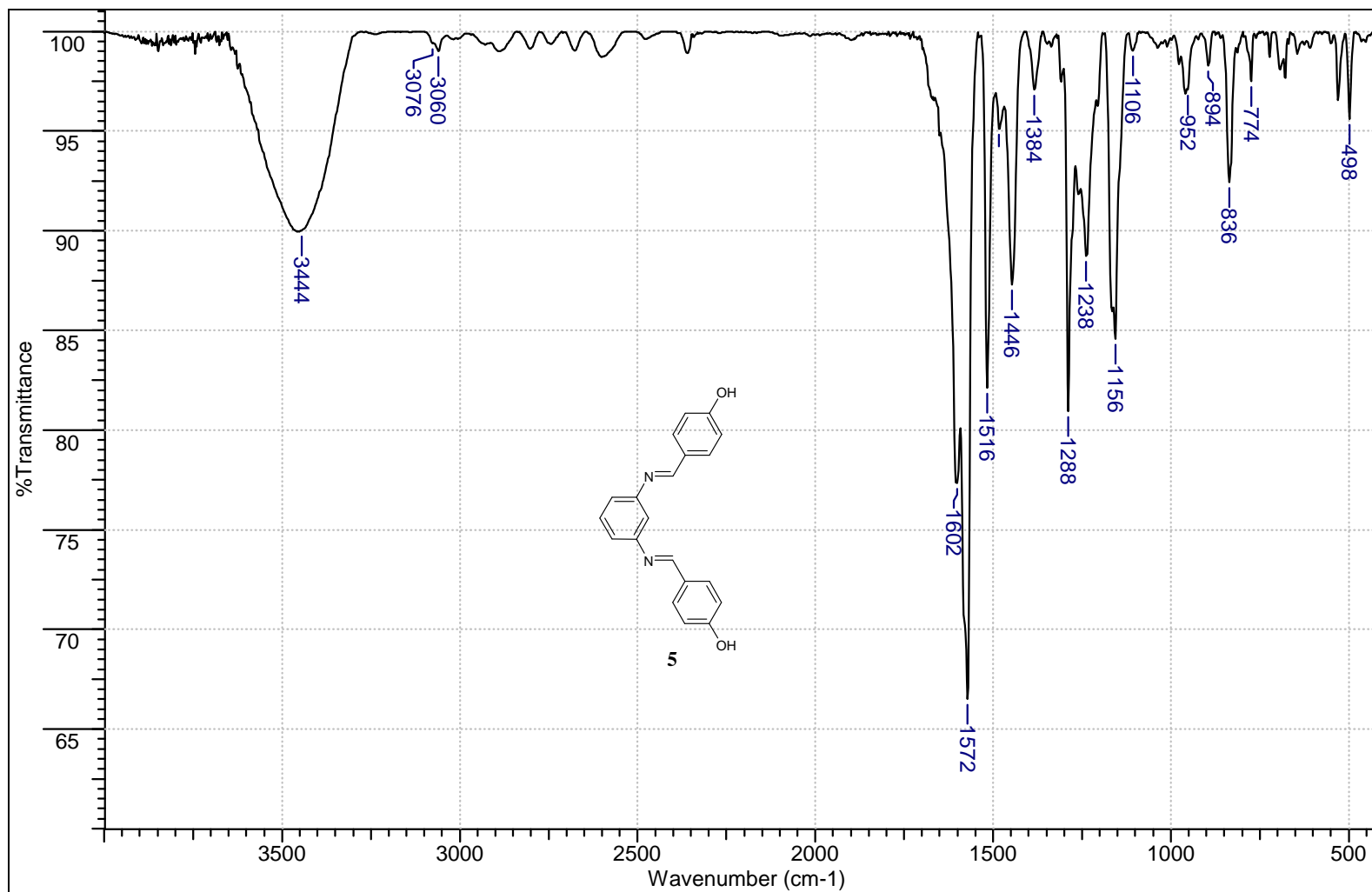


Figura 69 – Espectro de infravermelho do composto 5 pastilhado em KBr

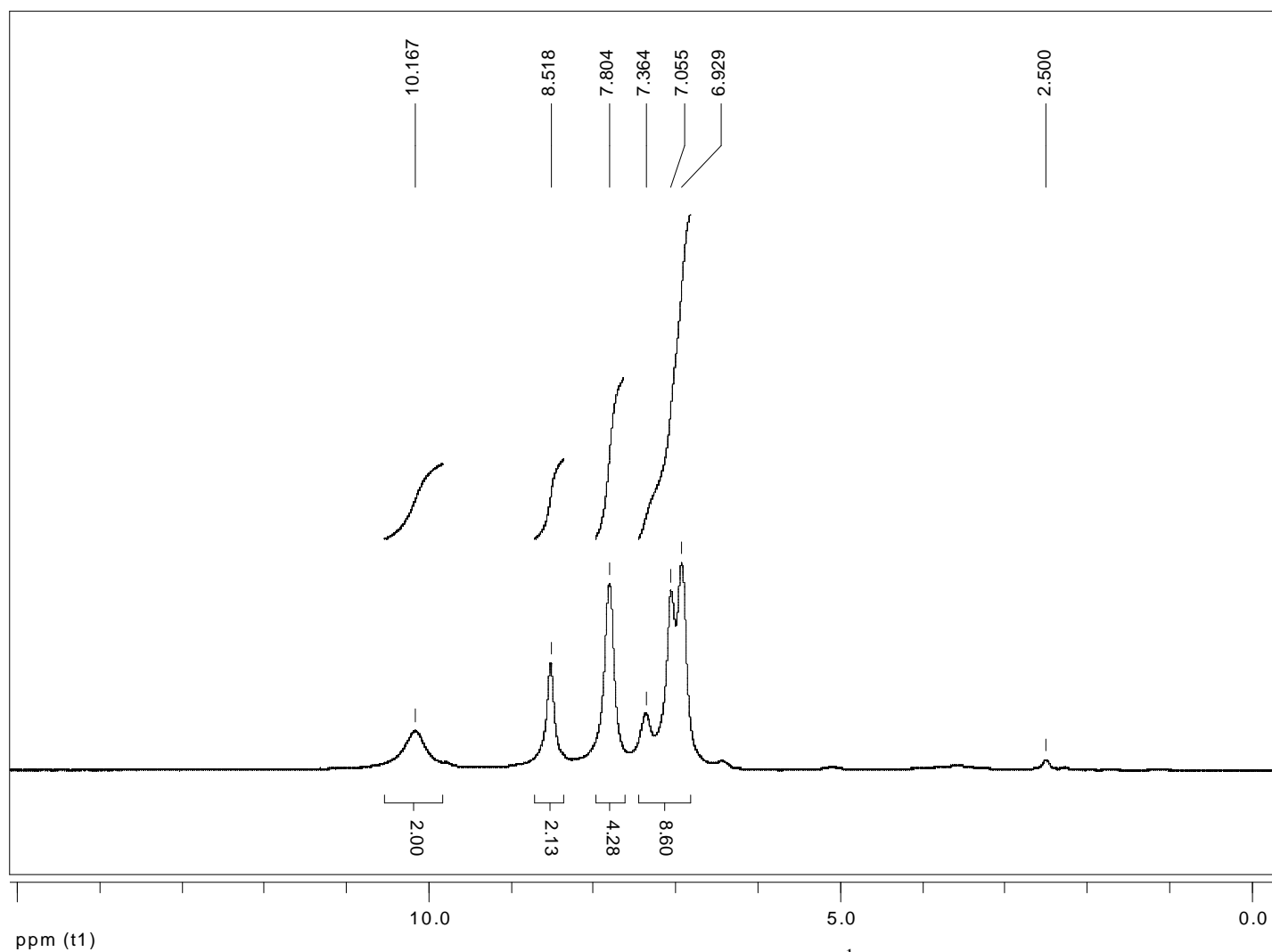
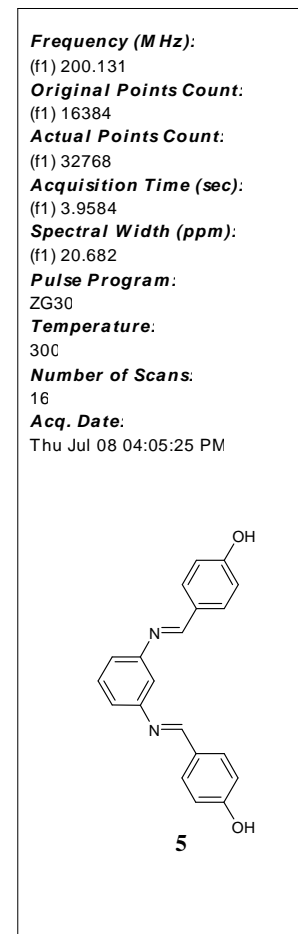


Figura 70 – Espectro de RMN de ^1H do composto **5** em DMSO-d_6



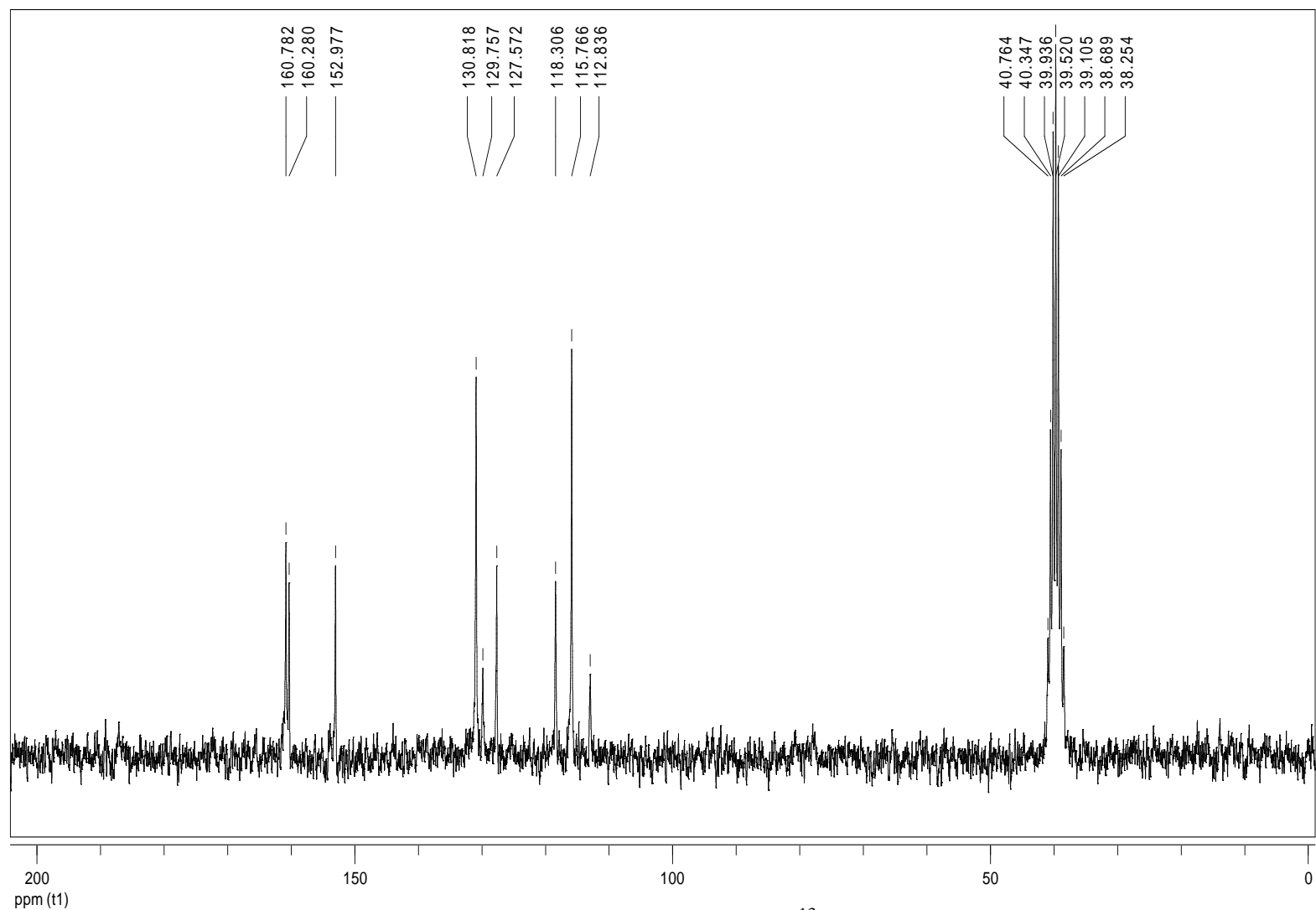
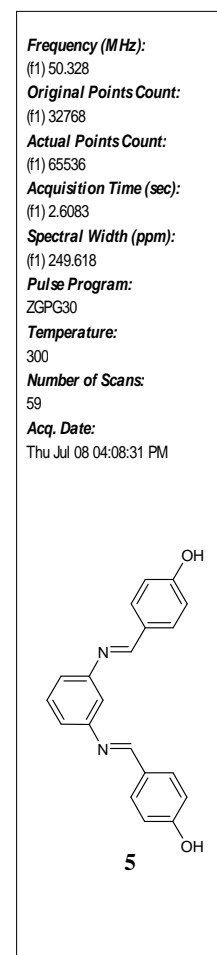


Figura 71 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **5** em DMSO-d_6



7. ANEXOS

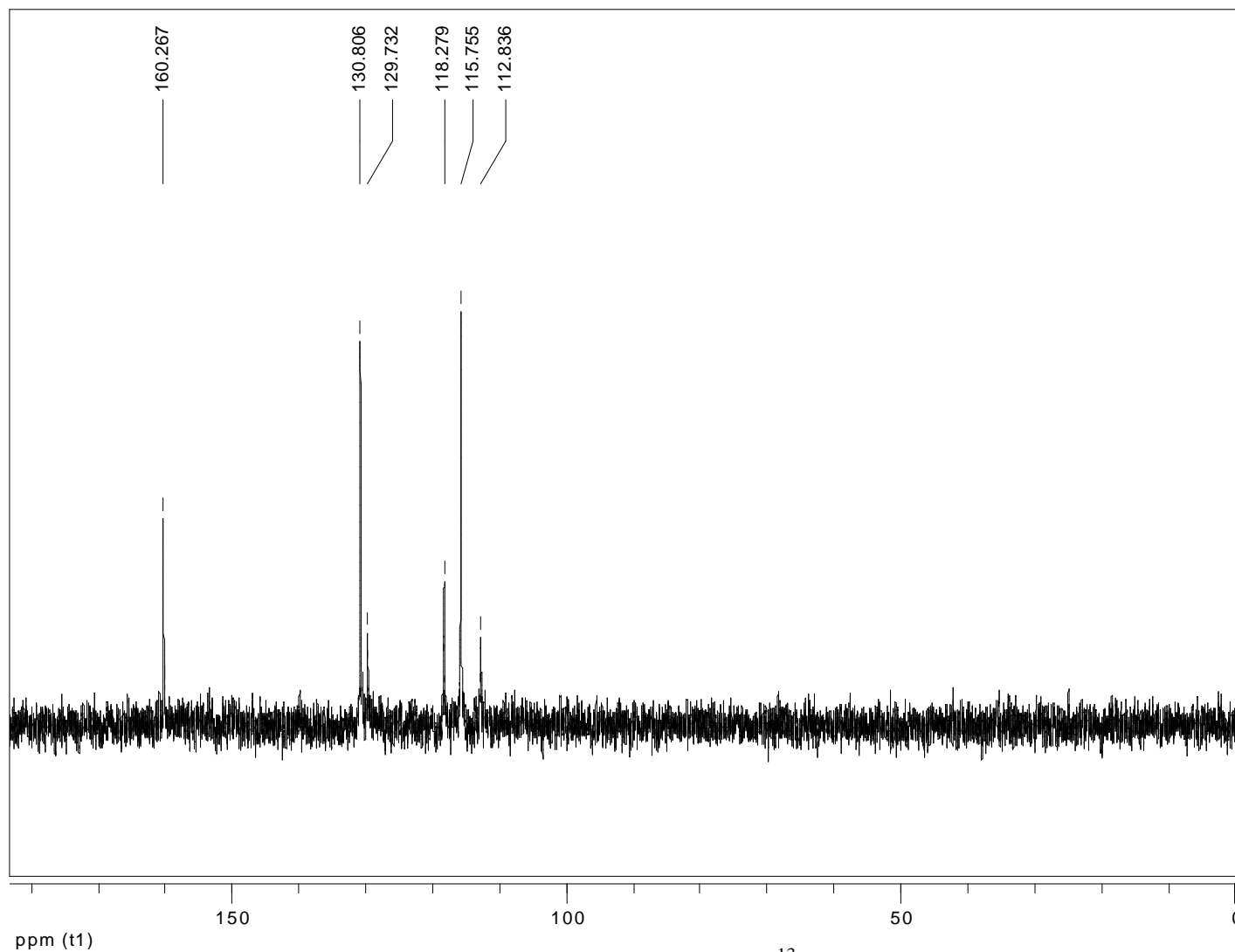
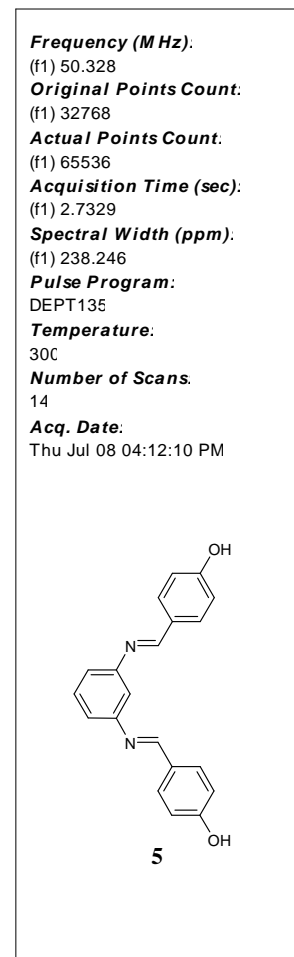


Figura 72 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **5** em DMSO-d_6



7.1.11 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 7

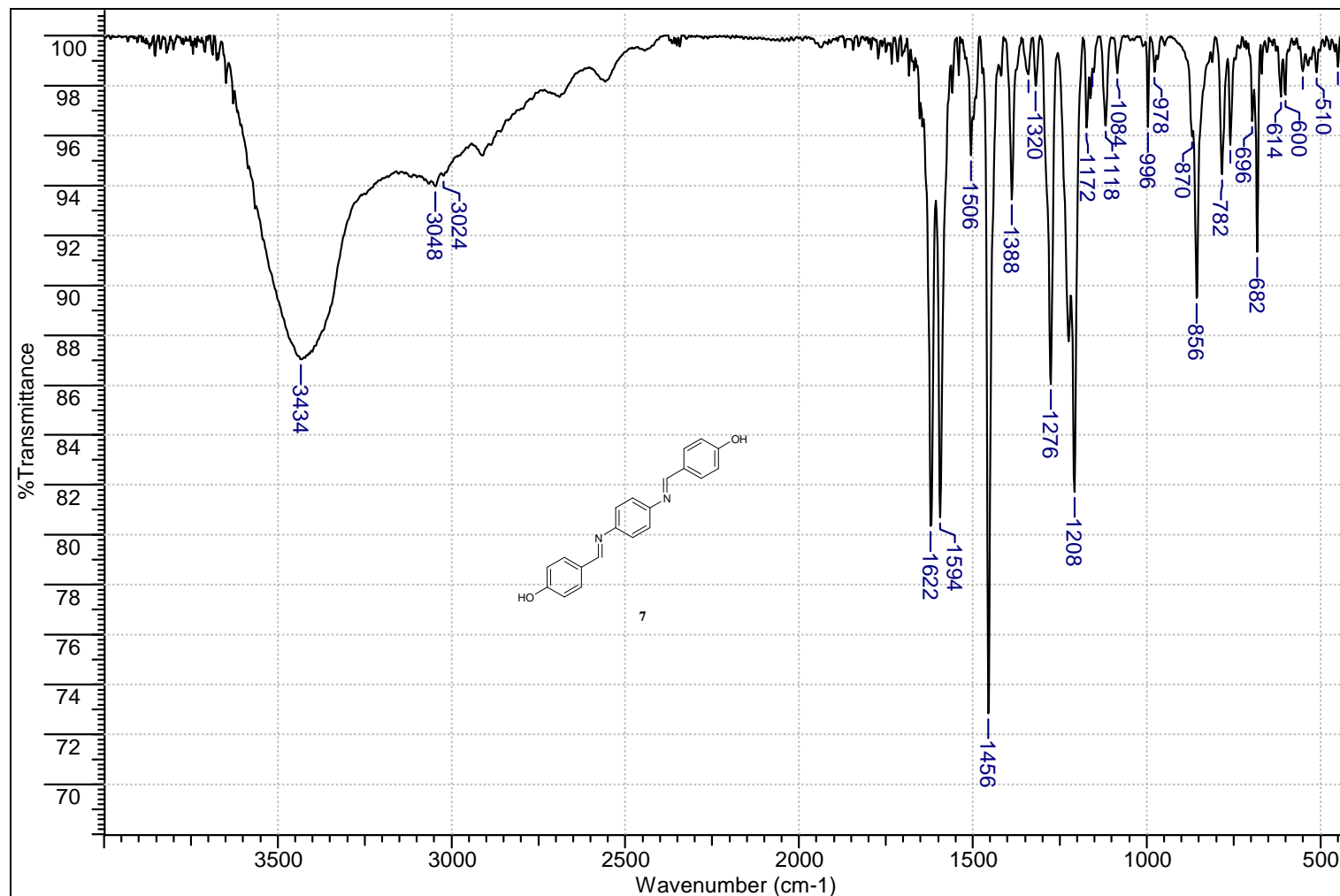


Figura 73 – Espectro de infravermelho do composto 7 pastilhado em KBr

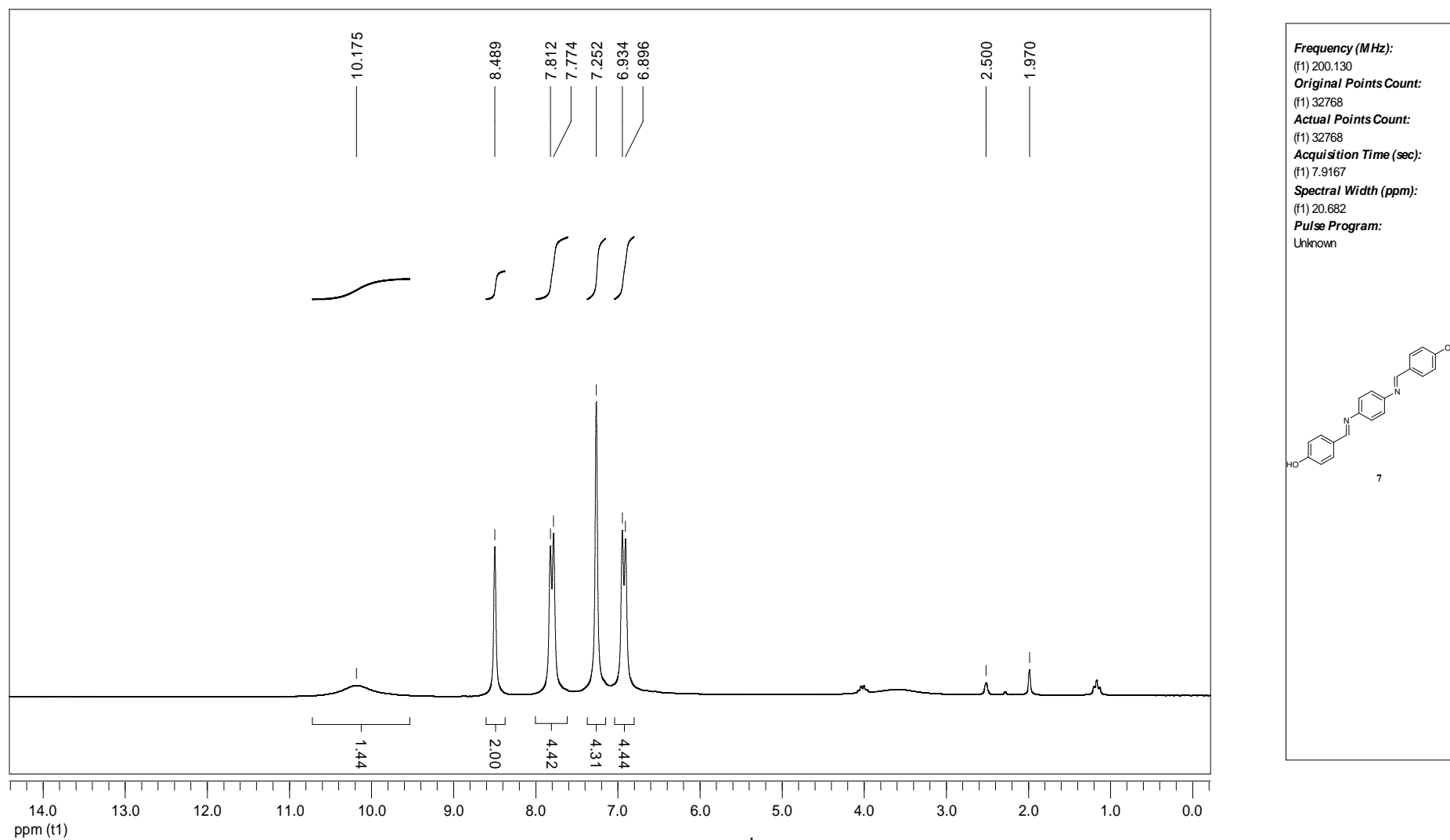


Figura 74 – Espectro de RMN de ^1H do composto 7 em DMSO-d_6

7. ANEXOS

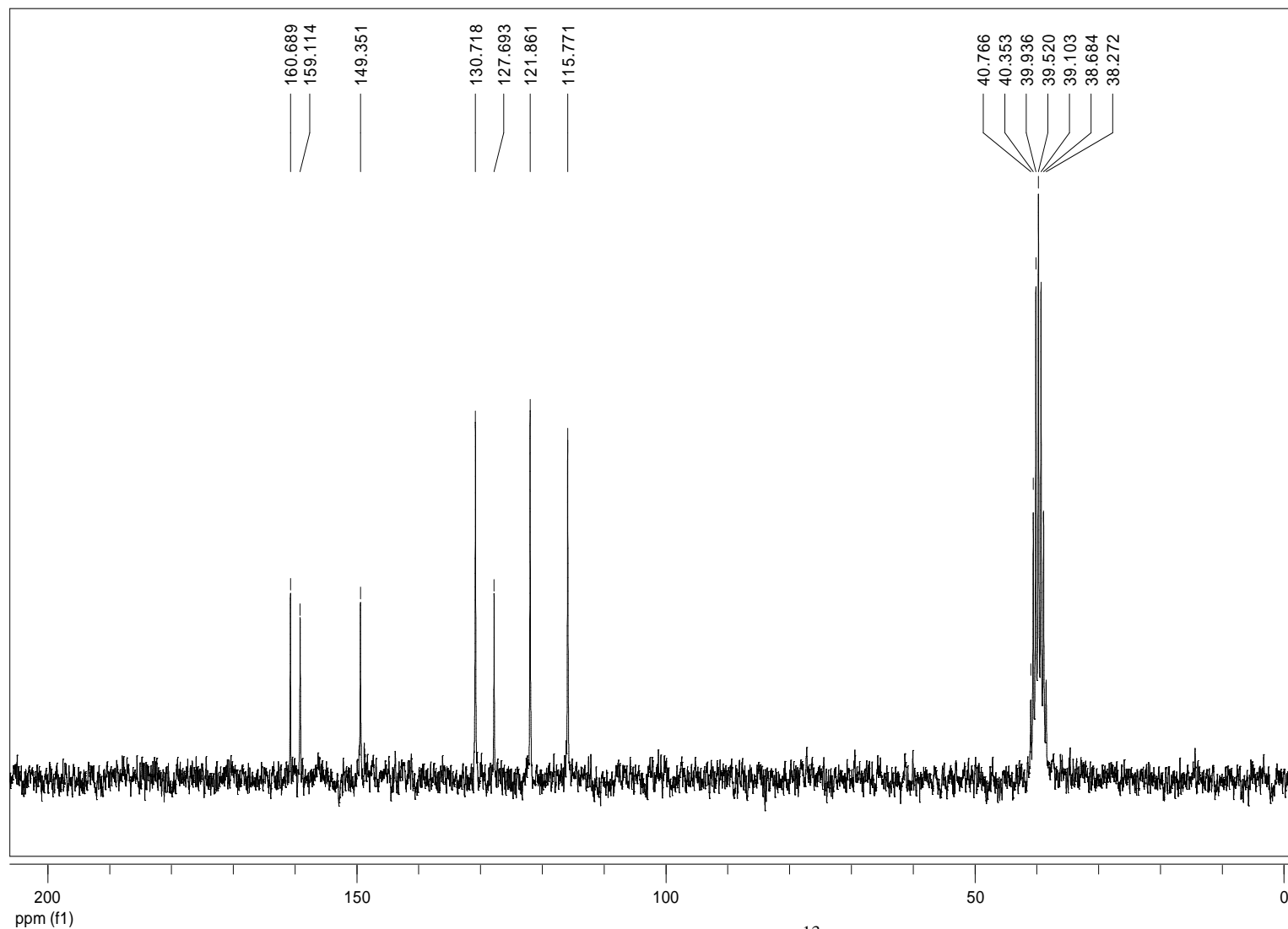
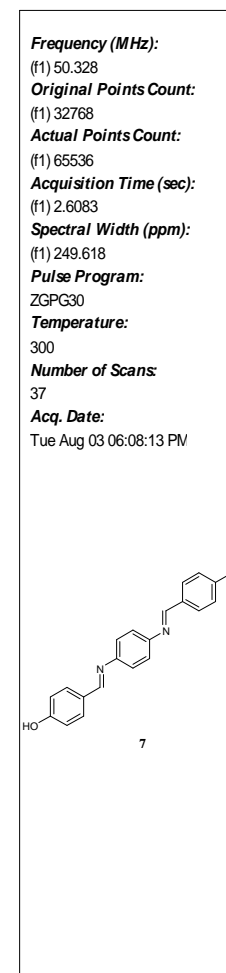


Figura 75 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7 em DMSO-d_6



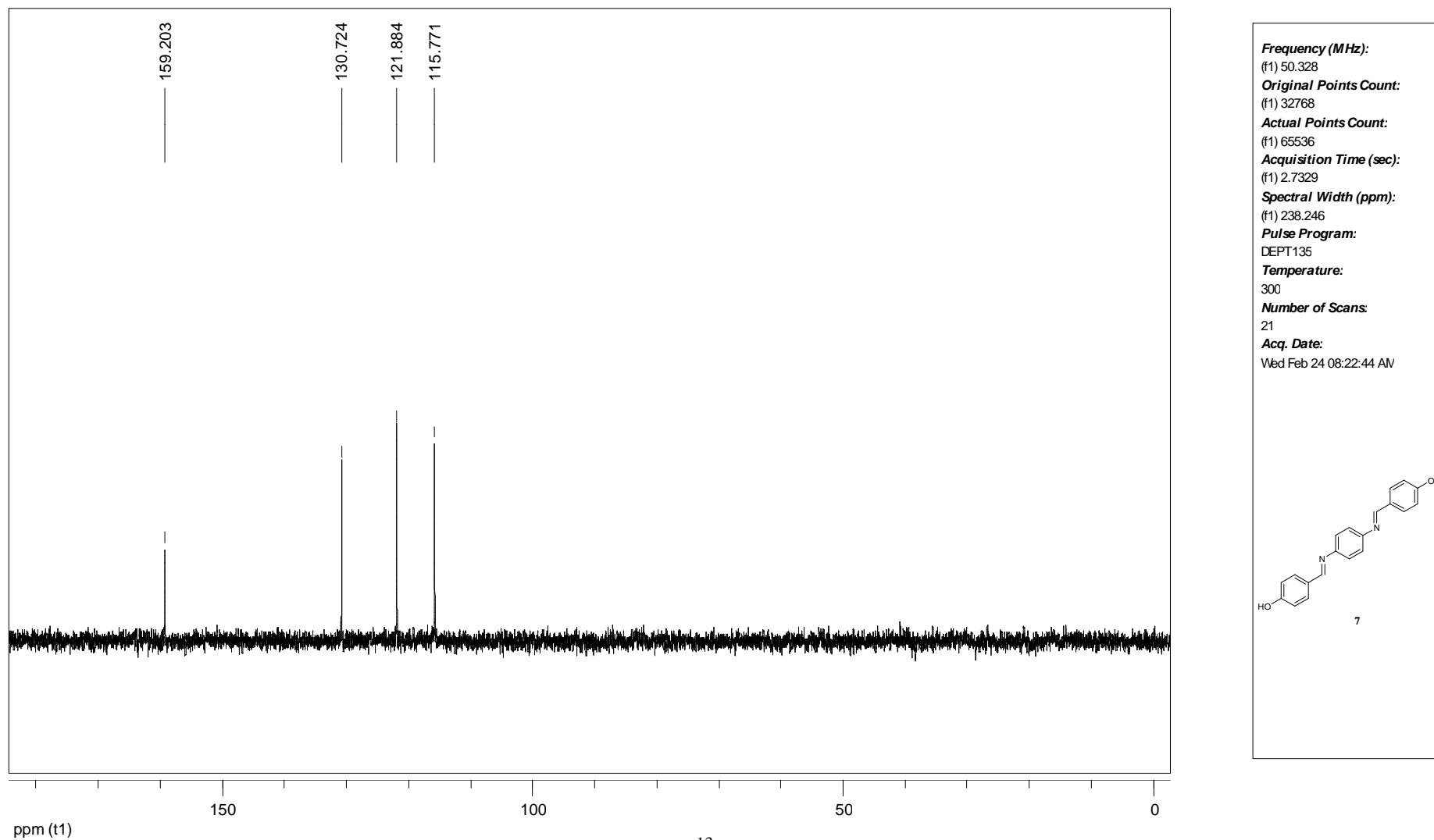


Figura 76 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **7** em DMSO-d_6

7.1.12 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 14

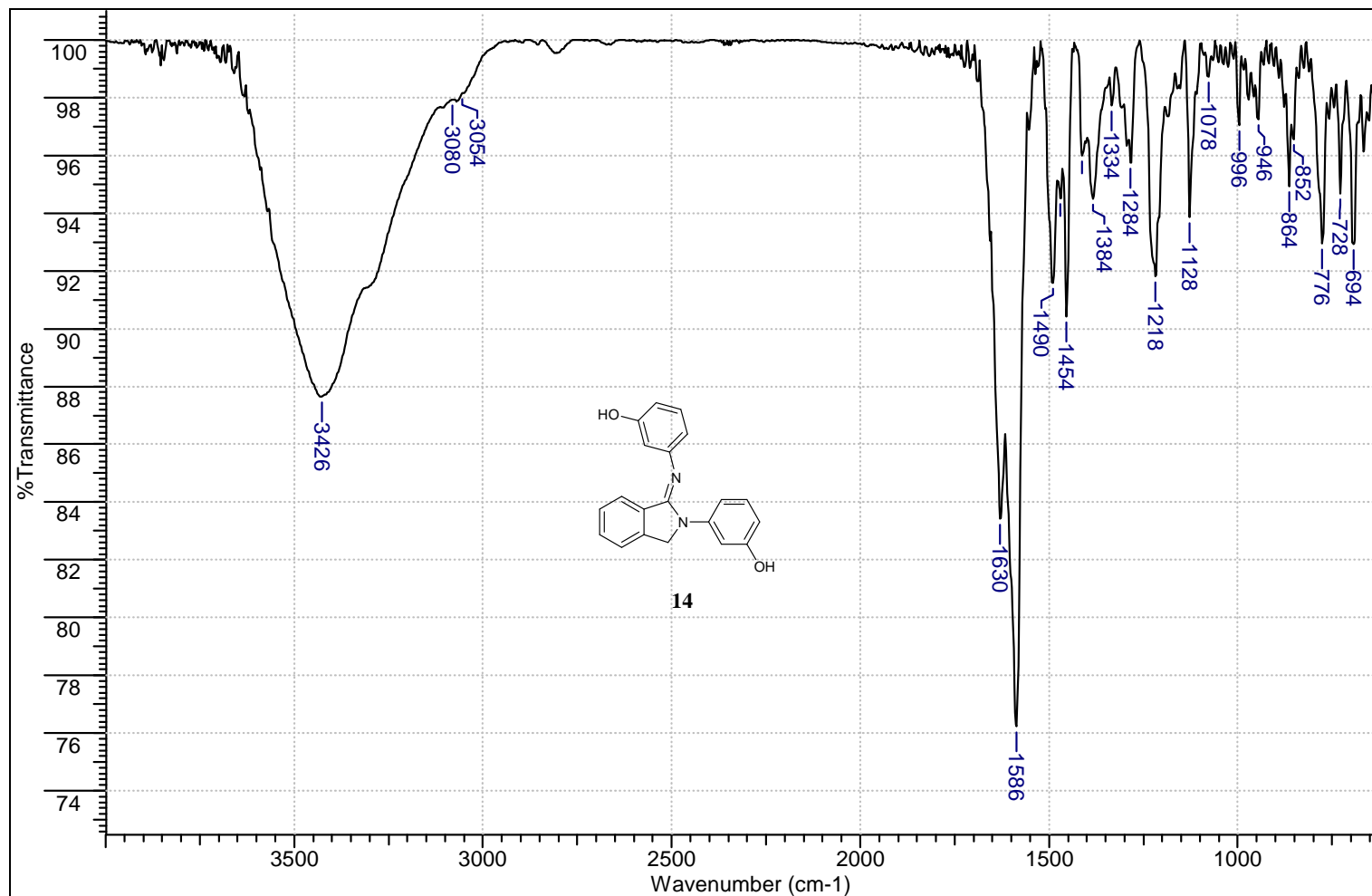
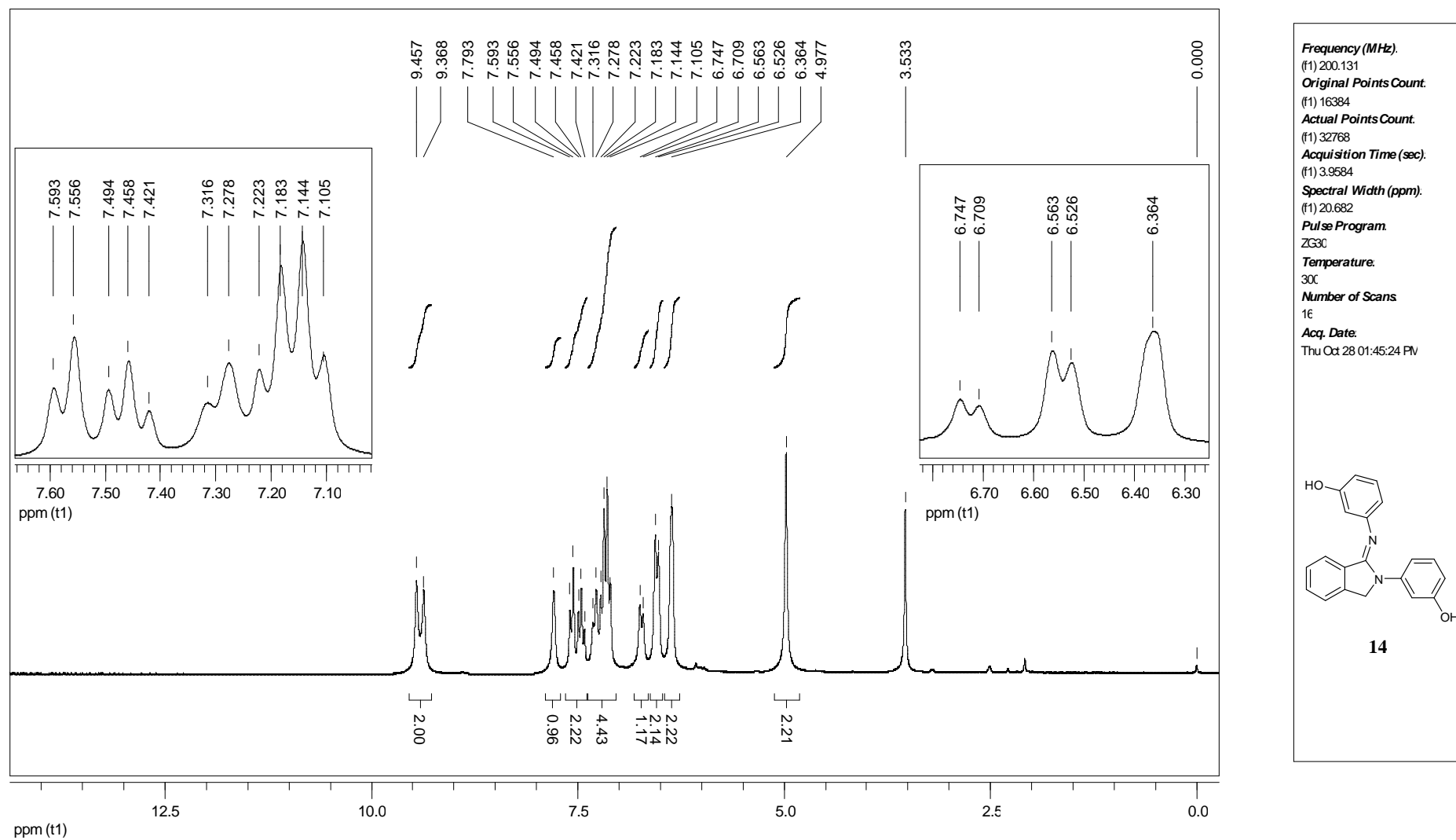


Figura 77 – Espectro de infravermelho do composto 14 pastilhado em KBr

Figura 78 – Espectro de RMN de ^1H do composto **14** em DMSO-d_6

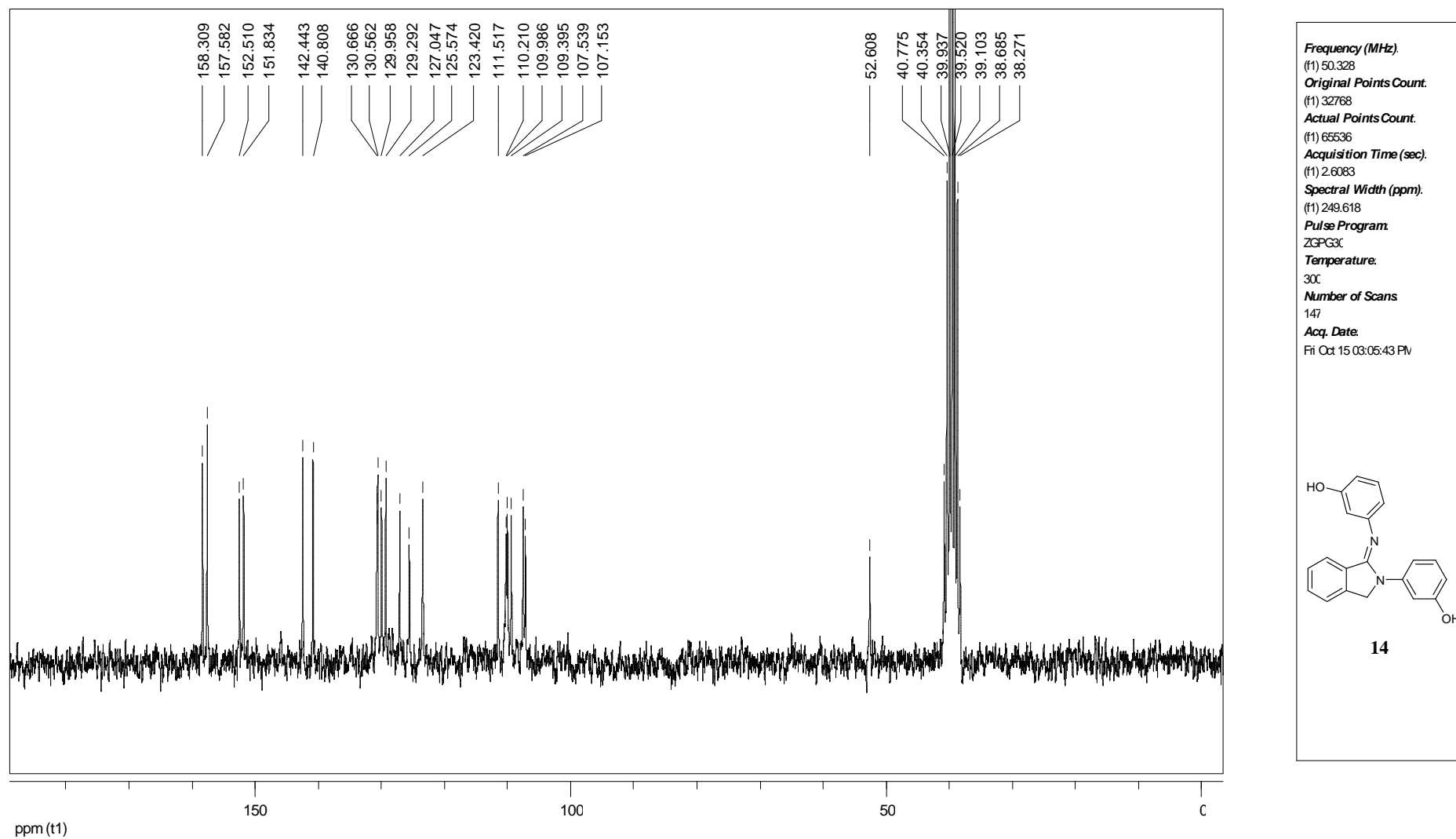


Figura 79 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **14** em DMSO-d_6

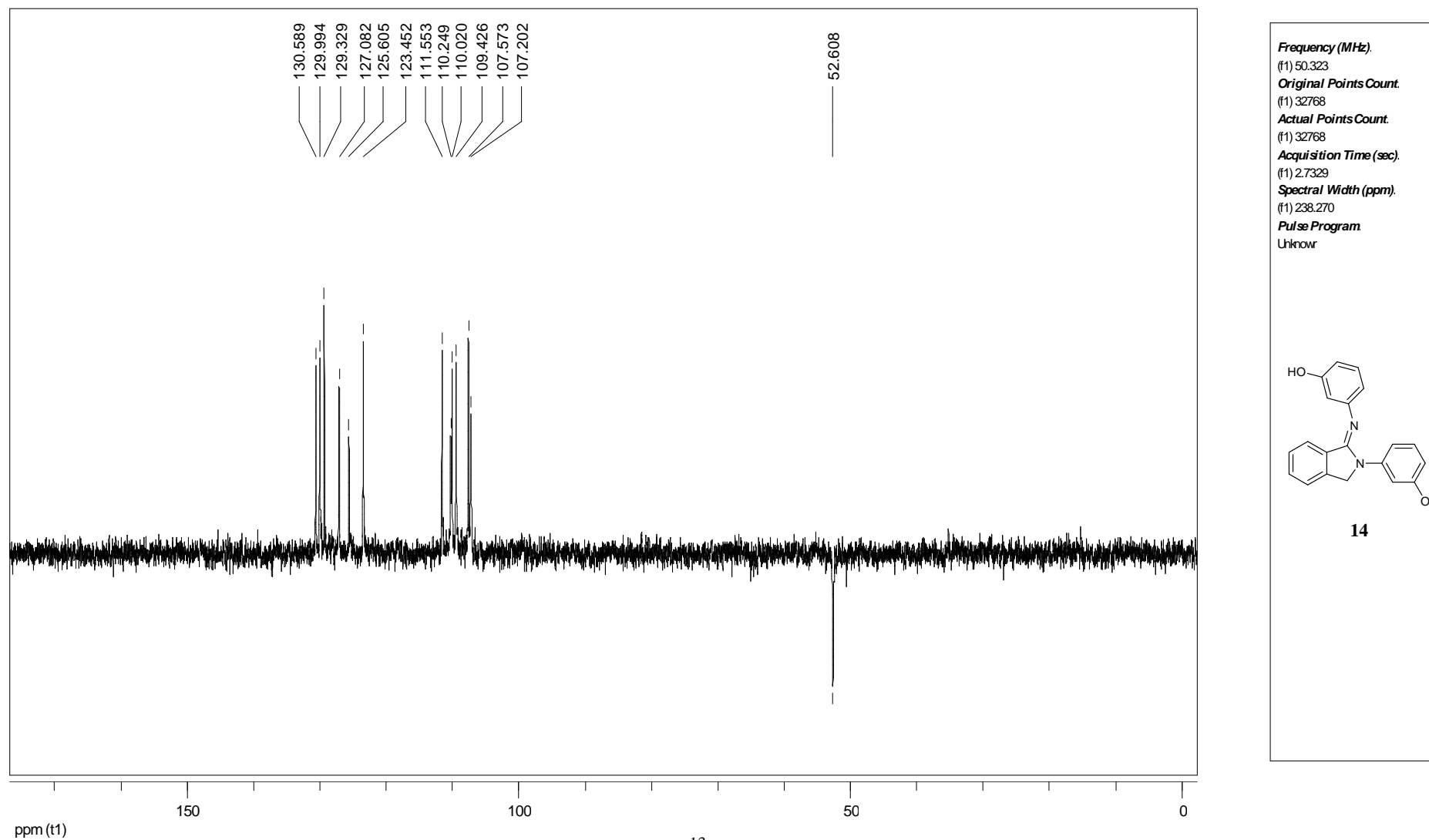


Figura 80 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **14** em DMSO-d_6

7.1.13 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 16

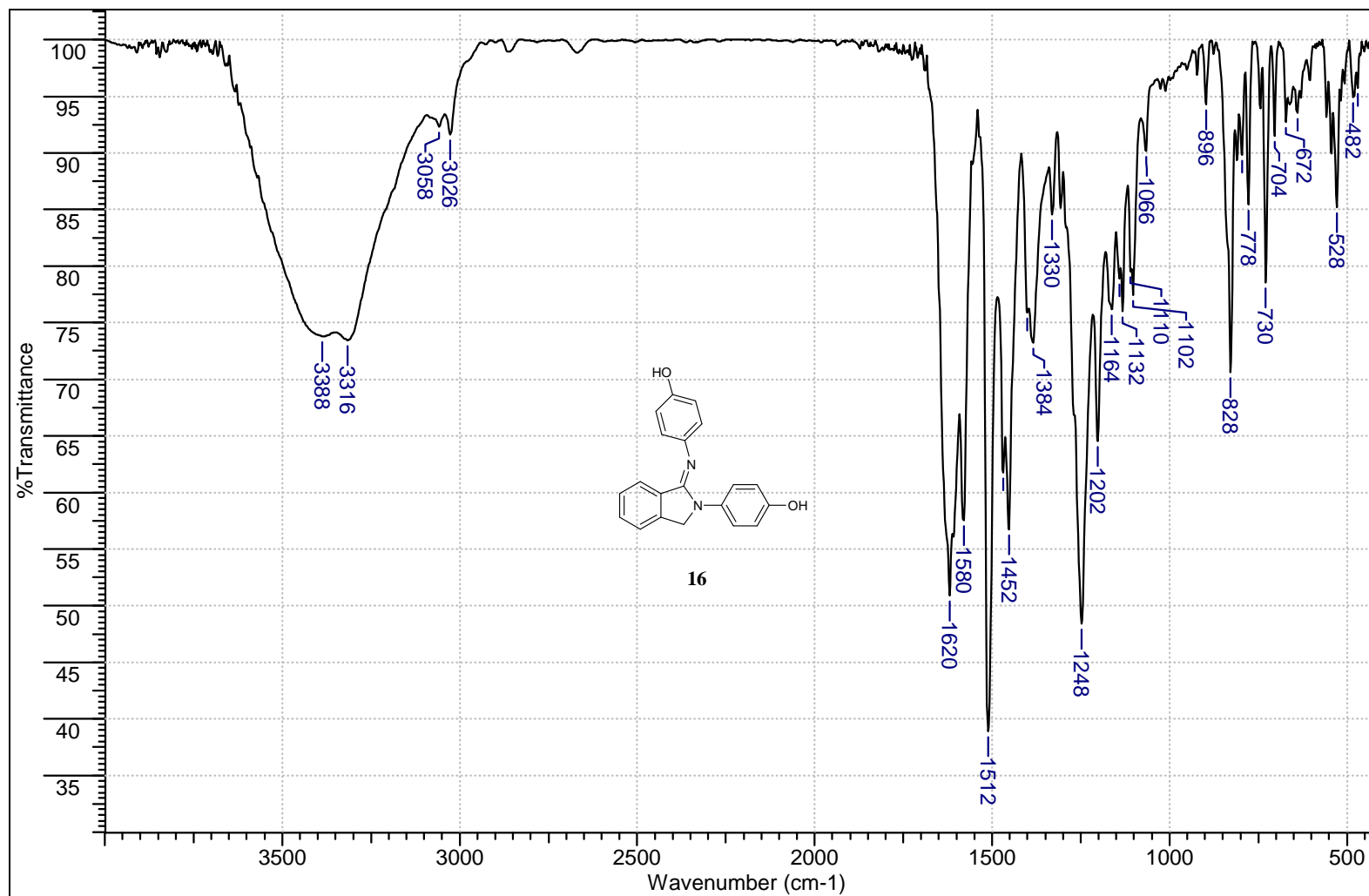
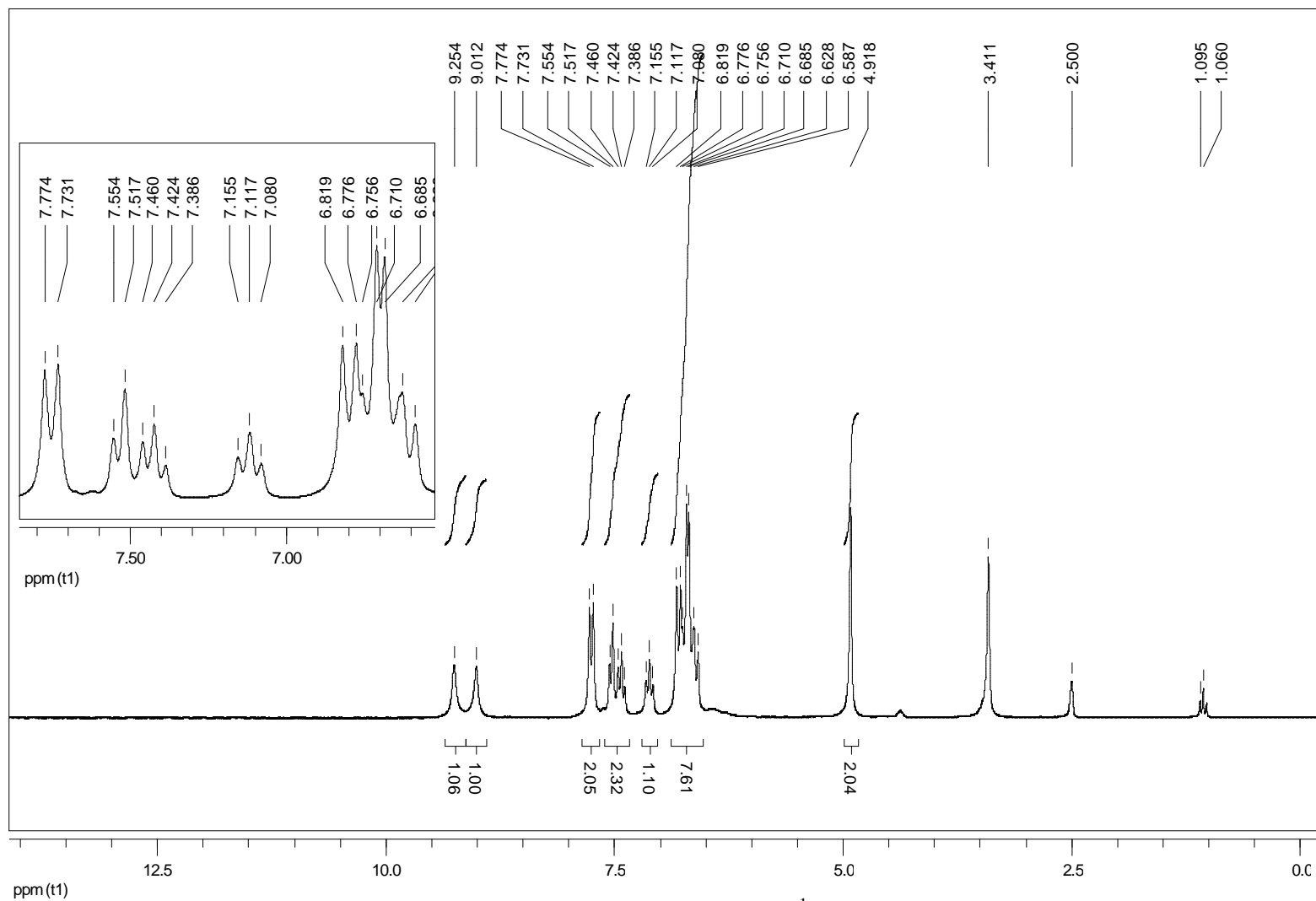


Figura 81 – Espectro de infravermelho do composto 16 pastilhado em KBr

7. ANEXOS



Frequency (MHz):
 (f1) 200.130
Original Points Count:
 (f1) 32768
Actual Points Count:
 (f1) 32768
Acquisition Time (sec):
 (f1) 7.9167
Spectral Width (ppm):
 (f1) 20.682
Pulse Program:
 Unknown

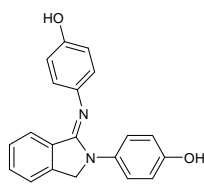

16

Figura 82 – Espectro de RMN de ¹H do composto 16 em DMSO-d₆

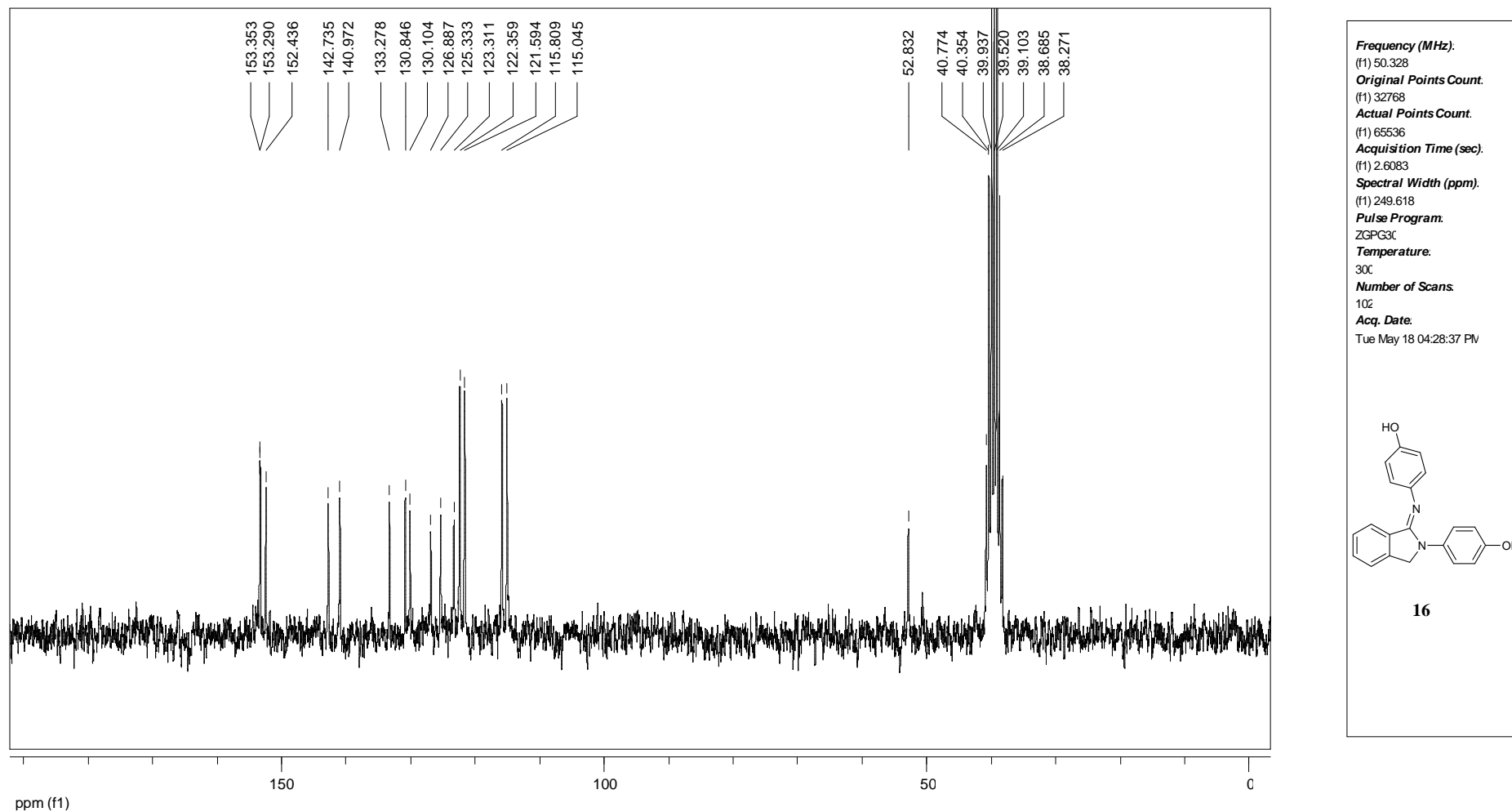


Figura 83 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 16 em DMSO-d_6

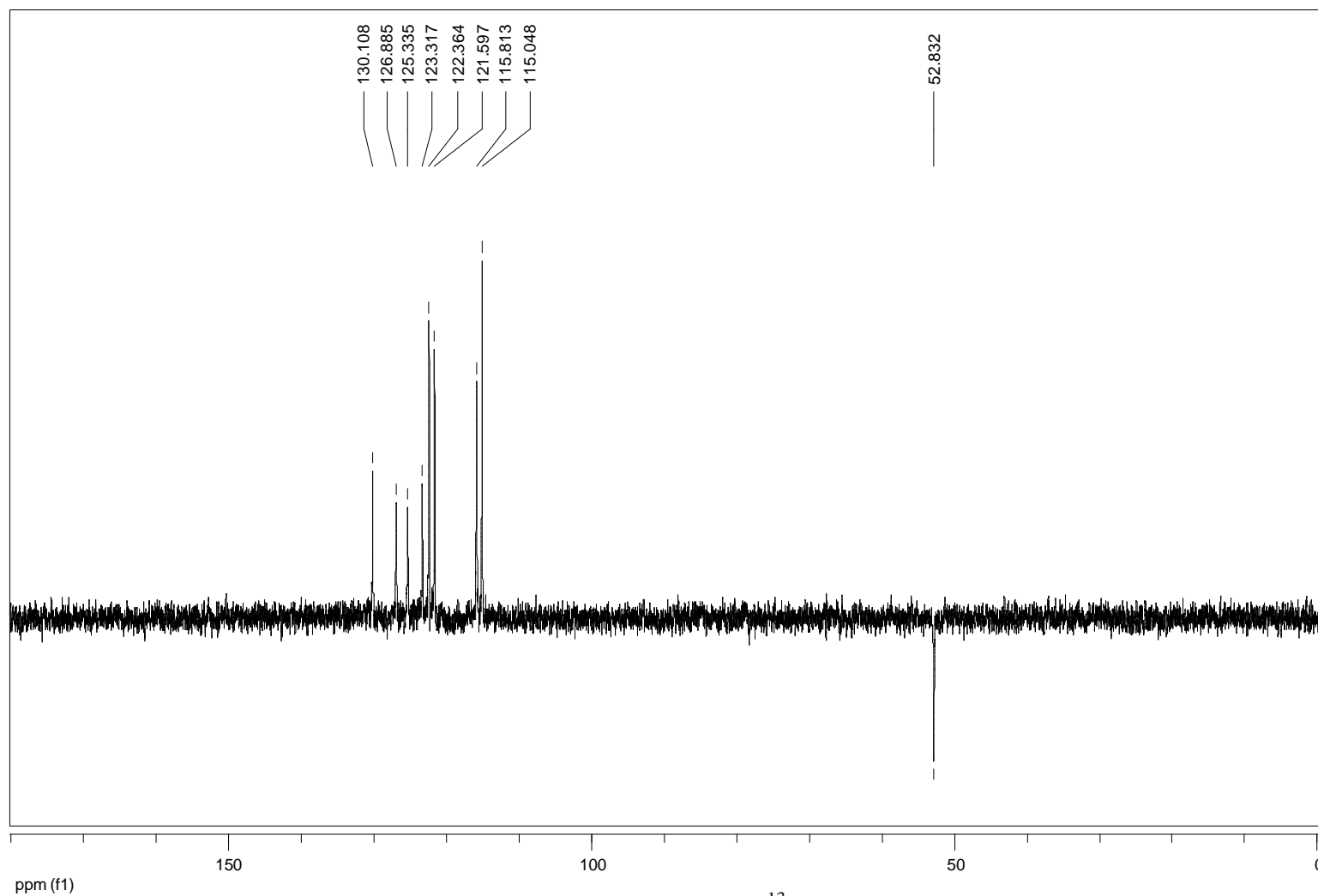
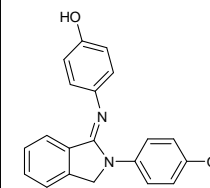


Figura 84 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **16** em DMSO-d_6

Frequency (MHz).
(f1) 50.328
Original Points Count.
(f1) 32768
Actual Points Count.
(f1) 65536
Acquisition Time (sec).
(f1) 2.7329
Spectral Width (ppm).
(f1) 238.246
Pulse Program.
DEPT13E
Temperature.
30C
Number of Scans.
5E
Acq. Date.
Tue May 18 04:36:15 PM



16

7.1.14 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 17

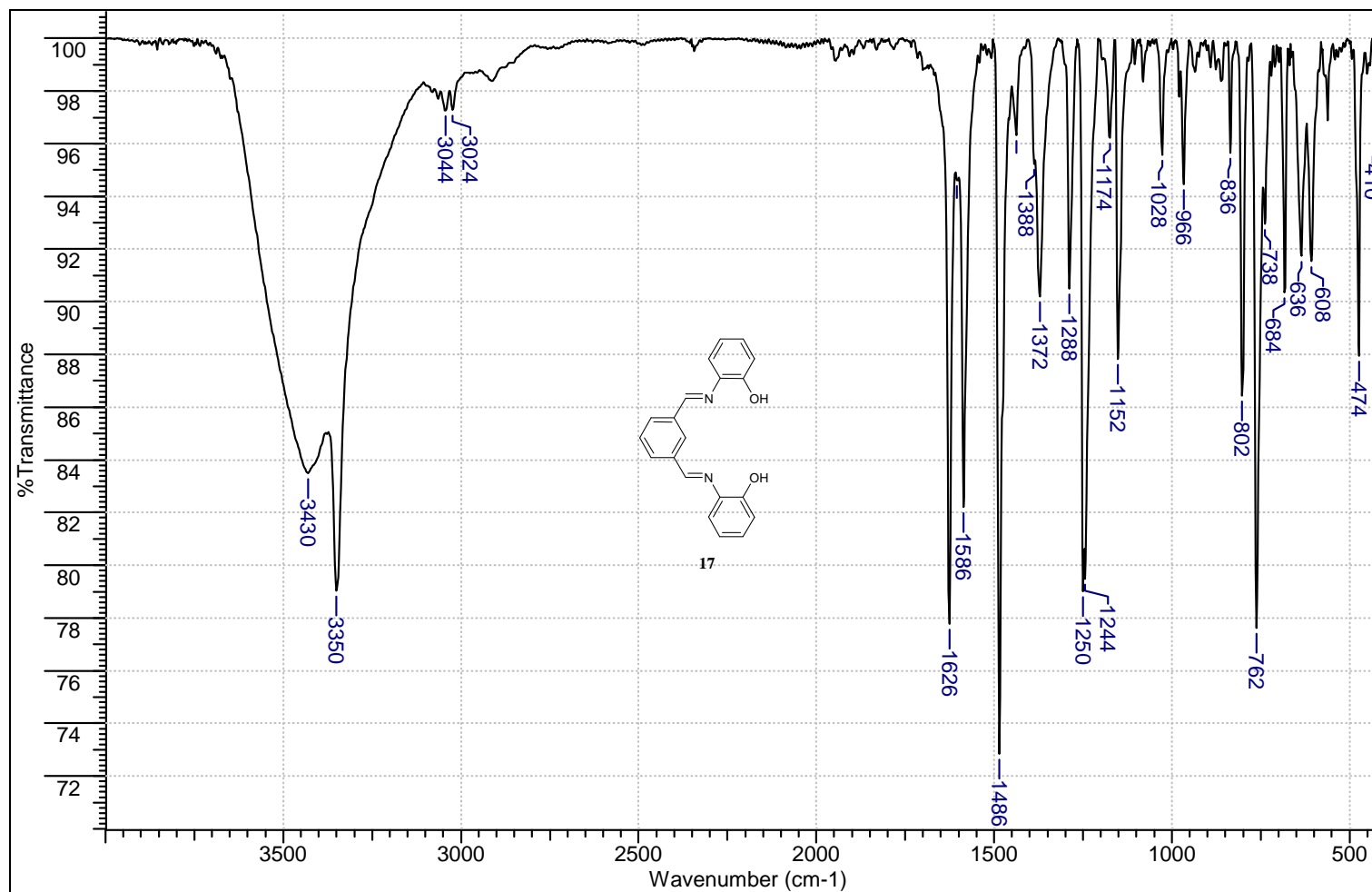


Figura 85 – Espectro de infravermelho do composto 17 pastilhado em KBr

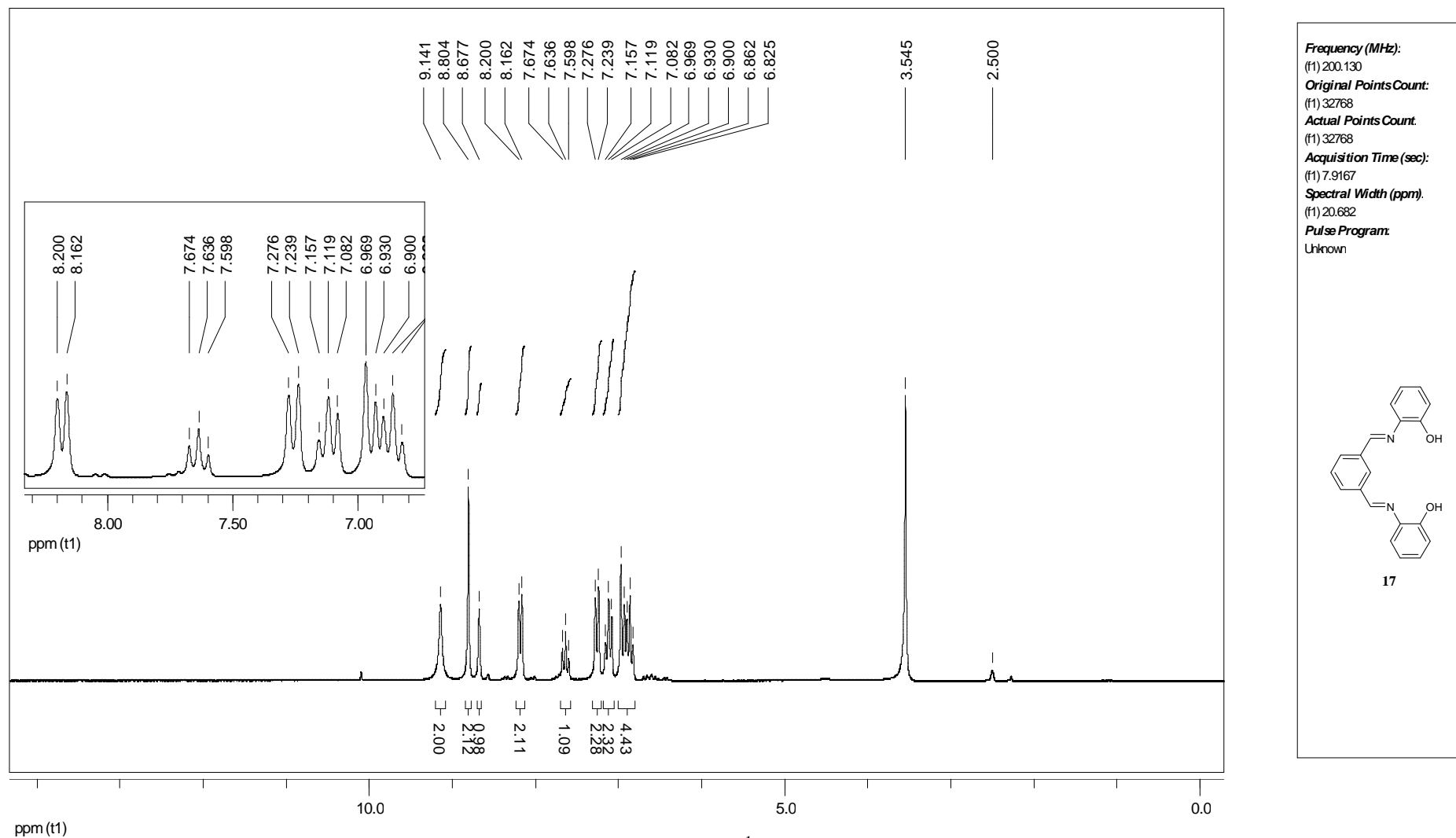


Figura 86 – Espectro de RMN de ^1H do composto **17** em DMSO-d_6

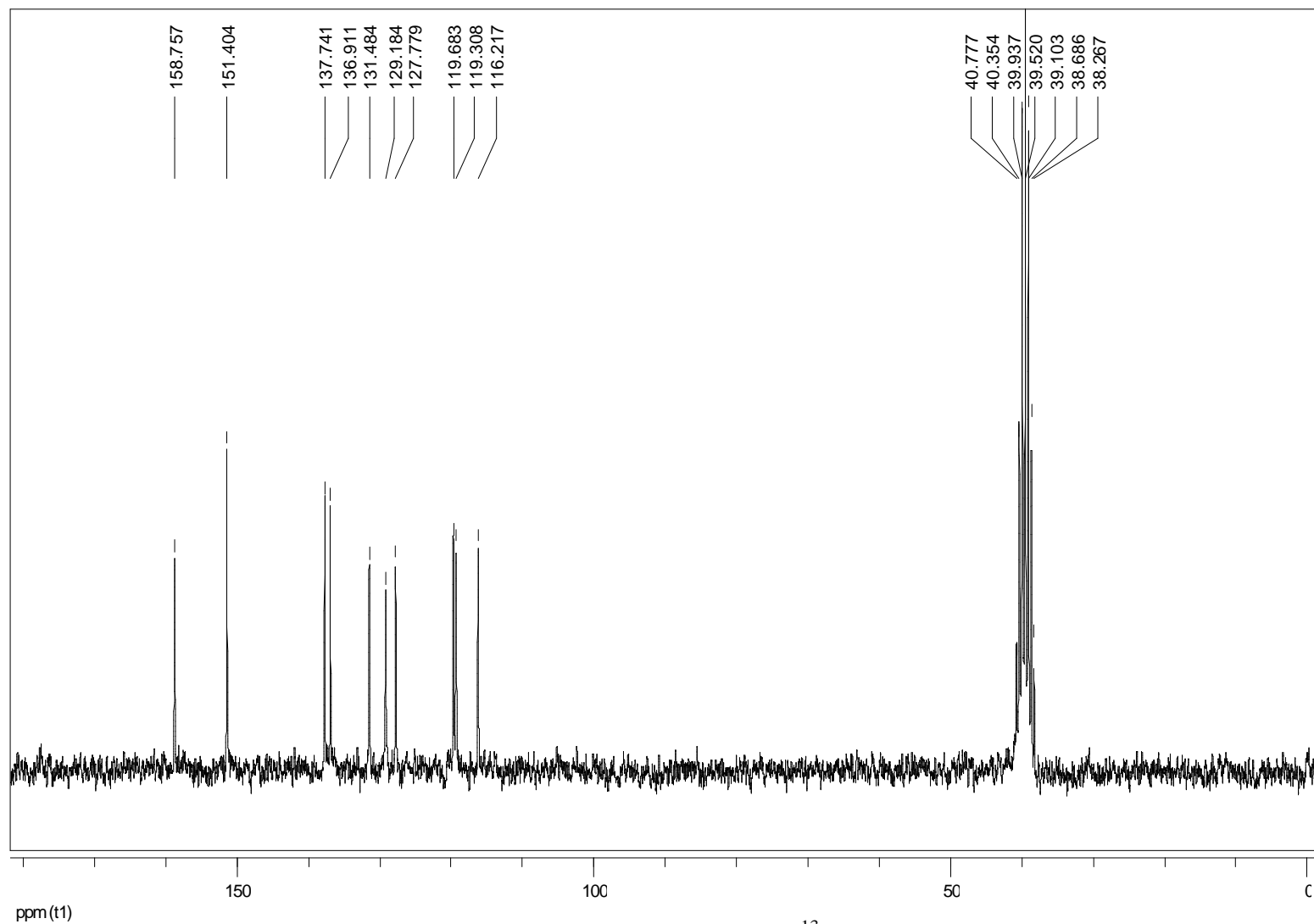
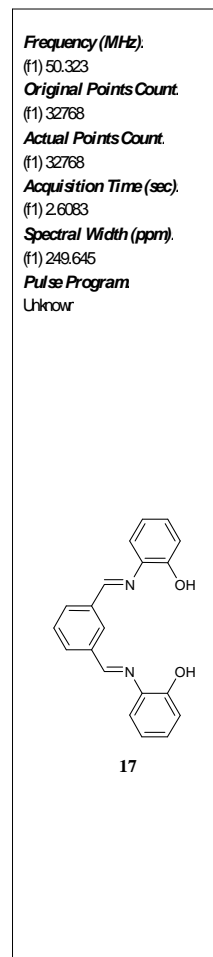


Figura 87 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **17** em DMSO-d_6



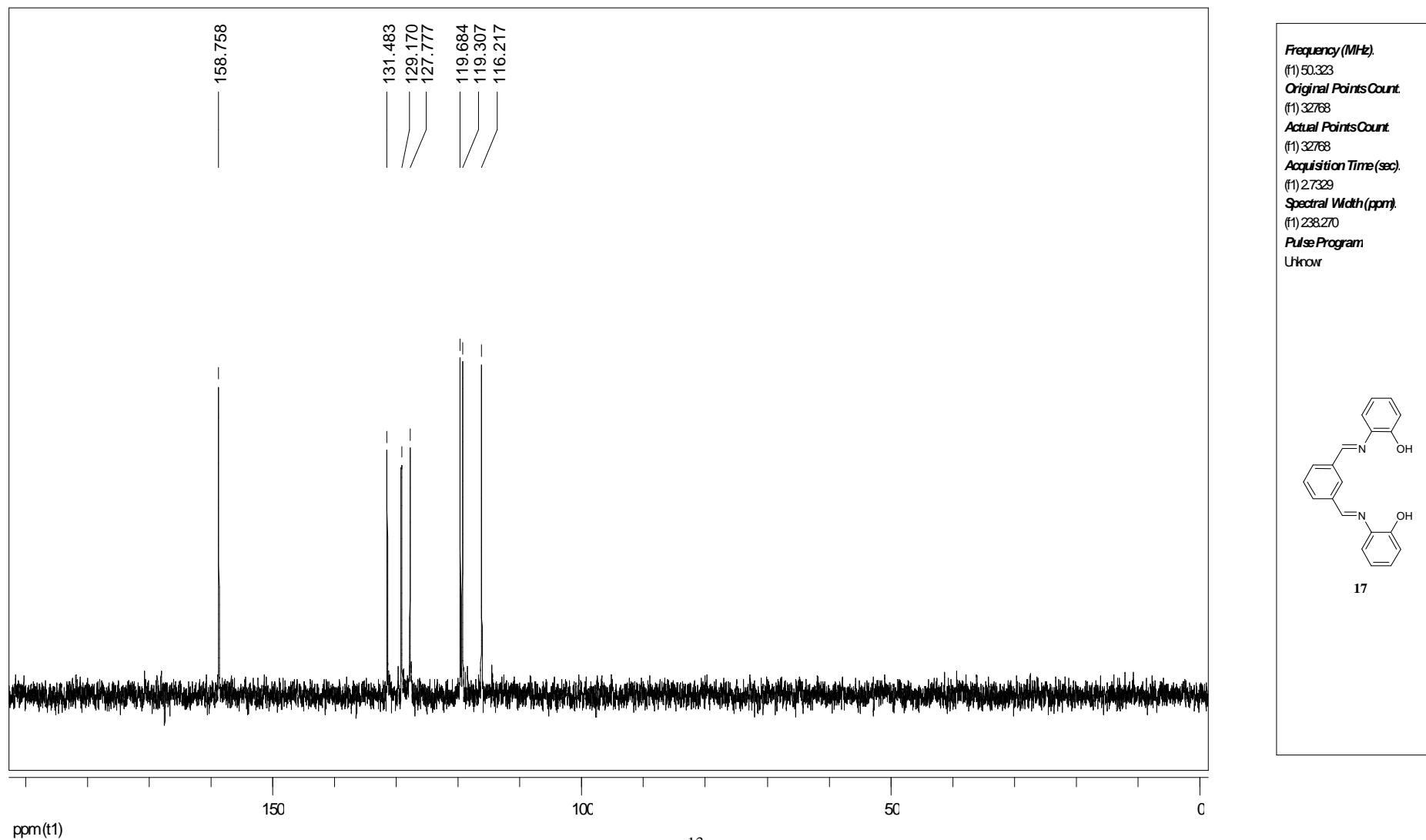


Figura 88 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **17** em DMSO-d_6

7.1.15 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 18

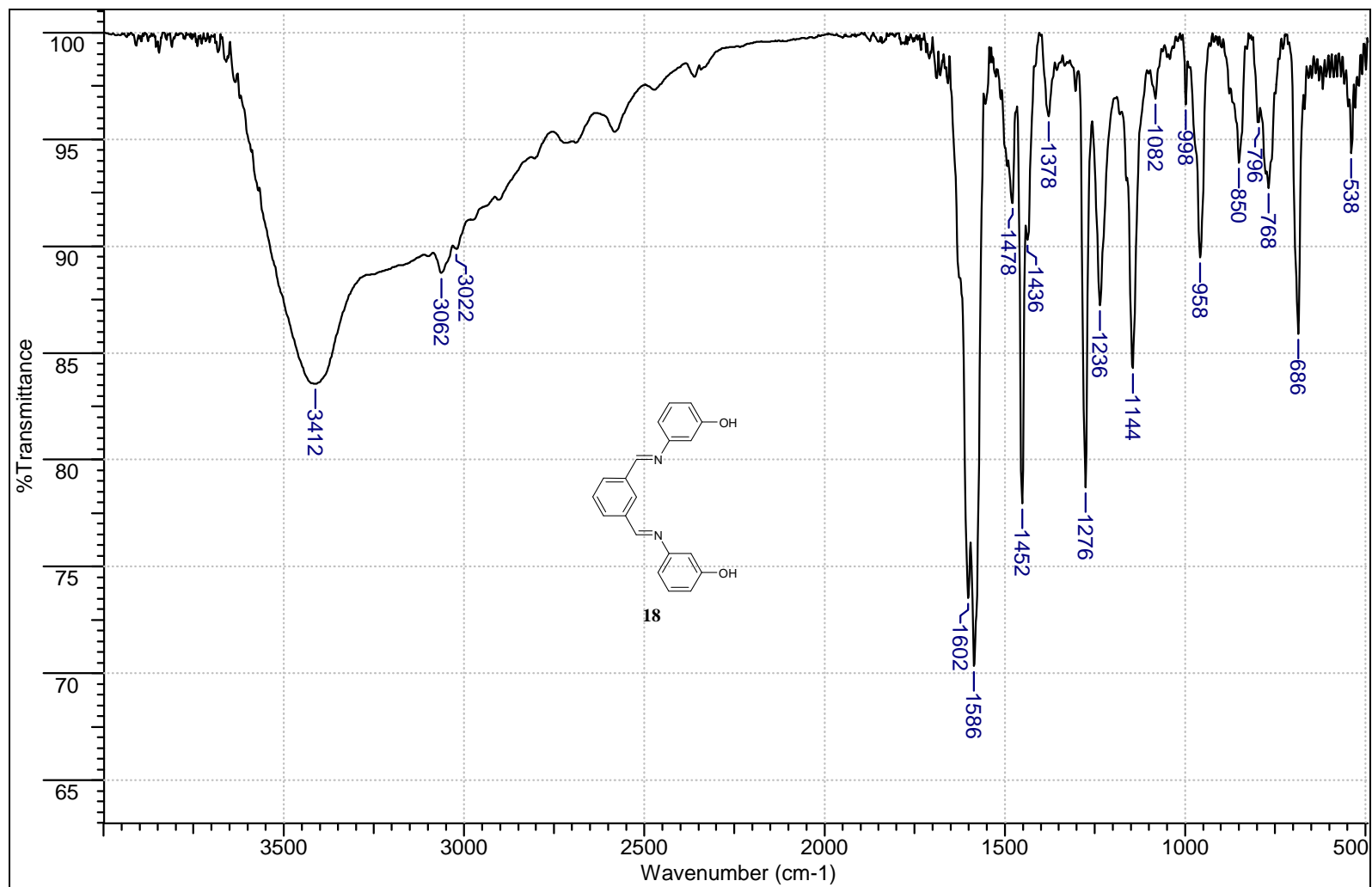


Figura 89 – Espectro de infravermelho do composto 18 pastilhado em KBr

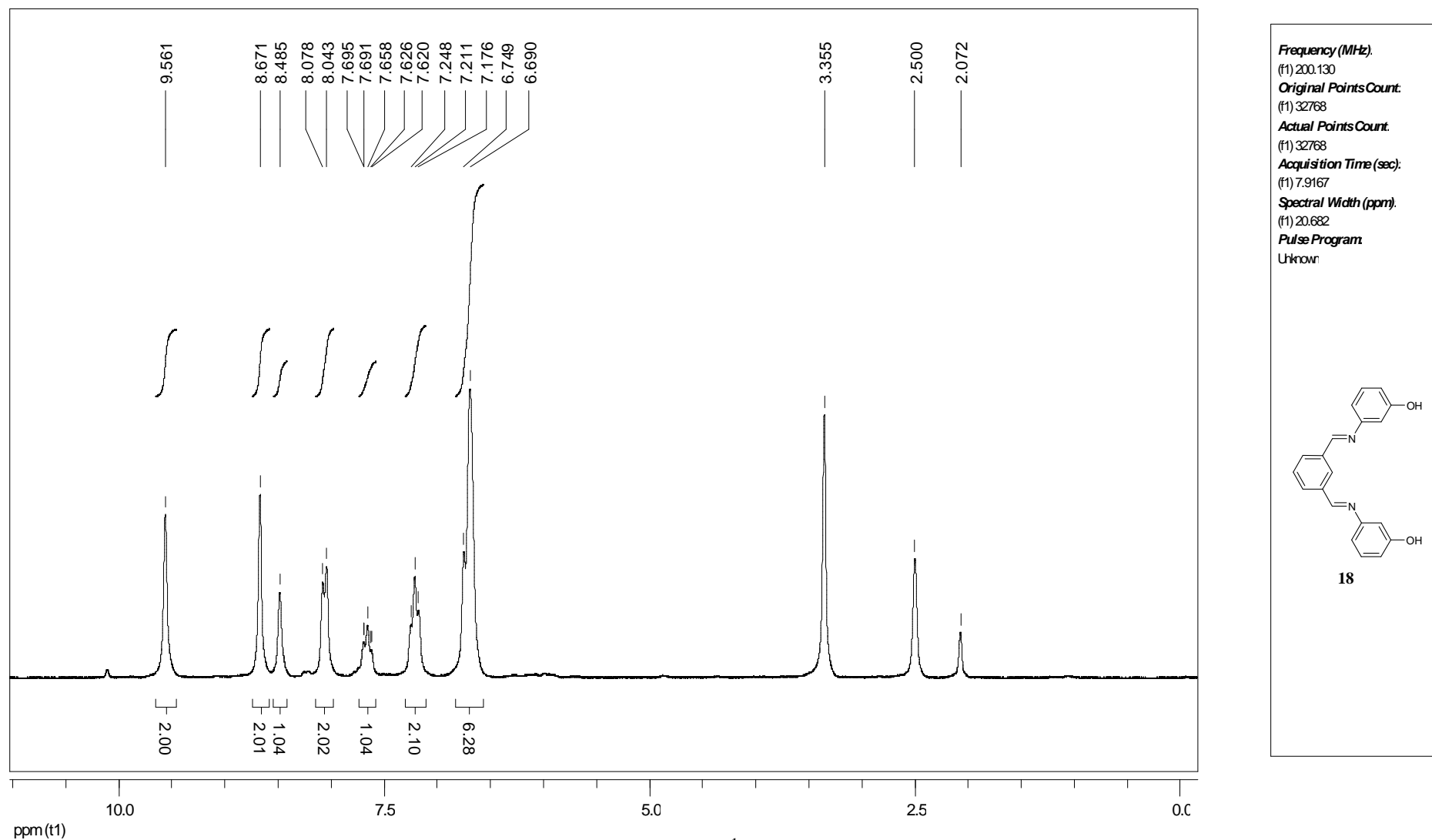


Figura 90 – Espectro de RMN de ^1H do composto **18** em DMSO-d_6

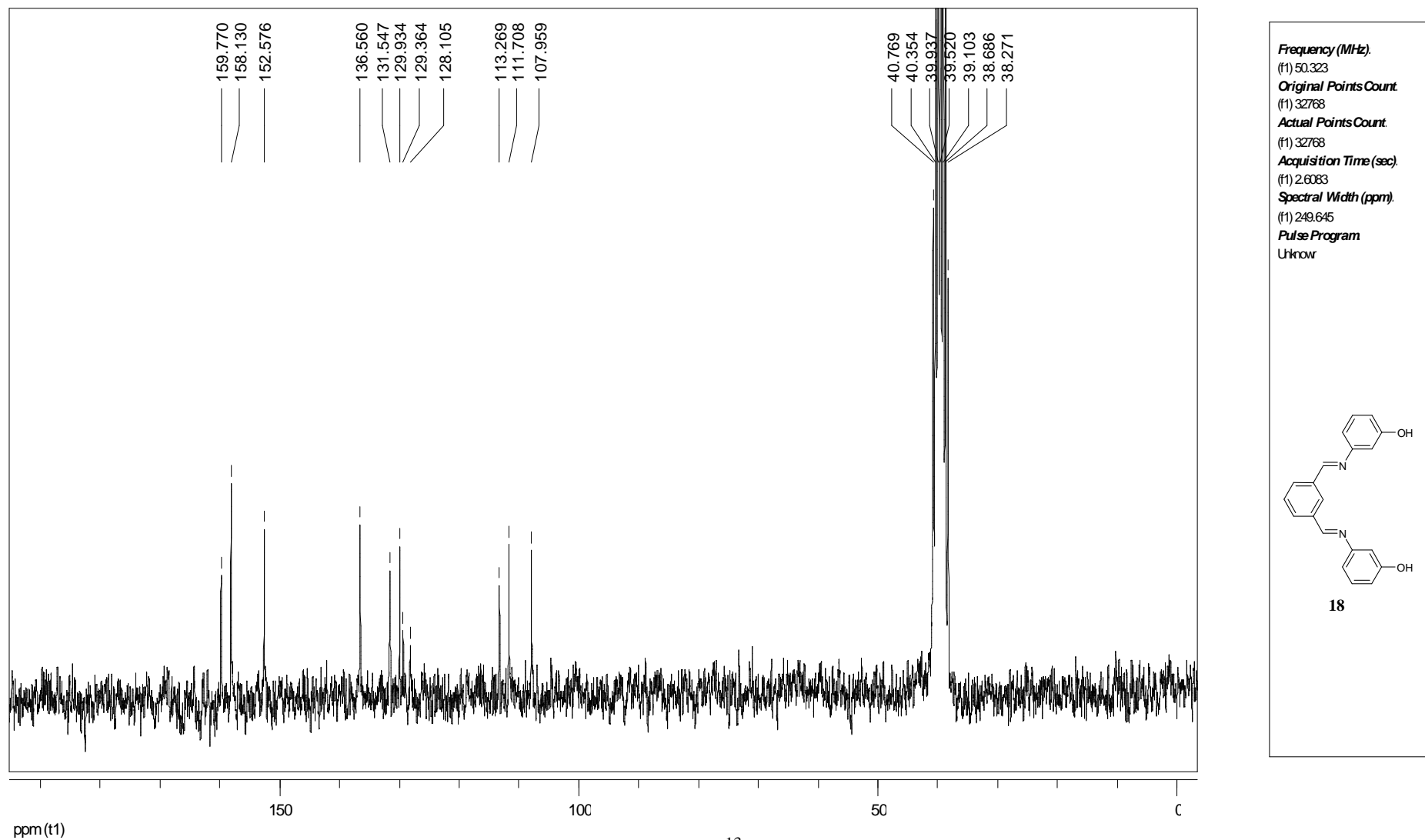


Figura 91 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **18** em DMSO-d_6

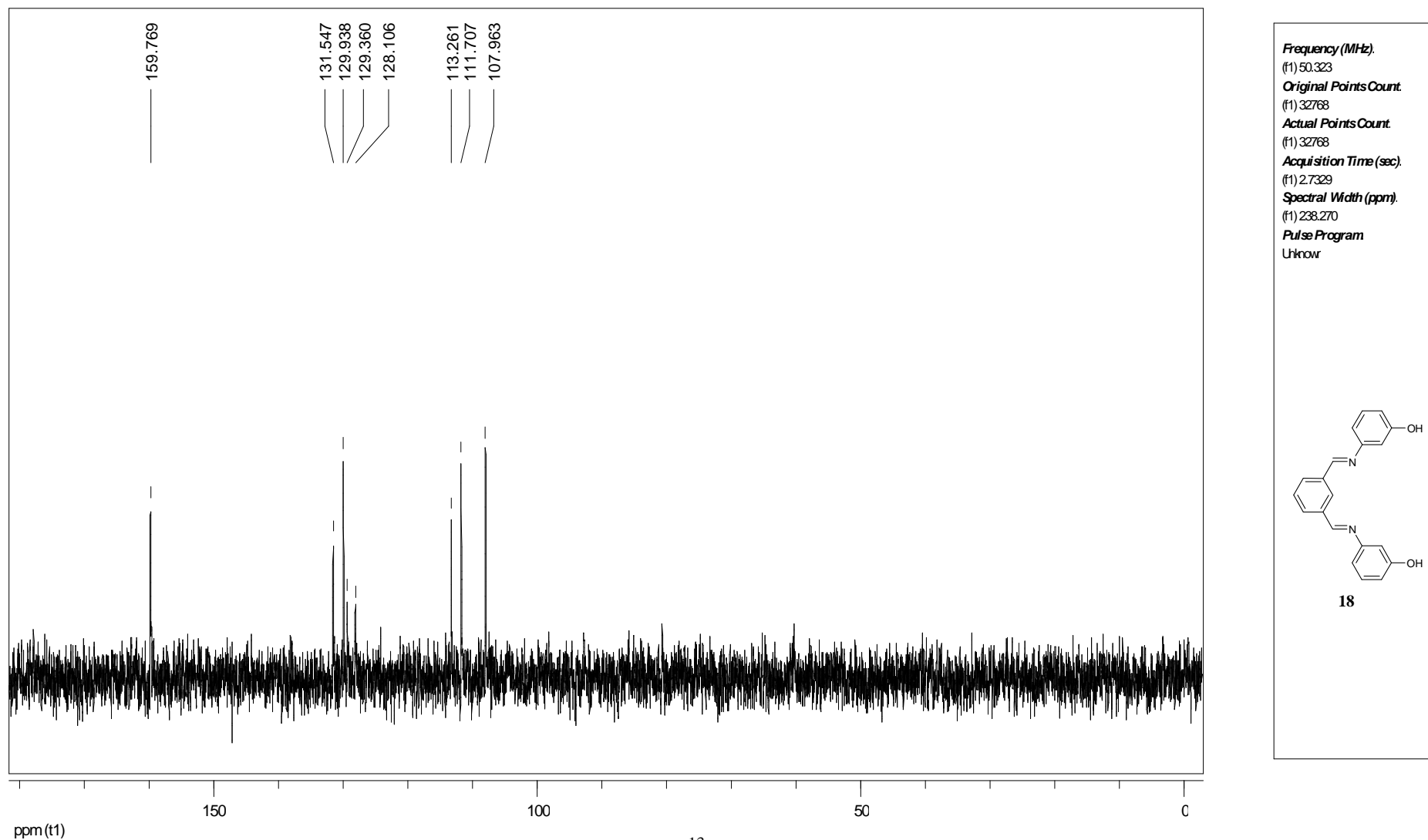


Figura 92 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **18** em DMSO-d_6

7.1.16 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 19

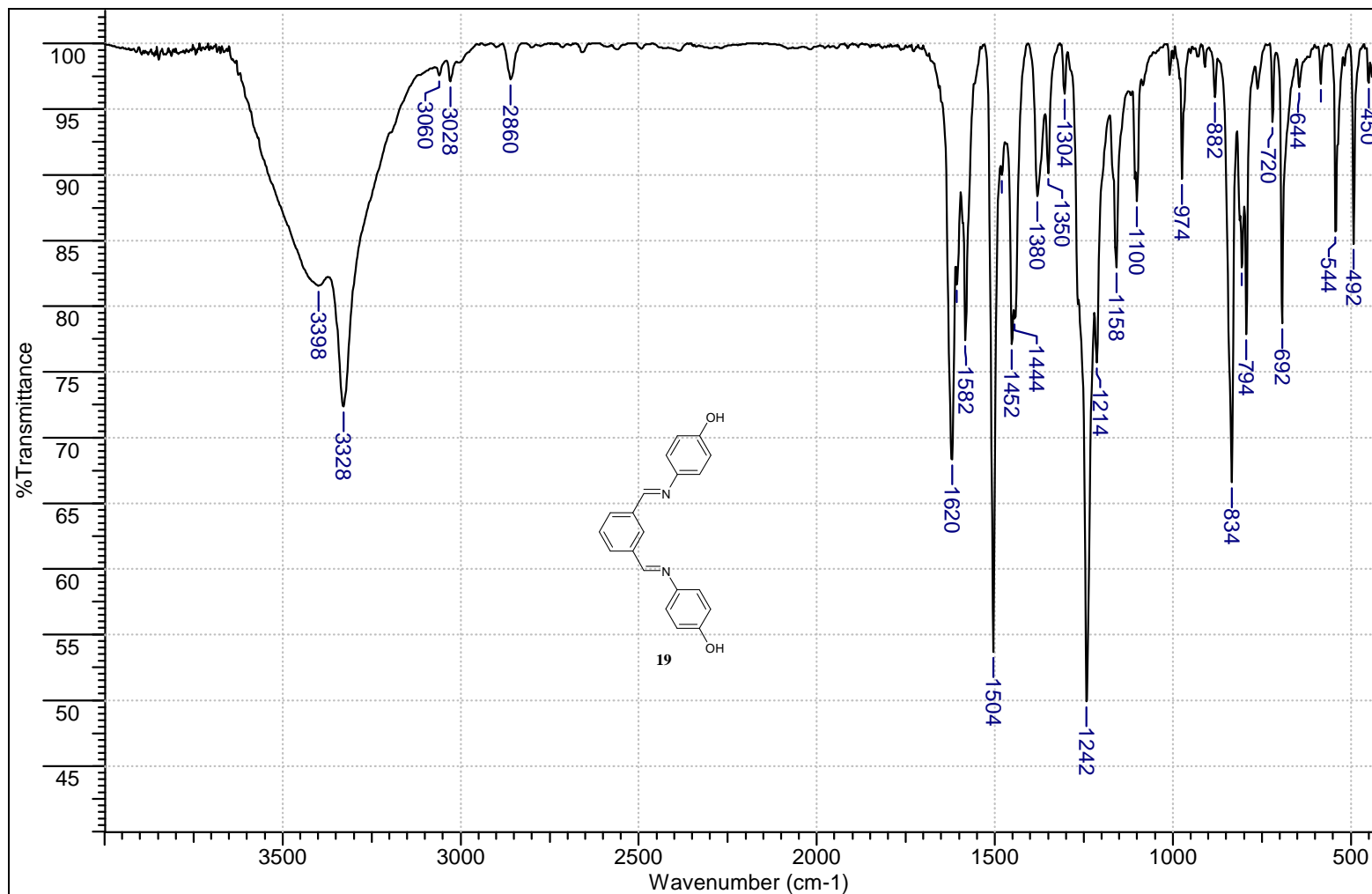


Figura 93 – Espectro de infravermelho do composto 19 pastilhado em KBr

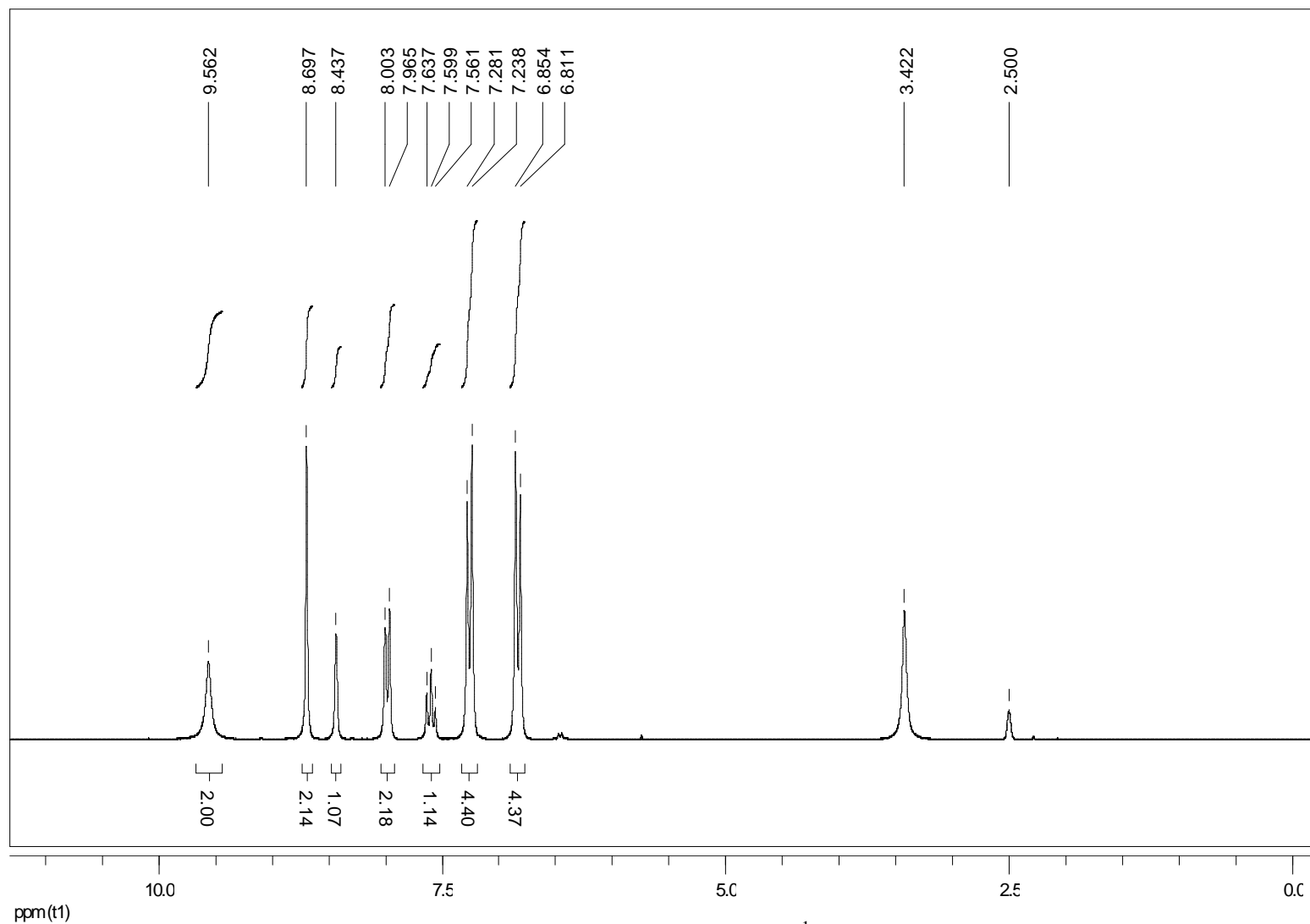
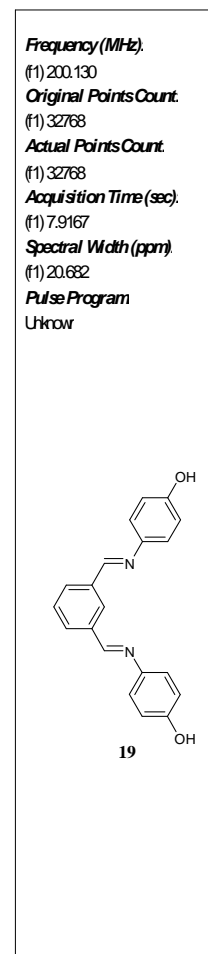


Figura 95 – Espectro de RMN de ^1H do composto **19** em DMSO-d_6



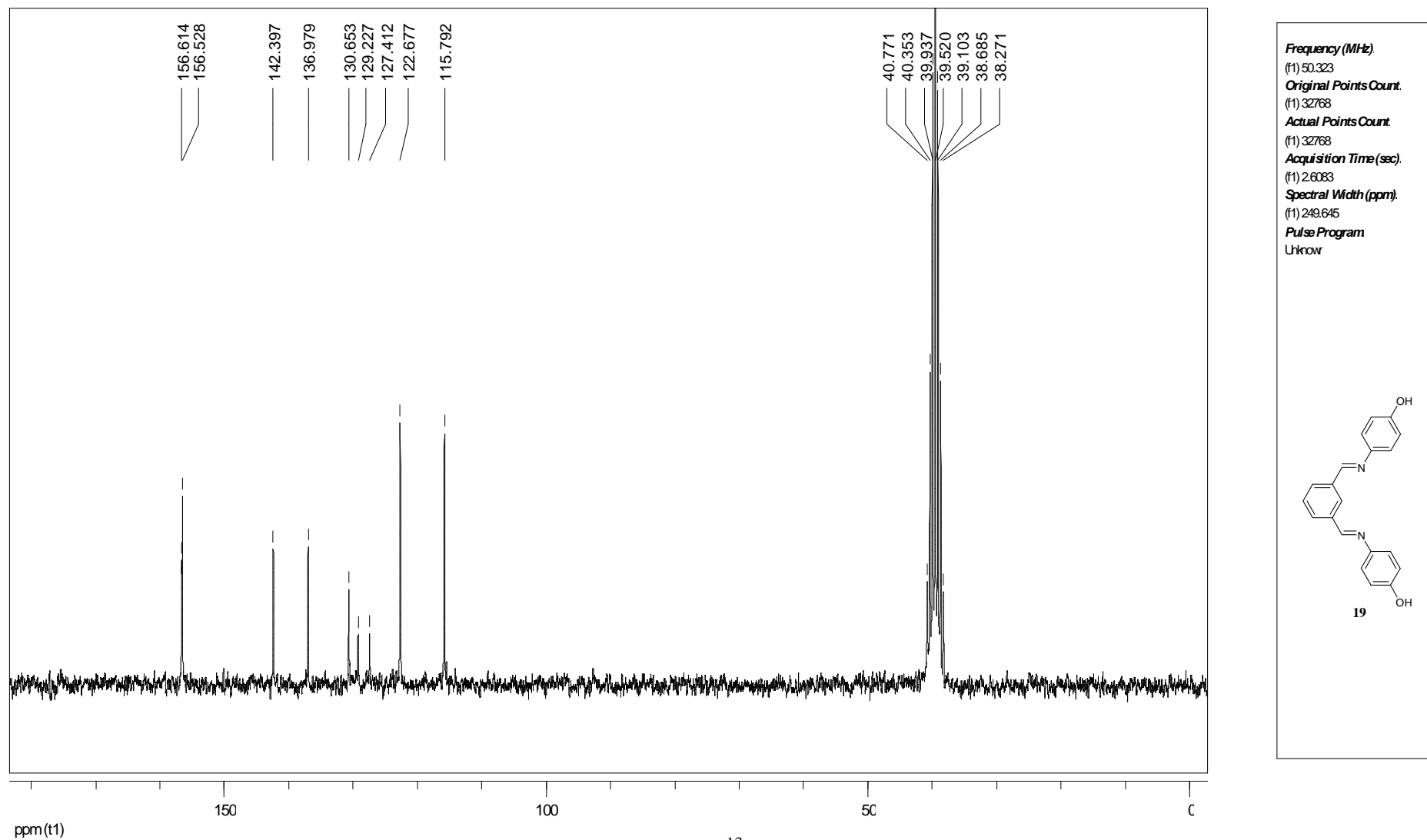


Figura 96 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **19** em DMSO-d_6

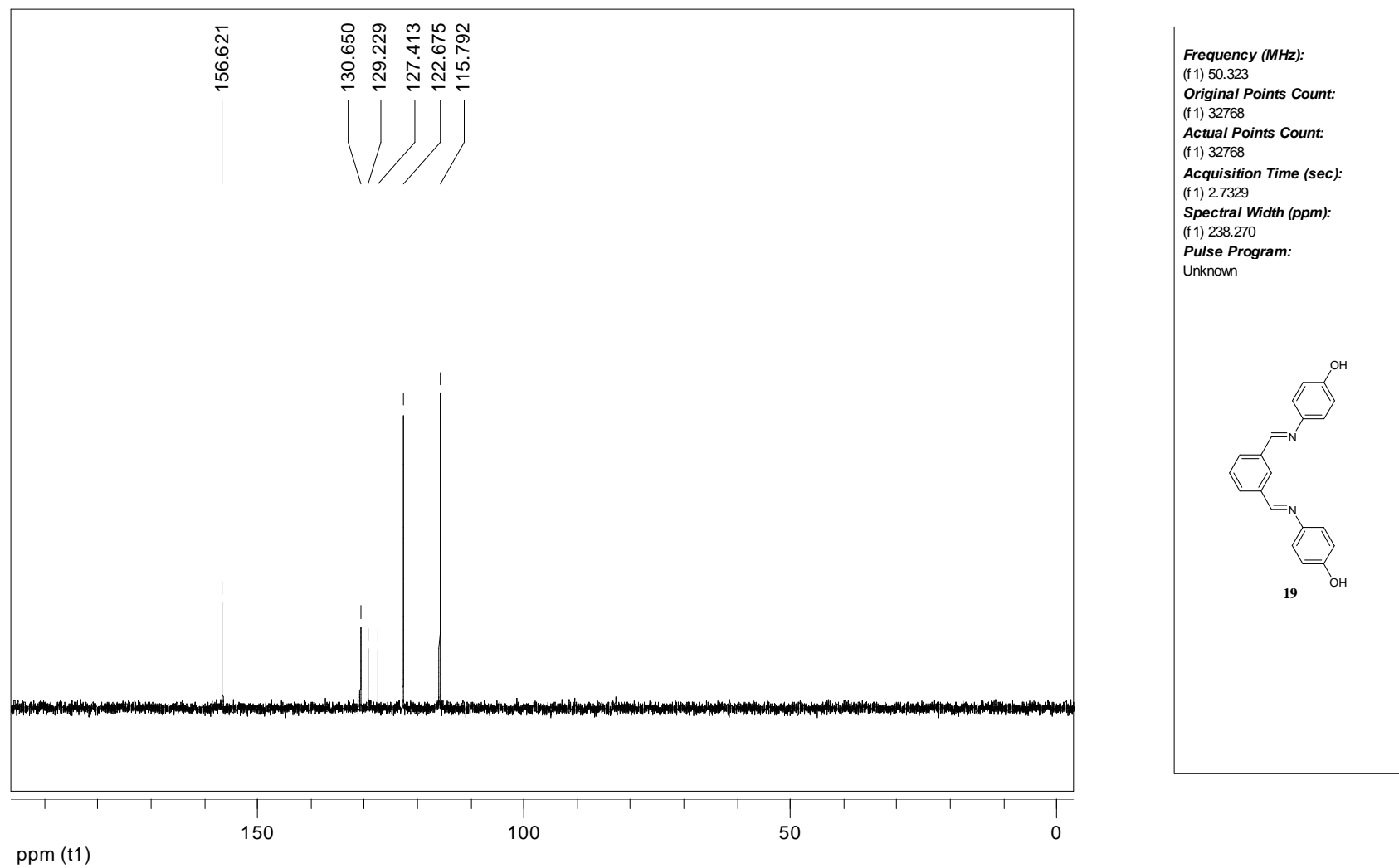


Figura 97 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **19** em DMSO-d_6

7.1.17 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 20

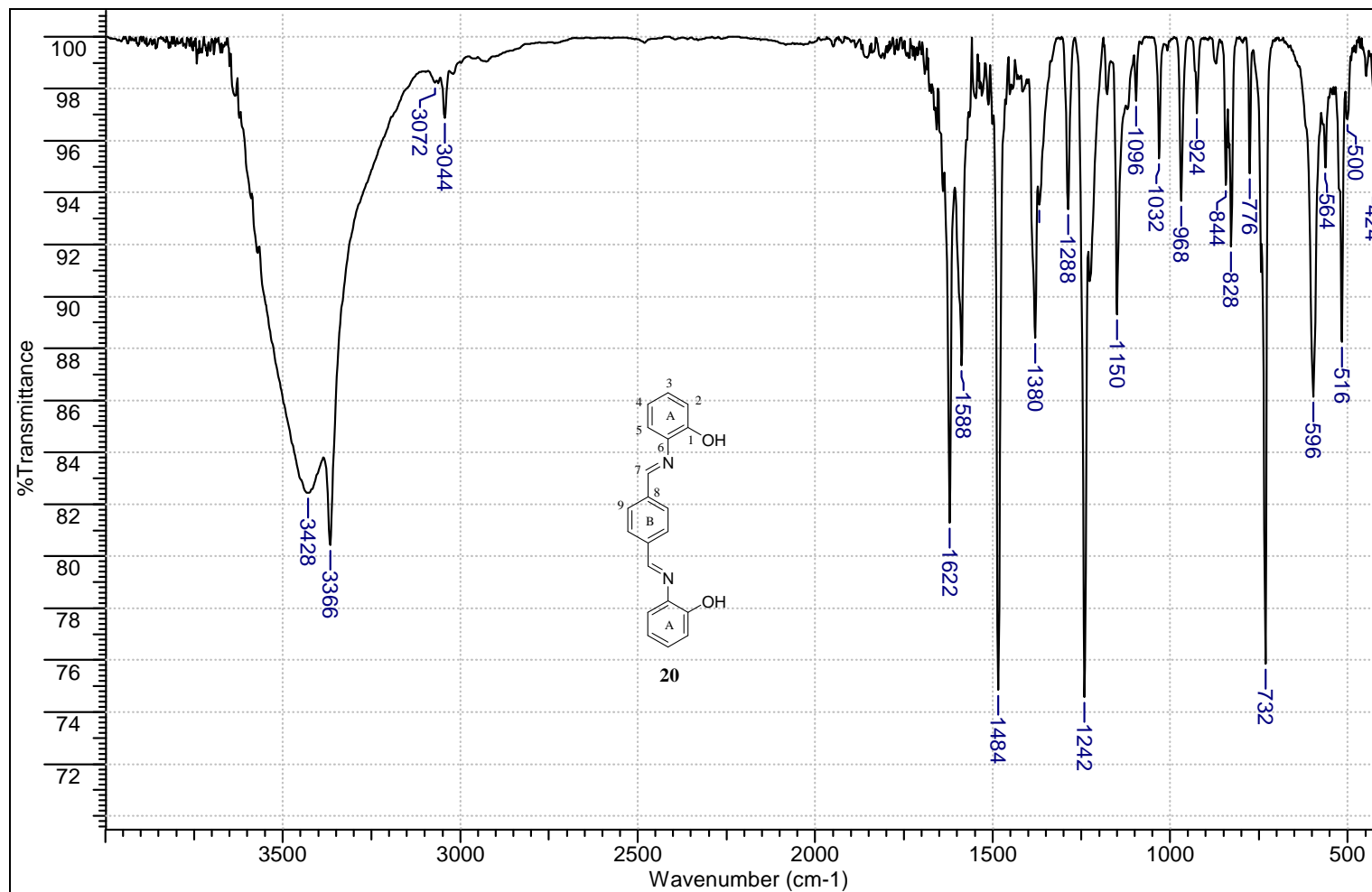
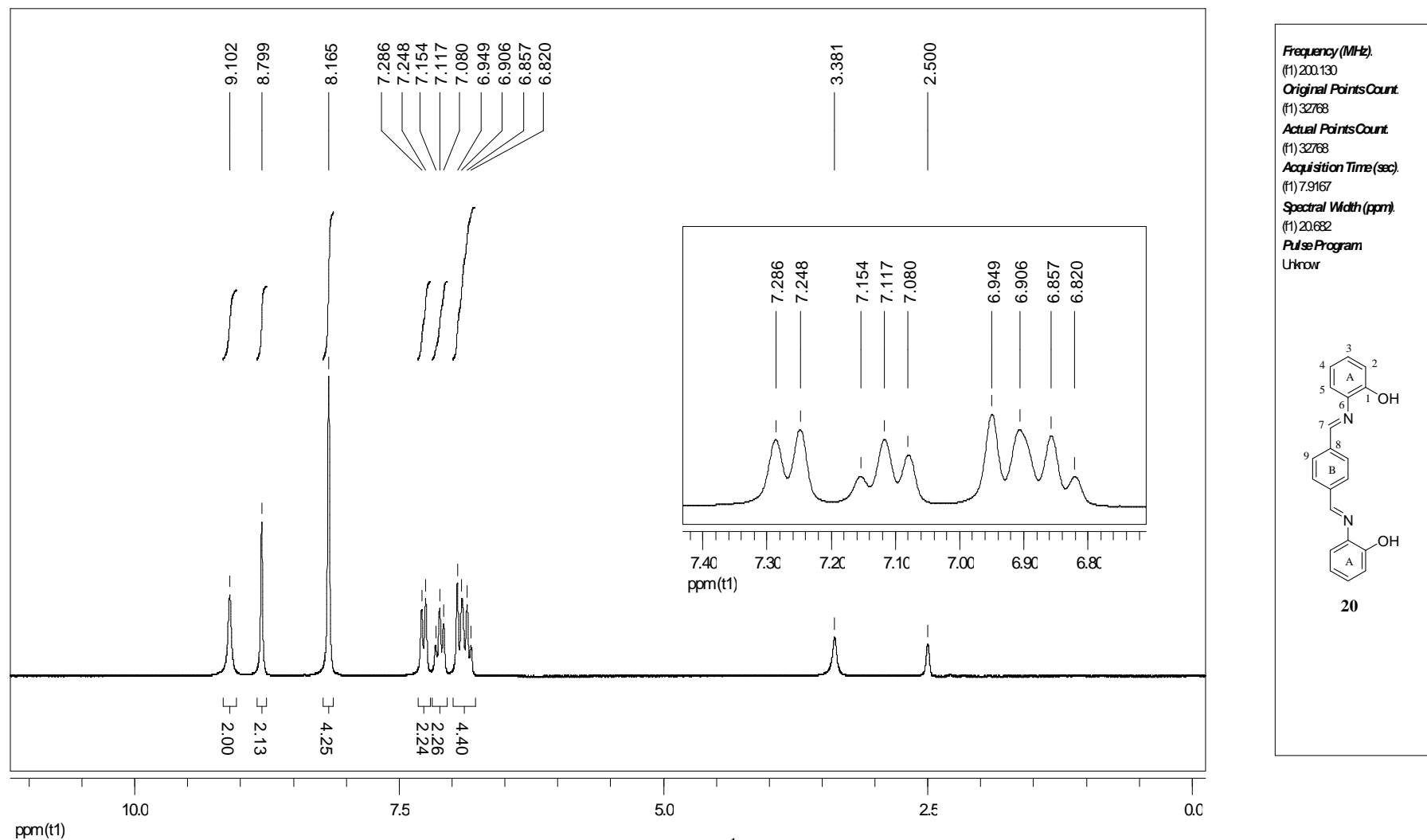


Figura 97 – Espectro de infravermelho do composto 20 pastilhado em KBr



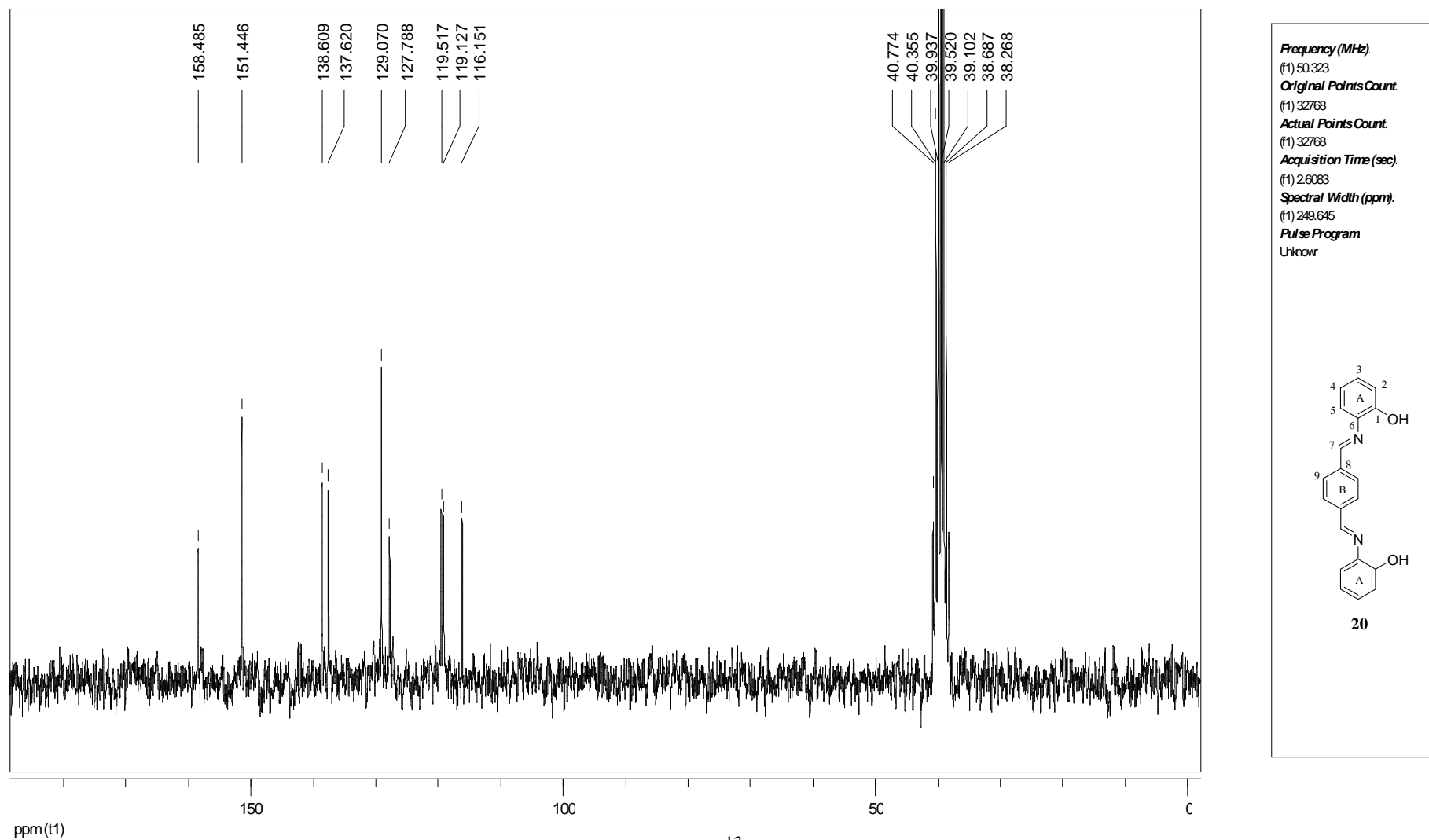


Figura 99 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **20** em DMSO-d_6

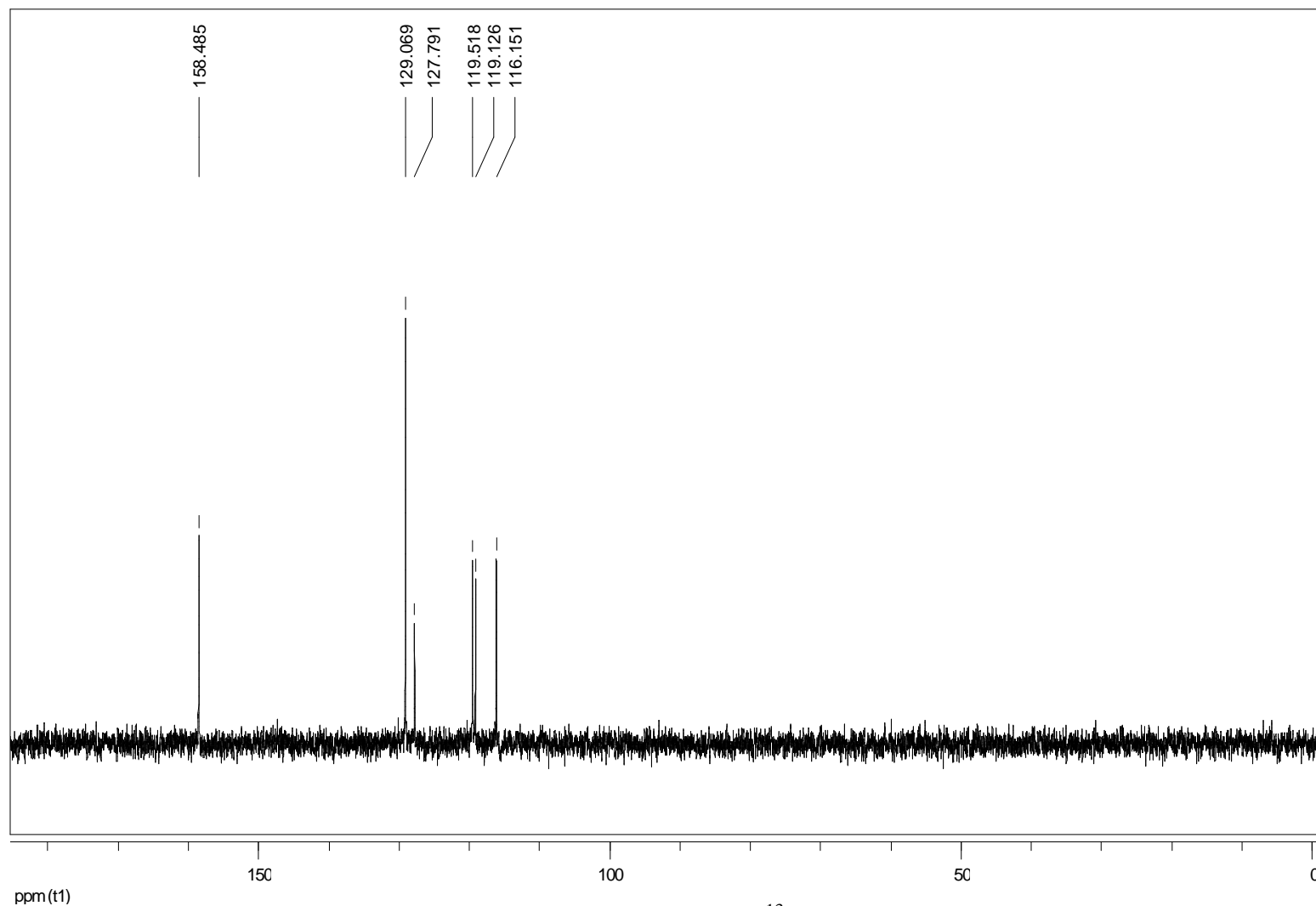
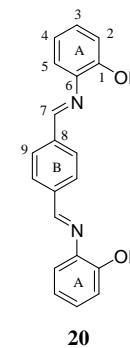


Figura 100 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **20** em DMSO-d_6

Frequency (MHz):
(f1) 50.323
Original Points Count:
(f1) 32768
Actual Points Count:
(f1) 32768
Acquisition Time (sec):
(f1) 2.7329
Spectral Width (ppm):
(f1) 238.270
Pulse Program:
Unknown



7.1.18 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 21

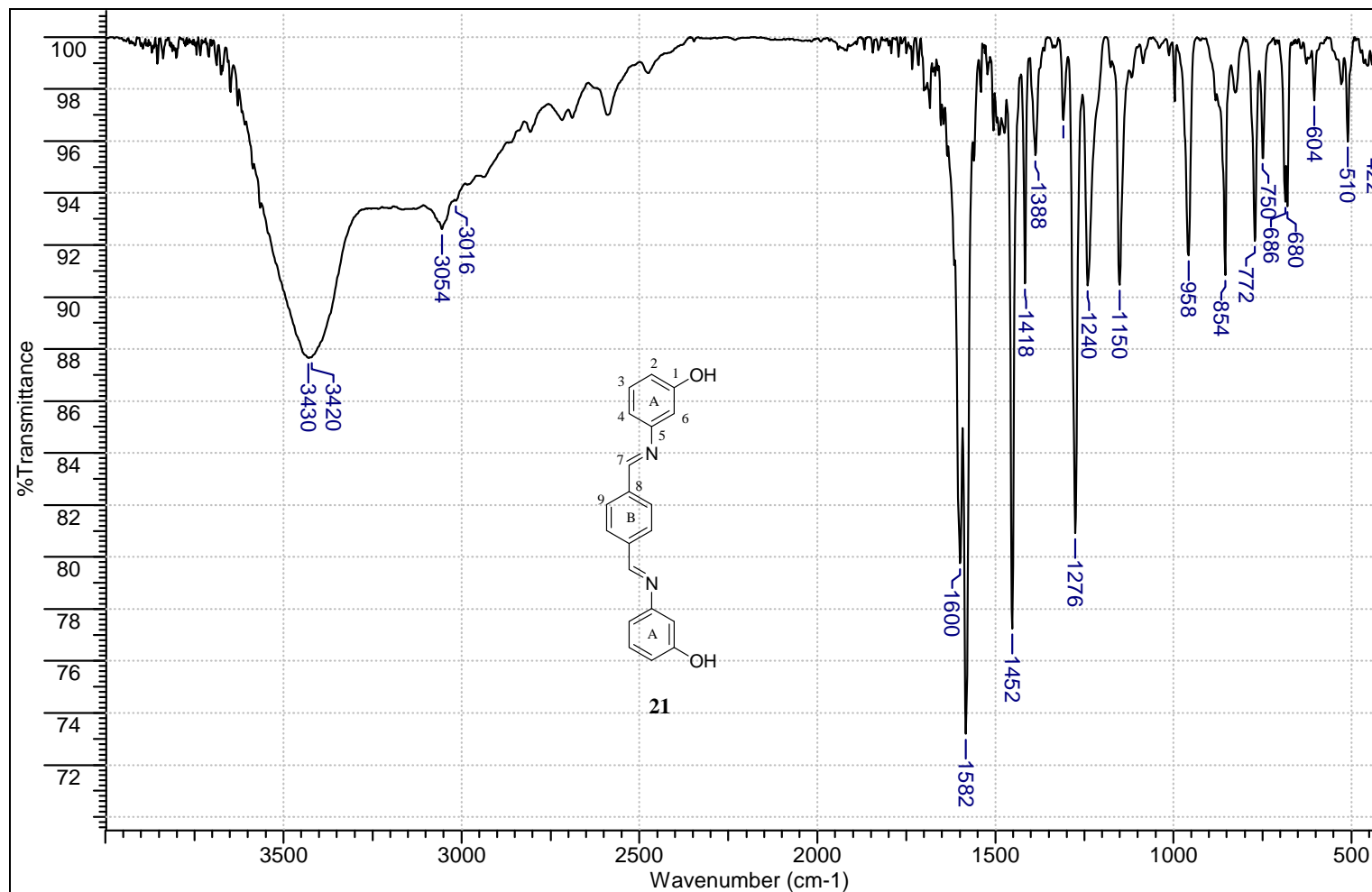
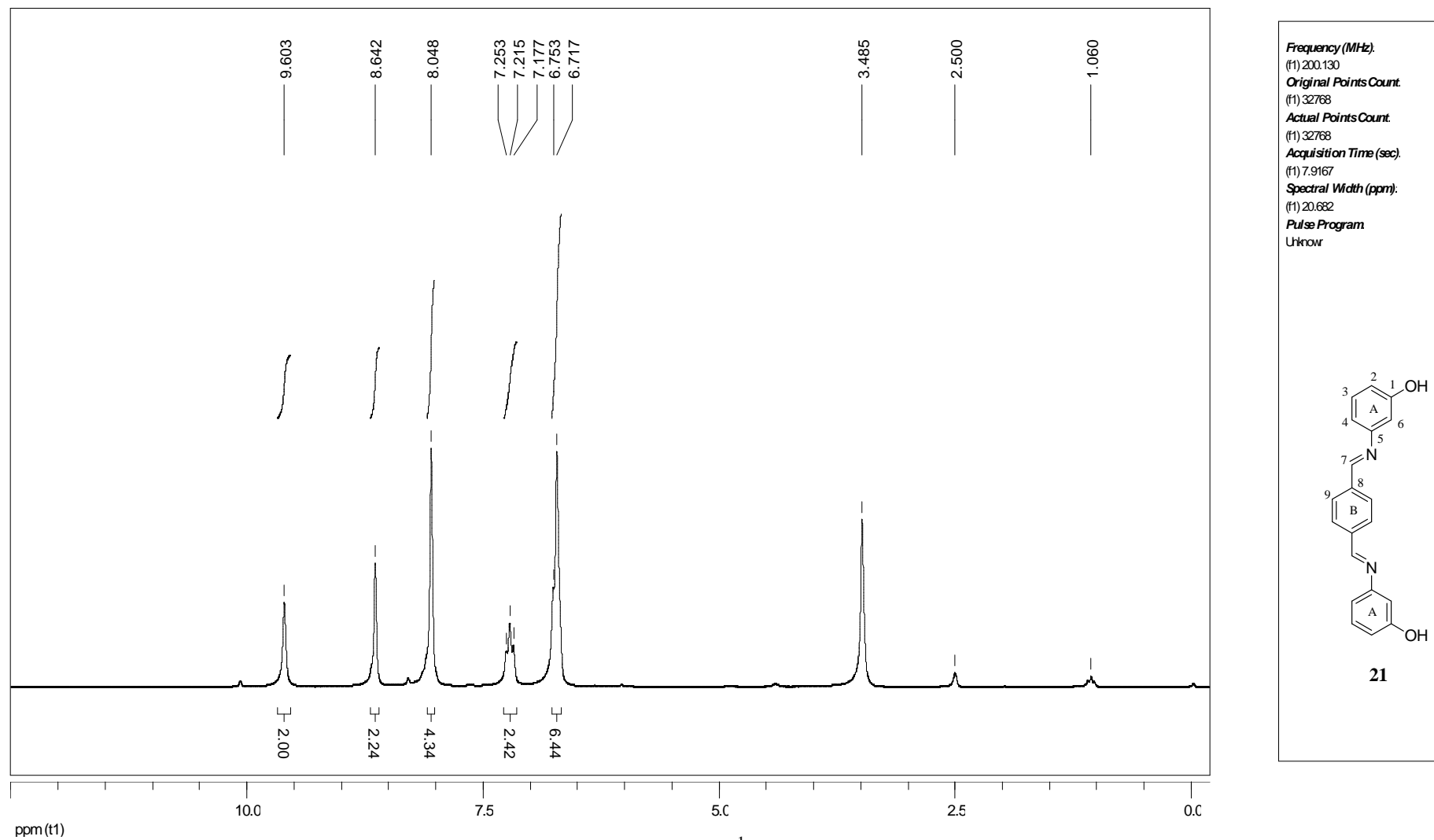


Figura 101 – Espectro de infravermelho do composto 21 pastilhado em KBr



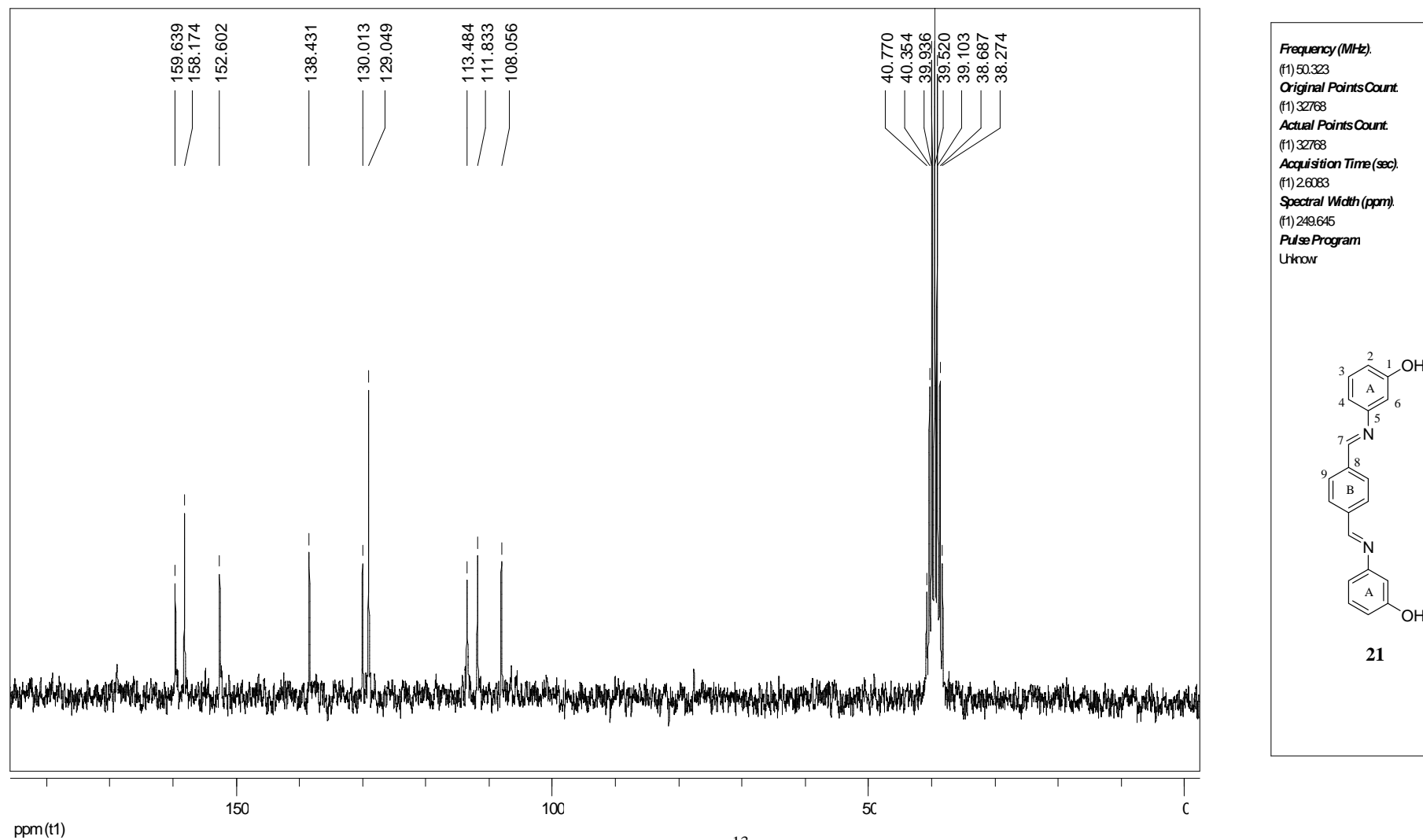
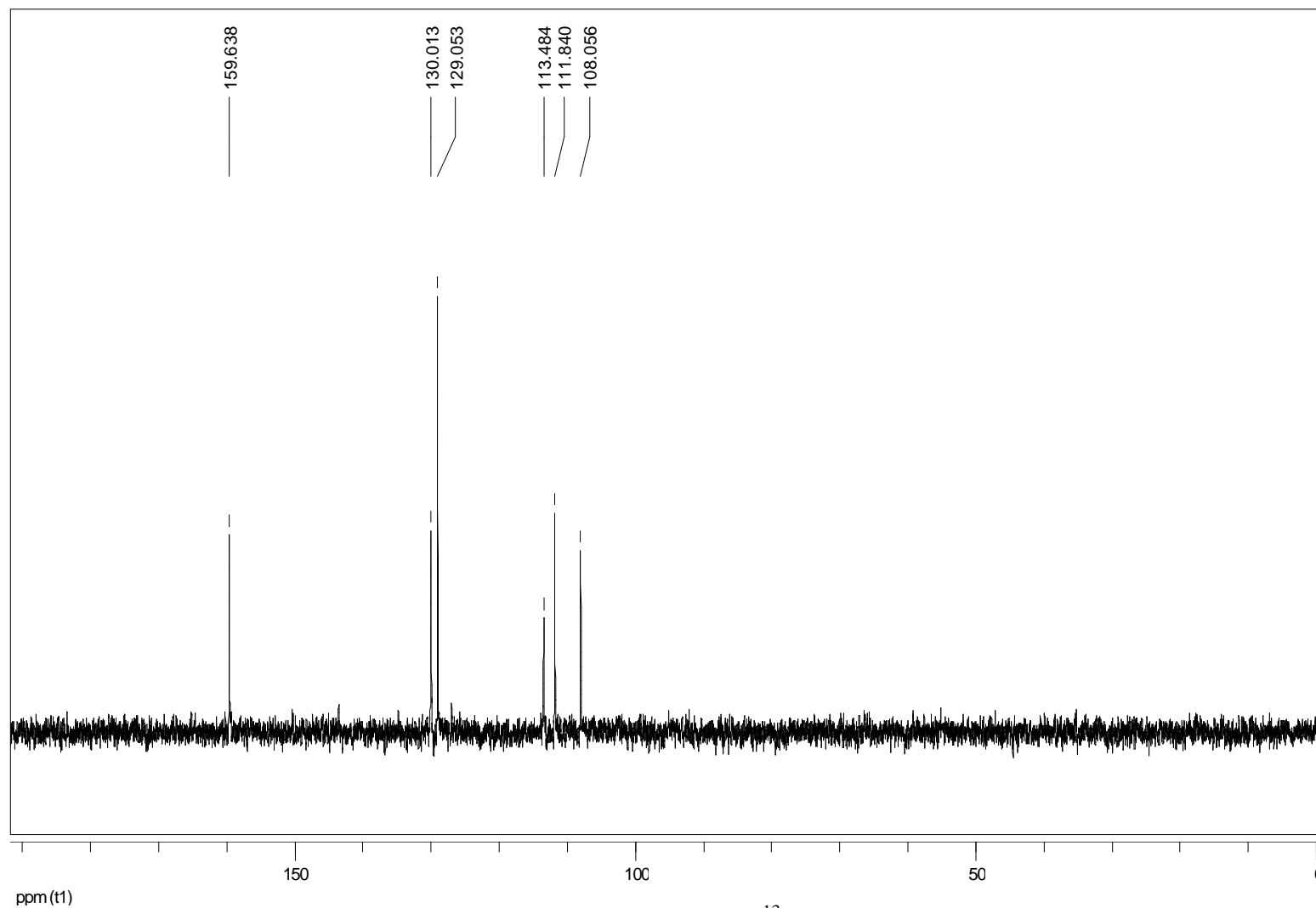


Figura 103 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto **21** em DMSO-d_6



Frequency (MHz):
(f1) 50.323
Original Points Count:
(f1) 32768
Actual Points Count:
(f1) 32768
Acquisition Time (sec):
(f1) 2.7329
Spectral Width (ppm):
(f1) 238.270
Pulse Program:
Unknow

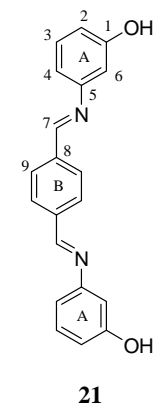


Figura 104 – Subespectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 do composto **21** em DMSO-d_6

7.1.19 ESPECTROS REFERENTES AO COMPOSTO 22

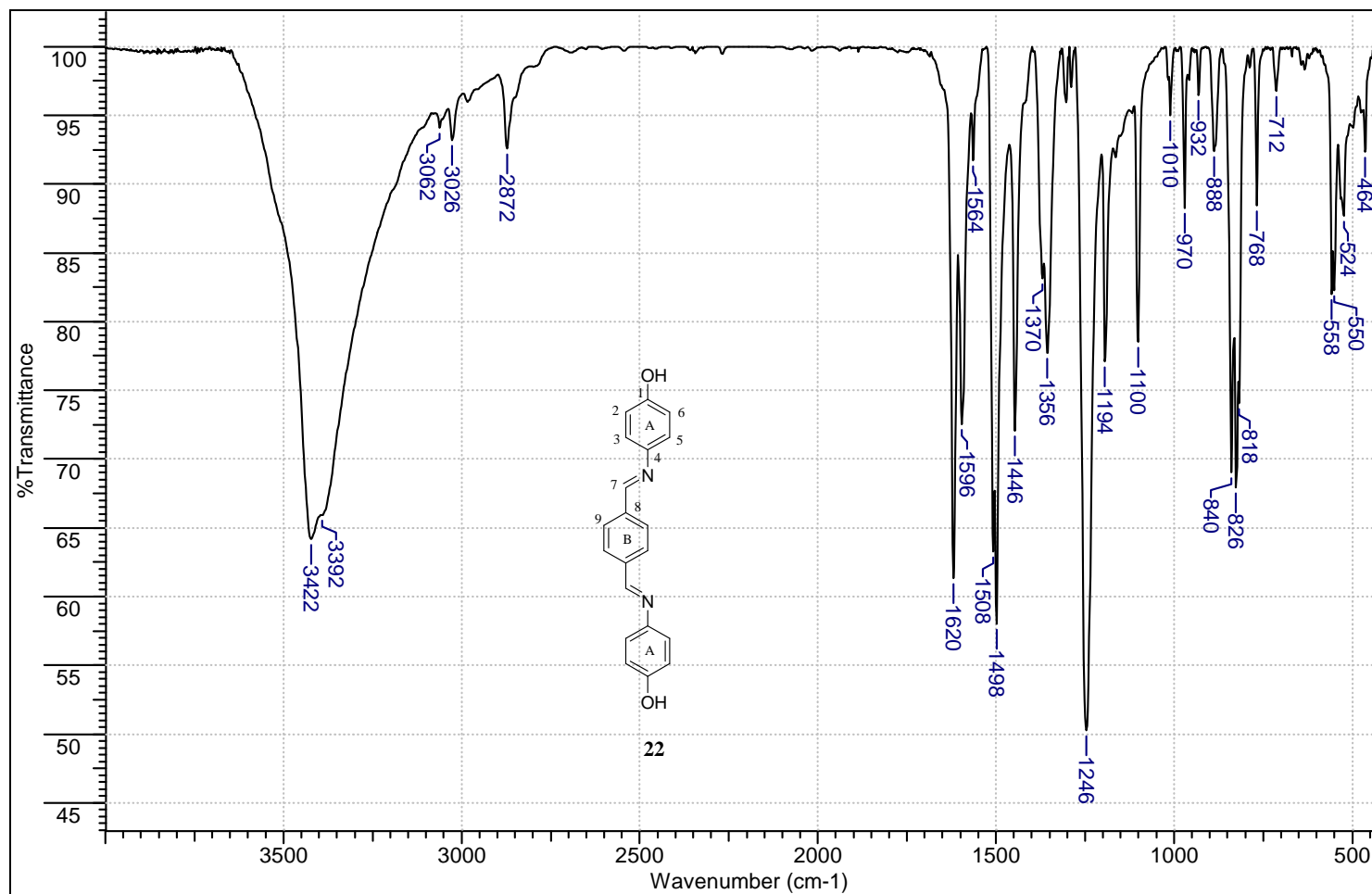


Figura 105 – Espectro de infravermelho do composto 22 pastilhado em KBr

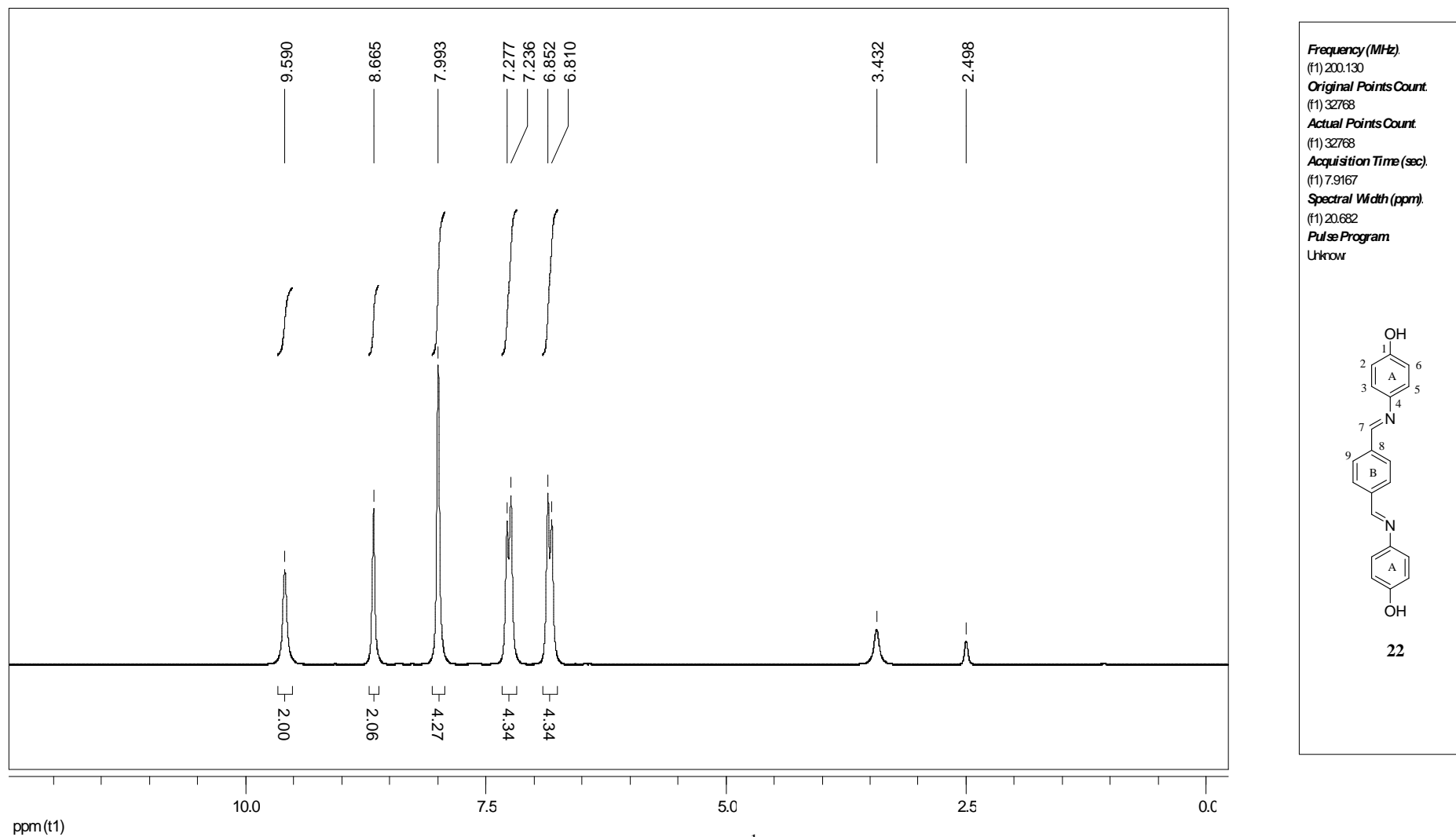
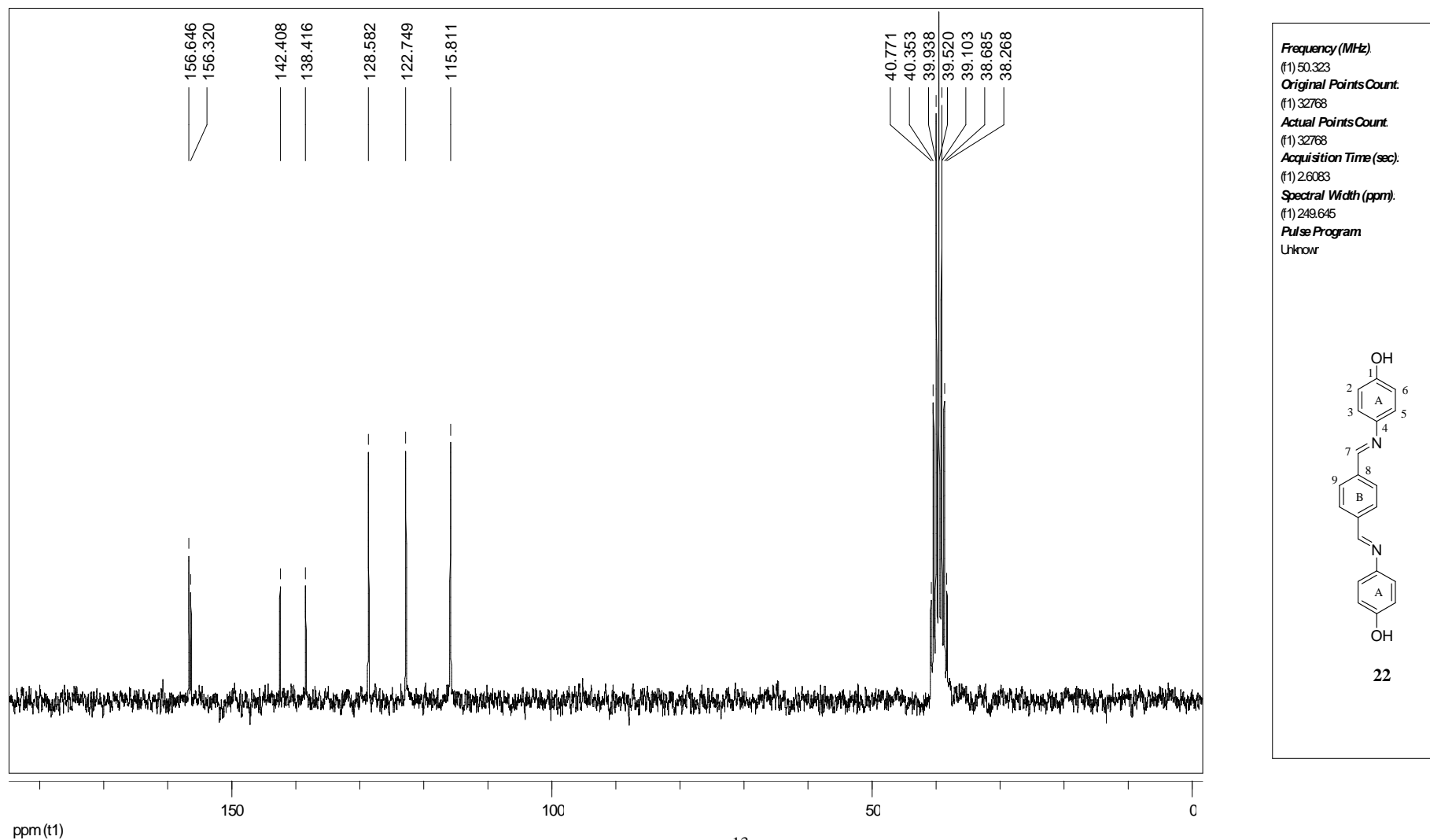


Figura 106 – Espectro de RMN de ^1H do composto **22** em DMSO-d_6

Figura 107 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 22 em DMSO-d_6

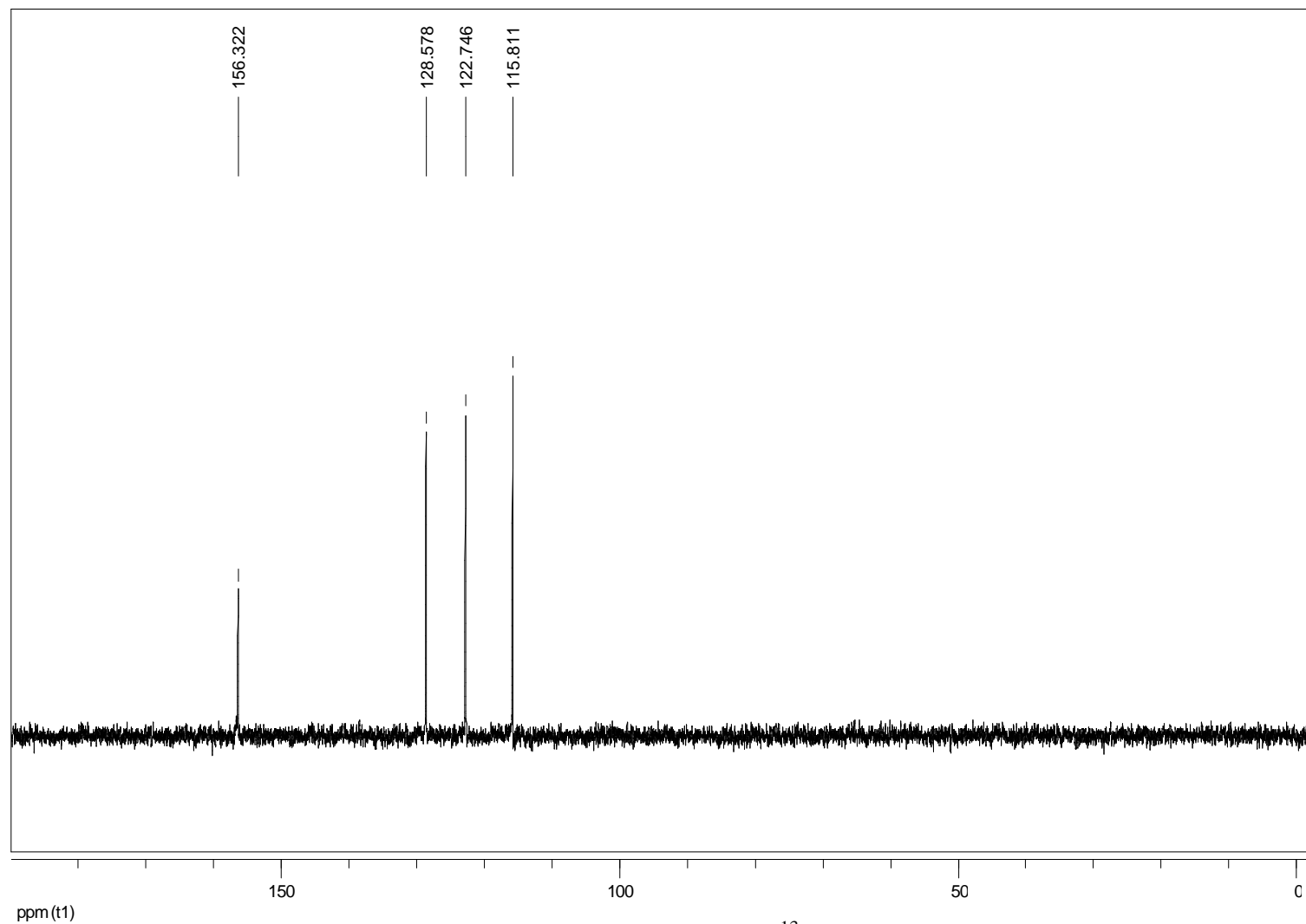
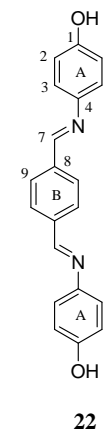


Figura 108 – Subespectro de RMN de de ^{13}C DEPT 135 do composto **22** em DMSO-d_6

Frequency (MHz).
(f1) 50.323
Original Points Count.
(f1) 32768
Actual Points Count.
(f1) 32768
Acquisition Time (sec).
(f1) 2.7329
Spectral Width (ppm).
(f1) 238.270
Pulse Program.
Unknown



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA/ICEx

7.2 PROJETO DE PESQUISA PARA A DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

TÍTULO DO PROJETO:

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA, DE *BIS*-
HIDROXIIMINAS E *BIS*-AMINOIMINAS, CONTRA FUNGOS E
BACTÉRIAS**

Área de Concentração: Química.

Sub-área: Química Orgânica

Linha de Pesquisa: Síntese Orgânica e Química Medicinal.

Aluno: *Débora Pereira Araújo*

Orientador: *Prof. Dr. Adão A. Sabino (Depto. de Química, ICEx, UFMG).*

Co-orientador: *Prof. Dr. Ângelo de Fátima (Depto. de Química, ICEx, UFMG).*

Belo Horizonte, Junho de 2009.

1 – INTRODUÇÃO

Todos nós vivemos em um mundo cheio de microorganismos (ou micróbios), desde o nosso nascimento até a morte, sobre e no interior do nosso corpo. Os micróbios, estudados na área da Microbiologia, são minúsculos seres vivos, individualmente, muito pequenos para serem vistos a olho nu incluindo bactérias, fungos, protozoários, algas microscópicas e vírus que fazem parte da nossa microbiota normal ou flora. Embora a microbiota normal não nos cause prejuízo, e, em alguns casos ela até nos beneficie sob certas circunstâncias ela pode causar doenças ou infectar pessoas com as quais mantemos contatos. Uma doença infecciosa é aquela no qual o patógeno invade um hospedeiro susceptível e neste processo, ao menos uma parte do ciclo vital do patógeno acontece dentro do hospedeiro e como resultado a doença, frequentemente, ocorre. Entretanto, apesar do comum controle atual de muitas doenças vários incidentes no mundo chamam a atenção para o fato de que as doenças infecciosas não estão desaparecendo, mas estão ressurgindo e aumentando como novas doenças ou modificações de doenças já existentes – **doenças infecciosas emergentes (DIEs)** – as quais têm surgido recentemente devido às mudanças evolutivas dos organismos existentes, pelo espalhamento de doenças conhecidas em novas regiões geográficas ou populações e pelo aumento da exposição humana a novos e não usuais agentes infecciosos em áreas que estão sofrendo modificações ecológicas e principalmente pelo uso indiscriminado de antibióticos que conduz à formação de microrganismos resistentes. Dentre os diversos tipos de microrganismos patogênicos destacam-se, neste texto, os fungos e as bactérias. No geral, os fungos são utilizados pelos homens como alimentos (cogumelos) e para a produção de comida (pão) e drogas (álcool) e além do mais, são importantes para a cadeia alimentar porque decompõem vegetais mortos, e por isso reciclam elementos vitais. É importante ressaltar que das mais de 100.000 espécies conhecidas de fungos, apenas cerca de 100 são patogênicas. Contudo, ao longo dos últimos dez anos, a incidência de infecções importantes causadas por fungos tem aumentado e dentre as infecções fúngicas mais sérias e destacam-se as doenças infecciosas emergentes (DIEs) causadas por fungos como a candidíase¹, com uma incidência de quase 400% nos anos 80, nos hospitais americanos. Além disso, estas doenças são economicamente importantes, causando prejuízos anuais de mais de um bilhão de dólares. Realmente, entre os diversos fungos patogênicos conhecidos destacamos o tipo *Candida*. Outros tipos de fungos invasivos que são responsáveis por quadros graves de candidíases incluem: *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*². A aspergilose é considerada a maior responsável pela mortalidade de pacientes transplantados³. A aspergilose pulmonar é uma complicação grave em pacientes

7. ANEXOS

que realizaram transplante de pulmão e *Aspergillus fumigatus* é a espécie mais comumente isolada destes pacientes^{4,5}.

As infecções bacterianas são grave problema de saúde e há várias doenças infecciosas emergentes (DIEs) causadas por bactérias patogênicas, atualmente tem-se as causadas por *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus spp.* e *Clostridium difficile*⁶: *Staphylococcus aureus*, causadora de infecções generalizadas uma vez que é conhecida desde a década de 50 e resistente à penicilina desde 1970, sendo que só a vancomicina é capaz de conte-la, apesar de que já há cepas resistentes; *Pseudomonas spp.*, ataca principalmente pulmões e intestinos, sendo atualmente resistente até os antibióticos mais modernos; *Enterococcus spp.*, usualmente presente no intestino humano tem causado graves casos de infecções em UTIs e há cepas resistentes aos antibióticos mais modernos; a bactéria *Clostridium difficile*⁸⁻⁷, bactéria usual e levemente patogênica que causou recentemente infecções sérias em várias cidades americanas e causou, recente e tragicamente a morte de mais de 100 pessoas em Quebec no Canadá.

Devido a esse grande número de patógenos com crescente resistência aos fármacos atuais, o desenvolvimento de novos compostos com atividade biológica contra esses microorganismos é uma necessidade atual e uma promessa para o futuro. Dentro dessa busca podemos citar as bases de Schiff, que vem sendo amplamente utilizadas na forma livre^{8,9,10,11,12} ou complexadas com metais⁹. Resultados recentes no grupo mostraram que monoiminas hidroxiladas também apresentam atividade contra alguns tipos de fungos¹³, e com o objetivo de expandir esses resultados, é de interesse do grupo avaliar a atividade de *bis*-iminas hidroxilas e também com o grupo amino, não apenas contra fungos, mas também bactérias. A idéia seria explorar o conceito de multivalência para melhorar essa atividade biológica.

2- OBJETIVOS

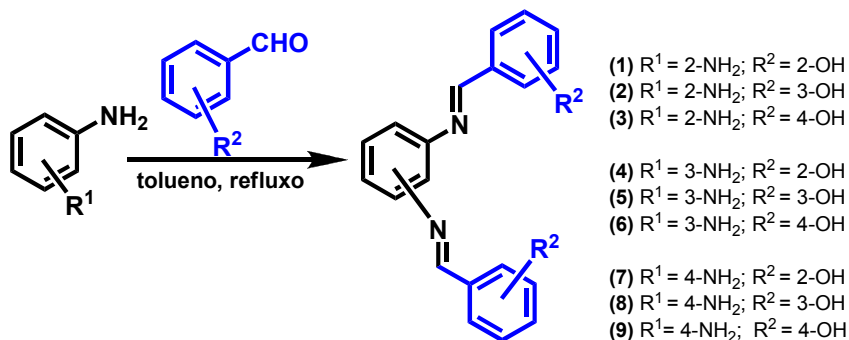
- ✓ Sintetizar *bis*-hidroxiiminas com potencial atividade contra fungos e bactérias.
- ✓ Sintetizar *bis*-aminoiminas com potencial atividade contra fungos e bactérias.
- ✓ Utilizar técnicas de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas para uma total caracterização desses compostos.
- ✓ Avaliar a atividade biológica, *in vitro*, das *bis*-hidroximinas contra alguns tipos de fungos de interesse clínico.

7. ANEXOS

- ✓ Avaliar a atividade biológica, *in vitro*, das *bis*-hidroxiiminas contra algumas bactérias de interesse clínico
- ✓ Avaliar a atividade biológica, *in vitro*, das *bis*-aminoiminas contra alguns tipos de fungos de interesse clínico.
- ✓ Avaliar a atividade biológica, *in vitro*, das *bis*-aminoiminas contra algumas bactérias de interesse clínico.

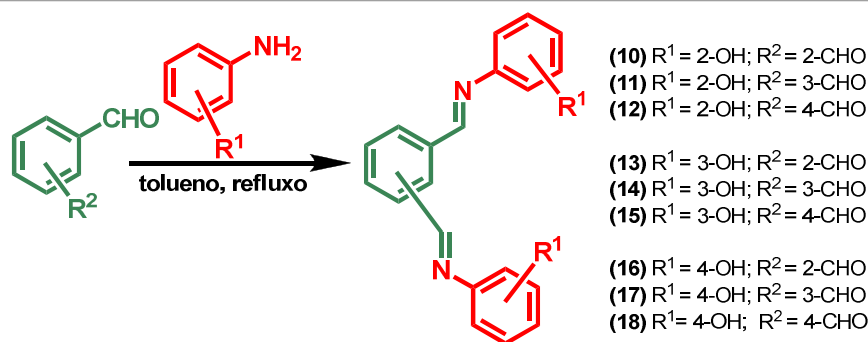
3- METODOLOGIA

O projeto terá início com a síntese da primeira série de *bis*-iminas hidroxiladas (**1 - 9**), que serão obtidas através da condensação dos hidróxi-aldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com os diaminobenzenos ou fenilendiaminas (*orto*, *meta* e *para*), esquema 1. O procedimento a ser utilizado será uma adaptação de uma metodologia descrita na literatura para a preparação de mono-iminas aromáticas^{14, 15}.



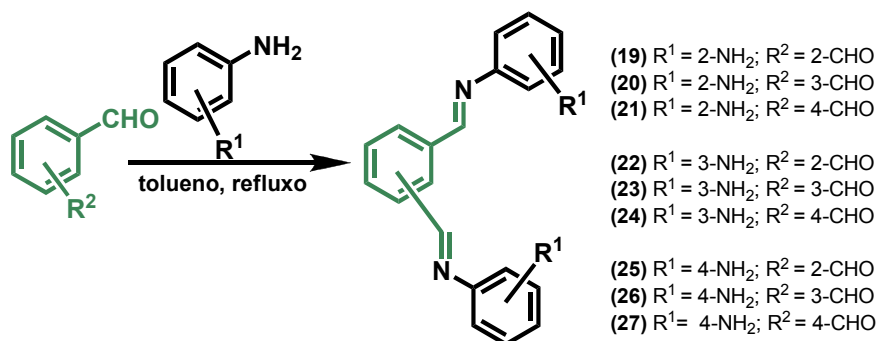
Esquema 1. Preparação da primeira série de *bis*-iminas hidroxiladas.

Posteriormente também será preparada uma segunda série de *bis*-iminas hidroxiladas (**10 - 18**), que são regioisômeros da primeira série, onde o nitrogênio está numa posição diferente. Esses novos compostos serão sintetizados através da reação de condensação entre os regioisômeros do ftalaldeído (*orto*, *meta* e *para*) e as hidróxi-anilinas (*orto*, *meta* e *para*), esquema 2. O procedimento a ser seguido também será uma adaptação de procedimento já descrito na literatura¹⁴.



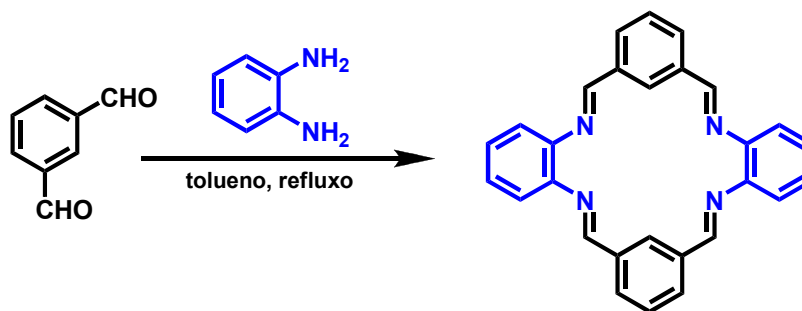
Esquema2. Preparação da segunda série de *bis*-iminas hidroxiladas.

Também será avaliada nesse projeto a qual o resultado na atividade biológica, ao substituir o grupo hidroxila (OH) pelo grupo amino (NH₂). Portanto também será preparada uma terceira série de *bis*-iminas aromáticas (19 - 27), agora aminadas, esquema 3. O procedimento será o mesmo utilizado na preparação das outras séries.



Esquema3. Preparação das *bis*-iminas aminadas.

Todos os 27 compostos sintetizados serão totalmente caracterizados por ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono 13 e posteriormente por espectrometria de massas com ionização por eletrospray. Essas técnicas não apenas confirmarão a integridade estrutural desejada como ajudarão a avaliar um possível problema na síntese de um dos compostos da terceira e última série de *bis*-iminas. Na combinação do *bis*-aldeído (*meta*, isoftalaldeído) com a *orto*-fenilenodiamina, existe a possibilidade da formação de um sistema cíclico, esquema 4. Acreditamos que esse problema possa ser minimizado, ou mesmo eliminado, com a variação de concentração e velocidade de adição de um dos reagentes.



Esquema4. Formação da tetra-imina cíclica, produto indesejado.

Após a preparação e total caracterização das bis-iminas aromáticas a segunda fase do projeto será avaliação da atividade biológica contra fungos e bactérias.

A avaliação anti-fúngica será feita no laboratório de micologia do departamento de microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), através de uma colaboração com a professora Dra. Maria Aparecida de Resende, coordenadora do laboratório de micologia. Esses testes serão feitos sobre várias linhagens de fungos patogênicos como: *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Sporothrix schenckii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus neoformans*, *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, além de alguns isolados clínicos de *Paracoccidioides brasiliensis* e *Aspergillus* (*A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. clavatus*, *A. tamaritii*).

A avaliação dessas atividades será feita segundo o método de microdiluição em caldo proposto pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), seguindo o protocolo M27-A2, com algumas modificações¹⁶.

A concentração inibitória mínima (CIM) será determinada através de micro diluições das soluções testadas, começando com uma concentração da imina de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e diluindo-se sucessivamente pela metade até alcançar a concentração de 7,8 $\mu\text{g/mL}$. Na figura 1 estão representados os controles feitos nesse ensaio.

A avaliação inicial será feita através de checagem visual do crescimento do fungo, após 24 de incubação. Posteriormente esse mesmo ensaio será feito através de leitura em espectrofotômetro com leitor do tipo Elisa, que deverá fornecer valores mais precisos de **CIM**, que serão comparados com a leitura visual.

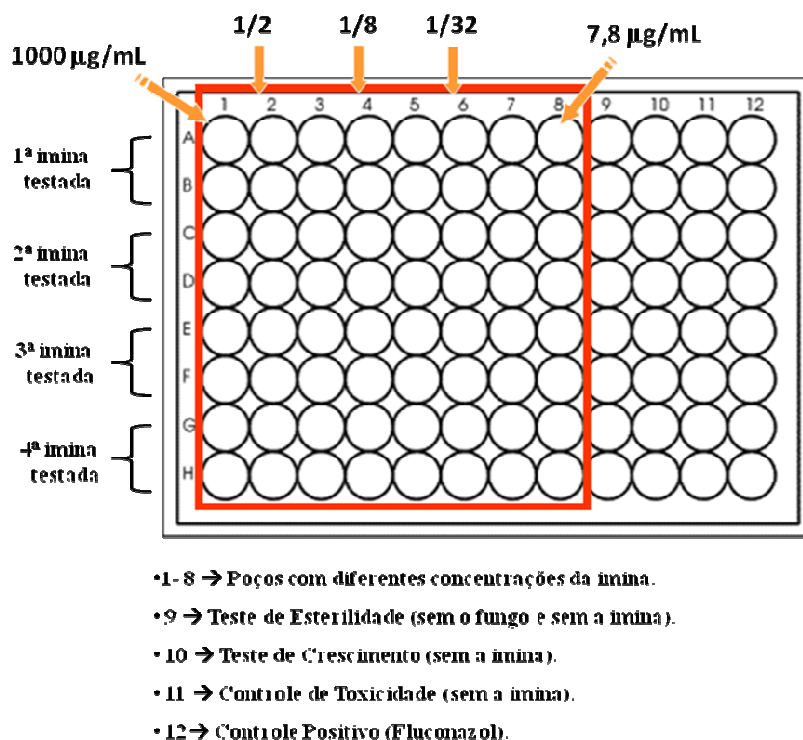


Figura 1. Teste de avaliação da concentração inibitória mínima (CIM).

Também está previsto nesse projeto a avaliação da atividade biológica das *bis*-iminas sintetizadas, contra bactérias patogênicas. Essa parte do trabalho será feita no Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, através de colaboração com a Profa. Dra. Maria Auxiliadora Roque de Carvalho, coordenadora do laboratório de microbiologia.

Ao final desse projeto será possível avaliar a atividade biológica das *bis*-iminas aromáticas, hidroxiladas e aminadas, contra uma série de fungos e bactérias patogênicas, assim como, comparar qual grupo (hidroxila ou amino) potencializa a atividade dessas iminas. A posição relativa do nitrogênio também será avaliada e esses resultados, darão um direcionamento na síntese de novos análogos mais ativos e talvez seletivos, permitindo o delineamento de estudos do mecanismo dessas atividades, a serem desenvolvidos em projetos futuros no grupo de pesquisa.

4. CRONOGRAMA DAS ATIVIDADES

Atividade	Trimestre							
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º
Levantamento Bibliográfico								
Disciplinas e Síntese e caracterização da primeira série de <i>bis</i> -iminas hidroxiladas								
Síntese e caracterização da segunda série de <i>bis</i> -iminas hidroxiladas								
Síntese e caracterização das <i>bis</i> -iminas aminadas								
Avaliação da atividade biológica, das <i>bis</i> -iminas, contra fungos e bactérias.								
Seminário Departamental								
Apresentação de Resultados em Congresso								
Escrita e Submissão de Artigos								
Redação e Defesa da Dissertação								

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Colombo, A.L.; Guimarães, T. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **2003**, 36, 599.
- Gonzalez, C.E.; Venzon, D.; Lee, S.; Mueller, B.U.; Pizzo, P.A.; Walsh, T.J. *Clin. Infect. Dis.* **1996**, 23, 515.
- Pannuti, C.; Gingrich, R.; Pfaller, M.A.; Kao, C.; Wenzel, R.P. *Cancer* **1992**, 69, 2653.
- Kanj, S.S.; Welty-Wolf, K.; Madden, J.; Tapson, V.; Baz, M.A.; Davis, R.D.; Perfect, J.R. *Medicine* **1996**, 75, 142.
- Walsh, T.J.; Pizzo, P.A. *Annu. Rev. Microbiol.* **1988**, 42, 517.
- Thomas, C.; Stevenson, M.; Riley, T. V. *J. Antimicrobial Chemother.* **2003**, 51(6), 1339
- McDonald, L. C.; George, E.; Thompson, A.; Owens, R. C. J.; Kazakova, S. V.; Sambol, S. P.; Johnson, S.; Gerding, D. N. *New England J. Med.* **2005**, 353(23), 2433.
- Zhao, X., Song, D. K., Radbil', A. B., B. Radbil' A. *Russian Journal of Applied Chemistry*, **2007**, 80, 1373.
- Nair, R., Shah, A., Baluja, S., Chanda, S. *J. Serb. Chem. Soc.* **2006**, 7, 733.
- Burtwood, D.A.; Galluci, J.; Hart, D.J. *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 5120.
- Brown, A.D.; Colvin, E.V. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 87.
- Panneerselvam, P.; Nair, R.R.; Vijayalakshim, G.; Subramanian, E.H.; Sridhar, S.K. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 225.
- Resultados não publicados.
- Isse, A. A.; Abdurahman, A. M.; Vianello, E. *J Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1996**, 597
- Baker, A.W.; Shulgin, A.T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 1523.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Nair, R., Shah, A., Baluja, S., Chanda, S. *J. Serb. Chem. Soc.* **2006**, 7, 733.
- Isse, A. A.; Abdurahman, A. M.; Vianello, E. *J Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1996**, 597

7. ANEXOS

ARDS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard (NCCLS document M27-A2). *National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002a.*

6. PARTICIPAÇÃO DO CO-ORIENTADOR

Co-orientador: O Prof. Dr. Ângelo de Fátima do Departamento de Química do ICEX da UFMG participou da elaboração do projeto junto com o orientador e participará de todas as etapas e discussões do referente trabalho, ajudando a direcionar o trabalho e solucionar possíveis problemas que possam aparecer.

Belo Horizonte, 30 de junho de 2009.

Débora Pereira Araújo
(Estudante)

Adão Aparecido Sabino
(Orientador)

Ângelo de Fátima
(Co-orientador)