

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Débora Pereira Araujo

Síntese e atividades anti-ureolítica e antiproliferativa de benzimidazóis e
benzotiazóis

Belo Horizonte
2015

UFMG / ICEx / DQ. 1081^a

T. 490^a

Débora Pereira Araujo

**Síntese e atividades anti-ureolítica e antiproliferativa de
benzimidazois e benzotiazois**

Tese apresentada ao Departamento de Química do
Instituto de Ciências Exatas da Universidade
Federal de Minas Gerais como requisito parcial
para a obtenção do grau de Doutor – Ciências
Química

Belo Horizonte

2015

P436s Araujo, Débora Pereira
2015 Síntese e atividades anti-ureolítica e
T antiproliferativa de benzimidazóis e benzotiazóis
[manuscrito] / Débora Pereira Araujo. 2015.
[xii], 201 f. : il.

Orientador: Ângelo de Fátima.

Coorientadora: Luzia Valentina Modolo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses 2. Síntese orgânica -
Teses 3. Catálise - Teses 4. Compostos heterocíclicos
- Teses 5. Urease - Teses 6. Fertilizantes
nitrogenados - Teses 7. Agentes antineoplásicos -
Teses I. Fátima, Ângelo de, Orientador II. Modolo,
Luzia Valentina, Coorientador III. Título.

CDU 043



"Síntese e Atividades Anti-Ureolítica e Antiproliferativa de Benzimidazóis e Benzotiazóis"

Débora Pereira Araújo

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Ângelo de Fátima - Orientador
UFMG

Prof. Luzia Valentina Modolo - Coorientadora
UFMG/ICB

Prof. Marcelo Siqueira Valle
UFSJ

Prof. Luciana Maria Silva
FUNED

Profa. Rosemeire Brondi Alves
UFMG

Prof. Jarbas Magalhães Resende
UFMG

Belo Horizonte, 26 de março de 2015.

Este trabalho foi realizado sob a orientação do Professor Doutor Ângelo de Fátima e sob a coorientação da Professora Doutora Luzia Valentina Modolo.

“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 pelo apoio, dedicação, amor e carinho de uma vida inteira.

À minha querida irmã Letícia e meu cunhado Roberto pelo carinho, incentivo e apoio nos momentos que mais precisei.

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

Aos meus grandes amigos e pais de consideração Terezinha e Roberto, pelo incentivo para lutar por meus objetivos.

Aos meus orientadores prof. Dr. Ângelo de Fátima e à prof^a Dr^a Luzia Valentina Modolo pelo apoio e discussões que muito contribuíram para meu crescimento científico e pessoal.

À prof^a Dr^a Rosemeire Brondi Alves pelas nossas discussões científicas e amizade.

Aos colegas do laboratório pelas discussões de Química e por fazer meus dias de trabalho bem mais divertidos. Em especial aos amigos Taniris, Cleiton, Lucas, Breno, Aretha e Juliana que contribuíram de alguma forma para a conclusão do meu trabalho.

Às minhas alunas de iniciação científica e amigas Gisele Alves Miranda e Ana Cristina Barbosa que contribuíram muito para a conclusão do meu trabalho.

Aos meus grandes amigos e parceiros do grupo GeBioPlan pela ajuda científica, amizade e por fazer meus dias na UFMG muito especiais.

Aos meus grandes amigos Bruno Christiano, Vanessa (Babs), Fernando Silva, Malucas, Aninha, Laurinha, Rafael, Roqueline, Líviannn, Vinícius, Gisele, Janaina, Sheila e Rochel por serem a minha família de Belo Horizonte! Vocês serão meus eternos amigos!!!

Aos funcionários do Departamento de Química que ajudaram quando foi preciso, em especial à Paulete, à prof^a Dr^a Lucienir Pains Duarte e ao Sr. Luís pela amizade.

Ao prof. Dr. João Ernesto de Carvalho e seus alunos que realizaram as análises de atividade antiproliferativa na Universidade Estadual de Campinas.

Ao Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida da UFJF pela orientação e discussões na iniciação científica, que foram essenciais 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, ACRÔNIMOS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
Capítulo I: Síntese e caracterização dos derivados benzimidazóis e benzotiazóis.....	1
1 – INTRODUÇÃO.....	2
1.1 – Os derivados benzimidazólicos	3
1.2 – Os derivados benzotiazólicos	6
2 – OBJETIVOS.....	8
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
3.1 – Síntese dos benzimidazóis e dos benzotiazóis.....	9
3.2 – Caracterização dos compostos sintetizados.....	15
3.3 – Estudo do mecanismo de reação para obtenção do composto 1	26
Capítulo II: Inibição da atividade ureolítica de ureases	34
1 – INTRODUÇÃO.....	35
1.1 – Uso da ureia como fertilizante nitrogenado.....	35
1.2 – A enzima urease.....	36
1.3 – Inibidores de urease	39
2 – OBJETIVO	45
3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
3.1 – Teste <i>in vitro</i> de inibição da enzima urease purificada da <i>Canavalia ensiformis</i>	46
3.2 – Teste de inibição das ureases presentes no solo	48
3.3 – Avaliação do efeito do benzimidazol 17 e do benzotiazol 37 nos parâmetros cinéticos da urease de <i>Canavalia ensiformis</i>	50
Capítulo III: Atividade antiproliferativa contra células de tumores humanos.....	56
1 – INTRODUÇÃO.....	57
2 – OBJETIVO	64
3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	65
3.1 – Atividade antiproliferativa dos benzimidazóis	65
3.2 – Atividade antiproliferativa dos benzotiazóis	73
CONCLUSÃO GERAL	80
PARTE EXPERIMENTAL.....	82

1 – Materiais e métodos.....	82
2 – Procedimentos experimentais.....	83
2.1 – Procedimento geral para a síntese dos benzimidazois.....	83
2.2 – Caracterização dos benzimidazois.....	84
2.2.1 – 2-Fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol (1).....	84
2.2.2 – 2-(4-Nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (2)	84
2.2.3 – 2-(3-Nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (3)	85
2.2.4 – 2-(2-Nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (4)	86
2.2.5 – 2-(4-Cianofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (5)	87
2.2.6 – 2-(4- <i>N,N</i> -Dimetilaminofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (6).....	88
2.2.7 – 2-(4-Metiltiofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (7).....	89
2.2.8 – 2-(4-Fluorofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (8).....	90
2.2.9 – 2-(4-Clorofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (9).....	91
2.2.10 – 2-(4-Hidroxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (10)	92
2.2.11 – 2-(3-Hidroxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (11)	93
2.2.12 – 2-(2-Hidroxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (12)	94
2.2.13 – 2-(2-Tienil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (13).....	95
2.2.14 – 2-(2-Pirrol)-1 <i>H</i> -benzimidazol (14).....	95
2.2.15 – 2-(2-Furanil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (15).....	96
2.2.16 – 2-(5-Nitro-2-furanil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (16)	97
2.2.17 – 2-(4-Piridil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (17)	98
2.2.18 – 2-(3-Piridil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (18).....	99
2.2.19 – 2-(2-Piridil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (19).....	100
2.2.20 – 2-(4-Metoxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (20)	101
2.2.21 – 2-(3-Metoxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (21)	102
2.2.22 – 2-(2-Carboxifenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol (22).....	103
2.2.23 – 2-(1,3-Benzodioxol-5-il)-1 <i>H</i> -benzimidazol (23).....	104
2.2.24 – 2-Cicloexil-1 <i>H</i> -benzimidazol (24)	105
2.3 – Procedimento geral para a síntese dos benzotiazóis.....	106
2.4 – Caracterização dos benzotiazóis.....	106
2.4.1 – 2-Fenilbenzotiazol (25).....	106
2.4.2 – 2-(4-Nitrofenil)benzotiazol (26)	107
2.4.3 – 2-(4-Cianofenil)benzotiazol (27).....	108
2.4.4 – 2-(4- <i>N,N</i> -Dimetilaminofenil)benzotiazol (28).....	109
2.4.5 – 2-(4-Metiltiofenil)benzotiazol (29).....	110
2.4.6 – 2-(4-Fluorofenil)benzotiazol (30).....	111
2.4.7 – 2-(4-Hidroxifenil)benzotiazol (31).....	112

2.4.8 – 2-(3-Hidroxifenil)benzotiazol (32).....	113
2.4.9 – 2-(2-Hidroxifenil)benzotiazol (33).....	114
2.4.10 – 2-(2-Tienil)benzotiazol (34).....	115
2.4.11 – 2-(2-Pirrol)benzotiazol (35).....	116
2.4.12 – 2-(2-Furanil)benzotiazol (36).....	116
2.4.13 – 2-(4-Piridil)benzotiazol (37).....	117
2.4.14 – 2-(3-Piridil)benzotiazol (38).....	118
2.4.15 – 2-(4-Metoxifenil)benzotiazol (39).....	119
2.4.16 – 2-(3-Metoxifenil)benzotiazol (40).....	120
2.4.17 – 2-(2-Carboxifenil)benzotiazol (41).....	121
2.4.18 – 2-(1,3-Benzodioxol-5-il)benzotiazol (42)	122
2.4.19 – 2-Cicloexil-benzotiazol (43).....	123
2.5 – Avaliação <i>in vitro</i> do potencial de benzotiazóis e de benzimidazóis como inibidores da atividade ureolítica de ureases	124
2.6 – Avaliação do potencial de benzotiazóis e de benzimidazóis como inibidores da atividade ureolítica de ureases da microbiota do solo	125
2.7 – Avaliação cinética da enzima <i>Canavalia ensiformes</i>	126
2.8 – Avaliação da atividade antiproliferativa.....	126
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
ANEXOS.....	143

SIGLAS, ACRÔNIMOS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

d = Dupleteo

dd = Dupleteo duplo

ddd = Duplo dupleteo duplo

DAP = Diamidofosfato

DMA = *N,N'*-Dimetilacetamida

DMSO = Dimetilssulfóxido

F = Forte

f = Fraco

I = Integração

IMO = Irradiação de micro-ondas

Int. = Intensidade

IV = Infravermelho

LCMS-IT-TOF = Cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa, com armadilha de íons e tempo de voo

m = Médio, relacionado às análises dos espectros de infravermelho

m = Multipleteo, relacionado às análises dos espectros de RMN de ^1H

M = Multiplicidade

NBPT = Tiofosfato de *N*-(butil)triamida

NBPTO = Fosfato de *N*-(butil)triamida

PPD = Fenilfosforodiamidato

s = Simpleto

sl = Sinal largo

t = Tripleto

td = tripleto duplo

TMEDA = *N, N, N', N'*-tetrametiletilenodiamina

δ = Deslocamento químico em ppm

$\bar{\nu}$ = Número de onda

IS = Índice de seletividade

GI₅₀ ou CI₅₀ = Concentração necessária para inibir 50% o crescimento celular

RESUMO

Benzimidazois e benzotiazois constituem duas classes de compostos heterocíclicos caracterizados estruturalmente pela presença de um anel benzênico fundido a um núcleo imidazol e tiazol, respectivamente. As subunidades benzimidazólica e benzotiazólica se fazem presentes na estrutura química de alguns insumos agrícolas e fármacos, sendo em muitos casos a responsável pelas propriedades biológicas destes compostos. No **Capítulo 1** é descrita a síntese de 24 benzimidazois e 19 benzotiazois sob a catálise de bissulfito de sódio, em reações sob irradiação de micro-ondas. Os rendimentos obtidos variaram de 80 a 100% para ambas as classes de compostos. Estudos por espectrometria de massas para a reação de formação de benzimidazois possibilitaram compreender o mecanismo de reação. Inicialmente formase um aduto entre o aldeído e o bissulfito de sódio que, por sua vez, reage com a *orto*-fenilenodiamina formando a correspondente imina. O benzimidazol é então obtido após ciclização e oxidação da imina recém-formada. Diferentemente de relatos na literatura, não se observou, no meio de reação, a formação de dióxido de enxofre (SO₂), o suposto agente oxidante responsável pela formação do benzimidazol.

No **Capítulo 2** são descritos os efeitos dos benzimidazois e dos benzotiazois sintetizados na atividade ureolítica de urease de *Canavalia ensiformis* e de ureases de solo. Estudos *in vitro* com a urease de *C. ensiformis* revelaram que 20 benzimidazois e 7 benzotiazois inibiram a atividade ureolítica desta enzima em pelo menos 5%. Os benzimidazois **15** e **17** e os benzotiazois **37** e **38** foram os mais ativos, apresentando inibição da atividade enzimática superior a 25%. Os compostos **17** e **37** apresentam mecanismos de ação típicos de inibidores mistos, demonstrando serem capazes de se ligar tanto ao sítio catalítico da urease quanto ao complexo ureia-urease. O perfil de inibição dos benzimidazois e do benzotiazois sintetizados sobre as ureases de solo mostrou-se ser distinto daquele para a enzima pura de *C. ensiformis*. Um total de 11 benzimidazois e 9 benzotiazois inibiram a atividade ureolítica das ureases de solo em mais de 20%. Os percentuais de inibição no solo foram comparáveis ou superiores àquele observado para o tiofosfato de *N*-(butil)triamida (NBPT; 35% de inibição), um inibidor amplamente empregado como aditivo em fertilizantes à base de ureia.

No **Capítulo 3** são apresentados os efeitos dos benzimidazois e dos benzotiazois sintetizados no crescimento de células de 9 linhagens de tumores humanos e uma linhagem não-tumorigênica (HaCat; queratinócitos humanos). Todos os compostos

avaliados inibiram, de forma concentração-dependente, o crescimento das células estudadas. Destaque é dado ao composto **16** por ser o benzimidazol mais potente contra todas as linhagens estudadas e aos benzotiazóis **36** e **40**, que foram os mais potentes contra a linhagem de câncer renal (786-0). Ambos, benzimidazóis e benzotiazóis, foram menos tóxicos contra células não tumorogênicas (HaCat) do que a doxorrubicina, um antitumoral de uso clínico. Em geral, os benzimidazóis e os benzotiazóis constituem protótipos moleculares para o desenvolvimento de novos aditivos para fertilizantes à base de ureia e de agentes antitumorais.

Palavras-chaves: Bissulfito de sódio, benzimidazol, benzotiazol, urease, fertilizantes nitrogenados, câncer.

ABSTRACT

Synthesis, antiureolytic and anticancer activities of benzimidazoles and benzothiazoles

Benzimidazoles and benzothiazoles comprise two classes of heterocyclic compounds that bear a benzene ring fused to an imidazole and thiazole ring, respectively. These cores are privileged scaffold as attested by their use for the development of products of agricultural, pharmaceutical and technological interests. The **first chapter** of this work describes the sodium bisulfide-catalyzed synthesis of 24 benzimidazoles and 19 benzothiazoles under micro-wave irradiation and solvent-free condition. Reaction yields ranged from 80% to 100% regardless of the compound class. Mass Spectrometry studies allowed for understanding the mechanism of reaction by which benzimidazoles are formed. An adduct between the aldehyde and sodium bisulfide is initially formed followed by its reaction with an *ortho*-phenylenediamine to furnish the corresponding monoimine. The monoimine undergoes cyclization and oxidation to provide the corresponding benzimidazole. Differently from the previous reports, the alleged oxidant agent sulfur dioxide (SO₂) was not detected in the reaction medium.

The **second chapter** describes the effect of synthesized benzimidazoles and benzothiazoles on the ureolytic activity of *Canavalia ensiformis* and soil ureases. Twenty benzimidazoles and 7 benzothiazoles inhibited *C. ensiformis* urease by at least 5%; the benzimidazoles **15** and **17** and benzothiazoles **37** and **38** were found the most active as attested by the percentage of enzyme inhibition higher than 25%. The benzimidazole **17** and benzothiazole **37** exhibited mechanism of action typical of mixed inhibitors, demonstrating that such compounds are able to bind to both the active site and the urea-urease complex. The inhibition profile for benzimidazoles and benzothiazoles on soil ureases was quite distinct from that of *C. ensiformis* urease type III. A total of 11 benzimidazoles and 9 benzothiazoles inhibited soil ureases by at least 20%. Some of them were as potent or more potent than *N*-(butyl)thiophosphoric triamide (NBPT; 35% inhibition), a urease inhibitor used as additive in urea-based fertilizers.

Chapter 3 deals with the inhibitory effect of synthesized benzimidazoles and benzothiazoles on the growth of 9 cancer cell lines. A human keratinocyte non-tumorigenic cell line (HaCat) was used for investigating the tested compounds selectivity. All synthesized compounds were effective against the studied cancer cells in

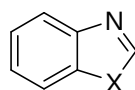
a concentration-dependent fashion. The compound **16** was determined to be the most potent benzimidazole against all cancer cell lines while the benzothiazoles **36** and **40** were the most potent on kidney cancer cells (786-0 line). Notably, both benzimidazoles and benzothiazoles were less toxic to non-tumorigenic cells (HaCat line) when compared to doxorubicin, a reference drug. Overall, benzimidazoles and benzothiazoles have been demonstrated to be lead compounds for the design of novel additives for urea-based formulations and anticancer agents.

Keywords: Sodium bisulfite, benzimidazole, benzothiazole, urease, nitrogen fertilizer, cancer.

Capítulo I: Síntese e caracterização dos derivados benzimidazóis e benzotiazóis

1 – INTRODUÇÃO

Os heterociclos desempenham um importante papel no planejamento de novos fármacos, visto que na maioria das vezes constituem o grupo farmacofórico destas substâncias (Thomas *et al.*, 2011). Os benzimidazois (X=NH) e os benzotiazóis (X=S) são caracterizados pela presença de um sistema bicíclico heteroaromático (Figura 1), que se faz presente na estrutura química de uma variedade de produtos naturais, constituindo-se a parte estrutural das substâncias responsáveis pelas atividades biológicas observadas, a citar como antiviral, antibacteriana, antiprotozoária, anti-inflamatória, anticâncer, antidepressivo, anti-HIV, antiulcerativo, anti-hipertensivo, antiparkinson, inibidores de quinases, etc (Bachhav *et al.*, 2011; Khosravi e Kazemi, 2012).



X = NH ou S

Figura 1 – Estrutura geral dos benzimidazois (X = NH) e dos benzotiazóis (X = S).

Este relevante grupo farmacofórico é encontrado em vários fármacos comerciais, como o omeprazol (Figura 2, pág. 3), utilizado para o tratamento de infecções causadas pela bactéria *Helicobacter pylori*; o riluzol (Figura 2, pág. 3), usado no tratamento de esclerose amiotrófica lateral; o tiabendazol (Figura 2, pág. 3), um anti-helmíntico e antifúngico; e a etoxzolamida (Figura 2, pág. 3), utilizada no tratamento de glaucoma, de úlceras duodenais e utilizada como diurético (Santosh *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2012; Mohammadi *et al.*, 2014).

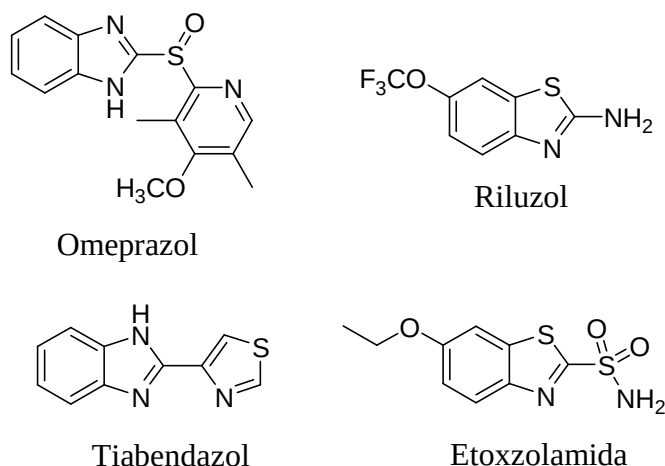


Figura 2 – Estruturas químicas do omeprazol, do riluzol, do tiabendazol e da etoxzlamida

1.1 – Os derivados benzimidazólicos

O interesse pela classe de compostos dos benzimidazóis teve início na década de 1950, com a descoberta do *N*-ribosil-dimetilbenzimidazol (Figura 3), que se complexa ao cobalto da vitamina B12 (Dubey e Sanyal, 2010). Tal fato culminou, em 1961, na descoberta do tiabendazol (Figura 2), que foi o primeiro benzimidazol comercializado durante quarenta anos e amplamente utilizado até os dias de hoje como anti-helmíntico e antifúngico (Santosh *et al.*, 2011).

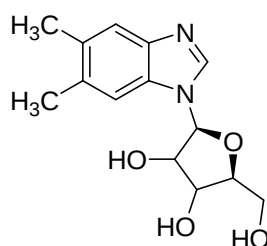
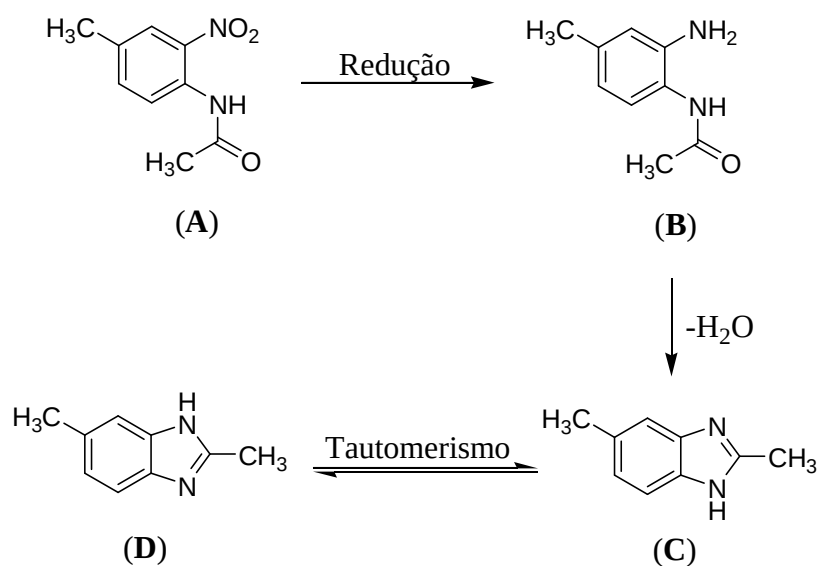


Figura 3 – Estrutura do *N*-ribosil-dimetilbenzimidazol.

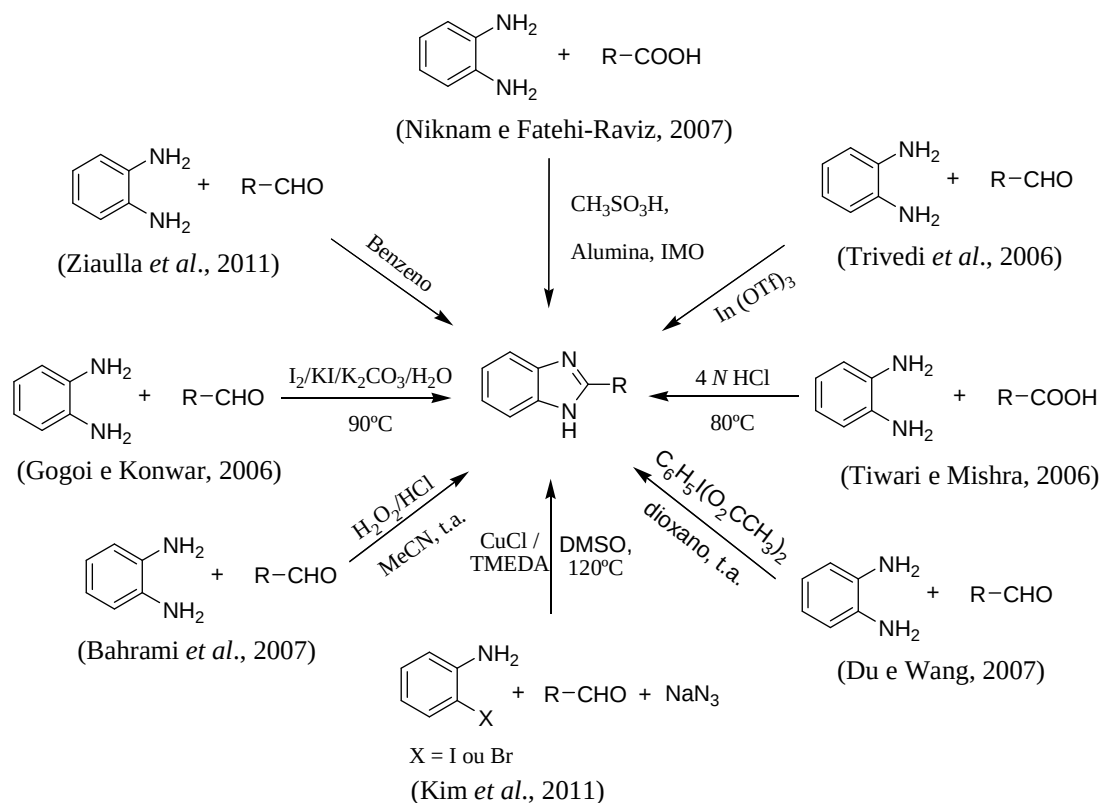
A síntese do primeiro benzimidazol foi realizada em 1872 por Hobrecker. A estratégia de síntese empregada por este grupo de pesquisadores envolveu a redução da 2-nitro-4-metilacetanilida (Esquema 1, **A**, pág. 4), que forneceu após a perda de água, os tautômeros 2,5 e 2,6-benzimidazol (Esquema 1, **B** e **C**, respectivamente, pág. 4) (Al-Douh *et al.*, 2007). A ocorrência do tautomerismo no núcleo imidazólico é comum

quando não ocorre ligação de hidrogênio que impeça o movimento do próton (Horiuchi *et al.*, 2012).



Esquema 1 – Síntese de benzimidazol, segundo Hobrecker (1872).

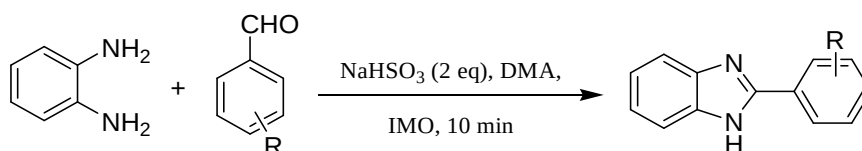
Após a síntese realizada por Hobrecker, diversas estratégias de síntese foram descritas na literatura (Esquema 2, pág 5). As rotas mais comumente utilizadas na síntese dos benzimidazois consistem na condensação de *o*-aminoanilinas com ácidos carboxílicos ou aldeídos, na presença de ácidos minerais fortes, a altas temperaturas (Tiwari e Mishra, 2006). De modo semelhante, derivados de ácidos carboxílicos como ésteres, lactonas ou anidridos podem ser utilizados (Niknam e Fatehi-Raviz, 2007). No entanto, a maioria destes métodos apresentam desvantagens como longos períodos de reação, materiais de partida de alto valor agregado e baixos rendimentos (Chen *et al.*, 2011).



Esquema 2 – Algumas metodologias utilizadas para a síntese de benzimidazóis.

A maioria destas metodologias, como as desenvolvidas por Ziaulla e colaboradores (2011), Gogoi e Konwar (2006), Du e Wang (2007) utilizam reagentes tóxicos como benzeno e compostos halogenados. Além das metodologias que utilizam condições drásticas de reação e reagentes de difícil manuseio, como ácidos fortes e azida de sódio (Tiwari e Mishra, 2006; Bahrami *et al.*, 2007; Niknam e Fatehi-Raviz, 2007; Kim *et al.*, 2011).

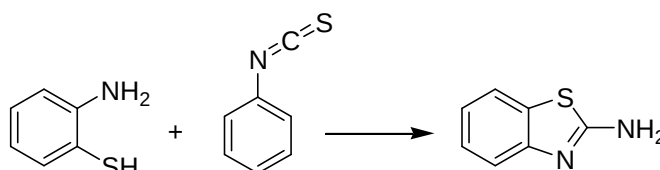
Uma interessante rota sintética desenvolvida por López e colaboradores (2009) (Esquema 3) utilizou bissulfito de sódio como catalisador, *N,N'*-dimetilacetamida (DMA) como solvente, irradiação de micro-ondas (IMO) por 10 min, obtendo treze derivados benzimidazóis com rendimentos entre 62 e 99%. O catalisador utilizado nesta síntese, o NaHSO₃, é um composto barato e pouco tóxico, amplamente utilizado na indústria química de alimento como inibidor de leveduras e bactérias, além de ser muito utilizado em cosméticos, como tinturas de cabelo e em produtos de higiene e de pele (Health-based reassessment of administrative occupational exposure limits, 2005).



Esquema 3 – Síntese de derivados benzimidazois desenvolvida por López e colaboradores (2009).

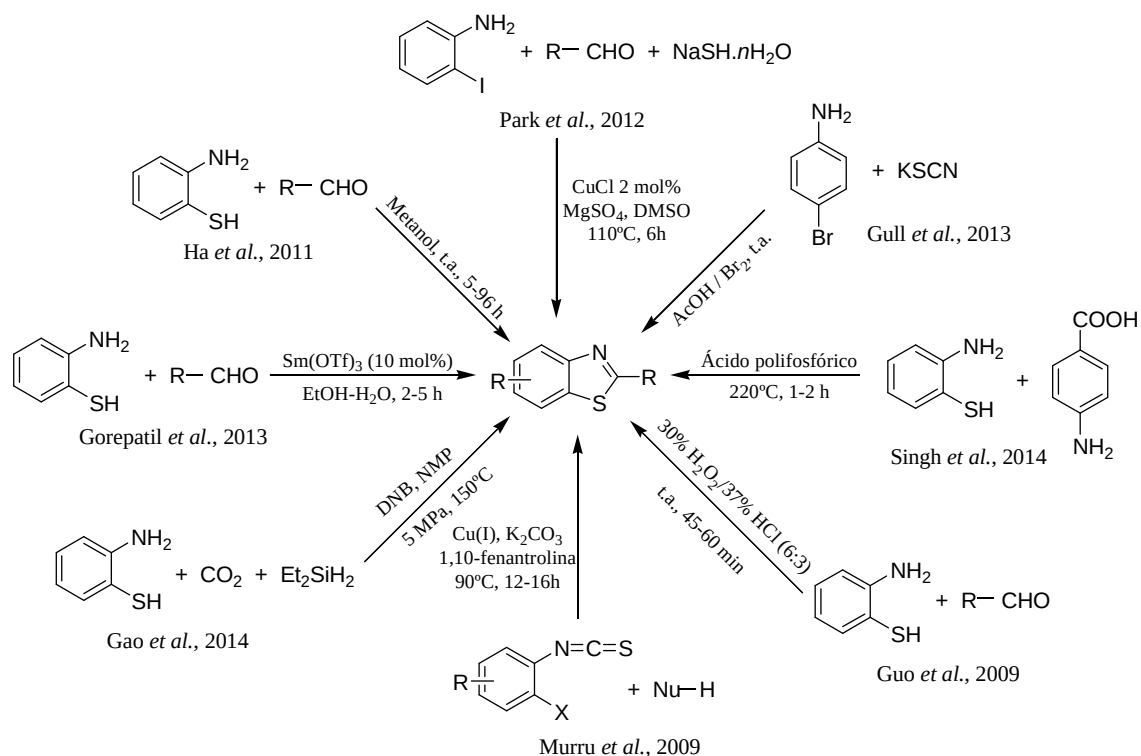
1.2 – Os derivados benzotiazóis

A busca pela explicação do agradável odor do 2-fenil-benzotiazol, um composto orgânico com um átomo de enxofre, incentivou pesquisadores no final do século XIX a sintetizar derivados benzotiazóis (Bogert e Meyer, 1922). A primeira metodologia foi desenvolvida por Hofmann em 1887 e envolveu a reação do *o*-aminotiofenol com isotiocianato de fenila, formando-se o 2-aminobenzotiazol (Esquema 4) (Gupta e Rawat, 2010; Khatun *et al.*, 2012).



Esquema 4 – Síntese do primeiro benzotiazol realizada por Hofmann e colaboradores (1887).

Devida à importância biológica dos benzotiazóis, várias metodologias vem sendo desenvolvidas para a obtenção destes heterociclos (Esquema 5, pág. 7).



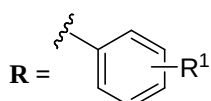
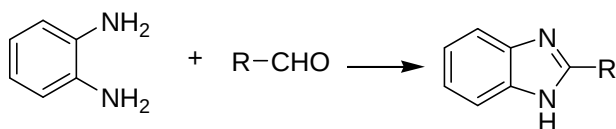
Esquema 5 – Algumas metodologias utilizadas para a síntese de benzotiazóis.

Similarmente aos benzimidazóis, os benzotiazóis são comumente sintetizados utilizando-se o o-aminotiofenol com aldeídos aromáticos substituídos, ácidos carboxílicos, cloretos de acila ou nitrilas, seguido por desidratação ou condições oxidativas (Gupta e Rawat, 2010). Entretanto, muito desses métodos demonstram longos tempos de reação, como as metodologias desenvolvidas por Murru e colaboradores (2009) e Ha e colaboradores (2011), baixos rendimentos (Kumar *et al.*, 2012), além de utilizarem reagentes ou catalisadores caros e de difícil manuseio, como as metodologias desenvolvidas por Guo e colaboradores (2009) e Singh e colaboradores (2014).

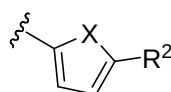
2 – OBJETIVO

Sabendo-se do potencial biológico destes heterociclos, o presente trabalho tem como objetivo:

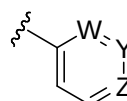
- Sintetizar e caracterizar derivados benzimidazólicos:



ou



ou



R¹ = H (1), 4-NO₂ (2), 3-NO₂ (3), 2-NO₂ (4), 4-CN (5), 4-N(CH₃)₂ (6), 4-SCH₃ (7), 4-F (8), 4-Cl (9), 4-OH (10), 3-OH (11), 2-OH (12), 4-OCH₃ (20), 3-OCH₃ (21), 2-COOH (22),

X = S e R² = H (13)

X = NH e R² = H (14)

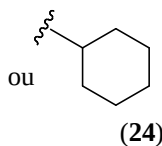
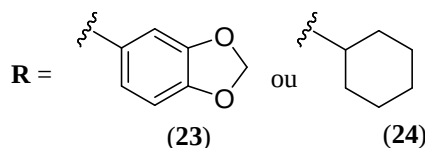
X = O e R² = H (15)

X = O e R² = NO₂ (16)

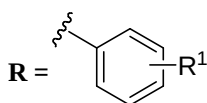
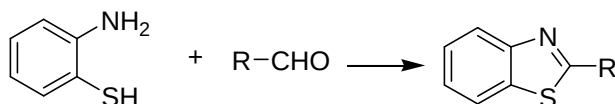
W e Y = CH, Z = N (17)

W e Z = CH, Y = N (18)

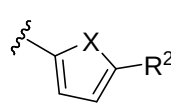
Z e Y = CH, W = N (19)



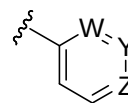
- Sintetizar e caracterizar derivados benzotiazólicos:



ou



ou



R¹ = H (25), 4-NO₂ (26), 4-CN (27), 4-N(CH₃)₂ (28), 4-SCH₃ (29), 4-F (30), 4-OH (31), 3-OH (32), 2-OH (33), 4-OCH₃ (39), 3-OCH₃ (40), 2-COOH (41)

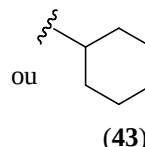
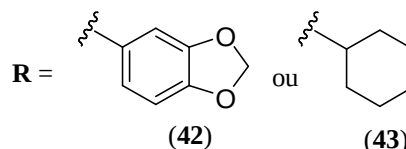
X = S e R² = H (34)

X = NH e R² = H (35)

X = O e R² = H (36)

W e Y = CH, Z = N (37)

W e Z = CH, Y = N (38)

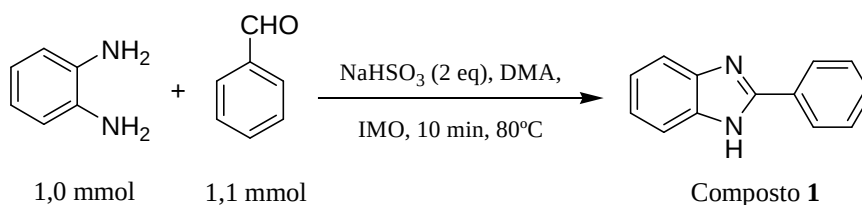


- Avaliar o mecanismo de reação da síntese do composto **1**, utilizando a técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas, com armadilha de íons e tempo de voo (LCMS-IT-TOF).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Síntese dos benzimidazóis e dos benzotiazóis

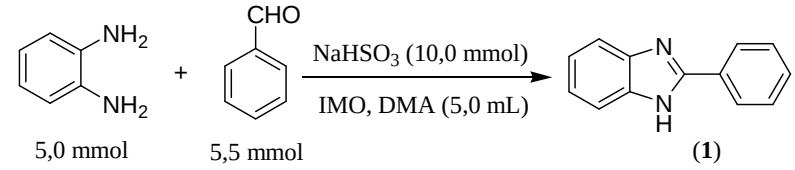
A metodologia utilizada para sintetizar os derivados benzimidazólicos neste trabalho foi originalmente descrita por López e colaboradores (2009), na qual empregou-se o bissulfito de sódio como catalisador, dimetilacetamida (DMA) como solvente e irradiação de micro-ondas (IMO) como fonte de aquecimento (Esquema 6). Empregando-se esta metodologia, López e colaboradores (2009) obtiveram o composto **1** em 88% de rendimento.



Esquema 6 – Síntese do composto **1** segundo López e colaboradores (2009).

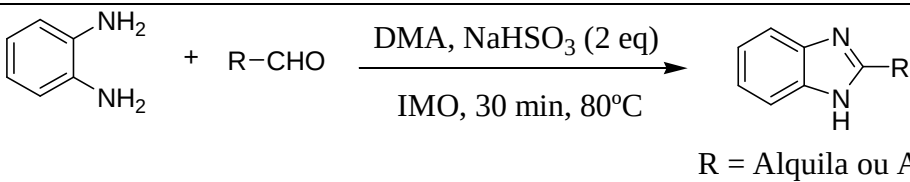
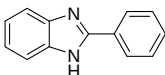
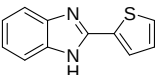
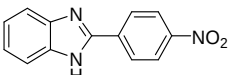
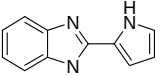
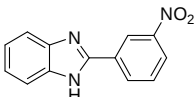
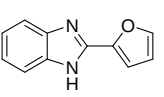
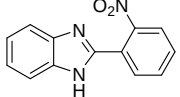
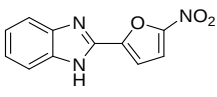
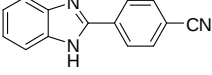
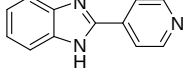
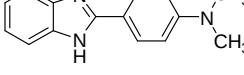
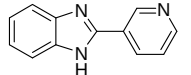
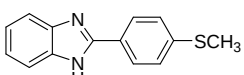
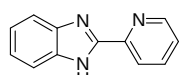
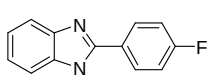
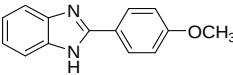
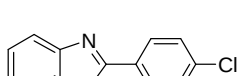
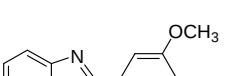
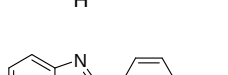
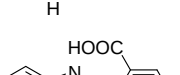
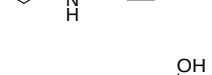
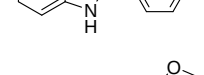
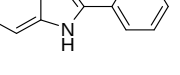
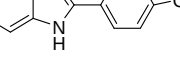
Porém, na tentativa de reproduzir a preparação de **1**, este benzimidazol foi obtido com apenas 70% de rendimento. A possível explicação para esta diferença pode ser o fato de que López e colaboradores utilizaram um micro-ondas convencional, que não emite uma irradiação constante de micro-ondas, enquanto que no nosso grupo de pesquisa utilizou-se de um reator de micro-ondas para síntese orgânica (CEM – *Microwave-Enhanced Life Sciences*). De forma a otimizar as condições desta reação para o reator de micro-ondas, realizou-se a reação descrita no Esquema 6, empregando-se 5,0 mmol de *o*-fenilenodiamina, 5,5 mmol de benzaldeído, 10,0 mmol de bissulfito de sódio, dissolvidos em 5,0 mL de DMA e sob irradiação de micro-ondas. As variáveis tempo de irradiação de micro-ondas (15 e 30 min) e temperatura de reação (80, 100 e 120°C) foram avaliadas e os resultados obtidos para o rendimento de **1**, nestas diferentes condições de reação, são apresentadas na Tabela 1 (pág. 10).

Tabela 1 – Efeito do tempo de irradiação por micro-ondas (IMO) e temperatura na formação do 2-fenil-1*H*-benzimidazol (**1**)

		
Temperatura	Tempo (min)	Rendimento (%)
80°C	15	75
	30	90
100°C	15	81
	30	90
120°C	15	78
	30	90

A temperatura entre 80 e 120°C não influenciou o rendimento para a obtenção do 2-Fenil-1*H*-benzimidazol. Porém, a variante tempo de reação foi importante para esta reação, pois o benzimidazol **1** foi obtido em 75 e 90% de rendimento quando o tempo de reação variou de 15 para 30 minutos, respectivamente (Tabela 1). Não foi observado aumento no rendimento para obtenção de **1** em reações realizadas à temperaturas maiores que 120°C. Em resumo, o benzimidazol **1** foi obtido em 90% após 30 min de IMO e a uma temperatura de 80°C. Estes parâmetros de reação foram, então, empregados para a preparação de uma série de benzimidazóis (Tabela 2, pág. 11) de forma a avaliar o escopo desta metodologia. Para isso, utilizaram-se diferentes aldeídos, com grupos doadores e retiradores de densidade eletrônica, heteroaromáticos e não aromáticos.

Tabela 2 – Estrutura dos derivados benzimidazois **1** a **24** e seus rendimentos

 R = Alquila ou Arila					
Compostos	Estrutura	Rend. (%)	Compostos	Estrutura	Rend. (%)
1		90	13		98
2		94	14		100
3		93	15		100
4		80	16		80
5		84	17		80
6		100	18		84
7		100	19		80
8		94	20		90
9		92	21		91
10		100	22		92
11		90	23		92
12		100	24		85

O uso de diferentes aldeídos (hetero)aromáticos, cicloexanocarboxialdeído e *o*-fenilenodiamina sob catálise do bissulfito de sódio e IMO forneceram os respectivos benzimidazois em rendimentos que variaram de 80 a 100% (Tabela 2, pág. 11). Estes resultados indicam que a metodologia aqui descrita é compatível com a utilização de aldeídos não-aromáticos ou (hetero)aromáticos substituídos ou não, com grupos retiradores ou doadores de densidade eletrônica nestes sistemas aromáticos.

De uma forma geral, os compostos que apresentaram maiores rendimentos foram os que utilizaram aldeídos que possuíam grupos doadores de densidade eletrônica, como por exemplo, os compostos **6**, **7**, **10**, **12**, **13**, **14** e **15** que apresentaram um rendimento próximo ou igual a 100%. Os compostos heteroaromáticos pirimídicos **17**, **18** e **19** foram os que apresentaram menores rendimentos (em torno de 80%).

O bissulfito de sódio tinha sido previamente descrito por ser um catalisador eficiente na síntese de benzimidazois utilizando-se aquecimento convencional, conduzindo a reações em rendimentos entre 13 e 90% (Ridley *et al.*, 1965). Utilizando-se aquecimento por irradiação de micro-ondas, os benzimidazois foram obtidos entre 67 e 99% de rendimento (López *et al.*, 2009). Sob as condições apresentadas neste trabalho, os compostos **15** e **23** foram obtidos com 100 e 92% de rendimento, respectivamente, ao passo que estes mesmos compostos foram obtidos em 72 e 66% de rendimento, respectivamente, utilizando CuCl e *N,N,N',N'*-tetrametiletilenodiamina (TMEDA) como catalisadores (Kim *et al.*, 2011). Utilizando-se IBX (ácido iodoxibenzoico) como catalisador, os compostos **2**, **6**, **15** e **24** foram obtidos em 51, 60, 70 e 55% de rendimento (Moorthy e Neogi, 2011), respectivamente, enquanto neste trabalho estes compostos foram obtidos em 94, 100, 100 e 85% de rendimento, respectivamente. Como pode ser observado, a síntese apresentada neste trabalho, utilizando NaHSO₃ e IMO, é muito eficiente para obtenção de benzimidazois.

Para a obtenção dos compostos **1** a **24** utilizou-se a IMO como fonte de energia não convencional para o aquecimento rápido da mistura de reação. O uso das IMOs é útil para promover a redução do tempo de reação, bem como a formação de subprodutos e, conseqüentemente, o aumento do rendimento (Langa *et al.*, 1997). Para verificar a importância da IMO na síntese de **1**, a reação foi realizada nas mesmas condições citadas anteriormente, porém empregando-se aquecimento convencional. O 2-fenil-1*H*-benzimidazol (**1**) foi obtido em 80% de rendimento após 24 h de reação. Observa-se, então, que a IMO foi importante para diminuir o tempo de reação de 24 h para 30 minutos, além de aumentar o rendimento de 80 para 90%.

Após devidamente purificados, os derivados benzimidazólicos **1** a **24** foram caracterizados por RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, infravermelho, LCMS-IT-TOF e temperatura de fusão. Estes dados estão apresentados na “Parte Experimental” (pág. 82-127) e, apesar desses compostos não serem inéditos, alguns deles serão discutidos no item 3.2 (pág. 15-26).

Uma vez demonstrado que o uso de bissulfito de sódio e IMO foi eficiente para a preparação de benzimidazóis, decidiu-se avaliar esta metodologia para a síntese de benzotiazóis.

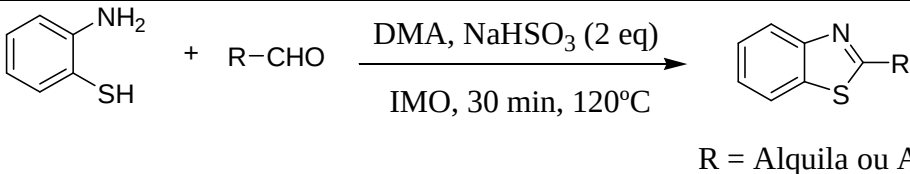
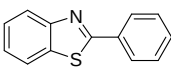
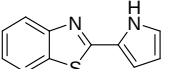
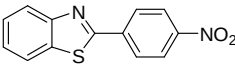
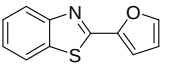
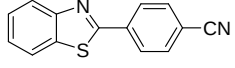
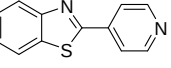
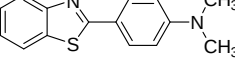
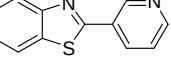
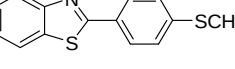
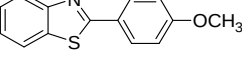
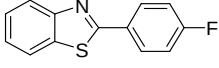
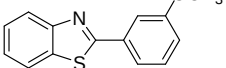
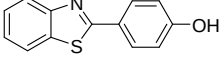
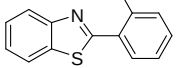
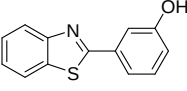
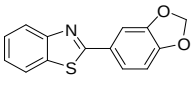
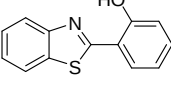
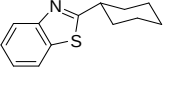
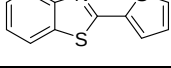
Tabela 3 – Efeito do tempo de irradiação por micro-ondas (IMO) e temperatura na formação do 2-Fenilbenzotiazol (**25**)

Temperatura	Tempo (min)	Rendimento (%)
80°C	15	6
	30	45
100°C	15	27
	30	84
120°C	15	42
	30	90

Diferentemente do que foi observado para os benzimidazóis (Tabela 1, pág. 10), tanto tempo de irradiação de micro-ondas quanto a temperatura de reação contribuíram positivamente para o aumento do rendimento de obtenção do benzotiazol **25** (Tabela 3). O composto **25** foi obtido em 90% de rendimento após 30 min de IMO. Para valores de temperatura e tempo de IMO superiores a 120°C e 30 min, respectivamente, não foram observados aumentos no rendimento na preparação de **25**. Nas condições reacionais para a síntese dos benzimidazóis desenvolvidas por Lópes e colaboradores (2009), o composto **25** foi obtido pelo nosso grupo com rendimento menor que 6%.

Após otimizar as condições de reação para a obtenção de **25**, uma série de benzotiazóis (**25** a **43**) foram sintetizados, variando-se os aldeídos, com grupos doadores e retiradores de densidade eletrônica, heteroaromáticos e não aromáticos (Tabela 4).

Tabela 4 – Estrutura dos derivados benzimidazóis **25** a **43** e seus rendimentos

 R = Alquila ou Arila					
Compostos	Estrutura	Rend. (%)	Compostos	Estrutura	Rend. (%)
25		90	35		98
26		80	36		92
27		85	37		90
28		90	38		90
29		98	39		100
30		85	40		100
31		100	41		90
32		92	42		100
33		100	43		94
34		95			

De uma forma geral, os benzotiazóis **25** a **43** foram obtidos em bons a excelentes rendimentos (acima de 80%). Semelhantemente aos benzimidazóis, os benzotiazóis com grupos doadores de densidade eletrônica apresentaram os melhores rendimentos, como por exemplo, os compostos **29**, **31**, **33**, **35**, **39**, **40** e **42** foram obtidos com rendimentos próximo ou igual a 100% (Tabela 4).

Os derivados benzotiazóis **25** a **43** foram caracterizados por RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, espectroscopia no infravermelho, LCMS-IT-TOF e temperatura de fusão. Estes dados estão apresentados na “Parte Experimental” (pág. 82-127) e, apesar de não serem inéditos, os dados espectroscópicos no infravermelho e RMN de alguns dos benzotiazóis sintetizados serão discutidos no item 3.2.

3.2 – Caracterização dos compostos sintetizados

Todos compostos sintetizados (**1-43**) foram caracterizados por RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135, espectroscopia no infravermelho, LCMS-IT-TOF e temperatura de fusão. Devido à grande similaridade estrutural entre os compostos sintetizados das classes dos benzimidazóis e dos benzotiazóis, nesta seção serão discutidos os dados de infravermelho e RMN para os compostos **1**, **22**, **25** e **41**.

Os espectros obtidos na região do infravermelho para os derivados benzimidazólicos **1** e **22** (Figuras 4 e 6, págs. 16 e 17, respectivamente) apresentaram uma banda forte e larga entre 3000 e 2500 cm^{-1} devido ao estiramento da ligação N–H presente nestes compostos, a qual sobrepos às bandas de C–H dos anéis aromáticos. Já os benzotiazóis **25** e **41** apresentaram bandas fracas entre 3000 e 2500 cm^{-1} referentes às ligações C–H dos anéis aromáticos (Figuras 5 e 7, págs. 16 e 17, respectivamente). No benzimidazol **22** e no benzotiazol **41** observou-se uma banda média em 3068 e 3066 cm^{-1} , respectivamente, provenientes do estiramento O–H do ácido carboxílico, além de uma banda forte em 1642 e 1702 cm^{-1} , respectivamente, referente ao estiramento C=O da carbonila do ácido carboxílico (Figura 6 e 7, pág. 17). Bandas médias e fracas também foram observadas para todos os espectros aqui apresentados entre 1654 e 1438 cm^{-1} provenientes dos estiramentos das ligações C=N e C=C dos anéis aromáticos.

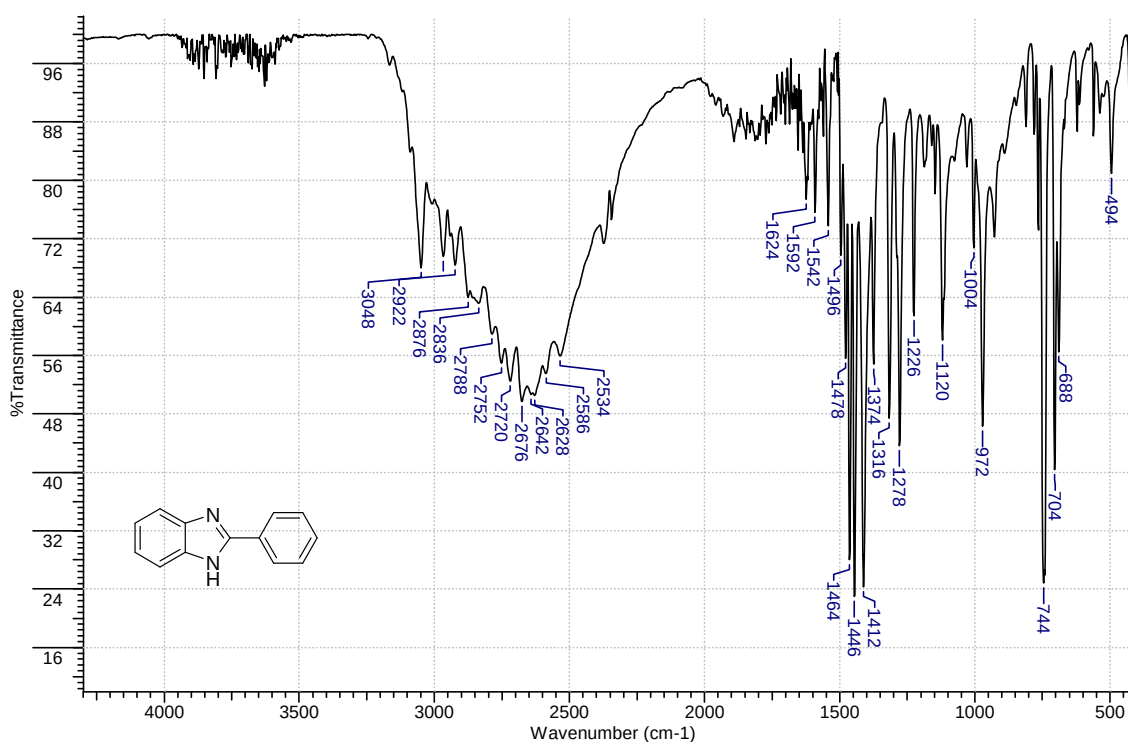


Figura 4 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-fenil-1*H*-benzimidazol (1).

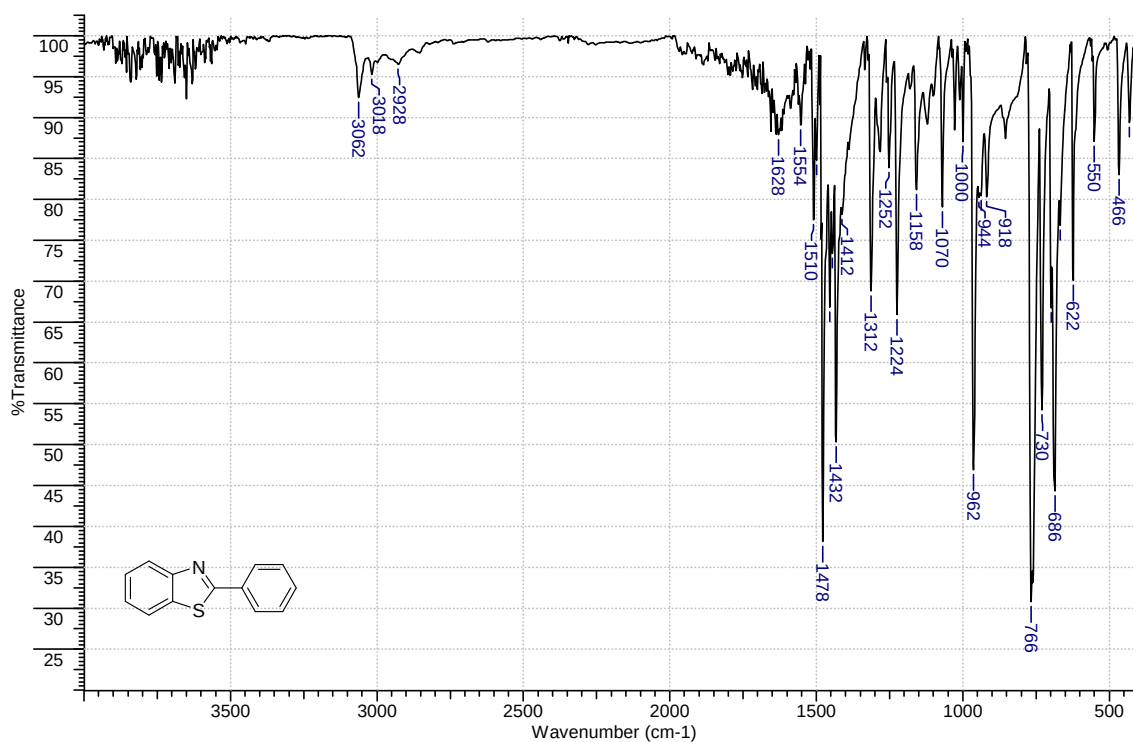


Figura 5 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-fenilbenzotiazol (25).

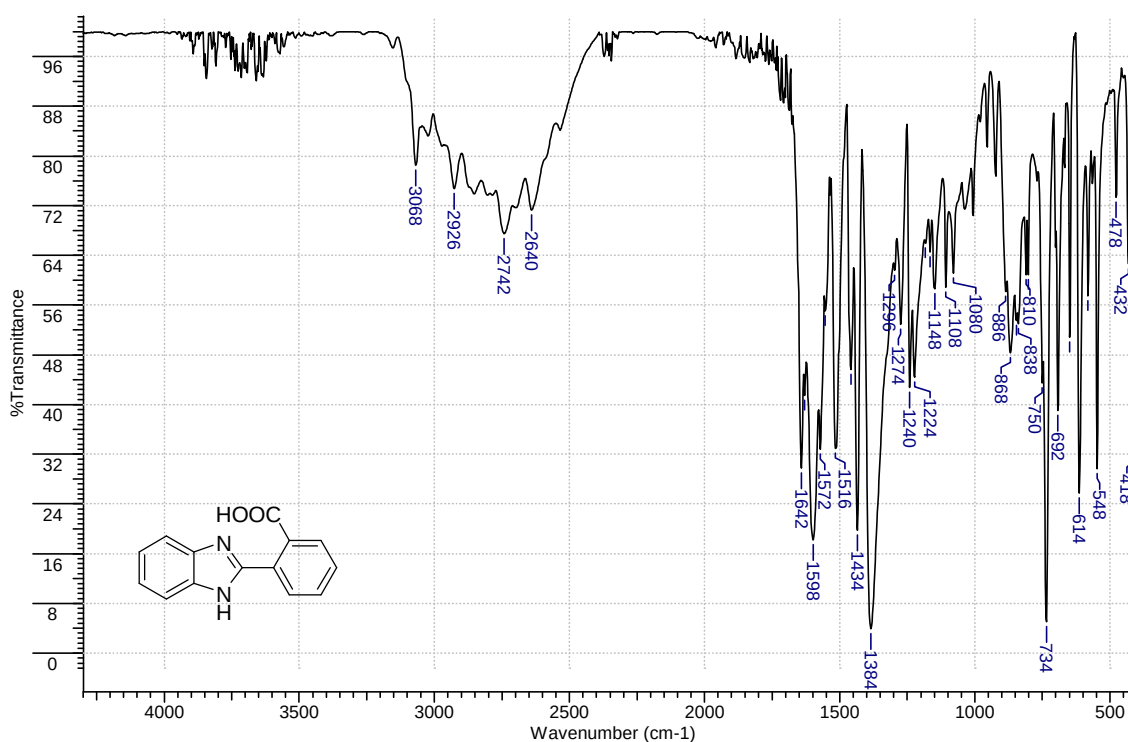


Figura 6 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-carboxifenil)-1H-benzimidazol (22).

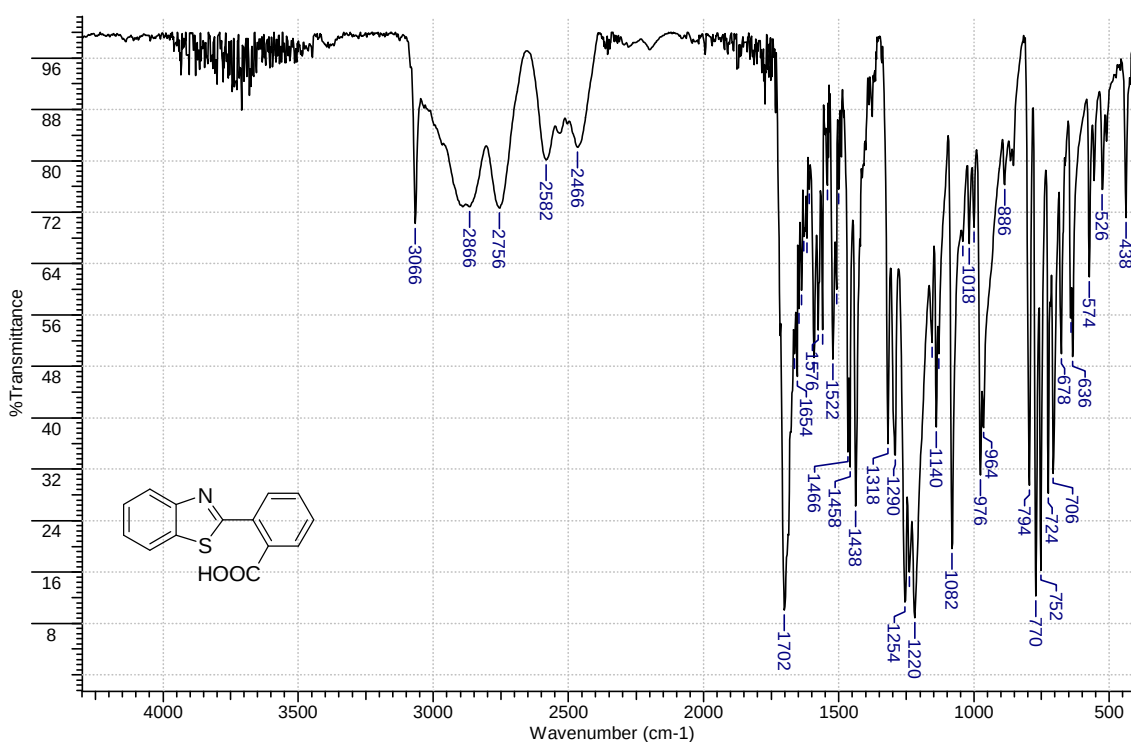


Figura 7 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(2-carboxifenil)benzotiazol (41).

Analisando o espectro de RMN de ^1H do composto **41** (Figura 8) observou-se a presença um multipeto entre δ 7,45 e 7,62, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H_3 e H_4 . Dois outros multipletos foram observados, entre δ 7,65-7,73 e entre δ 7,75-7,85, referentes aos hidrogênios H_9 , H_{10} , H_{11} e H_{12} . Dois dupletos com integrais equivalentes a um hidrogênio cada são observados em 8,05 ($J = 7,2$ Hz) e 8,17 ($J = 7,6$ Hz), correspondendo aos hidrogênios H_5 e H_2 , respectivamente. A atribuição dos sinais de ^1H foi baseada no mapa de contornos COSY (Figura 9, pág. 19), no qual se observam as correlações entre hidrogênios vizinhos por ordem de três ligações.

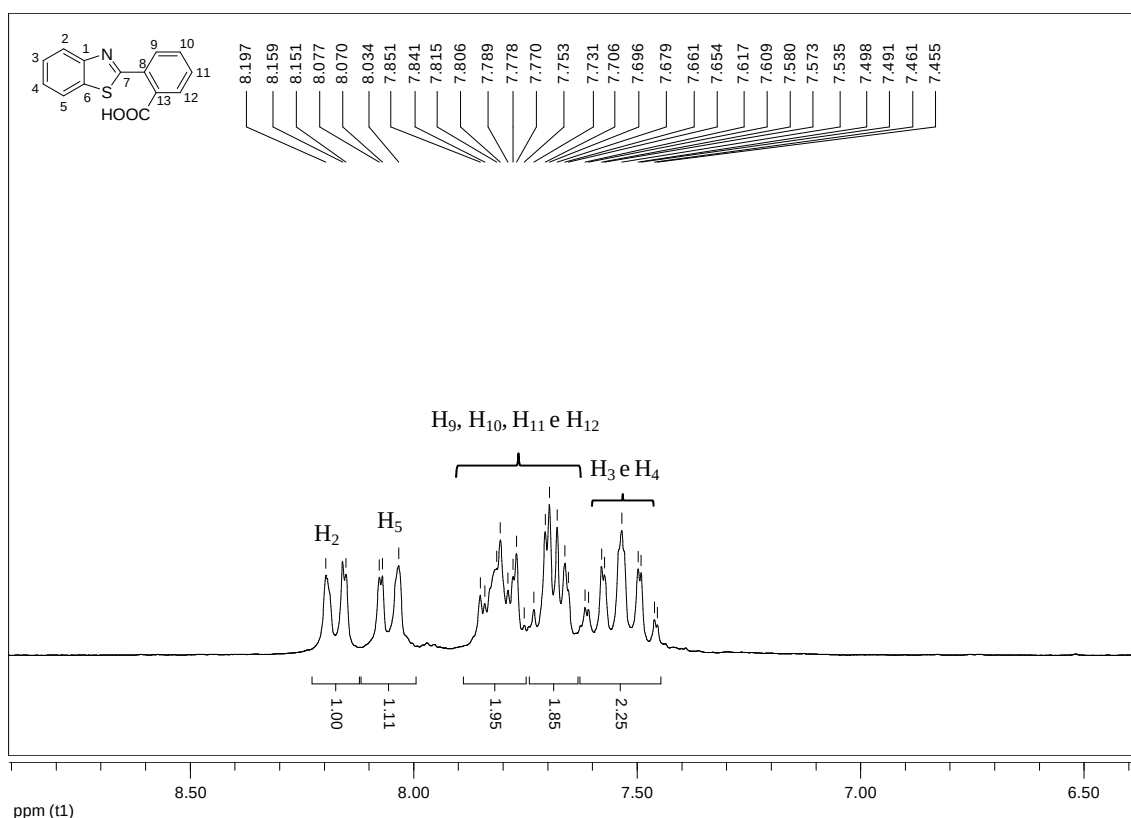


Figura 8 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) do composto 2-(2-carboxifenil)benzotiazol (**41**).

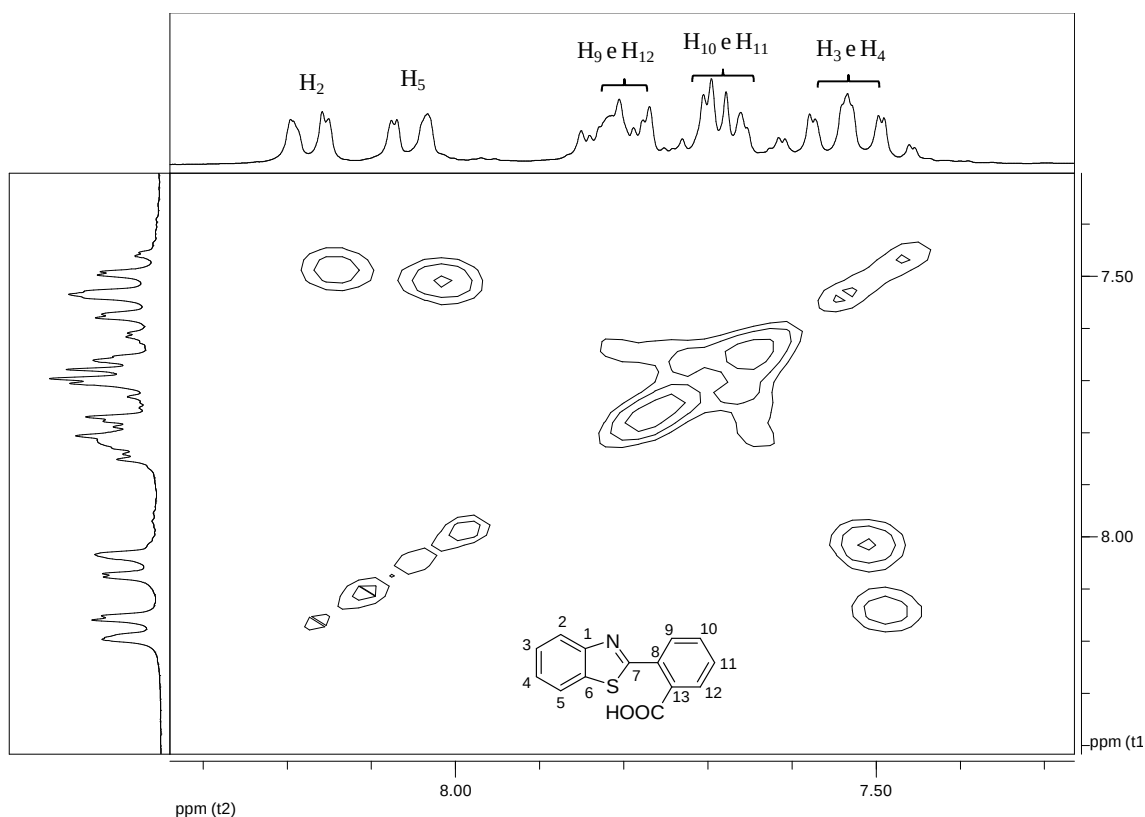


Figura 9 – Mapa de contornos COSY (DMSO- d_6) do composto 2-(2-carboxifenil)benzotiazol (**41**).

O espectro de RMN de ^{13}C do composto **41** apresentou um total de treze sinais referentes aos quatorze átomos de carbono da molécula (Figura 10, pág. 20). Em δ 122,1 e 122,9 ppm encontram-se os sinais referentes aos carbonos C_2 e C_5 , respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C_3 e C_4 se apresentaram em δ 125,4 e 126,4 ppm, respectivamente. Em δ 129,2, 130,4 e 131,0 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C_9 , C_{12} , C_{11} , e C_{10} , não sendo possível distingui-los entre eles. A atribuição destes sinais de ^{13}C foi realizada a partir do mapa de contornos HMQC (Figura 11, pág. 20), onde se observam as correlações entre carbonos e hidrogênios diretamente ligados. Entre os carbonos não hidrogenados, tem-se um sinal em δ 132,3 ppm referente ao carbono C_{13} , um sinal em δ 133,2 ppm referente ao carbono C_6 , um sinal em δ 135,5 ppm referente ao carbono C_8 , um sinal em δ 153,1 ppm referente ao carbono C_1 , um sinal em δ 166,3 ppm referente ao carbono C_7 e um sinal em δ 168,7 ppm referente ao carbono da carbonila da carboxila. Os carbonos não hidrogenados foram atribuídos baseado na simulação feita no programa ChemDraw Ultra 8.0.

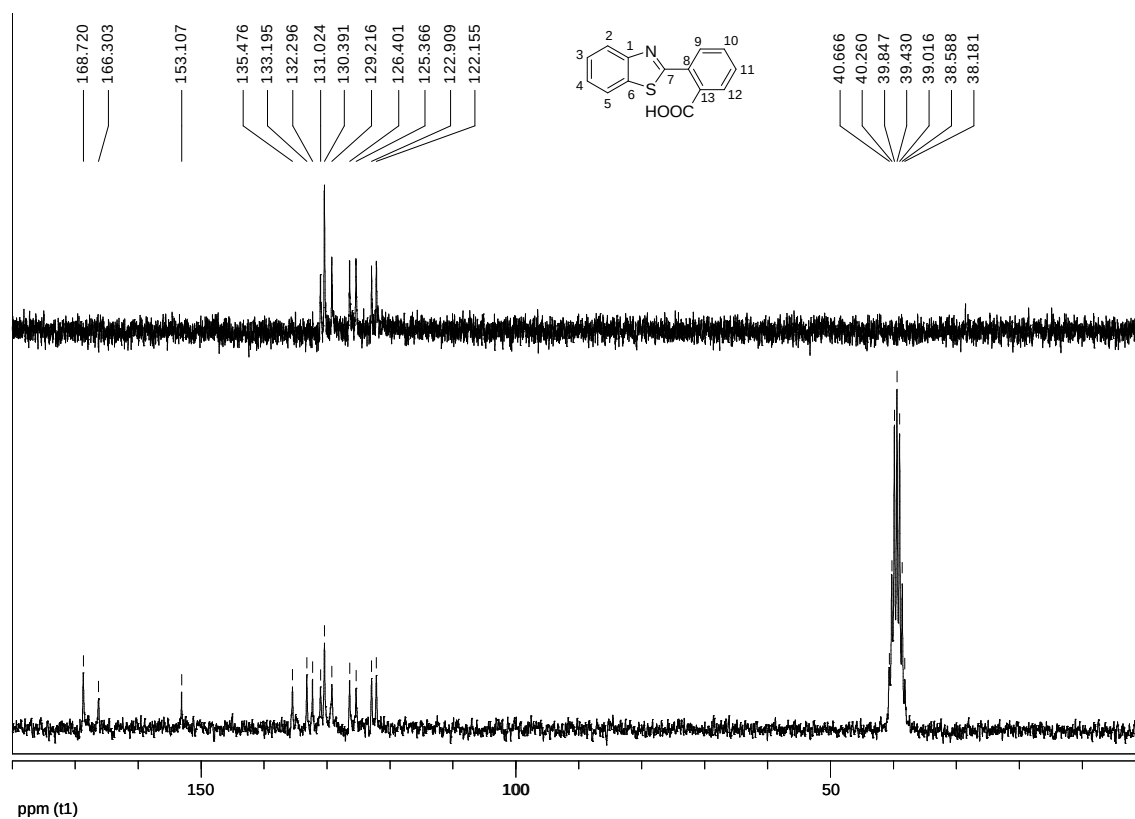


Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-(2-carboxifenil)benzotiazol (**41**).

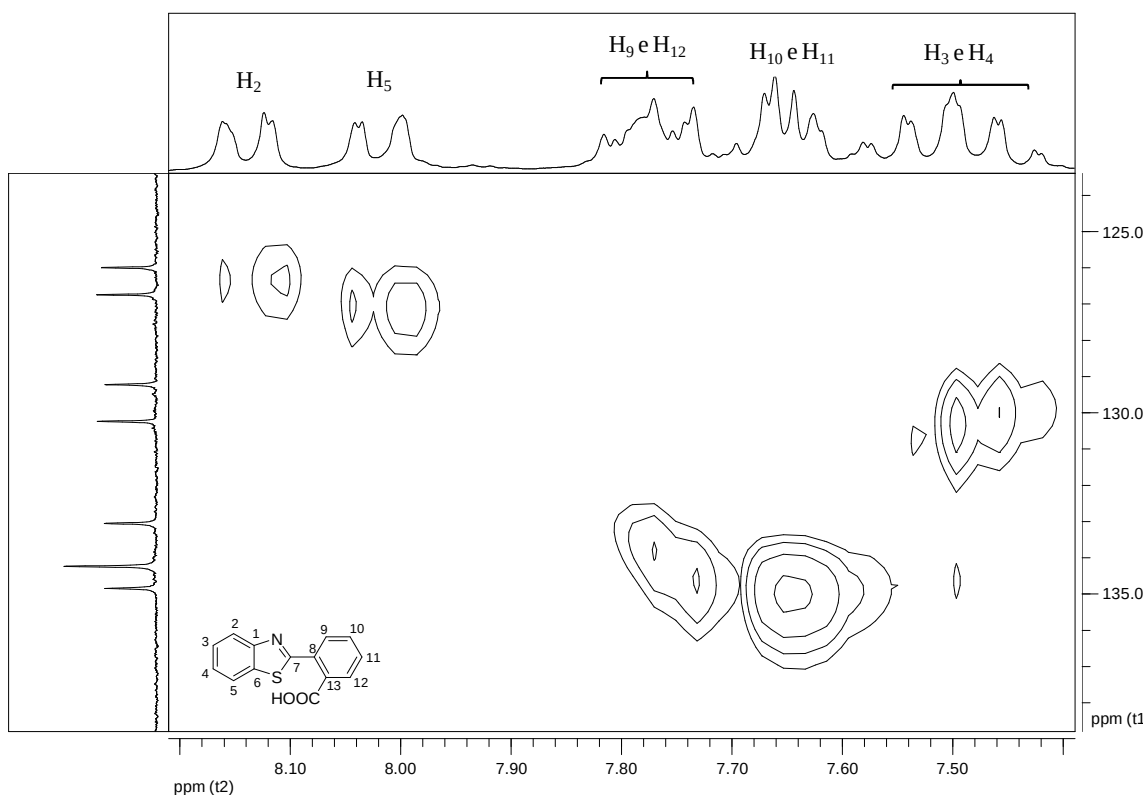


Figura 11 – Mapa de contornos HMBC ($\text{DMSO}-d_6$) do composto 2-(2-carboxifenil)benzotiazol (**41**).

Diferentemente dos benzotiazóis, nos espectros de RMN de ^1H dos benzimidazóis **1** e **22** observou-se um sinal entre δ 11 e 13 ppm, integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio do núcleo imidazólico (Figuras 12 e 16, pág. 21 e 25, respectivamente). Para o composto **22** este sinal integra para dois hidrogênios (Figura 12) pelo fato do deslocamento químico do hidrogênio da carboxila estar nesta mesma região do espectro. Além destes hidrogênios, o espectro de RMN de ^1H do composto **22** (Figura 12) apresentou um multiplete entre δ 7,21 e 7,26, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H₂ e H₅. Outro multiplete entre δ 7,57 e 7,71, integrando para quatro hidrogênios, referente aos hidrogênios H₉, H₁₀, H₁₁ e H₁₂. Outro multiplete entre δ 7,82 e 7,90, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H₃ e H₄.

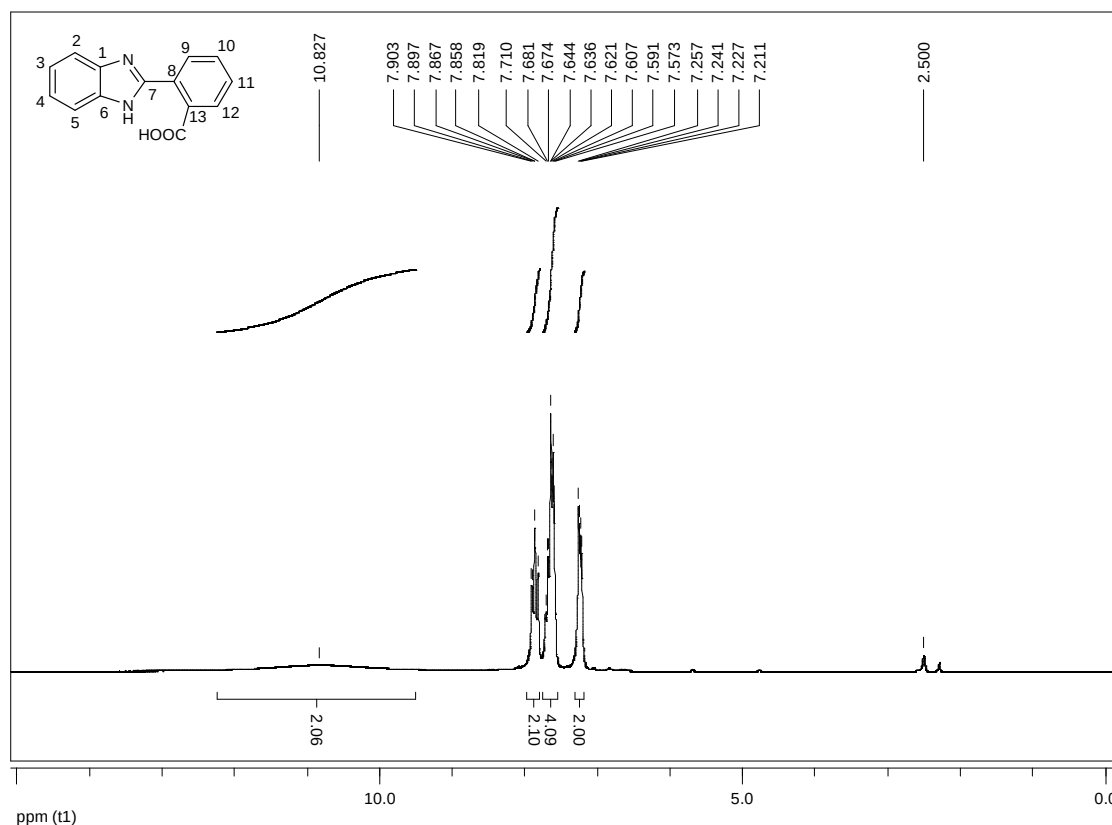


Figura 12 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200MHz) do composto 2-(2-carboxifenil)-1H-benzimidazol (**22**).

O espectro de RMN de ^{13}C do composto **22** apresentou um total de dez sinais referentes aos quatorze átomos de carbono da molécula (Figura 13, pág. 22). Em δ 115,1 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C₂, C₅, e em δ 122,1 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C₃ e C₄. Os carbonos C₂ e C₅ são equivalentes, assim

como os carbonos C_3 e C_4 também são equivalentes, uma vez que ocorrem a deslocalização dos elétrons no núcleo imidazólico e a transferência rápida do hidrogênio do N-H para o nitrogênio que contém a dupla ligação, demonstrando uma simetria nesta subunidade da molécula. Em δ 129,6, 130,0 e 130,9 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C_9 , C_{12} , C_{11} , e C_{10} , não sendo possível distingui-los entre eles. Entre os carbonos não hidrogenados, tem-se um sinal em δ 130,2 ppm referente ao carbono C_{13} , um sinal em δ 133,3 ppm referente ao carbono C_6 , um sinal em δ 138,8 ppm referente ao carbono C_8 e C_1 , um sinal em δ 151,3 ppm referente ao carbono C_7 e um sinal em δ 168,8 ppm referente ao carbono da carbonila da carboxila. A atribuição destes sinais de ^{13}C foi realizada comparando os sinais de carbono do composto **41**.

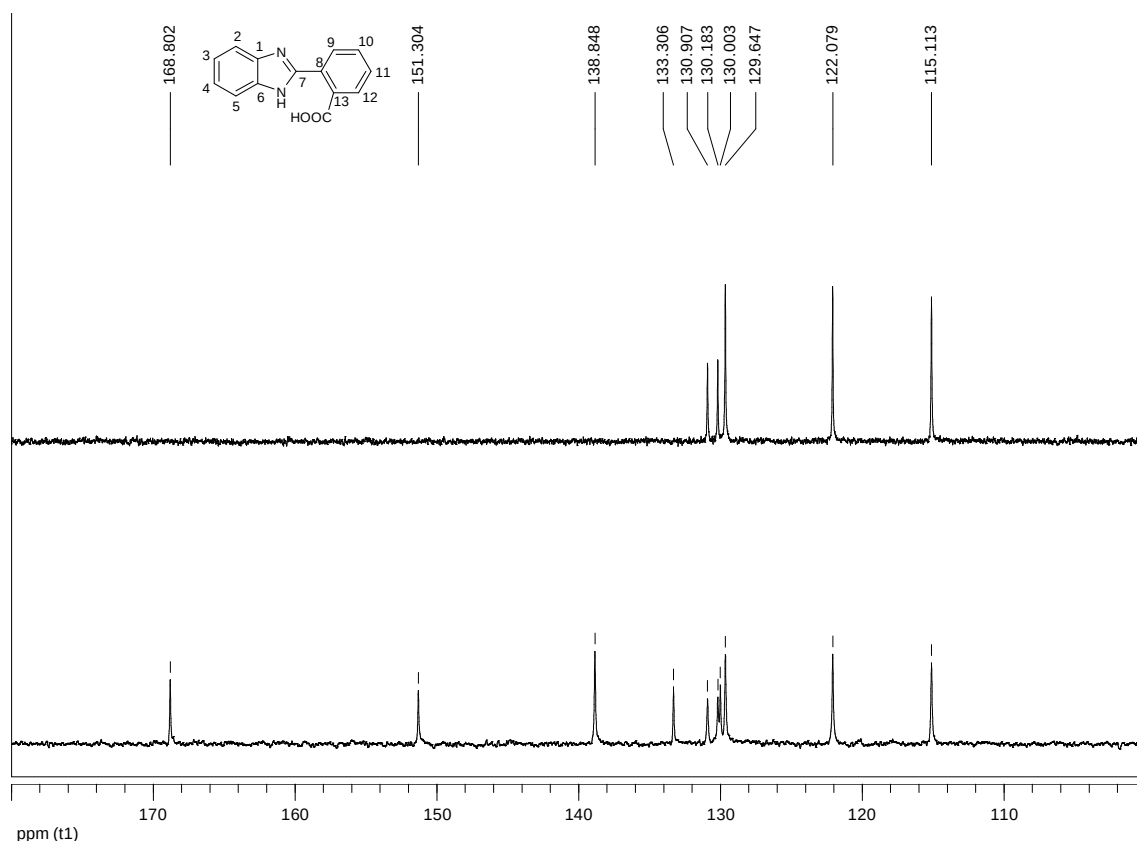


Figura 13 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(2-carboxifenil)-1H-benzimidazol (**22**).

O espectro de RMN de ^1H do composto **25** (Figura 14, pág. 23) apresentou um multipeto entre δ 7,40 e 7,56, integrando para cinco hidrogênios, referente aos hidrogênios H_3 , H_4 , H_{10} , H_{11} e H_{12} . O outro multipeto entre δ 8,05 e 8,11, integrando para quatro hidrogênios, é referente aos hidrogênios H_9 , H_{13} , H_2 e H_5 . Por apresentar

simetria no anel benzênico devido à rotação em torno da ligação entre C₇ e C₈, os sinais dos hidrogênios foram registrados em regiões muito próximas, não conseguindo distinguir as multiplicidades dos mesmos.

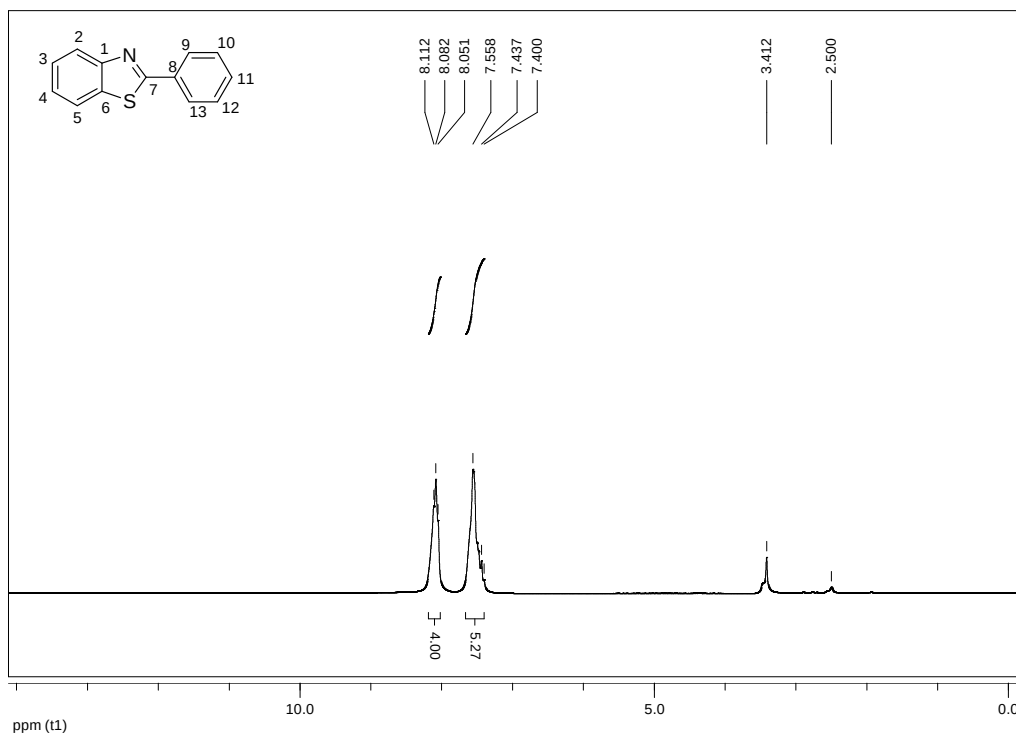


Figura 14 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-fenilbenzotiazol (**25**).

O espectro de RMN de ¹³C do composto **25** apresentou um total de onze sinais referentes aos treze átomos de carbono da molécula (Figura 15, pág. 24). Em δ 122,1 e 122,8 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C₂ e C₅, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C₃ e C₄ se apresentaram em δ 125,4 e 126,5 ppm, respectivamente. Em δ 127,0; 129,2 e 131,2 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, e C₁₃, não sendo possível distingui-los entre eles. Os pares de carbonos C₉/C₁₃ e C₁₀/C₁₂ são equivalentes entre si por apresentarem simetria no anel benzênico devido à rotação em torno da ligação entre C₇ e C₈. Entre os carbonos não hidrogenados, tem-se um sinal em δ 132,7 ppm referente ao carbono C₆, um sinal em δ 134,4 ppm referente ao carbono C₈, um sinal em δ 153,5 ppm referente ao carbono C₁ e um sinal em δ 167,1 ppm referente ao carbono C₇. A atribuição destes sinais de ¹³C foi realizada comparando os sinais de carbono do composto **41**.

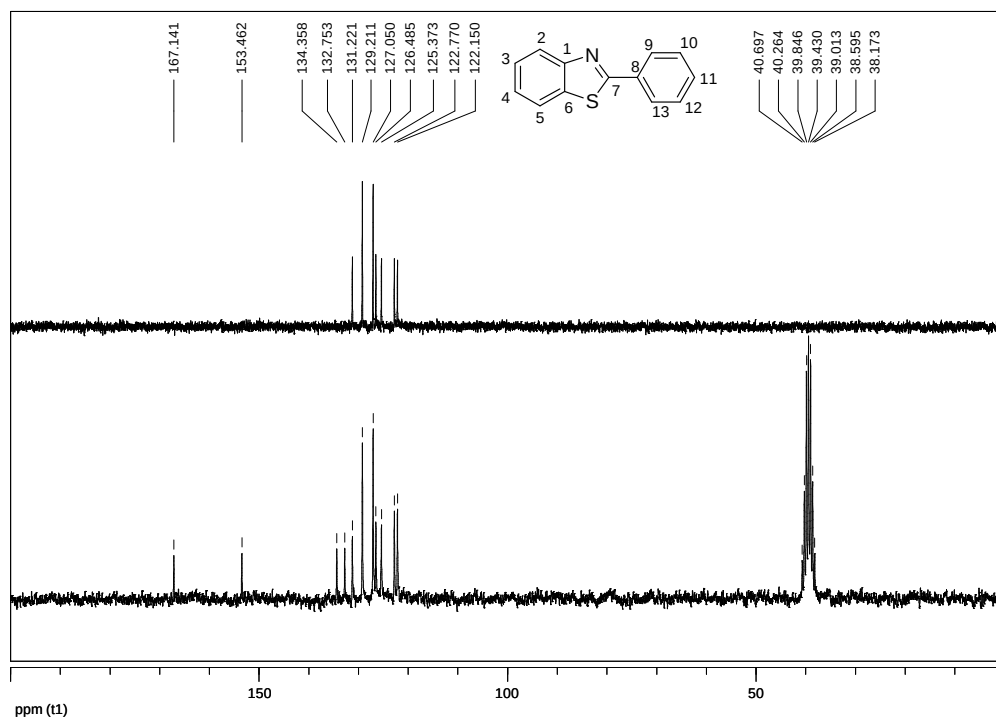


Figura 15 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) do composto 2-Fenilbenzotiazol (25).

O espectro de RMN de ^1H do composto **1** (Figura 16, pág. 25) apresentou um multiplete entre δ 7,19 e 7,24, integrando para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios H_9 e H_{13} . Outro multiplete entre δ 7,47 e 7,62, integrando para cinco hidrogênios, referente aos hidrogênios H_3 , H_4 , H_{10} , H_{11} e H_{12} . Um duplete em δ 8,22 ($J = 7,4$ Hz), integrando para dois hidrogênios, referente aos H_2 e H_5 , e um simpleto largo em δ 12,97, integrando para um hidrogênio, referente ao hidrogênio da ligação N–H.

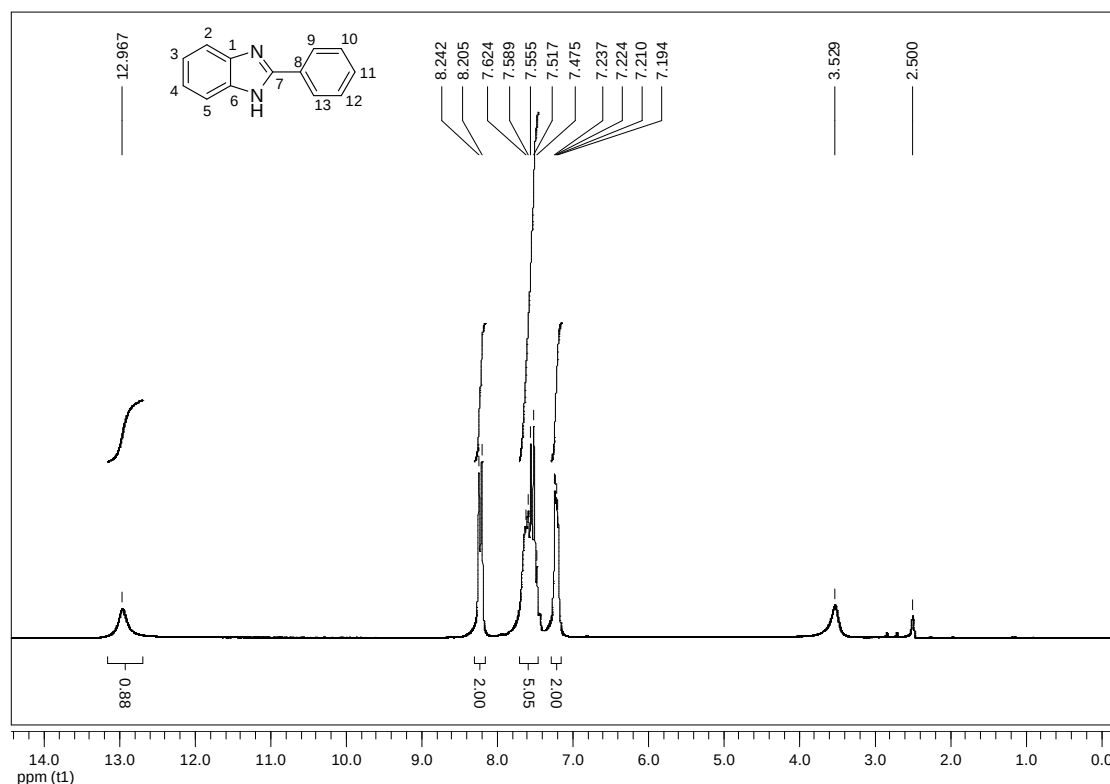


Figura 16 – Espectro de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-fenil-1*H*-benzimidazol (**1**).

O espectro de RMN de ¹³C do composto **1** apresentou um total de onze sinais referentes aos treze átomos de carbono da molécula (Figura 17, pág. 26). Em δ 111,3 e 118,8 encontram-se os sinais referentes aos carbonos C₂ e C₅, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C₃ e C₄ se apresentaram em δ 121,7 e 122,4, respectivamente. Em δ 126,4 e 128,9 encontram-se os sinais referentes aos pares de carbonos C₉/C₁₃ e C₁₀/C₁₂, respectivamente. Os pares de carbono, C₉/C₁₃ e C₁₀/C₁₂, são equivalentes entre si por apresentarem simetria no anel benzênico devido à rotação em torno da ligação entre C₇ e C₈. O sinal referente ao C₁₁ encontra-se em δ 129,8. Entre os carbonos não hidrogenados, tem-se um sinal em δ 130,2 referente ao carbono C₆, um sinal em δ 134,5 referente ao carbono C₈, um sinal em δ 143,8 referente ao carbono C₁ e um sinal δ 151,2 referente ao carbono C₇. A atribuição destes sinais de ¹³C foi realizada comparando os sinais de carbono do composto **41**.

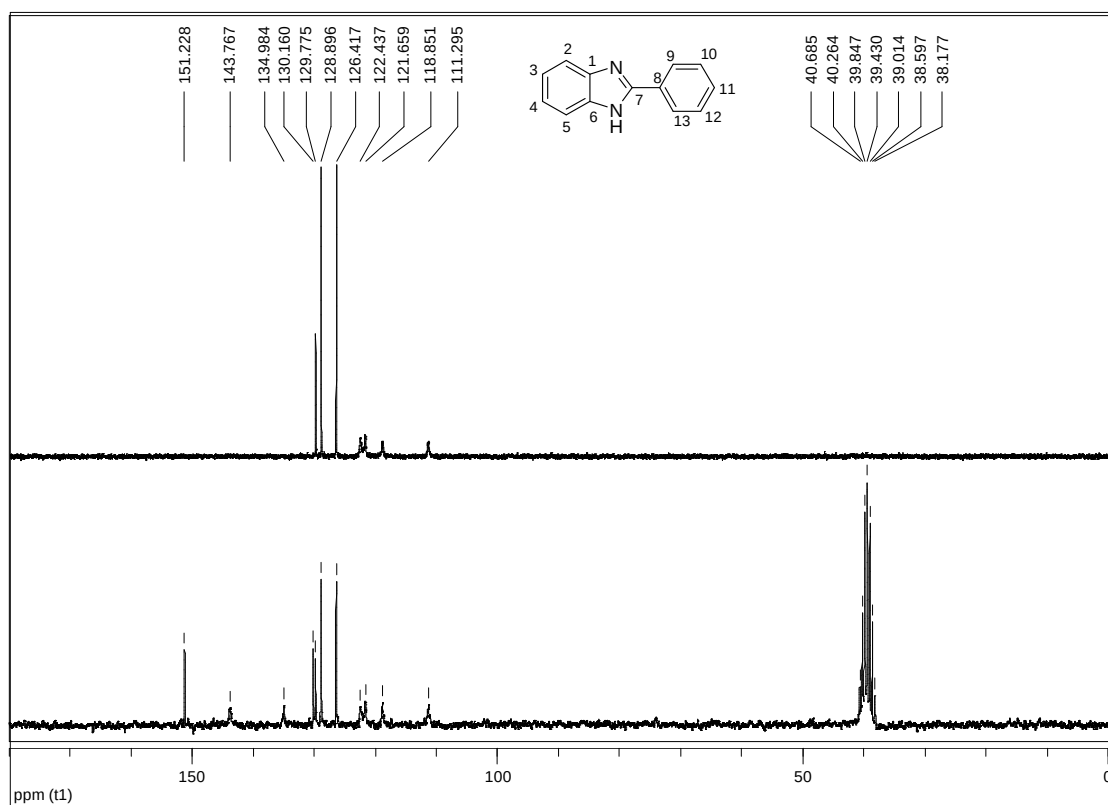
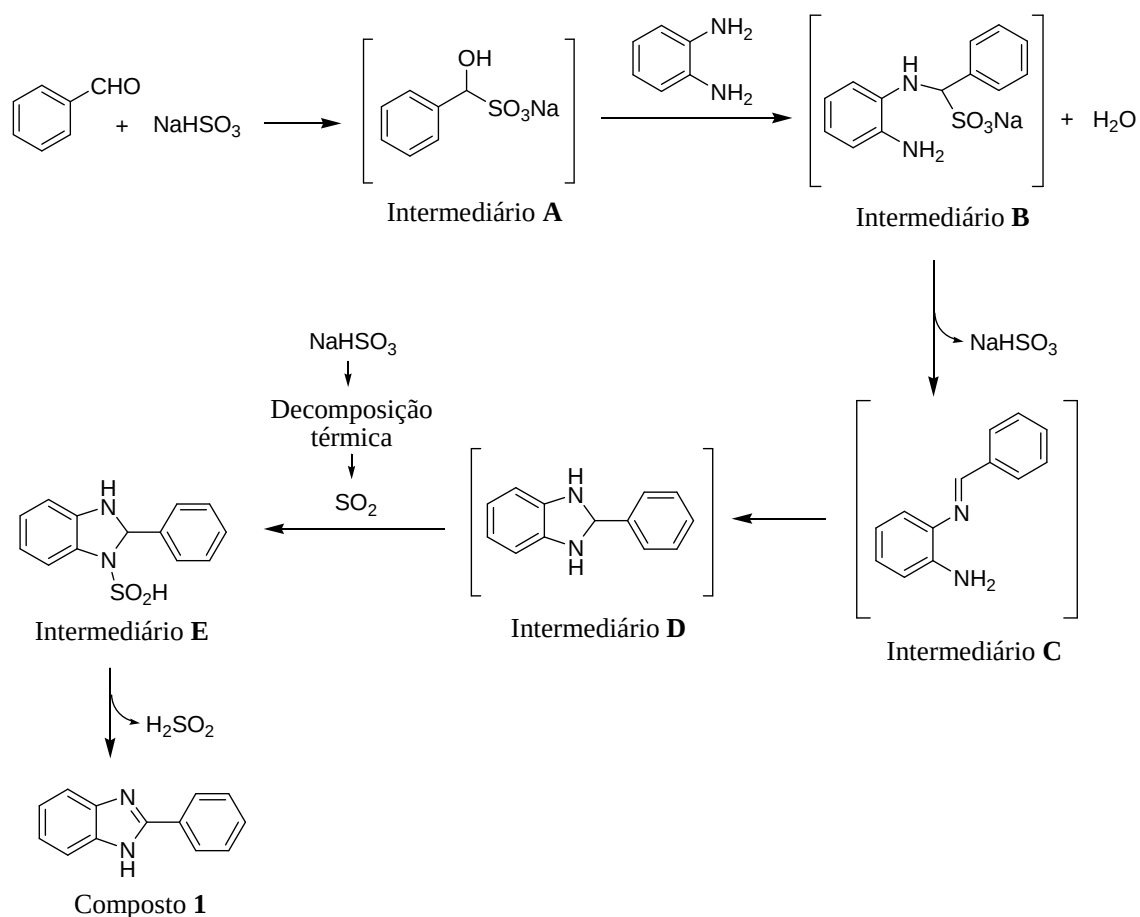


Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-fenil-1*H*-benzimidazol (**1**).

3.3 – Estudo do mecanismo de reação para obtenção do composto 1

López e colaboradores (2009) propuseram um mecanismo de reação para a síntese dos benzimidazois catalisada pelo bissulfito de sódio (Esquema 7, pág. 27). De acordo com estes autores ocorre inicialmente a formação de um intermediário entre o benzaldeído e o bissulfito de sódio (**A**), seguido pela reação com a *o*-fenilenodiamina e então formando o intermediário **B**. Com a saída do bissulfito de sódio do intermediário **B**, forma-se o intermediário imínio (**C**) que é ciclizado, formando-se o intermediário **D**. Os pesquisadores propuseram que ocorra uma decomposição térmica do bissulfito de sódio formando SO_2 e este irá oxidar o intermediário **E** para a formação do composto **1**. Os autores suspeitam que a etapa de oxidação envolva o oxigênio do ar e/ou o dióxido de enxofre (SO_2) resultante da decomposição térmica do NaHSO_3 .



Esquema 7 – Proposta de mecanismo por López e colaboradores (2009) para a reação de formação de benzimidazois sob a catálise de bissulfito de sódio (NaHSO_3).

Com o intuito de confirmar o mecanismo de reação proposto por López e colaboradores (2009), utilizou-se a técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas, com armadilha de íons e tempo de voo (LCMS-IT-TOF) para avaliar o mecanismo de reação do composto **1**. A primeira reação avaliada foi entre o benzaldeído e o bissulfito de sódio, utilizando-se água como solvente, onde observou-se a presença majoritária do íon m/z 187 no modo negativo (Figura 18, pág. 28).

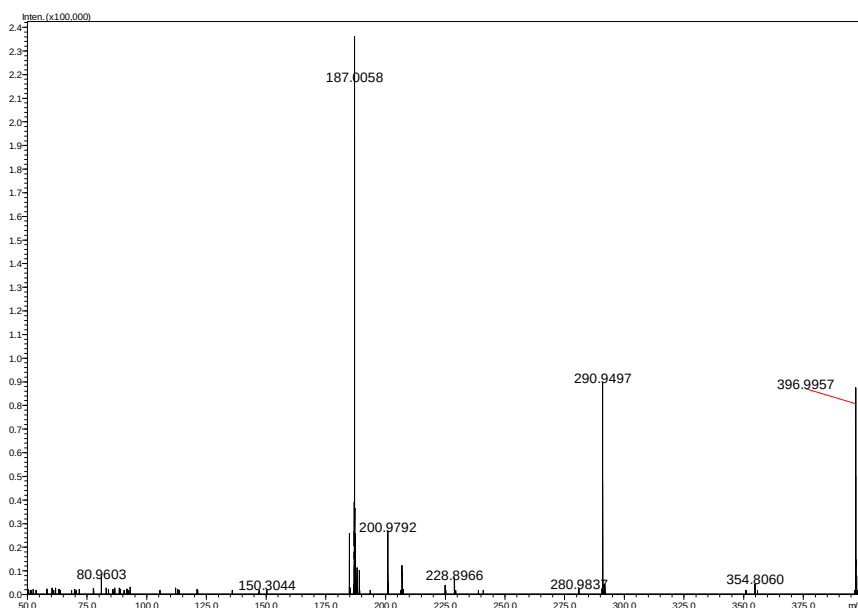


Figura 18 – Espectro de massas (-)-LCMS-IT-TOF para a reação entre benzaldeído, bissulfito de sódio e água.

O íon m/z 187 foi selecionado no espectrômetro de massas e submetido a um experimento de dissociação, utilizando argônio como o gás inerte para colisão. Este experimento, chamado MS/MS ou CID (dissociação por colisão induzida), forneceu o espectro da Figura 19, onde pôde-se observar a presença majoritária do íon m/z 81, compatível com a massa do bissulfito.

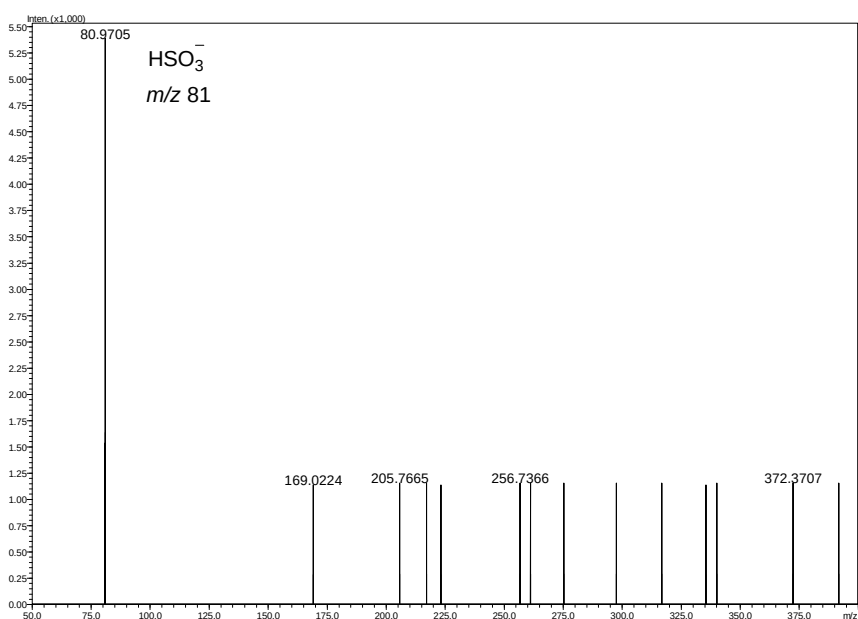
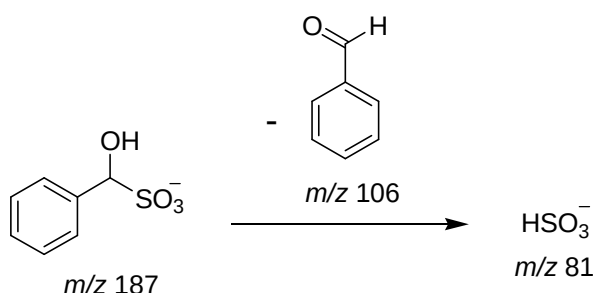


Figura 19 – Espectro MS/MS do íon m/z 187 no modo negativo.

Observando os dois espectros anteriores (Figura 18 e 19, pág. 28) propõe-se para o íon de m/z 187 ser um intermediário inicial entre o aldeído e o bissulfito (Esquema 8), por causa do padrão de fragmentação ocorrido no experimento MS/MS, formando majoritariamente o íon de m/z 81, como resultado da perda do benzaldeído, restando bissulfito.



Esquema 8 – Proposta de fragmentação do ânion m/z 187.

A segunda reação avaliada foi a reação entre benzaldeído, *o*-fenilenodiamina e bissulfito de sódio, utilizando-se acetonitrila como solvente. Após 5 min de reação observou-se um pico intenso com m/z 197, um outro pico com 40% da intensidade do primeiro e m/z 195, e um pico com m/z 109 (Figura 20).

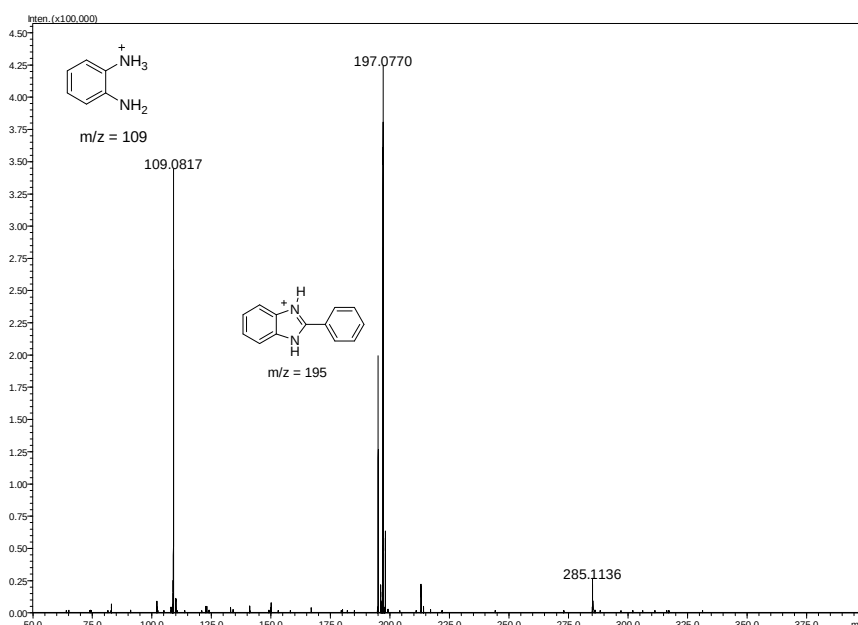


Figura 20 – Espectro de massas (+)-LCMS-IT-TOF após 5 min de reação entre benzaldeído, *o*-fenilenodiamina e bissulfito de sódio, em acetonitrila.

O pico majoritário de m/z 197 foi submetido ao experimento de MS/MS (Figura 21), verificando-se a formação de um fragmento que gerou um pico de maior intensidade com m/z 119.

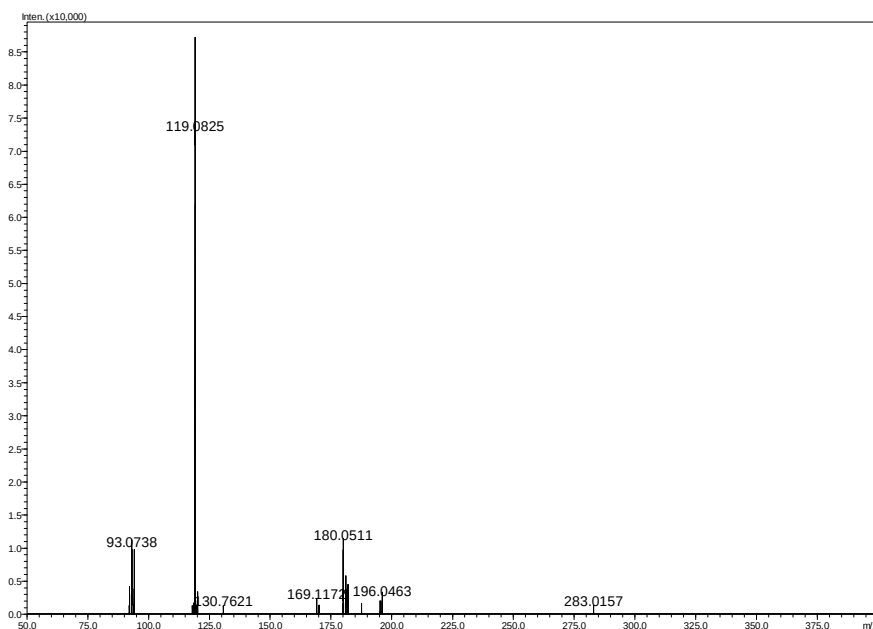
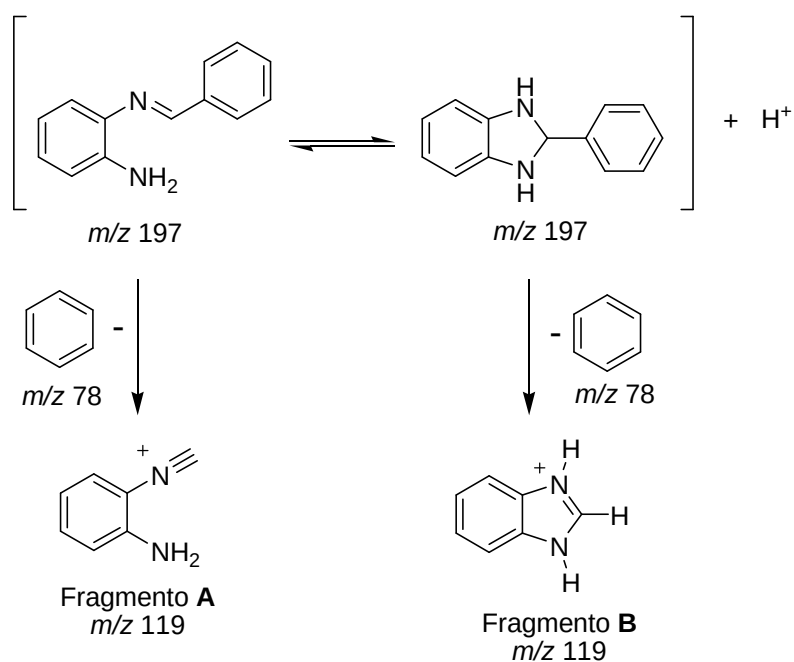


Figura 21 – Espectro MS/MS no modo positivo para o íon de m/z 197.

A proposta de fragmentação para o íon de m/z 197 apresenta um padrão que fornece a possibilidade da formação de dois isômeros que, com a perda do benzeno, forma o fragmento com m/z 119 (Esquema 9, pág. 31). O íon de m/z 197 pode ser um intermediário imínio que com a perda do benzeno fornece o fragmento **A**, ou o íon de m/z 197 pode ser um intermediário ciclizado que com a perda do benzeno fornece o fragmento **B**.



Esquema 9 – Proposta de fragmentação para íon de m/z 197.

Quando esta segunda reação ficou sob agitação por mais 10 min, observou-se a ausência do pico m/z 109 referente a *o*-fenilenodiamina (Figura 22, pág. 32), concluindo que este material de partida reagiu todo. Além disso, observou-se também que o pico de m/z 197, referente aos intermediários citados anteriormente, diminuiu a sua intensidade (Figura 22, pág. 32). Entretanto, o pico de m/z 195 do produto final que antes ocorria em menor intensidade, após 15 min de reação o pico pode ser visto como um produto majoritário. Também pode ser observado um pico de m/z 285 referente a *bis*-imina formada entre uma molécula de *o*-fenilenodiamina e duas moléculas de benzaldeído.

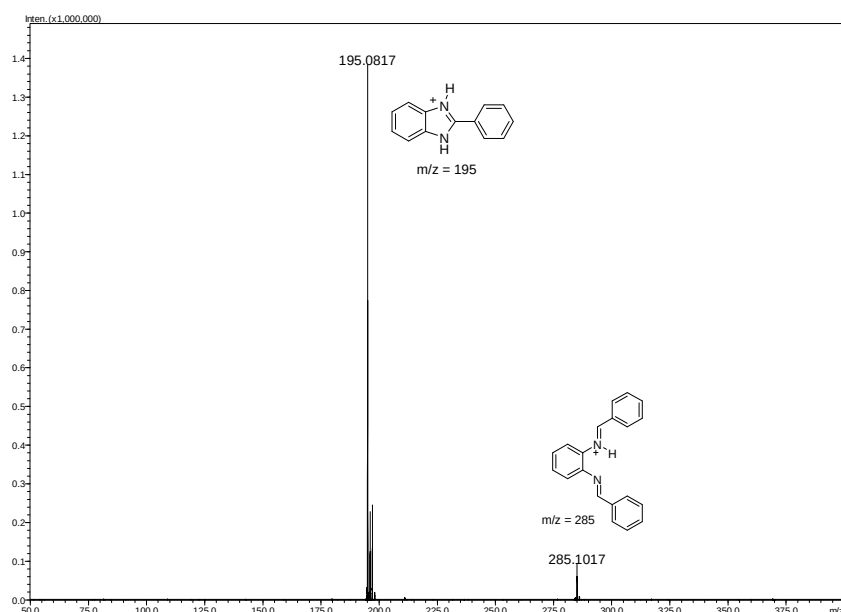


Figura 22 – Espectro de massas (+)-LCMS-IT-TOF após 15 min de reação entre benzaldeído, *o*-fenilenodiamina e bissulfito de sódio, em acetonitrila.

Uma terceira reação foi avaliada, onde foi adicionado benzaldeído, *o*-fenilenodiamina e acetonitrila, sem o bissulfito de sódio. Após 160 min de reação, observou-se que o produto majoritário eram os intermediários com m/z 197, seguido pela presença do composto **1** com m/z 195 e a *bis*-imina com m/z 285 (Figura 23, pág. 33). Observa-se que a presença do bissulfito de sódio no meio reacional é muito importante para que a reação ocorra mais rápido, pois na segunda reação que estava presente o bissulfito de sódio, com apenas 15 min o produto majoritário era o composto **1**. Nesta terceira reação em que não tem bissulfito de sódio, a reação ficou quase três horas e o produto majoritário ainda era o intermediário com m/z 197 (Figura 23, pág. 33).

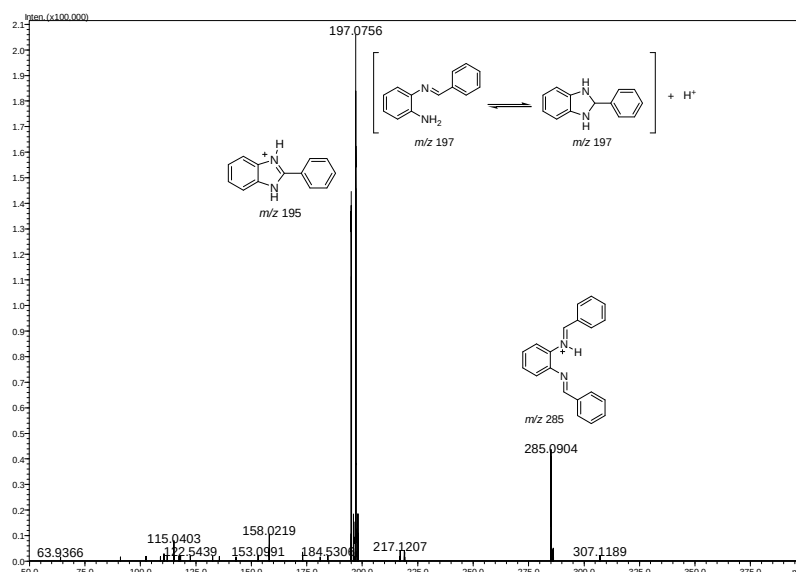
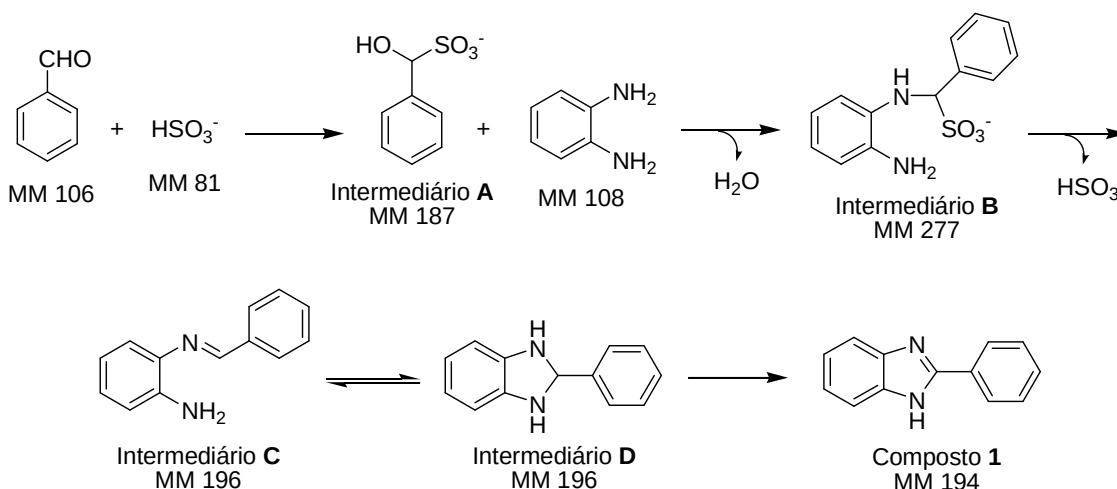


Figura 23 – Espectro de massas (+)-LCMS-IT-TOF após 160 min de reação entre benzaldeído e *o*-fenilenodiamina, em acetonitrila.

Avaliando os dados obtidos por espectrometria de massas, concluiu-se que a reação passa rapidamente pelo intermediário **A** formado entre o benzaldeído e o bissulfito (Esquema 10). Na presença da *o*-fenilenodiamina ocorre a reação com **A** formando **B**, apesar de não ter evidências experimentais da presença deste. É provável que o intermediário **B** seja formado e rapidamente perca o bissulfito para formar **C**. O intermediário **C** está em equilíbrio com **D** que é oxidado para formar o composto **1**. Não foi possível comprovar que ocorra uma decomposição térmica do bissulfito de sódio para formar SO₂ e este oxidar intermediário **D**, proposto por López e colaboradores (2009).



Esquema 10 – Proposta de mecanismo para a reação do composto **1** baseado nos resultados do experimento realizado no LCMS-IT-TOF.

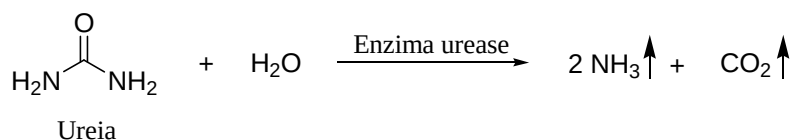
Capítulo II: Inibição da atividade ureolítica de ureases

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Uso da ureia como fertilizante nitrogenado

Os fertilizantes nitrogenados desempenham um importante papel na agricultura por proverem às plantas quantidades suficientes de nitrogênio para o crescimento e desenvolvimento (Marques *et al.*, 1998).

A ureia é um dos fertilizantes nitrogenados mais utilizados no mundo, correspondendo a 50% do total consumido na agricultura mundial (Watson, 2005) e a 60% dos fertilizantes comercializados no Brasil (Cantarella e Marcelino, 2006). Isso se deve, principalmente, ao percentual de nitrogênio por molécula de ureia (46%), à facilidade de fabricação, ao baixo custo por unidade de nitrogênio, além de uma compatibilidade com um grande número de fertilizantes e defensivos agrícolas (Cantarella e Marcelino, 2006; Yamada e Abdalla, 2007). Entretanto, a principal desvantagem do uso de ureia como fertilizante é a perda de nitrogênio por volatilização de amônia, proveniente da ação de ureases do solo (Esquema 11), enzimas produzidas por bactérias, fungos e plantas (Costa *et al.*, 2003).



Esquema 11 – Representação da reação de hidrólise enzimática da ureia.

A enzima urease é fundamental no processo de hidrólise, porque catalisa a conversão da ureia em seus produtos 10^{14} vezes mais rapidamente que a sua decomposição espontânea em meio aquoso (Barrios e Lippard, 2000). A temperatura, o teor de umidade do solo, a quantidade e a forma de aplicação da ureia no solo podem promover a hidrólise completa do fertilizante em até três dias (Costa *et al.*, 2003). No Brasil, os fatores climáticos e ambientais são caracterizados, predominantemente, por temperatura e umidade elevadas, o que favorece a hidrólise da ureia, ocasionando em até 70% de perdas de nitrogênio (Okumura *et al.*, 2012).

Para reduzir a hidrólise da ureia, várias modificações são feitas nas formulações que contêm este fertilizante, como a adição de produtos acidificantes, resinas ou

polímeros que controlam a liberação de ureia no meio e a adição de inibidores de urease (orgânicos ou inorgânicos) (Cantarella e Marcelino, 2006). Porém, esses produtos comerciais possuem elevados preços e são utilizados somente em culturas com alto valor agregado (Cantarella e Marcelino, 2006).

1.2 – A enzima urease

A urease é uma metaloenzima dependente de níquel que catalisa a hidrólise da ureia para formar amônia e gás carbônico (Follmer e Carlini, 2005), podendo ser encontrada em plantas, bactérias e fungos (Olivera-Severo *et al.*, 2006).

A urease da planta *Canavalia ensiformis*, também conhecida como feijão de porco ou “*jack bean*”, foi a primeira enzima a ser cristalizada em 1926 por James B. Sumner, proporcionando a ele o Prêmio Nobel de Química em 1946 (Balasubramanian e Ponnuraj, 2010). Cinquenta anos mais tarde, verificou-se a dependência da presença de dois íons Ni^{2+} no sítio ativo para a funcionalidade das enzimas ureases (Barrios e Lippard, 2000).

O monômero da urease de “*jack bean*” tem a forma de um T ou martelo (Figura 24), contendo quatro domínios: um $\alpha\beta$ N-terminal (1-134), um $\alpha\beta$ (135-285), um β (286-401, 702-761) e um domínio barril TIM C-terminal $(\alpha\beta)_8$ (402-701, 762-840), que contém o sítio ativo.

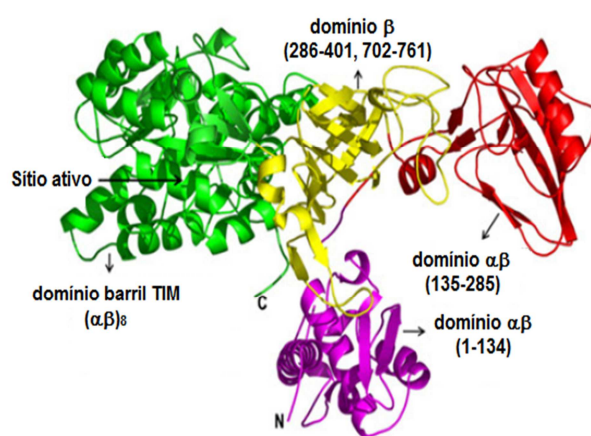


Figura 24 – Estrutura do monômero da urease da *Canavalia ensiformis* (PDB 3LA4) e seus quatro domínios: $\alpha\beta$ N-terminal (1-134) em roxo, $\alpha\beta$ (135-285) em vermelho, β (286-401, 702-761) em amarelo e barril TIM C-terminal $(\alpha\beta)_8$ (402-701, 762-840) em verde (adaptado de Balasubramanian e Ponnuraj, 2010).

Ureases de fungos e plantas são proteínas homo-hexaméricas com subunidades de 90 kDa, enquanto que as ureases bacterianas são multímeros de duas ou três subunidades complexas (Menegassi *et al.*, 2008; Balasubramanian e Ponnuraj, 2010). Apesar dessas diferenças, as enzimas ureases de plantas, de bactérias e de fungos possuem estruturas monoméricas semelhantes, inclusive o sítio ativo, como se pode observar na superposição do sítio ativo das ureases de “jack bean”, de *Helicobacter pylori*, de *Bacillus pasteurii* e de *Klebsiella aerogenes* (Figura 25) (Balasubramanian e Ponnuraj, 2010).

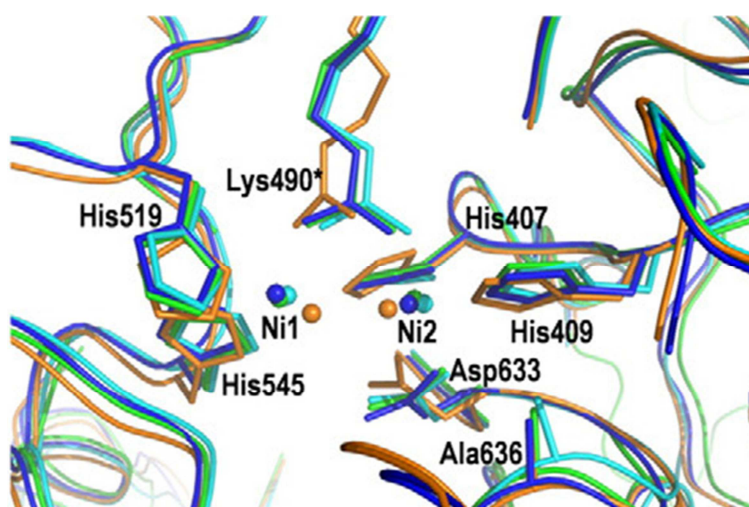


Figura 25 – Superposição do sítio ativo das ureases de “jack bean” (verde), *Helicobacter pylori* nativa (laranja), *Bacillus pasteurii* nativa (ciano) e *Klebsiella aerogenes* nativa (azul), de acordo com estudos por Balasubramanian e Ponnuraj (2010).

A reação de hidrólise promovida pela urease ocorre no sítio ativo contendo um centro binuclear de Ni ligado em ponte por um resíduo de lisina carbamilada e por um íon hidróxido (Figura 26, pág. 38). Cada íon metálico também está ligado a um resíduo de histidina e a uma molécula de água, além do Ni2 estar ligado a um resíduo de aspartato, completando suas esferas de coordenação em um arranjo de pirâmide quadrática distorcida para o Ni1, enquanto o Ni2 apresenta-se organizado como um pseudo-octaedro (Barrios e Lippard, 2000).

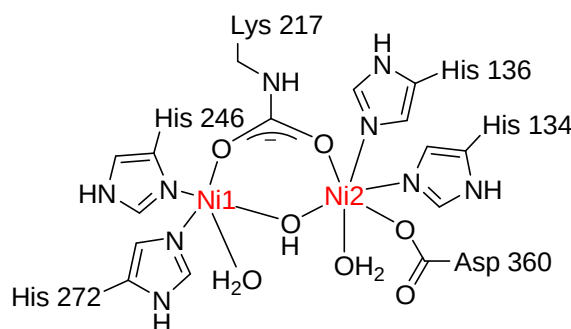
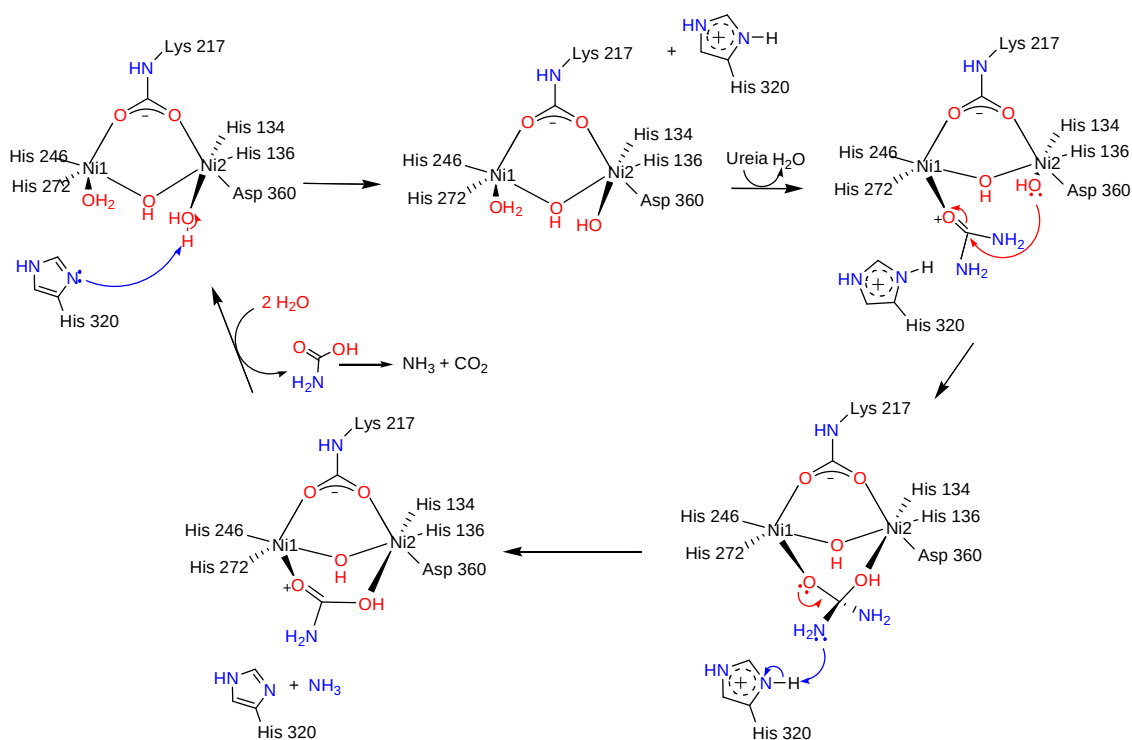


Figura 26 – Esquema do sítio ativo da urease da bactéria *Klebsiella aerogenes*.

O mecanismo de reação de hidrólise da ureia ainda está em debate. Alguns autores propõem que ocorra a abstração de um hidrogênio da molécula de água ligada ao Ni2 por um resíduo de histidina presente na enzima (Esquema 12, pág 39). Na presença do substrato, o oxigênio da ureia se liga ao Ni1, com a saída de uma molécula de água. Em seguida, ocorre o ataque do oxigênio da hidroxila ligada ao Ni2 ao carbono carbonílico da ureia. Nesta etapa, contudo, alguns autores propõem que este ataque ocorre pela hidroxila ligada em ponte e não pela hidroxila ligada ao Ni2. Independente da espécie nucleofílica, forma-se um intermediário tetraédrico, seguido pela protonação do NH_2 da ureia que, com a restauração da dupla ligação da carbonila, libera NH_3 . A entrada de duas moléculas de água presentes no meio restabelece o sítio ativo com a liberação de ácido carbâmico, que se decompõe em NH_3 e CO_2 (Estiu e Merz, 2007).



Esquema 12 – Proposta de mecanismo da hidrólise da ureia (adaptada de Estiu e Merz, 2007).

1.3 – Inibidores de urease

Inibidores de urease retardam as reações de hidrólise da ureia até que esta possa ser incorporada no solo pela água da chuva ou irrigação, conduzindo a uma menor perda de nitrogênio por volatilização de amônia e uma maior eficiência de absorção de nitrogênio pela planta e mitigação da poluição do meio ambiente (Font *et al.*, 2008; Okumura e Mariano, 2012).

Metais pesados agem como inibidores da urease, reagindo com grupos sulfidrilas presentes em resíduos de cisteína próximas do sítio ativo da enzima para a formação de sulfetos metálicos (Upadhyay, 2012). Como, por exemplo, o resíduo de cisteína 319 na urease de *Klebsiella aerogenes* e o resíduo de cisteína 592 na urease de “jack bean”, favorecem o posicionamento de outros resíduos de aminoácidos no sítio ativo de maneira a facilitar a catálise da reação. Qualquer perturbação nestes resíduos de cisteína causa a inativação da urease (Krajewska e Zaborska, 2007). Os íons metálicos Ag⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Fe²⁺ e Mn²⁺ demonstraram inibir a enzima, sendo que o Ag⁺ e o Hg²⁺ foram os mais eficientes, inativando completamente a enzima quando

usados a 10^{-6} M (Upadhyay, 2012). Porém, estes metais, além de caros, são nocivos ao meio ambiente e ao homem, sendo contra indicado seu uso na agricultura ou no tratamento de doenças associadas à urease.

Em 1943, observou-se pela primeira vez que o fluoreto inibia a enzima urease do rumem de boi (Upadhyay, 2012). Mais tarde, Todd e Hausinger (2000), após estudos, observaram que o F^- era um inibidor lento pseudo-incompetitivo da urease de *Klebsiella aerogenes*. No entanto, Krajewska e colaboradores (2001) observaram que o F^- era um inibidor lento e competitivo da urease de “*jack bean*”. Apesar destas controvérsias em relação ao tipo de inibição desencadeado por F^- , existe uma proposta em comum entre os dois grupos de pesquisa que se trata da ligação deste íon ao sítio ativo, ocorrendo pelo deslocamento do íon hidróxido ligado em ponte entre os dois níqueis (Figura 27, a e b, pág. 41) (Todd e Hausinger, 2000; Krajewska e Zaborska, 2007).

O ácido bórico, uma molécula neutra e trigonal plana, também inibe a enzima urease demonstrando ser um inibidor competitivo, substituindo as moléculas de água ligadas aos níqueis do sítio ativo (Figura 27, a e c, pág. 41) (Krajewska e Zaborska, 2007; Upadhyay, 2012).

Os derivados de ácido hidroxâmico são reconhecidos como inibidores de urease desde a década de 1960 (Amtul *et al.*, 2002). O derivado hidroxamato mais estudado é o ácido aceto-hidroxâmico, uma molécula estável, fracamente ácida, altamente solúvel em água e semelhante estruturalmente ao substrato ureia (Amtul *et al.*, 2002). Ele atua como um inibidor competitivo, deslocando todas as moléculas de água e o íon hidróxido do sítio ativo (Figura 27, a e d) (Krajewska e Zaborska, 2007).

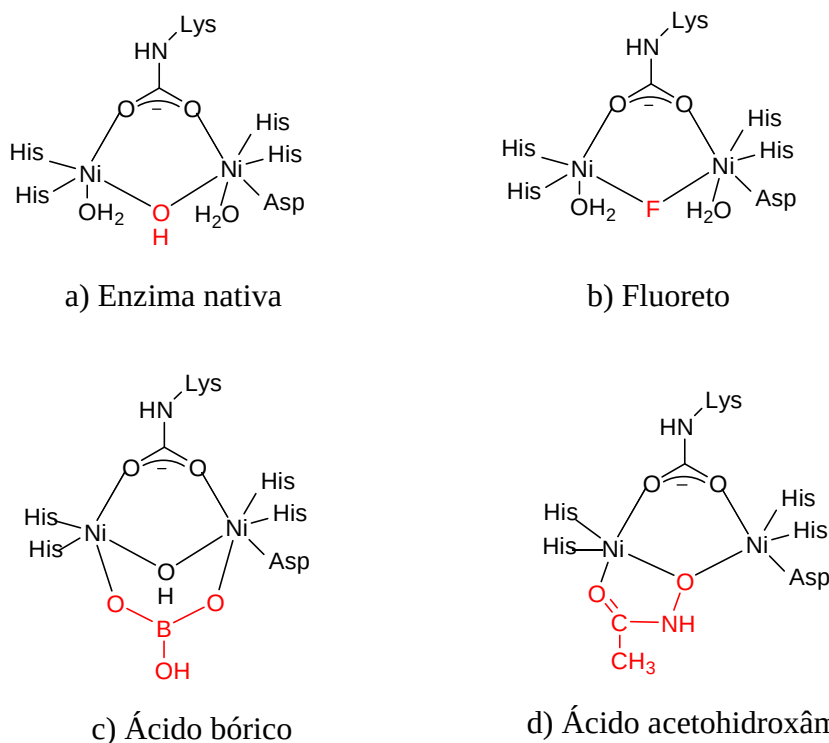
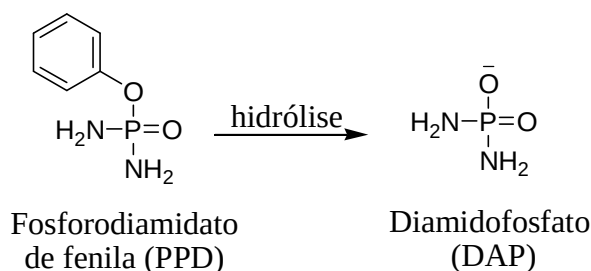


Figura 27 – Representação esquemática do sítio ativo de urease nativa (a) ou inibida por fluoreto (b), ácido bórico (c) ou ácido aceto hidroxâmico (d) (adaptado de Krajewska e Zaborska, 2007).

As fosforamidas foram demonstradas como inibidores de urease mais potentes do que os ácidos hidroxâmicos (Amtul *et al.*, 2002; Upadhyay, 2012). Uma das mais estudadas é o fosforodiamidato de fenila (PPD) (Esquema 13), um inibidor de urease de forma indireta, pois o seu produto de hidrólise, o diamidofosfato (DAP) (Esquema 13) é que inibe a urease (Krajewska e Zaborska, 2007; Font *et al.*, 2008).



Esquema 13 – Reação de hidrólise do fenilfosforodiamidato (PPD).

O DAP possui uma estrutura tetraédrica, sendo considerado um análogo do estado de transição formado durante a catálise enzimática, deslocando todas as moléculas de água e o íon hidróxido do sítio ativo (Figura 28, pág. 42) (Krajewska e Zaborska, 2007). A desvantagem do seu uso reside na facilidade de decomposição do

inibidor no estado sólido em misturas com a ureia, perdendo sua atividade inibitória rapidamente (Cantarella e Marcelino, 2006).

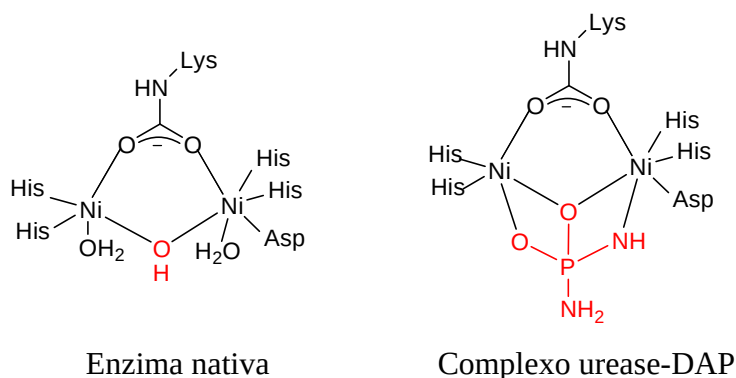
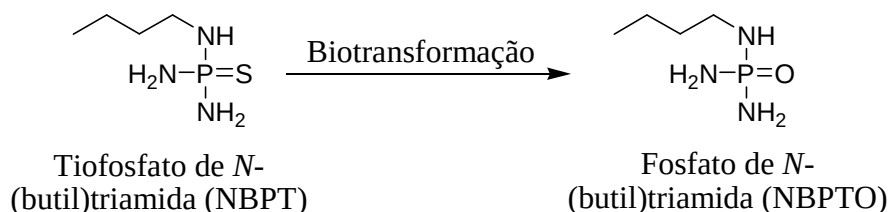


Figura 28 – Representação esquemática do sítio ativo da urease nativa de “jack bean” ou ligado ao DAP (adaptada de Krajewska e Zaborska, 2007).

A fosforamida mais utilizada atualmente na agricultura é o tiofosfato de *N*-(butil)triamida, conhecido como NBPT (Esquema 14). No entanto, o NBPT apresenta eficiência variável, pois é o seu produto de biotransformação por microrganismos do solo, o fosfato de *N*-(butil)triamida (NBPTO) (Esquema 14), o suposto inibidor de urease (McCarty *et al.*, 1989; Font *et al.*, 2008).



Esquema 14 – Reação de biotransformação do tiofosfato de *N*-(butil)triamida (NBPT) no solo (adaptado de Chien *et al.*, 2009).

O NBPT se destaca por originar um inibidor de urease que funciona a baixas concentrações, diminuindo a perda de N pela volatilização de amônia (Watson, 2005). No Brasil, a formulação contendo 20 a 25% de NBPT, é vendida com o nome comercial de Agrotain® (Yamada e Abdalla, 2007; Whitehurst e Whitehurst, 2011). A eficácia do NBPT é variável e depende das condições ambientais, das características físico-químicas do solo (Yamada e Abdalla, 2007; Chien *et al.*, 2009) e do tempo de armazenamento (Cantarella e Marcelino, 2006).

Outros derivados das fosforamidas foram sintetizados por Domínguez e colaboradores (2008) para a avaliação *in vitro* frente à urease de “jack bean”. Neste trabalho, os autores encontraram 12 compostos com valores de concentração necessária para inibir 50% da atividade da enzima (CI_{50}) menores que 1 μ M. Os compostos mais potentes foram os **29A**, **29B** e **29C** (Figura 29), com valores de CI_{50} iguais a 3,5 nM, 2,0 nM e 3,0 nM, respectivamente. O NBPT foi utilizado neste trabalho como referência e apresentou CI_{50} igual a 100 nM.

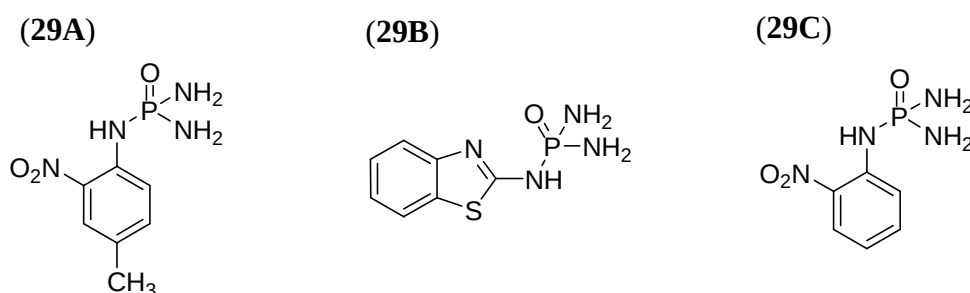


Figura 29 – Estruturas químicas de inibidores de urease derivados de fosforamidados, desenvolvidos por Domínguez e colaboradores (2008).

Compostos apresentando triazol como núcleo básico (Figura 30) também se mostraram potentes inibidores de urease (Serwar *et al.*, 2009). O triazol **30A** foi mais potente (CI_{50} = 4,3 μ M) do que a tioureia (CI_{50} = 21,0 μ M, **30B**), um reconhecido inibidor de urease (Serwar *et al.*, 2009).

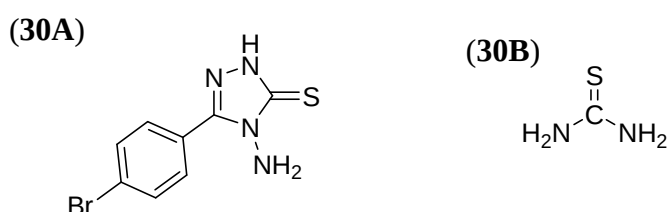


Figura 30 – Estrutura química de inibidor de urease da classe dos triazóis (**30A**), desenvolvido por Serwar e colaboradores (2009). Tioureia (**30B**) foi usada como referência de inibidor.

Derivados de benzimidazóis também são reconhecidos como potentes inibidores de urease, principalmente em ambientes biorredutores como o estômago (Amtul *et al.*, 2002). O omeprazol (Figura 31, pág. 44), fármaco pertencente à classe dos benzimidazóis, foi aprovado no tratamento de úlceras gástricas (Saunders, 2000)

oriundas da infecção por *Helicobacter pylori* (Kühler *et al.*, 1995). A *H. pylori* é uma bactéria Gram-negativa que tem sua virulência aumentada devido à atividade ureolítica da urease (Azizian *et al.*, 2011). O omeprazol, utilizado no tratamento deste tipo de infecção, é um reconhecido inibidor de urease (Jonkers *et al.*, 1996).

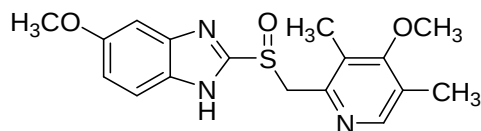


Figura 31 – Estrutura química do omeprazol.

Mais recentemente, Saify e colaboradores (2014) verificaram que derivados de 2-(2'-piridil)benzimidazóis inibem a enzima urease. O derivado **32A** (Figura 32) foi mais eficiente ($CI_{50} = 19,2 \mu M$) que a tiourea ($CI_{50} = 21,0$).

(32A)

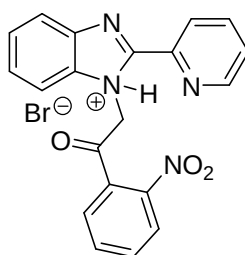


Figura 32 – Estrutura química do derivado do 2-(2'-piridil)benzimidazol (**32A**), sintetizado por Saify e colaboradores (2014).

O interesse pelo desenvolvimento de inibidores de urease é justificado pelo grande uso da ureia como fertilizante em adubação de cobertura, cujas perdas de N por volatilização de NH_3 são consideráveis, particularmente em solos tropicais (Chien *et al.*, 2009). No entanto, os inibidores disponíveis comercialmente dependem das características físico-químicas do solo e das condições ambientais específicas para sua eficácia (Chien *et al.*, 2009), além de serem importados, o que onera os preços dos fertilizantes à base de ureia, elevando o custo final para os agricultores brasileiros.

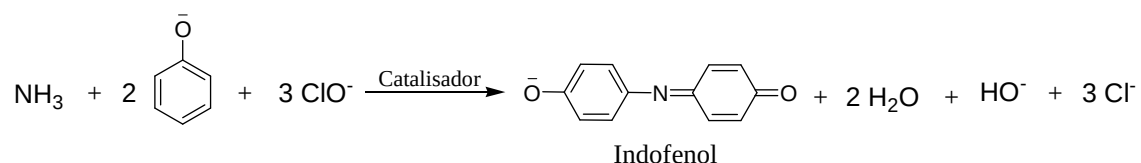
2 – OBJETIVO

- Avaliar a atividade inibitória *in vitro* dos derivados benzimidazóis e benzotiazóis frente a enzima urease purificada de *C. ensiformes*;
- Avaliar a atividade inibitória das duas classes de compostos sobre as ureases presentes no solo;
- Verificar o tipo de inibição enzimática exibido pelos derivados benzimidazóis e benzotiazóis mais promissores sobre a urease *C. ensiformes*.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 – Teste *in vitro* de inibição da enzima urease purificada da *Canavalia ensiformis*

O teste de inibição da enzima urease foi realizado pelo método do indofenol (Weatherburn, 1967), utilizando urease purificada da *Canavalia ensiformis*. Esta metodologia foi adaptada para a determinação do íon amônio (NH_4^+) em solos e água. A determinação do íon amônio (NH_4^+) é baseada na formação do indofenol, um composto de coloração azul intenso, resultante da reação do NH_3 com o fenol na presença de um agente oxidante (neste caso, o hipoclorito de sódio) e um catalisador (nitroprussiato de sódio) em meio básico (Esquema 15). A quantidade de indofenol formado é proporcional à concentração de amônio no meio e inversamente proporcional à inibição enzimática.



Esquema 15 – Esquema de reação para a formação do indofenol, de coloração azul (Pontes *et al.*, 2004).

O teste *in vitro* foi feito em microplacas de 96 poços, utilizando-se o substrato ureia na concentração final de 10 mM e os compostos teste na concentração final de 1,6 mM. Entre os 24 benzimidazois testados, 20 mostraram inibir a urease de “*jack bean*”. O composto **17** foi o mais ativo entre os testados, inibindo em 60% a enzima sendo, portanto, tão ativo quanto a hidroxiiureia, um reconhecido inibidor de urease (Figura 33, pág. 47). O benzimidazol **15** foi mais ativo que a tioureia, outro inibidor de urease conhecido, enquanto os compostos **16** e **24** foram praticamente tão ativos quanto a tioureia. Os compostos **2**, **7**, **8** e **12** foram menos eficientes que a tioureia. Os demais benzimidazois que apresentaram atividade inibitória demonstraram uma porcentagem de inibição inferior a 10%. Os compostos **4**, **9**, **19** e **21** foram inativos (Figura 33, pág. 47).

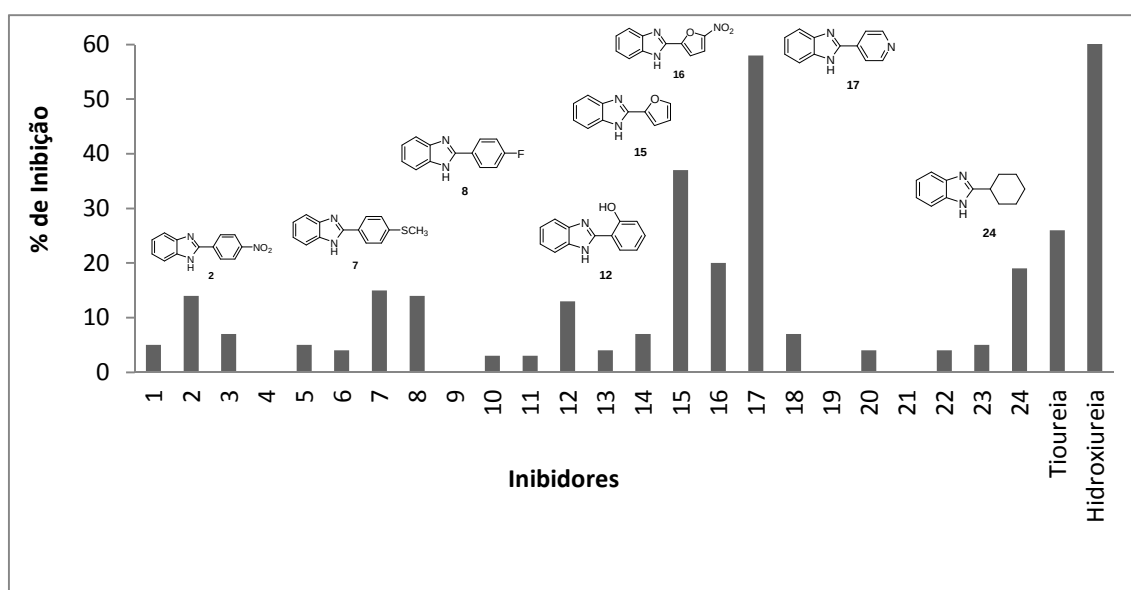


Figura 33 – Efeito dos benzimidazóis na atividade ureolítica de urease de *Canavalia ensiformis*. Os compostos-testes foram usados a 1,6 mM em reações contendo ureia 10 mM. Tiourea e hidroxiureia foram usados como inibidores-referência.

Entre os dezenove derivados benzotiazóis sintetizados, sete apresentaram atividade inibitória frente a enzima urease de “jack bean” (Figura 34, pág. 48). O composto mais ativo foi o **37** apresentando efeito comparável ao da hidroxiureia, enquanto que os compostos **38** e **41** foram tão ativos quanto a tiourea. Os benzotiazóis **25**, **26**, **31** e **42** apresentaram atividade inibitória inferior a 10% e os compostos **27**, **29**, **30**, **32** a **36**, **39**, **40** e **43** foram inativos (Figura 34, pág. 48).

Observou-se que os derivados benzimidazóis apresentaram um número maior de compostos que inibiram a enzima urease *Canavalia ensiformes* em relação aos benzotiazóis. Interessantemente, os derivados mais eficientes pertencentes às duas classes de compostos possuem um grupo piridinil na posição *para* (**17**, da classe dos benzimidazóis e **37**, da classe dos benzotiazóis). Procedeu-se, então, com a avaliação do mecanismo de ação para os compostos **17** e **37**, discutidos na seção 3.3 (pág. 50).

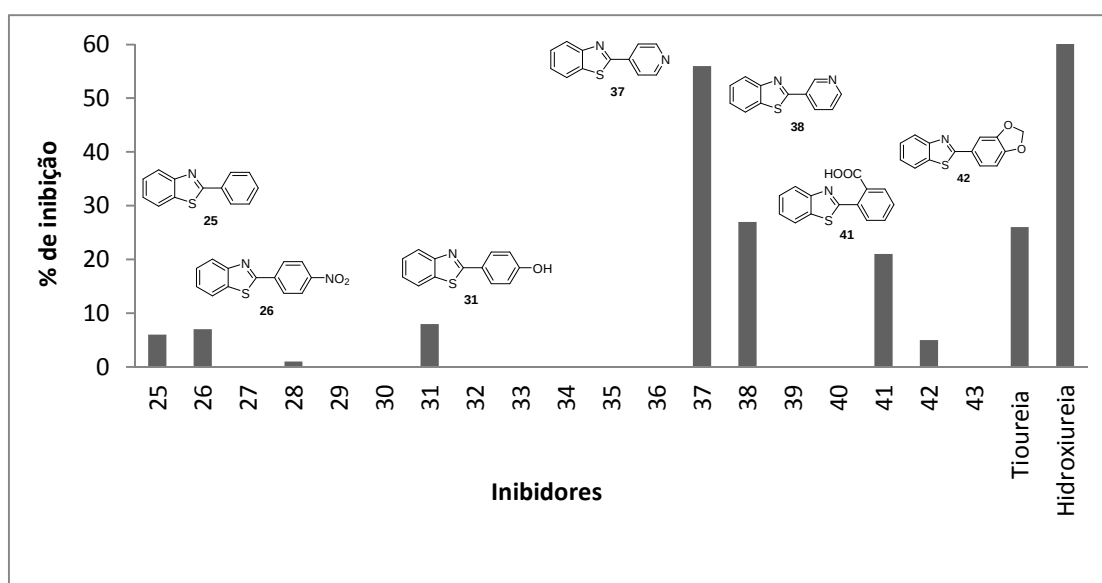


Figura 34 – Efeito dos benzotiazóis na atividade ureolítica de urease de *Canavalia ensiformis*. Os compostos-testes foram usados a 1,6 mM em reações contendo ureia 10 mM. Tiourea e hidroxiureia foram usados como inibidores-referência.

3.2 – Teste de inibição das ureases presentes no solo

Quinze derivados benzimidazóis foram ativos no solo, sendo o composto **24** mais potente do que o NBPT, um reconhecido inibidor de urease utilizado na agricultura. Notavelmente, os compostos **19** e **21**, inefetivos no teste *in vitro*, foram tão ativos quanto o NBPT, no solo (Figura 35, pág. 49). Os compostos **19** e **21** e os benzimidazóis **3**, **7** e **16** também foram tão ativos quanto o NBPT. Os benzimidazóis **1**, **4**, **5**, **11** e **18** apresentaram atividade semelhante à da tiourea (Figura 35, pág. 49). O composto **17** foi duas vezes menos potente que o NBPT e os benzimidazóis **9** e **23** inibiram as ureases do solo em torno de 10% (Figura 35, pág. 49).

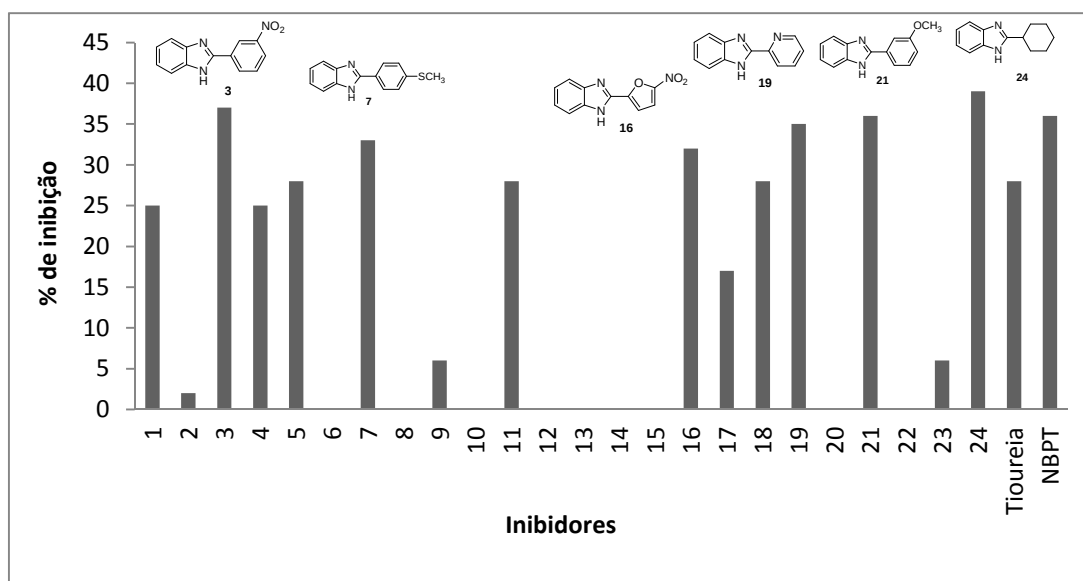


Figura 35 – Efeito dos derivados benzimidazois sobre as ureases do solo. O solo (0,5 g) foi incubado com ureia (72 mM) na presença dos inibidores (1,6 mM). Tiourea e NBPT foram usados como inibidores-referência.

Quatorze dos 19 benzotiazóis sintetizados inibiram as ureases presentes no solo (Figura 36, pág. 50). O composto **32**, não ativo em testes *in vitro*, foi o mais efetivo inibidor de urease dentre os benzotiazóis testados, sendo mais potente que o NBPT. Os benzotiazóis **26**, **30**, **31**, **37** e **38** foram tão ativos quanto o NBPT e os compostos **27**, **28** e **36** tão efetivos quanto à tiourea (Figura 36, pág. 50). Os benzotiazóis **25**, **29** e **40** inibiram as ureases do solo em torno de 10%, e os compostos **34** e **42** foram muito pouco ativos (Figura 36, pág. 50). Os compostos **33**, **35**, **39**, **41** e **43** foram inativos (Figura 36, pág. 50).

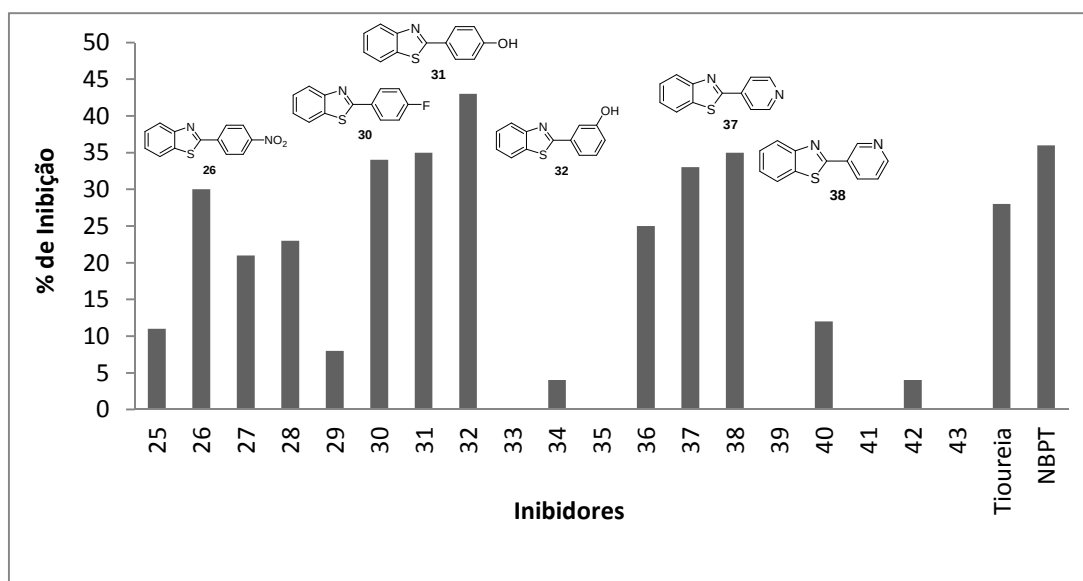
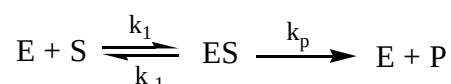


Figura 36 – Efeito dos derivados benzotiazóis sobre as ureases do solo. O solo (0,5 g) foi incubado com ureia (72 mM) na presença dos inibidores (1,6 mM). Tiourea e NBPT foram usados como inibidores-referência.

3.3 – Avaliação do efeito do benzimidazol 17 e do benzotiazol 37 nos parâmetros cinéticos da urease de *Canavalia ensiformis*

As enzimas catalisam reações que tendem a ser muito lentas, desfavoráveis ou improváveis de ocorrerem, fornecendo um ambiente específico que torna a reação energeticamente favorável. A cavidade na enzima que fornece este ambiente específico é denominada sítio ativo, e a molécula que se liga ao sítio ativo para a ação enzimática é o substrato (Lehninger *et al.*, 1995).

Em 1913, Leonor Michaelis e Maud Menten postularam que inicialmente a enzima (*E*) se liga reversivelmente ao substrato (*S*) para formar o complexo enzima-substrato (*ES*). Numa segunda etapa lenta, o complexo *ES* se quebra e libera o produto (*P*) (Esquema 16) (Lehninger *et al.*, 1995).



Esquema 16 – Representação esquemática de reação catalisada por uma enzima (adaptada de Lehninger *et al.*, 1995).

A equação de determinação da velocidade enzimática pode ser descrita assumindo que E e S formarão rapidamente o complexo ES . Portanto, somente a concentração de ES será relevante na equação (Segel, 1976):

$$v = k_p [ES]$$

Sabendo que o total de enzima dessa reação está distribuído entre E e ES (Esquema 16, pág. 50), tem-se $[E]_t = [E] + [ES]$, onde $[E]_t$ é a concentração total de enzima. Dividindo a equação de velocidade por $[E]_t$, tem-se (Segel, 1976):

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p [ES]}{[E] + [ES]}$$

A $[ES]$ não pode ser facilmente medida, então, para poder expressar a equação da velocidade em termos de $[S]$ e $[E]$ pode-se utilizar a constante de dissociação K_s do complexo ES (Segel, 1976):

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

Substituindo $[ES]$ na equação de velocidade:

$$\frac{v}{[E]_t} = \frac{k_p \frac{[S]}{K_s} [E]}{[E] + \frac{[S]}{K_s} [E]} \quad \frac{v}{k_p [E]_t} = \frac{\frac{[S]}{K_s}}{1 + \frac{[S]}{K_s}}$$

A velocidade máxima (V_{max}) de reação catalisada pela enzima, ou seja, a velocidade em que a enzima atinge quando existe uma concentração infinita de substrato. Então, se $v = k_p [ES]$, $V_{max} = k_p [E]_t$. Substituindo na equação de velocidade, tem-se (Segel, 1976):

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{\frac{[S]}{K_s}}{1 + \frac{[S]}{K_s}} \quad \text{ou} \quad \frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

Esta equação descreve o comportamento cinético da maioria das enzimas com apenas um substrato (Lehninger *et al.*, 1995).

O termo $k_p + k_{-1}/k_1$ pode ser definido como a constante de Michaelis-Menten, K_m (Lehninger *et al.*, 1995):

$$K_m = \frac{k_p + k_{-1}}{k_1}$$

Porém, k_p é o limitante da velocidade, pois $k_p \ll k_{-1}$. Então, K_m se reduz à k_{-1}/k_1 , que define a constante de dissociação K_s para o complexo ES . Então, se $K_m = K_s$ (Segel, 1976):

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{\frac{[S]}{K_m}}{1 + \frac{[S]}{K_m}} \quad \text{ou} \quad \frac{v}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \text{ou} \quad v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Esta equação relaciona a velocidade inicial (v) com a velocidade máxima da enzima ($V_{\max}$) e a concentração inicial de substrato $[S]$. Sendo, num dado momento, a velocidade inicial exatamente igual a metade da $V_{\max}$, então (Lehninger *et al.*, 1995):

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}, \text{ cancelando } V_{\max}: \frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m + [S] = 2 [S], \text{ então: } K_m = [S] \text{ quando } v = \frac{1}{2} V_{\max}$$

Graficamente, a relação entre v e $[S]$ exibe um comportamento hiperbólico para a maioria das enzimas (Figura 37), fornecendo os valores de K_m e $V_{\max}$.

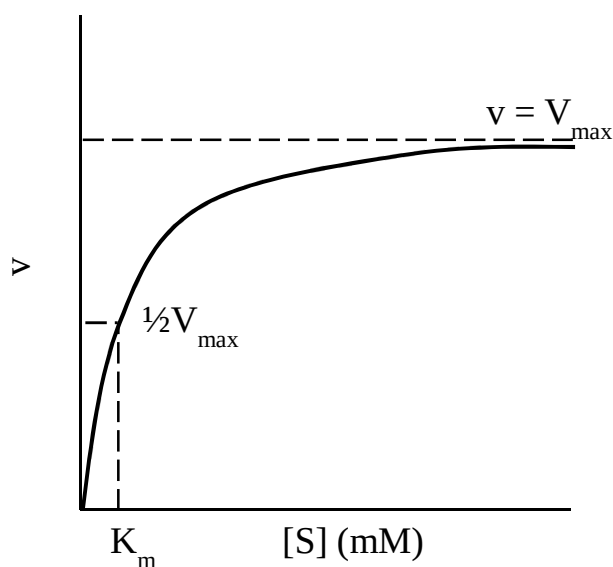


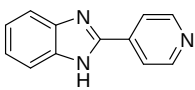
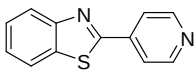
Figura 37 – Dependência da velocidade inicial v e da concentração de substrato $[S]$, demonstrando os parâmetros cinéticos K_m e $V_{\max}$ (adaptado de Lehninger *et al.*, 1995).

Baseando-se nestas informações, realizou-se o estudo cinético com diferentes concentrações dos inibidores benzimidazol **17** e benzotiazol **37**. Para o benzimidazol **17**

utilizaram-se as concentrações de 1,0 mM e 2,0 mM (Tabela 5). Para o benzotiazol **37** utilizaram-se as concentrações de 0,5 mM e 0,7 mM (Tabela 5).

O benzimidazol **17**, na concentração de 1,0 mM, causou um aumento no K_m da ureia em 43% e na concentração de 2,0 mM, um aumento de 77% (Tabela 5). Já o benzotiazol **37**, na concentração de 0,5 mM, causou um aumento de 30% no K_m da ureia e na concentração de 0,7 mM, causou um aumento de 47%. A V_{max} da urease diminuiu 45% na presença de **17** a 1,0 mM e 60 % na presença de **17** a 2,0 mM. Na presença do benzotiazol **37**, a 0,5 e 0,7 mM, a V_{max} da urease diminuiu em 14% e 26 %, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5 – Efeito dos compostos **17** e **37** nos parâmetros cinéticos da urease de “jack bean” tipo III

Compostos	Concentração (mM)	K_m ou K_m (app) (mM)	V_{max} ou V_{max} (app) ($\mu\text{mol NH}_4^+ \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot}$)
 17	0,0	5,3	6,9
	1,0	7,6	3,8
	2,0	9,4	2,8
 37	0,0	3,0	8,8
	0,5	3,9	7,6
	0,7	4,4	6,5

A relação hiperbólica para os dados obtidos de $v \times [\text{ureia}]$ para os compostos **17** e **37** podem ser observadas na Figura 38, nas quais verificam-se que os mesmos inibem a enzima urease de “jack bean” de acordo com a equação de Michaelis-Menten.

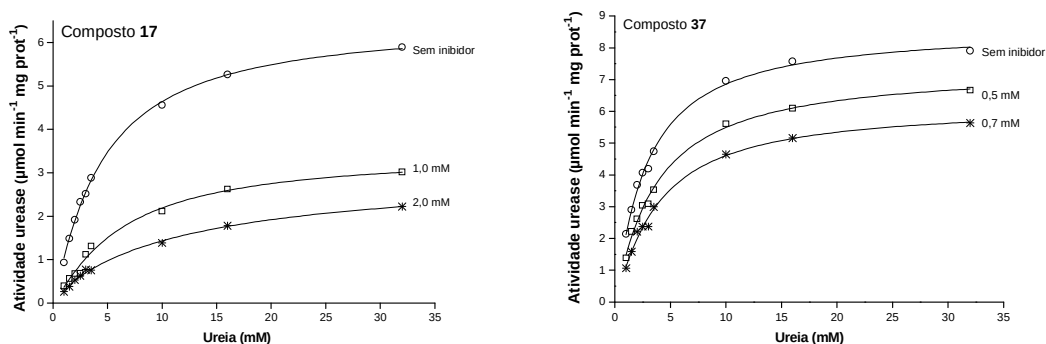


Figura 38 – Hipérboles de Michaelis-Menten para reações catalisadas por urease de *C. ensiformes* na presença ou não de **17** e **37**. Reações contendo ureia (1 a 32 mM) foram

realizadas na ausência (sem inibidor) ou presença dos inibidores nas concentrações indicadas.

A natureza não linear da equação de Michaelis-Menten causa certa dificuldade para a determinação dos parâmetros cinéticos. Outra forma gráfica de se obterem mais informações sobre a cinética enzimática é plotando o gráfico duplo-recíproco ou plotagem de Lineweaver-Burk (Figura 39), utilizando a equação de Michaelis-Menten rearranjada para uma forma linear ($y = ax + b$):

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]} \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]} \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

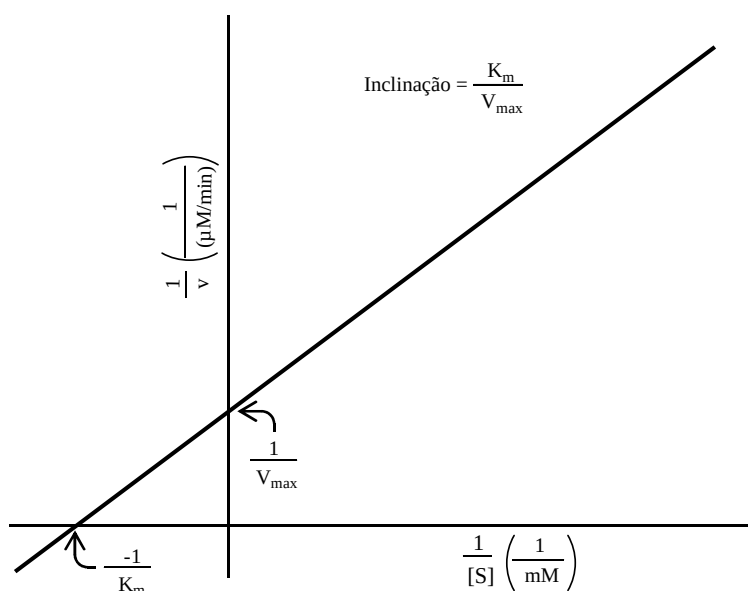


Figura 39 – Plotagem de Lineweaver-Burk para uma enzima (adaptado de Lehninger *et al.*, 1995).

Baseando-se nas equações anteriores, plotou-se o gráfico do duplo-recíproco para os derivados benzimidazol **17** e benzotiazol **37** (Figura 40, pág. 55). Observando-se o efeito dependente da concentração dos inibidores sobre os parâmetros cinéticos da urease (Tabela 5, pág. 53), juntamente com o perfil do gráfico de Lineweaver-Burk (Figura 40, pág. 55), verificou-se que estes compostos são inibidores mistos típicos (Segel, 1975).

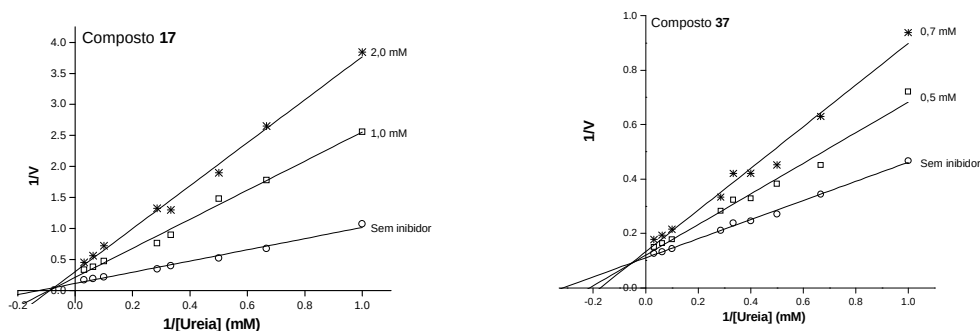


Figura 40 – Plotagem de Lineweaver-Burk para a urease de “*jack bean*”. Reações contendo ureia (1 a 32 mM) foram realizadas na ausência ou presença dos inibidores nas concentrações indicadas.

O inibidor misto é conhecido por ser capaz de se ligar tanto à enzima livre quanto ao complexo enzima-substrato, estando relacionado a duas constantes de dissociação, K_i e K_i' , que podem ser calculadas de acordo com as equações (Segel, 1975):

$$K_{m(app)} = K_m \cdot \frac{1 + [I]/K_i}{1 + [I]/K_i'} \quad V_{max(app)} = \frac{V_{max}}{1 + [I]/K_i'}, \text{ onde:}$$

K_m e V_{max} são os valores obtidos na ausência do inibidor;

$K_{m(app)}$ e $V_{max(app)}$ são os valores obtidos na presença do inibidor;

K_i é a constante de dissociação para o complexo urease-inibidor;

K_i' é a constante de dissociação para o complexo ureia-urease-inibidor.

Os valores de K_i e K_i' foram, então, calculados para os compostos **17** e **37**. O composto **17** apresentou uma constante de dissociação para o complexo urease-inibidor (K_i) de 0,64 mM e uma constante de dissociação para o complexo ureia-urease-inibidor (K_i') de 1,37 mM, mostrando uma afinidade do inibidor **17** pelo complexo urease-ureia duas vezes maior do que pelo sítio ativo da enzima. O composto **37** apresentou um K_i de 1,02 mM e um K_i' de 3,17 mM, demonstrando, como o inibidor **17**, uma maior afinidade pelo complexo urease-ureia do que pelo sítio ativo da enzima, apresentando uma afinidade três vezes maior pelo complexo urease-ureia, quando comparado à afinidade pelo sítio ativo da enzima.

Capítulo III: Atividade antiproliferativa contra células de tumores humanos

1 – INTRODUÇÃO

As células cancerígenas são produtos de uma série complexa de transformações celulares iniciando-se, frequentemente, por mutações ou por rearranjos do DNA que desestabilizam o fenótipo celular anterior (Csermely *et al.*, 2015). Esta transformação celular e multiplicação desordenada possibilitam o crescimento do tumor e a metástase na sua forma maligna (Wang *et al.*, 2015).

Embora a biologia do câncer seja extremamente complexa, Hanahan e Weinberg (2000) sugeriram seis alterações essenciais na fisiologia celular que coletivamente prescrevem o crescimento maligno: autossuficiência para o crescimento celular; insensibilidade aos inibidores de crescimento; evasão da morte celular programada (apoptose); potencial replicativo ilimitado; estímulo do crescimento de vasos sanguíneos para o fornecimento de nutrientes e invasão de tecidos e órgãos (Hanahan e Weinberg, 2000).

O câncer é uma doença não transmissível que causa a morte prematura em mais de 8 milhões de pessoas por ano (WHO, 2014), além de ser a segunda doença que mais mata no mundo, perdendo somente para doenças cardiovasculares (WHO, 2007). No Brasil, atualmente 1.318.000 pessoas são acometidas por esta doença, sendo a incidência maior em homens do que em mulheres (WHO – Cancer Country Profiles, 2014). Nos homens a maior incidência é de câncer de próstata e nas mulheres é de câncer de mama (Figura 41) (WHO – Cancer Country Profiles, 2014).

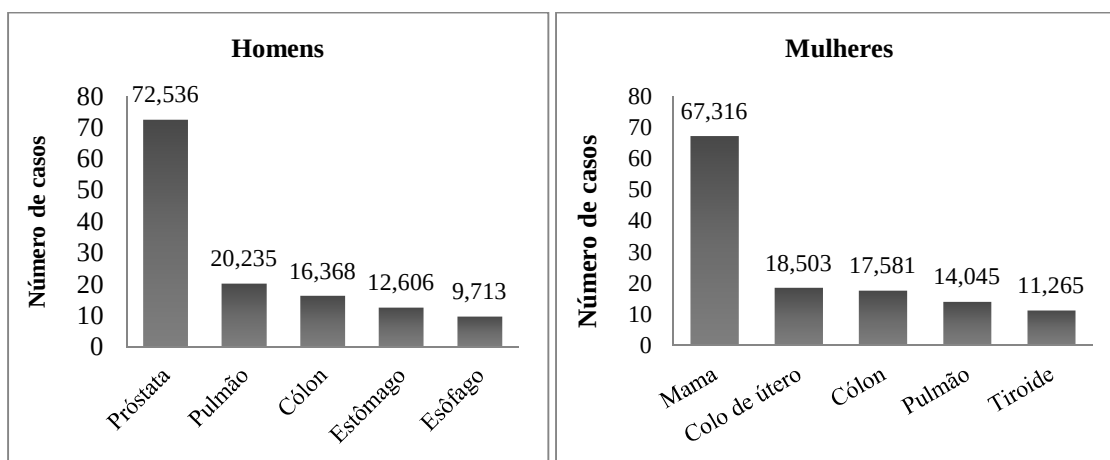


Figura 41 – Incidência de casos de câncer no Brasil divididos entre homens e mulheres (adaptado de WHO – Cancer Country Profiles, 2014).

Nas últimas décadas, pesquisadores vem desenvolvendo muitas drogas anticâncer devido ao aumento dos casos desta doença tão devastadora. Em 1960, observou-se a atividade antitumoral de complexos com metais de transição, como a *cis*-diamina-dicloroplatina (II) (cisplatina, Figura 42), que é utilizada, desde então, no tratamento de carcinomas sólidos (Zhu e Zhou, 2015; Cesme *et al.*, 2015). Apesar da eficiência dos complexos de platina frente às células tumorais, estes compostos têm apresentado efeitos colaterais graves como toxicidade renal e neurológica, além destes compostos não poderem ser ministrados concomitantemente com outros antitumorais (Zhu e Zhou, 2015; Zhang *et al.*, 2014).

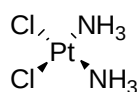


Figura 42 – Estrutura química da cisplatina.

Complexos com metais diferentes da platina também foram sintetizados na tentativa de se obterem compostos com atividade anticâncer e com menor toxicidade. Nas últimas três décadas, complexos de rutênio foram sintetizados e testados como antitumorais como, por exemplo, o complexo de rutênio (III) NAMI-A (Figura 43). NAMI-A está em fase de estudos pré-clínicos, apresentando atividade antitumoral para o tratamento de câncer de pulmão (Rademaker-Lakhai *et al.*, 2004).

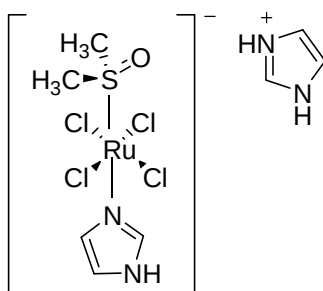


Figura 43 – Complexo de rutênio (III), NAMI-A.

Pesquisadores também verificaram que fármacos utilizados para outros tipos de tratamento poderiam apresentar atividade anticâncer, como o piroxicam (Figura 44, pág. 59) (Cesme *et al.*, 2015). O piroxicam, uma droga anti-inflamatória não-esteroidal, apresentou atividade antiproliferativa para diferentes tipos de linhagens celulares de cânceres humanos (Cesme *et al.*, 2015). No estudo desenvolvido por Ding e

colaboradores (2003), o piroxicam inibiu 50% do crescimento celular (GI_{50}) da linhagem epitelial oral humana na concentração de 211,0 μM (Ding *et al.*, 2003).

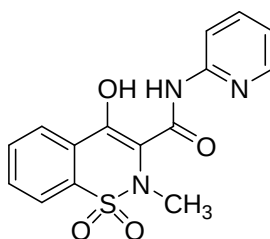


Figura 44 – Estrutura química do anti-inflamatório piroxicam.

O elesclomol (Figura 45) é uma droga que está na fase 3 dos estudos pré-clínicos, sendo eficaz para o tratamento de pacientes com melanoma avançado (Hasinoff *et al.*, 2014). Propõe-se que a citotoxicidade apresentada pelo elesclomol provém do estresse oxidativo e apoptose induzida por esta substância (O'Day *et al.*, 2013).

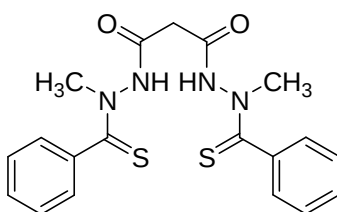


Figura 45 – Estrutura química do elesclomol.

Os heterociclos benzimidazólicos e benzotiazólicos são importantes compostos bioativos de origem natural ou sintética (Coban *et al.*, 2009; Santosh *et al.*, 2011; Sung *et al.*, 2013). Já se conhece que os benzimidazóis são inibidores da cinesina mitótica (KSP), do fator induzido por hipóxia-1 (HIF-1), da enzima 17 α -hidroxilase/17,20 liase e da DNA topoisomerase I, os quais são importantes alvos para o desenvolvimento de drogas anticâncer (Karpinska *et al.*, 2011). Os benzotiazóis são inibidores da enzima tirosina quinase (Hutchinson *et al.*, 2002), um receptor de superfície celular com alta afinidade por polipeptídios relacionados aos fatores de crescimento, como citocinas e hormônios, demonstrando um importante papel no desenvolvimento de muitos tipos de câncer (Bhuva e Kini, 2010).

Coban e colaboradores (2009) sintetizaram benzimidazóis e avaliaram suas atividades antiproliferativas frente a três linhagens de células de câncer. O composto

mais ativo foi o **A** (Figura 46), apresentando valores de GI_{50} de 6,04 μM para adenocarcinoma de colo de útero (HeLa), de 6,16 μM para carcinoma de pele (A431) e de 6,94 μM para adenocarcinoma de mama (MCF7). A doxorubicina (Figura 46) foi utilizada como controle positivo, apresentando valores de GI_{50} de 0,16 μM para as células HeLa, de 0,19 μM para as células A431 e de 0,31 μM para as células MCF7.

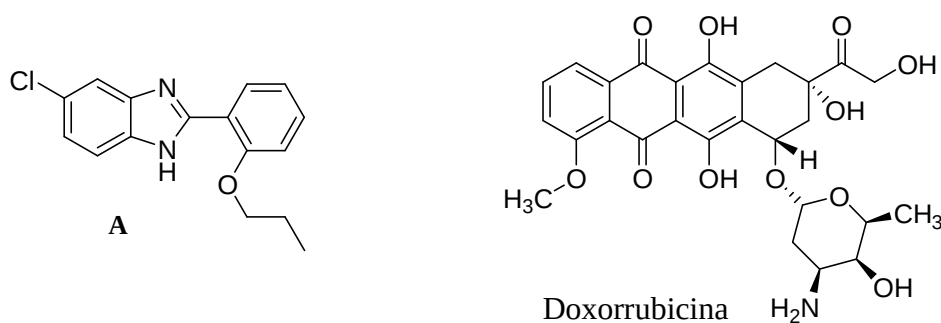


Figura 46 – Estrutura química do benzimidazol **A** (Coban *et al.*, 2009) e da doxorubicina.

Compostos derivados do 2-(2,4-di-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol sintetizados por Karpinska e colaboradores (2011) foram avaliados frente a quatro linhagens de células de câncer. O composto **B** (Figura 47) foi o que se apresentou mais ativo frente às linhagens de células testadas, apresentando GI_{50} de 0,53 μM para câncer de bexiga (HCV29T), de 3,51 μM para carcinoma de células não pequenas de pulmão (A549), de 0,65 μM para câncer de mama (T47D) e de 1,72 μM para adenocarcinoma retal (SW707). Enquanto a cisplatina apresentou GI_{50} de 2,66 μM para as células HCV29T, de 5,29 μM para as células A549, de 2,03 μM para as células T47D e de 3,13 μM para as células SW707.

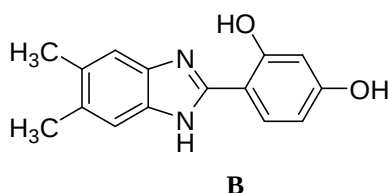
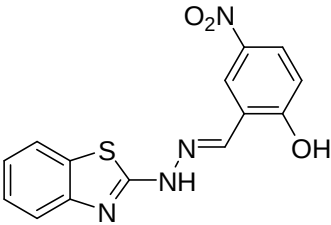
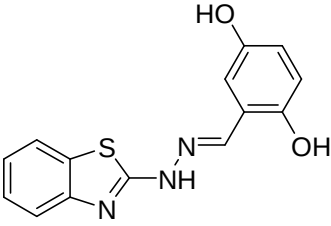
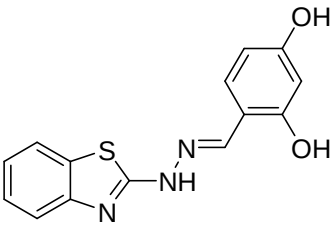


Figura 47 – Estrutura química do benzimidazol **B** sintetizado por Karpinska e colaboradores (2011).

Lindgren e colaboradores (2014) realizaram estudos de modelagem molecular de dezessete derivados do (*E*)-2-benzotiazóis-hidrazonas. Os compostos que se

apresentaram mais promissores como anticâncer pela modelagem molecular foram os **C**, **D** e **E** (Tabela 6). Então, estes compostos foram sintetizados e avaliados *in vitro* frente a três linhagens de células de câncer: HL-60 (leucemia), MDAMB-435 (câncer de mama) e HCT-8 (câncer de cólon), tendo-se então confirmadas as atividades antiproliferativas frente às linhagens testadas.

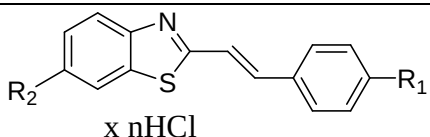
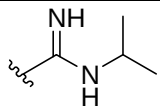
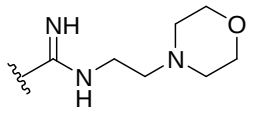
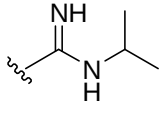
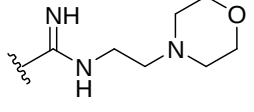
Tabela 6 – Estrutura química dos compostos **C**, **D** e **E** sintetizados por Lindgren e colaboradores (2014) e suas respectivas concentrações necessárias para inibir 50% o crescimento celular (GI_{50})

Compostos	HL-60*	MDAMB-435*	HCT-8*
	GI_{50} (μ M)		
 C	1,65	14,00	13,52
 D	0,59	6,27	11,18
 E	1,89	14,44	3,43
Doxorrubicina	0,04	0,88	0,02

*Linhagens de células de câncer: HL-60 (leucemia), MDAMB-435 (câncer de mama) e HCT-8 (câncer de cólon)

Dezessete derivados benzotiazóis foram sintetizados por Caleta e colaboradores (2004) e testados *in vitro* frente a quatro linhagens de células tumorais malignas: carcinoma de cólon (SW620), carcinoma de laringe (Hep2), melanoma (HBL) e carcinoma de colo de útero (HeLa). Os compostos que apresentaram melhor atividade antiproliferativa foram os cloridratos de **F** a **I** (Tabela 7, pág. 62).

Tabela 7 – Estrutura química dos compostos **F** a **I** sintetizados por Caleta e colaboradores (2004) e suas respectivas concentrações necessárias para inibir 50% o crescimento celular (GI_{50})

		GI_{50} (μM)				
Compostos		SW620	Hep2	HBL	HeLa	
F: $R_1 = H$, $R_2 =$		, n = 1	4,47	11,20	16,60	10,20
G: $R_1 = H$, $R_2 =$		, n = 2	7,76	7,40	15,10	10,00
H: $R_2 = H$, $R_1 =$		, n = 1	5.37	10,00	12,60	7,24
I: $R_2 = H$, $R_1 =$		, n = 2	6,46	12,60	15,80	4,47

Como pode ser observado nos exemplos citados anteriormente, vários estudos têm demonstrado a atividade antiproliferativa de benzimidazóis e benzotiazóis. Além desses derivados em estudo, já existem alguns benzimidazóis utilizados como quimioterápicos clínicos como, por exemplo, o nocodazol e a bendamustina (Figura 48), ambos utilizados no tratamento de leucemia linfocítica crônica (Park *et al.*, 2012a; Hallek *et al.*, 2015), que é a forma mais recorrente de leucemia nos países ocidentais (Baumann *et al.*, 2014).

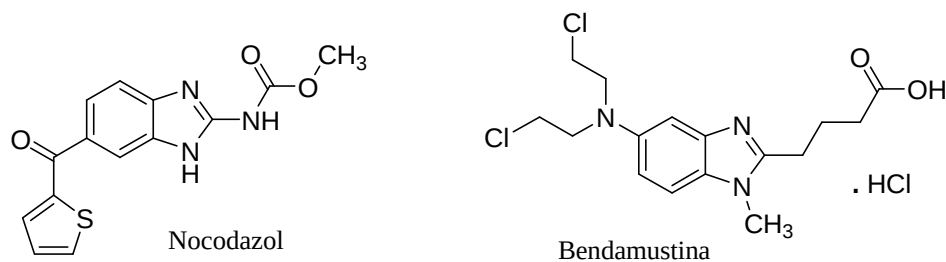


Figura 48 – Estrutura química dos quimioterápicos nocodazole e bendamustina.

Além destes benzimidazóis que são empregados como quimioterápicos, também já está em estudo clínico o derivado benzotiazol *phortress* (Figura 49) para o tratamento de câncer de mama, ovário e rim (Fichtner *et al.*, 2004).

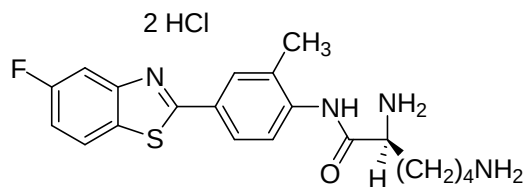


Figura 49 – Estrutura química do derivado benzimidazol *phortress*.

O desenvolvimento de novos agentes antitumorais se faz necessário para conseguir compostos que minimizem ou solucionem os efeitos colaterais das drogas utilizadas atualmente, além de vencer a frequente resistência das células cancerígenas frente aos quimioterápicos (Foo e Michor, 2014). Desta forma, benzimidazóis e benzotiazóis constituem uma promissora classe de substâncias para a descoberta de novos antitumorais.

2 – OBJETIVO

Avaliar a atividade antiproliferativa *in vitro* dos benzimidazóis frente às células tumorais:

- U251 (glioblastoma);
- UACC-62 (melanoma);
- MCF7 (câncer de mama);
- NCI-ADR/RES (câncer de ovário, com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos);
- 786-0 (câncer de rim);
- NCI-H460 (câncer de pulmão, células não pequenas);
- OVCAR-3 (câncer de ovário);
- HT29 (câncer de cólon retal);
- K-562 (leucemia).

Os benzotiazóis foram avaliados frente às células tumorais citadas, exceto às células UACC-62 e OVCAR-3. Além das células citadas, os benzotiazóis foram avaliados frente às células tumorais PC-3 (câncer de próstata).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 – Atividade antiproliferativa dos benzimidazóis

A atividade antiproliferativa dos derivados benzimidazólicos **1-24** foi avaliada frente a nove linhagens de células tumorais: U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário, com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão, células não pequenas), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal) e K-562 (leucemia). Além destas, a linhagem de célula não-tumorigênica HaCat (queratinócitos humanos) foi utilizada nos ensaios a fim de se avaliar a seletividade dos derivados benzimidazólicos testados. A doxorubicina, uma droga antitumoral, foi utilizada como controle positivo.

A porcentagem de inibição de crescimento foi calculada empregando-se a equação: $100 \times [(T-T_0)/(B-T_0)]$, onde T corresponde à média da absorbância quando a célula foi tratada com os inibidores; T_0 , corresponde à média da absorbância do controle antes do tratamento; B , corresponde à média da absorbância do controle (branco). Os valores obtidos a partir dessa equação foram subtraídos de 100% para obter-se a porcentagem de crescimento. Os resultados referentes à atividade antiproliferativa dos benzimidazóis foram apresentados na forma de curvas de porcentagem de crescimento *versus* concentração da substância teste (Figuras 50, 51, 52 e 53, pág. 66 a 69). Pontos nas curvas que apresentaram valores positivos no eixo y corresponderam às concentrações onde as substâncias testes exibiram atividade citostática, ou seja, inibiram o crescimento celular, mas não provocaram a diminuição do número inicial de células observadas em T_0 . Pontos nas curvas que apresentaram valores negativos no eixo y indicaram as concentrações em que as substâncias teste exibiram atividade citotóxica, ou seja, inibiram o crescimento celular e provocaram a redução no número inicial de células (morte celular). Os pontos onde as curvas cruzaram o eixo y na linha pontilhada corresponderam ao GI_{50} , ou seja, a concentração da substância-teste necessária para inibir 50% o crescimento celular.

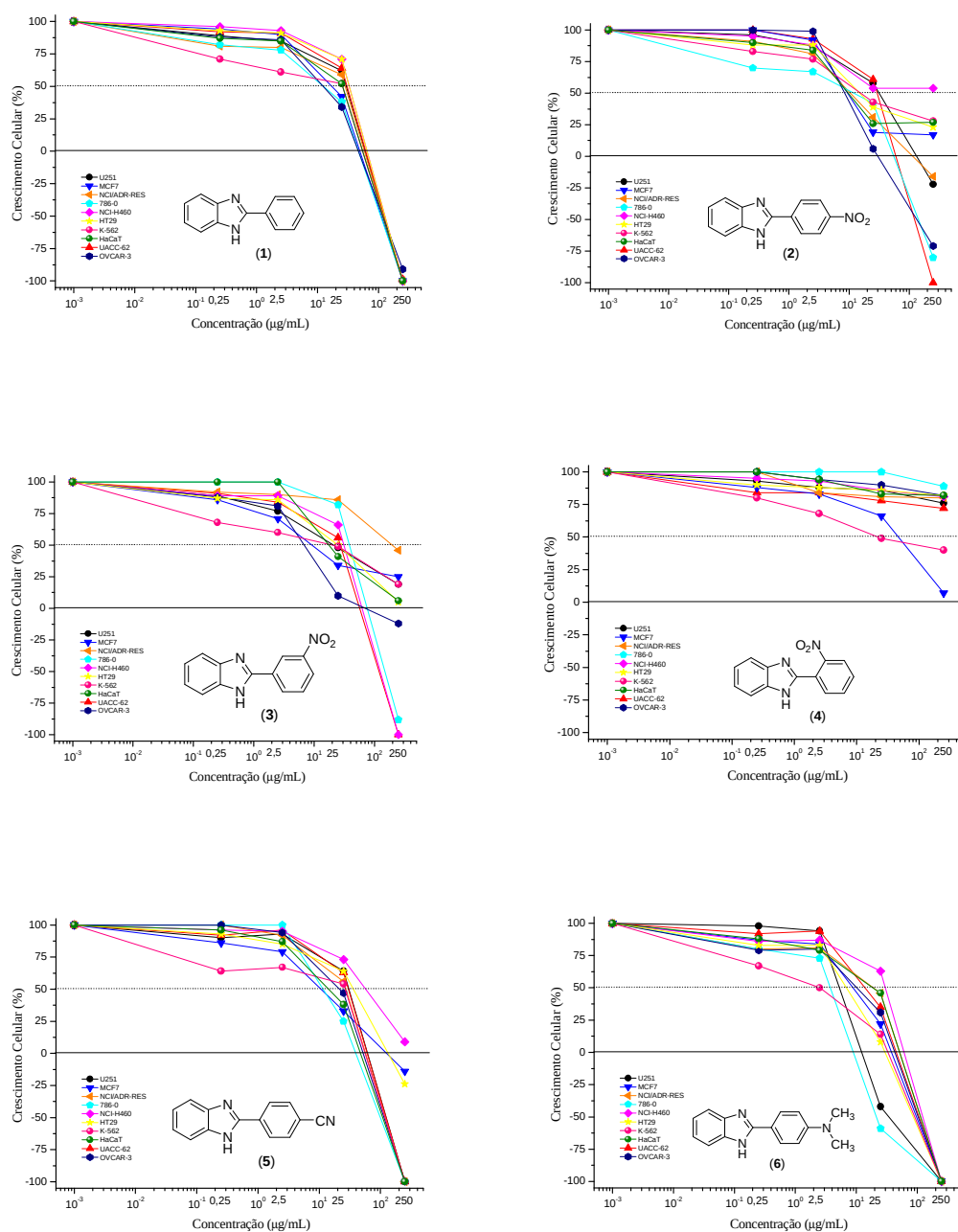


Figura 50 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (µg/mL) dos compostos **1-6**. U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

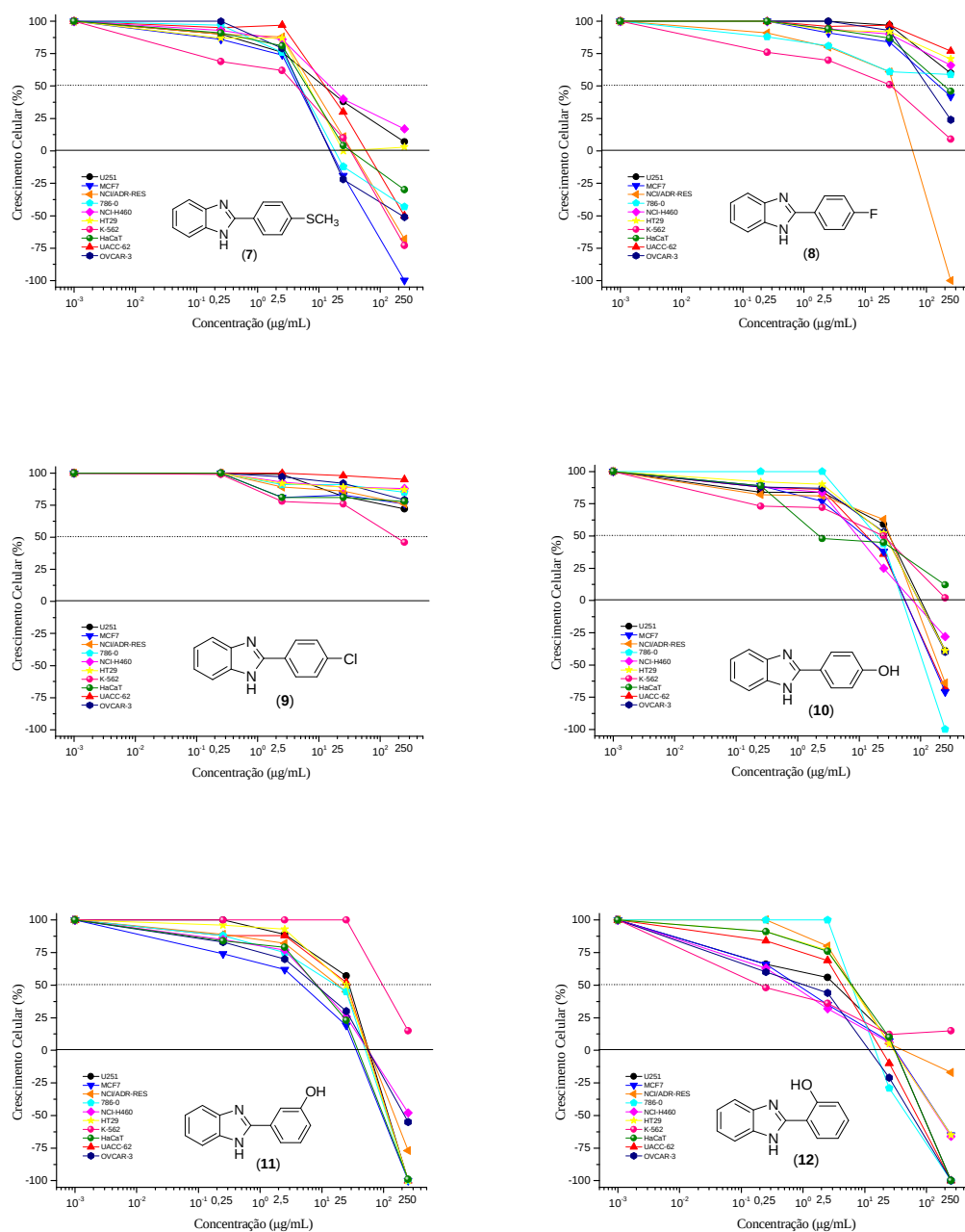


Figura 51 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (μg/mL) dos compostos 7-12. U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

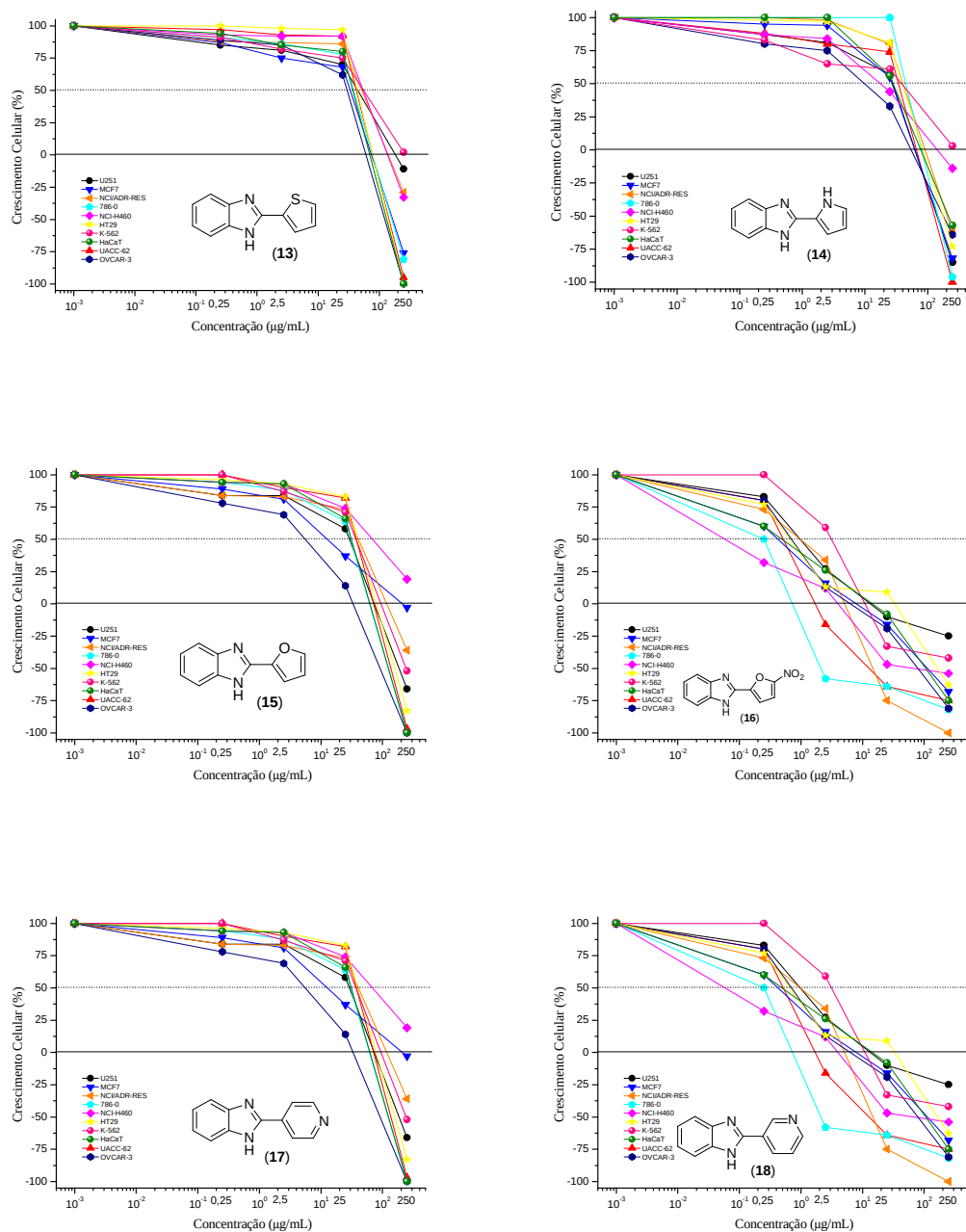


Figura 52 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (µg/mL) dos compostos **13-18**. U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

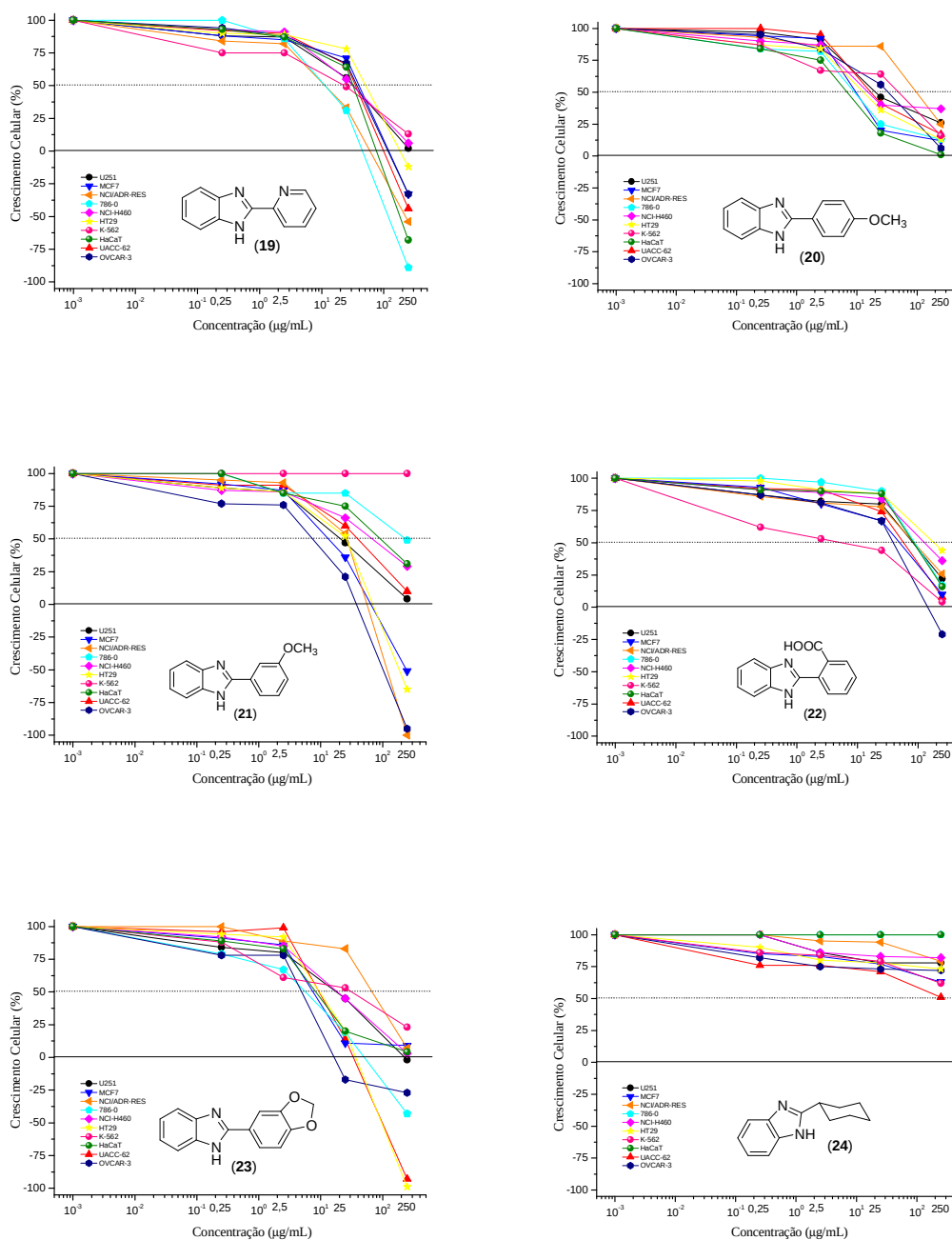


Figura 53 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (μg/mL) dos compostos **19-24**. U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

Tabela 8 – Atividade antiproliferativa^b (^aGI₅₀ em µg/mL) dos benzimidazois **1-12** e a doxorrubicina frente a dez linhagens celulares

Compostos	Linhagens celulares																		
	U251		UACC-62		MCF7		NCI/ADR-RES		786-0		NCI-H460		OVCAR-3		HT29		K-562		HaCaT
	GI ₅₀	IS ^c	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀
1	26,5	0,9	26,8	0,9	24,0	1,0	26,1	1,0	23,4	1,1	26,5	0,9	22,9	1,1	27,8	0,9	4,4	5,6	25,0
2	26,0	0,5	26,4	0,5	10,5	1,2	10,1	1,3	23,9	0,5	>250	>0,1	23,5	0,6	20,6	0,6	20,6	0,6	13,1
3	20,3	1,0	25,6	0,8	11,7	1,8	215,8	0,1	29,9	0,7	26,5	0,8	6,1	3,3	21,5	1,0	7,4	2,8	20,5
4	>250	>1,0	>250	>1,0	37,3	6,7	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	37,3	6,7	>250
5	26,8	0,9	26,7	0,9	9,7	2,4	25,7	0,9	21,5	1,1	50,1	0,5	24,9	0,9	26,3	0,9	25,5	0,9	23,5
6	6,7	3,7	23,0	1,1	8,4	3,0	24,5	1,0	2,8	8,8	25,6	1,0	9,0	2,8	5,8	4,3	1,3	18,5	24,9
7	11,6	0,4	22,3	0,2	9,1	0,6	11,9	0,4	2,9	1,8	18,4	0,3	2,9	1,7	4,4	1,2	2,6	2,0	5,1
8	>250	>0,8	>250	>0,8	171,2	1,2	26,4	8,0	>250	>0,8	>250	>0,8	123,0	1,7	>250	>0,8	11,9	17,6	209,8
9	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	252,5	>1,0	>250
10	26,1	0,2	23,2	0,3	23,3	0,3	26,7	0,2	24,7	0,3	9,4	0,7	25,3	0,2	25,0	0,3	10,4	0,6	6,3
11	25,8	0,3	25,2	0,3	3,2	2,2	24,4	0,3	24,7	0,3	7,3	1,0	5,9	1,2	25,0	0,3	213,0	0,0	7,0
12	1,7	3,0	17,0	0,3	0,7	6,7	5,1	1,0	7,4	0,7	0,6	8,2	10,8	0,5	19,0	0,3	0,2	23,8	5,0
Doxorrubicina	0,03	0,7	0,03	0,7	0,03	0,7	0,58	0,03	0,03	0,7	0,01	2,0	0,08	0,2	0,18	0,1	0,06	0,3	0,02

^aGI₅₀ corresponde a concentração necessária para inibir 50% o crescimento celular em µg/mL; U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

^bEm negrito constam os valores com melhor atividade antiproliferativa.

^cIS = índice de seletividade.

Tabela 9 – Atividade antiproliferativa^b (^aGI₅₀ em µg/mL) dos benzimidazois **13-24** e a doxorrubicina frente a dez linhagens celulares

Compostos	Linhagens celulares																		
	U251		UACC-62		MCF7		NCI/ADR-RES		786-0		NCI-H460		OVCAR-3		HT29		K-562		HaCaT
	GI ₅₀	IS ^c	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀
13	27,7	1,1	32,8	0,9	27,4	1,1	31,0	1,0	29,1	1,0	32,8	0,9	26,5	1,1	35,6	0,8	44,8	0,7	29,5
14	25,8	1,0	28,4	0,9	25,6	1,0	29,5	0,9	40,3	0,6	16,5	1,6	7,5	3,4	29,7	0,9	14,8	1,7	25,6
15	26,0	1,0	29,9	0,9	12,1	2,2	28,2	1,0	26,8	1,0	64,5	0,4	4,2	6,4	30,1	0,9	26,7	1,0	27,1
16	1,0	0,4	0,30	1,5	0,4	1,2	0,8	0,6	0,2	1,8	0,1	3,5	0,6	0,7	0,6	0,7	2,6	0,2	0,4
17	21,9	1,2	26,0	1,0	27,4	1,0	28,2	0,9	26,8	1,0	27,3	1,0	21,9	1,2	27,9	1,0	11,0	2,4	26,7
18	56,3	0,5	29,5	1,0	29,7	1,0	28,7	1,0	27,0	1,0	46,3	0,6	27,0	1,0	29,2	1,0	43,9	0,6	28,2
19	27,0	1,0	27,1	1,0	27,9	1,0	10,9	2,5	22,2	1,2	28,4	0,9	27,2	1,0	28,9	0,9	14,1	1,9	26,8
20	31,1	0,2	21,4	0,3	10,7	0,6	100,9	0,1	9,4	0,7	34,7	0,2	26,5	0,2	14,1	0,4	25,1	0,2	6,2
21	19,5	4,6	34,8	2,6	23,0	3,9	25,5	3,5	>250	>0,4	62,2	1,4	5,9	15,1	25,1	3,6	>250	>0,4	89,2
22	76,2	1,1	50,2	1,7	38,0	2,3	76,6	1,1	94,9	0,9	134,2	0,6	27,3	3,2	194,9	0,4	2,5	34,4	86,8
23	14,4	0,6	19,1	0,4	7,3	1,1	60,2	0,1	4,2	2,0	18,0	0,5	2,9	2,9	22,1	0,4	17,4	0,5	8,4
24	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250
Doxorrubicina	0,03	0,7	0,03	0,7	0,03	0,7	0,58	0,03	0,03	0,7	0,01	2,0	0,08	0,2	0,18	0,1	0,06	0,3	0,02

^aGI₅₀ corresponde a concentração necessária para inibir 50% o crescimento celular em µg/mL; U251 (glioblastoma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), OVCAR-3 (câncer de ovário), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

^bEm negrito constam os valores com melhor atividade antiproliferativa.

^cIS = índice de seletividade

Nas tabelas 8 e 9 (pág. 70 e 71) são apresentados os valores para os índices de seletividade (IS) que representa a seletividade de um determinado composto por uma linhagem de célula tumoral em relação a uma linhagem de célula não-tumorogênica. O valor de IS é o quociente entre o valor de GI_{50} de um composto por células não-tumorogênicas pelo valor de GI_{50} deste mesmo composto para células tumorais. Considerou-se um valor significativo de IS maior ou igual a 2,0 (Suffness e Pezzuto, 1991), ou seja, este valor significa que o composto é duas vezes mais ativo contra a linhagem de célula tumoral do que contra a célula não-tumorogênica.

Analisando os resultados apresentados nas Figuras 50 a 53 (pág. 66-69), observa-se que, no geral, os derivados benzimidazólicos afetaram o crescimento das linhagens celulares de forma concentração-dependente. O composto **16** foi o mais ativo frente a todas as linhagens celulares de câncer testadas, apresentando valor de GI_{50} entre 0,1 e 2,6 $\mu\text{g/mL}$. Os valores dos IS para a maioria das linhagens testadas foram menores do que 2,0, demonstrando que este benzimidazol foi pouco seletivo para as células tumorais em relação às células HaCat (Tabela 9, pág. 71). Porém, os valores de IS para o composto **16** foram maiores do que aqueles observados para a doxorrubicina, que é um fármaco utilizado como anticâncer.

O benzimidazol **12** apresentou potente atividade antitumoral para U251 (GI_{50} = 1,7 $\mu\text{g/mL}$), MCF7 (GI_{50} = 0,7 $\mu\text{g/mL}$) e NCI-H460 (GI_{50} = 0,6 $\mu\text{g/mL}$), além de altos valores de IS (3,0; 6,7 e 8,2; respectivamente) (Tabela 8, pág. 70). Os isômeros **10** e **11** não foram tão potentes quanto o composto **12** para as linhagens de células testadas. Então, verifica-se a hidroxila na posição *orto* em relação ao núcleo benzimidazólico é um substituinte importante para aumentar a atividade anticâncer destes compostos.

O composto **6** também apresentou alta citotoxicidade para as linhagens de células U251, MCF7, 786-0, OVCAR-3, HT29 e K-562, apresentando um $GI_{50} \leq 9,0$ $\mu\text{g/mL}$ para as linhagens de células citadas, além deste composto apresentar alta seletividade em relação às células tumorais (IS de até 18,5; Tabela 8, pág. 70).

Os compostos **1**, **8** e **22** apresentaram potentes atividades antiproliferativas e altos valores de IS frente à linhagem celular K-562 (Tabelas 8 e 9, pág. 70 e 71). O derivado benzimidazol **3** destacou-se por apresentar citotoxicidade frente as linhagens celular OVCAR-3 e K-562. O composto **5** apresentou citotoxicidade sobre células de mama MCF7 e o composto **23** destacou-se por inibir a atividade antiproliferativa sobre as células de rim 786-0 e sobre as células de ovário OVCAR-3 (GI_{50} de 4,2 e 2,9 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), também apresentou um IS maior que 2,0. Os compostos **14**,

15 e **21** foram muito seletivos sobre as células de ovário OVCAR-3, apresentando um $GI_{50} < 8,0 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 3,4$ (Tabelas 8 e 9, pág. 70 e 71).

Os benzimidazois **4**, **9**, **20** e **24** apresentaram apenas atividade citostática para as linhagens celulares estudadas, independente das concentrações utilizadas (Figuras 50 a 53, pág. 66-69). Os demais benzimidazois apresentaram atividade citostática em concentrações menores e citotóxicas nas concentrações acima de $25 \mu\text{g/mL}$ para a maioria das linhagens de células tumorais testadas (Figuras 50 a 53, pág. 66-69).

De modo geral, foi observado que os compostos que apresentaram menor citotoxicidade para as linhagens celulares testadas foram os benzimidazois **8** e **9**, cujos substituintes são anéis aromáticos com um halogênio na posição *para* em relação ao núcleo benzimidazólico. Além disso, o composto **24**, cujo substituinte não é aromático, também apresentou baixa citotoxicidade para as mesmas linhagens celulares testadas.

3.2 – Atividade antiproliferativa dos benzotiazóis

A atividade antiproliferativa dos derivados benzotiazólicos **25-43** foi avaliada de forma similar ao descrito anteriormente, exceto pelo fato de que não foi avaliada a atividade antiproliferativa destes compostos frente à UACC-62 (melanoma) e OVCAR-3 (câncer de ovário), tendo-se incluído a linhagem tumoral de câncer de próstata (PC-3).

Os resultados referentes à atividade antiproliferativa dos benzotiazóis foram apresentados de forma semelhante aos dos benzimidazois, na forma de curvas de porcentagem de crescimento *versus* concentração da substância teste (Figuras 54 a 56, pág. 74-76).

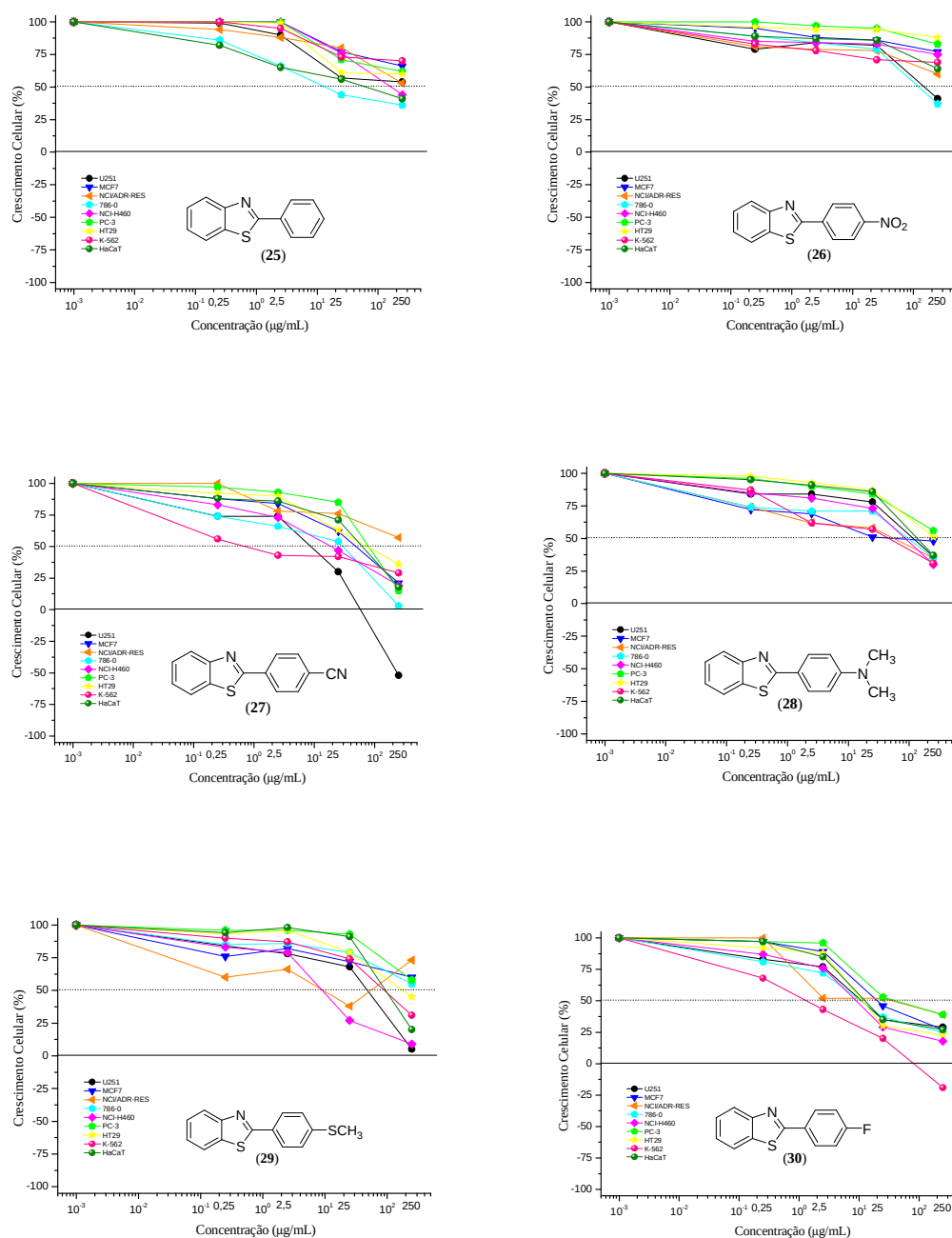


Figura 54 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (μg/mL) dos compostos **25-30**. U251 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

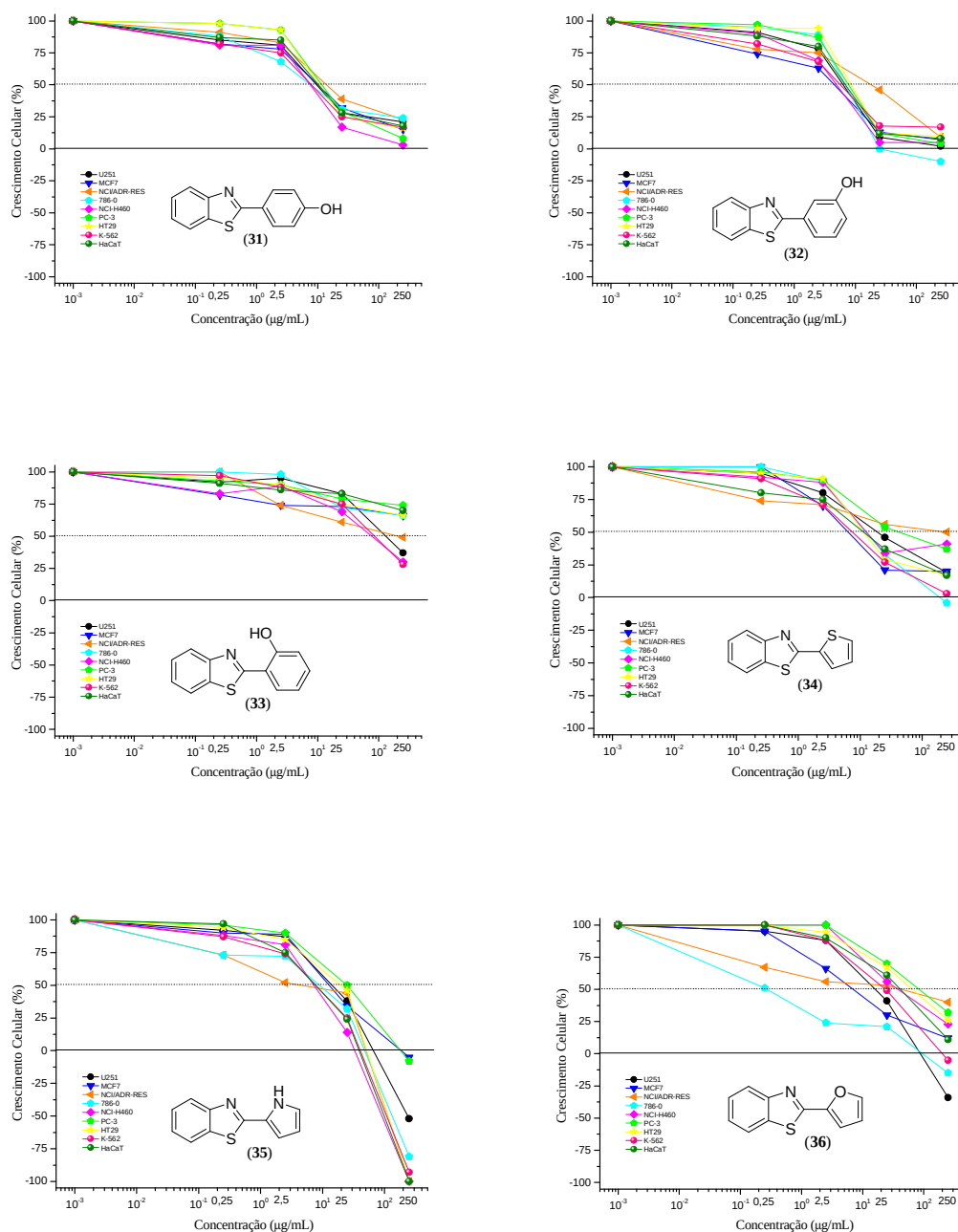


Figura 55 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos **31-36**. U251 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

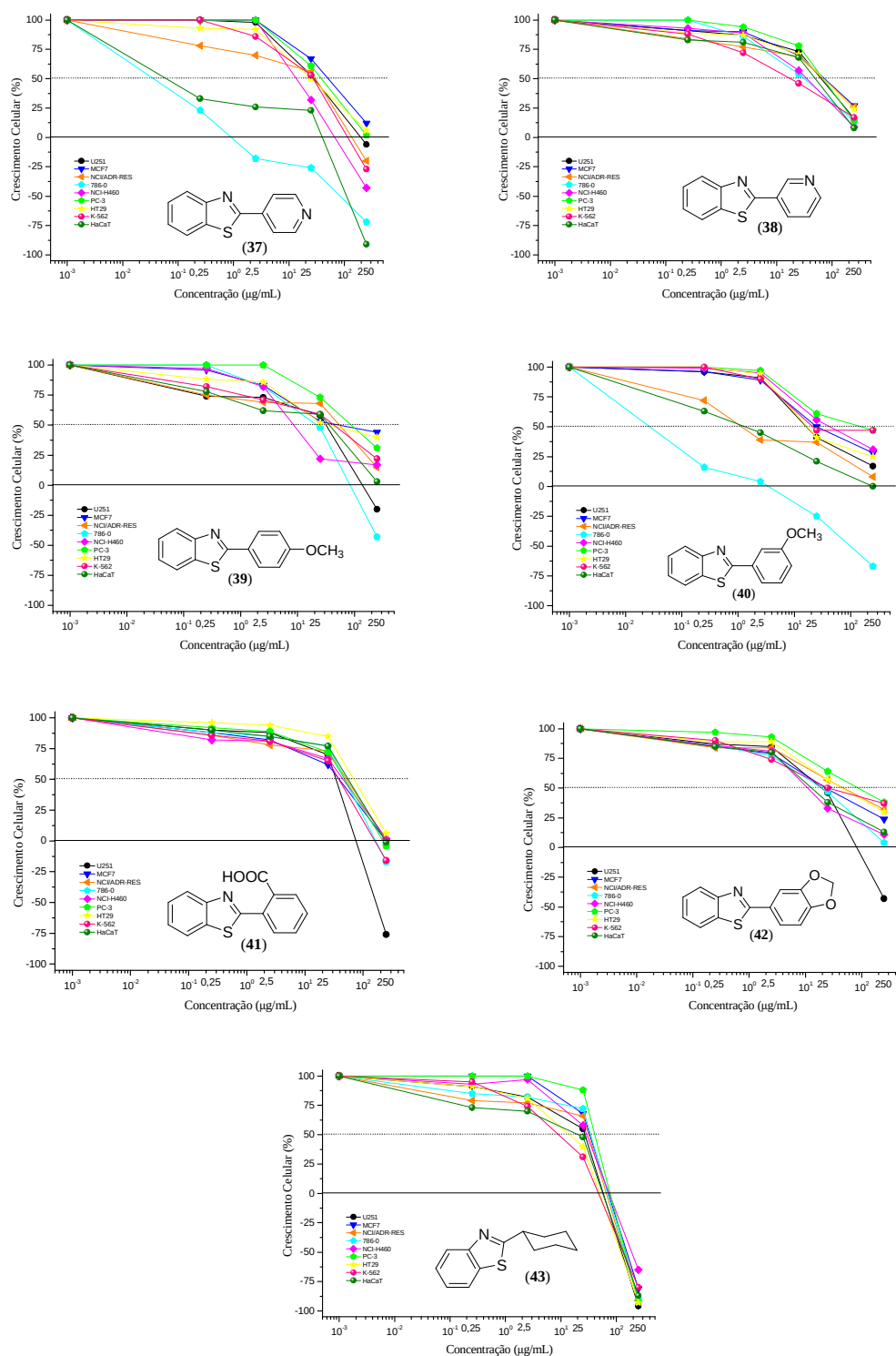


Figura 56 – Curvas de porcentagem de crescimento celular *versus* concentração (µg/mL) dos compostos 37-43. U251 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).

Tabela 10 – Atividade antiproliferativa^b (^aGI₅₀ em µg/mL) dos benzotiazóis **25-43** e a doxorrubicina frente a nove linhagens celulares

Compostos	Linhagens celulares																
	U251		MCF7		NCI/ADR-RES		786-0		NCI-H460		PC-3		HT29		K-562		HaCaT
	GI ₅₀	IS ^c	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀	IS	GI ₅₀
25	>250	>0,2	>250	>0,2	>250	>0,2	23,0	2,3	166,6	0,3	>250	>0,2	>250	>0,2	>250	>0,2	52,5
26	212,2	>1,1	>250	>1,0	>250	>1,0	128,0	>2,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250
27	6,4	8,4	40,8	1,3	>250	>0,2	9,7	5,6	16,3	3,3	78,4	0,7	80,0	0,7	0,9	56,8	54,0
28	121,9	1,2	98,6	1,5	33,1	4,4	90,1	1,6	76,3	1,9	>250	>0,60	>250	>0,6	29,3	5,0	145,3
29	33,9	3,1	>250	>0,4	>250	>0,4	>250	>0,4	8,7	12,0	>250	>0,4	186,5	0,6	87,0	1,2	105,2
30	15,6	1,2	31,2	0,6	31,1	0,6	12,5	1,6	9,8	2,0	70,3	0,3	14,8	1,3	1,2	16,0	19,3
31	11,2	1,1	10,3	1,1	18,9	0,6	9,6	1,2	7,2	1,6	13,7	0,9	12,4	1,0	7,8	1,5	11,8
32	5,7	1,1	3,0	2,1	12,6	0,5	4,2	1,5	4,2	1,5	7,7	0,8	9,5	0,7	5,1	1,3	6,5
33	138,9	>1,8	>250	>1,0	146,4	>1,7	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	>250	>1,0	82,1	>3,0	>250
34	21,3	0,5	7,1	1,6	206,9	0,1	14,0	0,8	33,5	0,3	62,3	0,2	13,4	0,8	7,1	1,6	11,1
35	23,4	0,3	14,0	0,5	24,8	0,3	5,9	1,1	6,2	1,0	24,5	0,3	24,7	0,3	6,1	1,0	6,4
36	23,8	1,5	7,6	4,8	24,1	1,5	0,3	127,6	43,6	0,8	88,5	0,4	64,3	0,6	22,4	1,6	36,5
37	25,3	0,0	45,9	0,0	25,9	0,0	1,2	0,1	22,8	0,0	31,4	0,0	24,4	0,0	25,3	0,0	0,1
38	56,6	0,7	69,4	0,5	52,6	0,7	28,9	1,3	30,5	1,2	64,0	0,6	63,1	0,6	15,6	2,4	37,6
39	26,1	0,4	81,2	0,1	24,6	0,4	24,8	0,4	9,2	1,2	92,2	0,1	64,2	0,2	26,2	0,4	10,9
40	20,6	0,1	37,2	0,0	1,9	0,6	0,1	15,7	54,7	0,0	139,9	0,01	25,9	0,0	82,9	0,0	1,1
41	27,7	1,4	30,9	1,2	42,8	0,9	28,7	1,3	37,2	1,0	28,6	1,3	61,1	0,6	27,1	1,4	37,5
42	24,5	0,5	24,5	0,5	49,6	0,3	14,8	0,9	11,5	1,2	92,6	0,1	50,0	0,3	40,6	0,3	13,3
43	25,6	1,0	27,4	0,9	27,1	0,9	28,0	0,9	26,0	1,0	31,4	0,8	24,6	1,0	22,7	1,1	25,0
Doxorrubicina	0,03	0,7	0,03	0,7	0,58	0,03	0,03	0,7	0,01	2,0	0,23	0,1	0,18	0,1	0,06	0,3	0,02

^aGI₅₀ corresponde a concentração necessária para inibir 50% o crescimento celular em µg/mL; U251 (glioblastoma), MCF7 (câncer de mama), NCI-ADR/RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (câncer de rim), NCI-H460 (câncer de pulmão), PC-3 (câncer de próstata), HT29 (câncer de cólon retal), K-562 (leucemia) e HaCat (queratinócitos humanos).^bEm negrito constam os valores com melhor atividade antiproliferativa. ^cIS = índice de seletividade.

Da mesma forma que foi feito na Tabela 8 e 9 (pág. 70 e 71) para os benzimidazois, na Tabela 10 (pág. 77) foi calculado o IS. O valor de IS é o quociente entre o valor de GI_{50} de um composto por células não-tumorogênica pelo valor de GI_{50} deste mesmo composto para células tumorais. Considerou-se um valor significativo de IS maior ou igual a 2,0 (Suffness e Pezzuto, 1991), como foi feito para os benzimidazois.

Em alguma extensão, todos os derivados benzotiazóis inibiram o crescimento das linhagens celulares de forma concentração-dependente (Figuras 54 a 56, pág. 74-76), como ocorreu para os derivados benzimidazois. Entretanto, apenas os compostos **27**, **30**, **32**, **35**, **36**, **37**, **39**, **40**, **41**, **42** e **43** apresentaram atividade citotóxica para algumas das linhagens celulares testadas (Figuras 54 a 56, pág. 74-76).

Entre os compostos testados, o benzotiazol **40** foi o mais ativo sobre as células de rim 786-0, apresentando $GI_{50} = 0,1 \mu\text{g/mL}$, além de ter apresentado excelente seletividade (IS = 15,7) (Tabela 10, pág. 77). O composto **36** também mostrou-se ativo para a linhagem de célula 786-0 ($GI_{50} = 0,3 \mu\text{g/mL}$), destacando-se pela sua grande seletividade frente às células normais, apresentando um IS de 127,6 (Tabela 10, pág. 77). Benzimidazol **36**, também apresentou boa atividade antiproliferativa e seletividade frente à linhagem celular MCF7 (Tabela 10, pág. 77).

O derivado benzotiazol **27** apresentou potente atividade antitumoral frente às linhagens celulares U251 ($GI_{50} = 6,4 \mu\text{g/mL}$), 786-0 ($GI_{50} = 9,7 \mu\text{g/mL}$) e K-562 ($GI_{50} = 0,9 \mu\text{g/mL}$). Este composto destacou-se, principalmente, por apresentar grande seletividade frente às células normais HaCat, apresentando um IS de 8,4; 5,6 e 56,8; respectivamente (Tabela 10, pág. 77).

O composto **30** apresentou alta citotoxicidade frente às linhagens celulares NCI-H460 e K-562, apresentando para a linhagem K-562 um valor de $GI_{50} = 1,2 \mu\text{g/mL}$ e alto índice de seletividade (IS = 16,0). Já o composto **32** apresentou citotoxicidade frente às células de mama MCF7 e um IS maior do que 2,0 (Tabela 10, pág. 77).

Entre os resultados apontados, um ponto que chamou a atenção consiste na seletividade apresentada por alguns derivados benzotiazólicos, como por exemplo, o composto **40** que, embora tenha se mostrado fracamente ativo frente às diversas linhagens de células tumorais, foi um dos compostos mais tóxicos sobre as células de rim 786-0.

De forma geral, os benzimidazois foram mais ativos frente às linhagens tumorais testadas quando comparados aos benzotiazóis com o mesmo grupo substituinte na

posição 2 da molécula. Como por exemplo, o benzimidazol **12** (Figura 50), que possui um grupo substituinte aromático com uma hidroxila na posição *orto*, apresentou uma das melhores atividades antiproliferativas entre os benzimidazois testados. Diferentemente dos benzimidazois, o benzotiazol **33** (Figura 50), que também possui o mesmo substituinte aromático, apresentou-se praticamente inativo frente às linhagens celulares tumorais testadas.

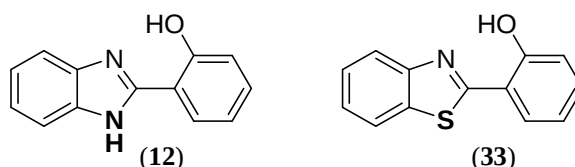


Figura 50 – Estrutura química do derivado benzimidazol **12** e do benzotiazol **33**.

Outros exemplos também podem ser destacados como benzimidazol **6** e o benzotiazol **28**, no qual observou-se uma atividade antiproliferativa muito maior para o primeiro contra às linhagens tumorais testadas quando comparada com o segundo (Figuras 54 a 56, pág. 74-76). Este comportamento também é observado para os pares de compostos **1** e **25**, **2** e **26**, **18** e **38**, entre outros. Portanto, pode-se inferir que a substituição do átomo de enxofre por um grupo NH (benzimidazois) contribui positivamente para a atividade antiproliferativa desta classe de heterociclos. Isto pode ser justificado pelo fato de que os derivados benzimidazólicos ligam-se fortemente ao DNA da célula (Naryzhny *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2013).

Finalmente, observa-se que tanto os benzimidazois quanto os benzotiazois foram muito menos tóxicos do que a doxorrubicina para a linhagem de células normais HaCat. Visto que no tratamento de neoplasias deseja-se preservar as células saudáveis, atingindo-se preferencialmente as células cancerosas, as menores toxicidades dos benzimidazois e dos benzotiazois quando comparados à do fármaco de referência (doxorrubicina) é um fato importante a ser ressaltado.

CONCLUSÃO GERAL

- Foram sintetizados 24 benzimidazois (**1-24**) e 19 benzotiazois (**25-43**) utilizando-se uma metodologia adaptada de López e colaboradores (2009);
- O mecanismo de reação de obtenção dos benzimidazois foi investigado empregando-se a técnica de espectrometria de massas, com armadilha de íons e tempo de voo (LCMS-IT-TOF). Estudos de EM para o composto **1** permitiu identificar os intermediários **A**, **C** e/ou **D** que corroboraram o mecanismo. Além disso, também foi observado que a reação na presença do NaHSO₃ é muito mais rápida do que na sua ausência;
- O teste *in vitro* com os compostos sintetizados frente à enzima urease de *Canavalia ensiformis*, permitiram concluir que:
 1. Entre os vinte e quatro benzimidazois testados, vinte demonstraram inibir a enzima, sendo que o composto **17** foi o mais ativo. O benzimidazol **15** foi mais ativo que a tioureia, enquanto os compostos **16** e **24** foram quase tão ativos quanto a tioureia, tendo os compostos **2**, **7**, **8** e **12** apresentado uma atividade inibitória um pouco menor que a tioureia;
 2. Entre os dezenove benzotiazois testados, sete deles apresentaram atividade inibitória frente a enzima, sendo que o composto mais ativo foi o **37**, enquanto os compostos **38** e **41** apresentaram a mesma porcentagem de inibição que a tioureia. Os benzotiazois **25**, **26**, **31** e **42** apresentaram atividade inibitória inferior a 10%;
- Na triagem feita frente às enzimas presentes no solo, concluiu-se que:
 1. Quinze derivados benzimidazois apresentaram atividade inibitória, sendo que o composto **24** foi mais ativo do que o NBPT. Os compostos **3**, **7**, **16**, **19** e **21** foram tão ativos quanto ao NBPT e os compostos **1**, **4**, **5**, **11** e **18** apresentaram atividade semelhante a da tioureia. Além disso, os compostos **9**, **17** e **23** também apresentaram atividade inibitória;
 2. Entre os dezenove benzotiazois sintetizados, quatorze inibiram as ureases presentes no solo, sendo o composto **32** mais ativo que o NBPT. Os benzotiazois **26**, **30**, **31**, **37** e **38** foram tão ativos quanto o NBPT, sendo que os compostos **27**, **28** e **36** inibiram tanto quanto à tioureia. Os

benzotiazóis **25** e **29** inibiram as ureases do solo em torno de 10% e os compostos **34** e **42** foram muito pouco ativos;

- A avaliação da cinética *in vitro* da atividade ureolítica de *Canavalia ensiformis* demonstrou que os compostos mais ativos **17** e **37** apresentaram um mecanismo de inibição do tipo misto;
- A atividade antiproliferativa dos benzimidazóis, de forma geral, foi superior àquela observada para os benzotiazóis;
- Entre os benzimidazóis testados, o composto **16** foi o mais ativo frente a todas as linhagens celulares, porém foi pouco seletivo em relação às células tumorais quando comparado às células HaCat. Já os compostos **12** e **6**, além de apresentarem potentes atividades antiproliferativas, demonstraram uma grande seletividade em relação às células HaCat. Os compostos **1**, **3**, **5**, **8**, **11**, **14**, **15**, **21**, **22** e **23** apresentaram atividades antiproliferativas frente a algumas linhagens celulares. Os benzimidazóis **4**, **9**, **20** e **24** apresentaram apenas atividade citostática para as linhagens celulares estudadas e os demais benzimidazóis apresentaram atividade citostática em concentrações menores e citotóxica nas concentrações acima de 25 µg/mL para a maioria das linhagens de células tumorais testadas.
- Entre os benzotiazóis testados, os compostos **36** e **40** foram os mais ativos sobre as células de rim 786-0, além de terem demonstrado excelente seletividade. O derivado benzotiazol **27** apresentou potente atividade antitumoral frente às linhagens celulares U251, 786-0 e K-562, destacando-se por apresentar grande seletividade frente às células normais HaCat. O composto **30** apresentou alta citotoxicidade frente às linhagens celulares NCI-H460 e K-562, além de apresentar alto valor de índice de seletividade. Já o composto **32** demonstrou citotoxicidade às células de mama MCF7.
- Em linhas gerais, observa-se que tanto os benzimidazóis quanto os benzotiazóis foram muito menos tóxicos do que a doxorrubicina para a linhagem de células normais HaCat.

PARTE EXPERIMENTAL

1 – Materiais e métodos

As temperaturas de fusão (TF) foram determinadas no aparelho Gehaka PF1500, sem correção.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram registrados no aparelho Shimadzu IR-408 (Departamento de Química, UFMG) e os compostos foram pastilhados em KBr, utilizando prensa hidráulica. As atribuições das bandas no infravermelho foram feitas com o auxílio de dados da literatura (Barbosa, 2007; Silverstein *et al.*, 2000), da seguinte forma: f - banda fraca; m - banda média; F - banda forte.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C foram registrados nos espectrômetros BRUKER AVANCE DRX400 e DPX200. Como referência interna foi utilizado-se o tetrametilsilano ou, em alguns casos, o sinal residual do próprio solvente deuterado. Os deslocamentos químicos foram apresentados em δ (ppm) e as multiplicidades (dos sinais de RMN de ^1H) foram apresentadas de maneira abreviada, segundo recomendações da AUREMN (Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear), da seguinte forma: d - duplete; dd - duplete duplo; ddd – duplo duplo duplo; m - multiplete; s - simpleto; sl - sinal largo; t - tripleto; td - tripleto duplo.

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.

Os espectros de massas foram obtidos no aparelho Shimadzu LCMS-IT-TOF, utilizando-se como solvente uma mistura de metanol/água (1:1), com fluxo de 0,2 mL/min. A interface positiva foi de 4,5 kV e a temperatura da interface de 200°C.

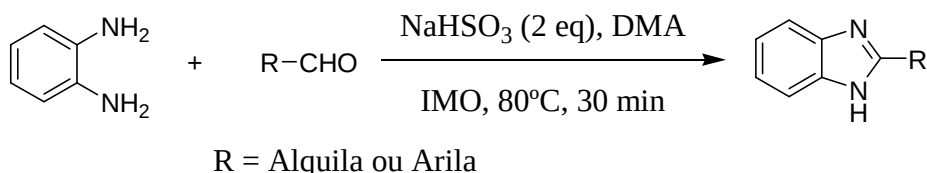
O reator de micro-ondas da CEM–*Microwave-Enhanced Life Sciences* foi utilizado para a realização das reações.

Os reagentes e solventes utilizados foram produtos analiticamente puros e/ou indicados pelos fabricantes para uso em síntese orgânica. O *p*-anisaldeído foi purificado de acordo com método descrito na literatura (Armareg e Chai, 2009) e o 4-dimetilaminobenzaldeído foi recristalizado em etanol (Toncheva *et al.*, 1994).

2 – Procedimentos experimentais

2.1 – Procedimento geral para a síntese dos benzimidazóis

Neste trabalho foram sintetizados vinte e quatro benzimidazóis utilizando a metodologia adaptada proposta por López e colaboradores (2009) (Esquema 17).

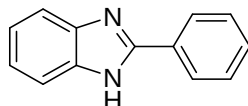


Esquema 17 – Síntese dos derivados benzimidazólicos.

O bissulfito de sódio (NaHSO_3) (10,0 mmol) foi pesado num balão de fundo redondo de 10 mL, onde adicionaram-se 5 mL de dimetilacetamida (DMA) e a *o*-fenilenodiamina (5,0 mmol). Em seguida, o aldeído (5,5 mmol) foi adicionado e a mistura de reação foi colocada sob irradiação de micro-ondas (IMO) em sistema aberto a 80°C com potência máxima de 200 watts, tempo de rampa de 2 min e de reação de 30 min, sob resfriamento. Após o término da reação, a mistura reacional foi deixada resfriar até atingir a temperatura ambiente e vertida numa mistura de água e gelo triturado. O sólido formado foi filtrado sob pressão reduzida e, quando necessário, recristalizado.

2.2 – Caracterização dos benzimidazois

2.2.1 – 2-Fenil-1H-benzimidazol (1)



Aspecto físico: sólido branco.

TF: 296,3-298,2°C [Literatura: 295,0°C (Panda e Jain, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 4, pág. 16): 3048 (f), 2676 (f), 1624 (f), 1592 (f), 1446 (F), 1412 (F), 1316 (m), 1278 (m), 972 (m), 744 (F), 704 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 195,0922, encontrado: 195,0870.

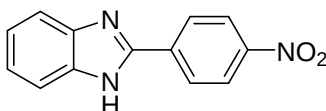
Tabela 11 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 16, pág. 25				RMN de ^1H (a 300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,19-7,24	m	2H	---	7,21	dd	2H	8,7 / 3,6
7,48-7,62	m	5H	---	7,58-7,46	m	4H	---
				7,68	d	1H	6,6
8,22	d	2H	7,4	8,17-8,22	m	2H	---
12,97	sl	1H	---	12,92	s	1H	---

Tabela 12 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 17, pág.26	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 111,3; 118,9; 121,7; 122,4; 126,42; 128,9; 129,8; 130,2; 135,0; 143,8; 151,2	δ (ppm): 111,3; 118,9; 121,7; 122,5; 126,4; 128,9; 129,8; 130,2; 135,0; 143,8; 151,2

2.2.2 – 2-(4-Nitrofenil)-1H-benzimidazol (2)



PARTE EXPERIMENTAL

Aspecto físico: Sólido laranja, recristalizado com uma solução de metanol/água (1:1).

TF: 315,0-315,5°C [Literatura: 315,0°C (Moorthy e Neogi, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 53, pág. 145): 2750 (F), 1604 (F), 1514 (F), 1434 (F), 1340 (F), 746 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 240,0768, encontrado: 240,0703.

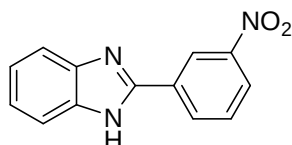
Tabela 13 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Sharma *et al.*, 2009)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 51, pág. 144				RMN de ^1H (a 400 MHz, CDCl_3) (Literatura: Sharma <i>et al.</i> , 2009)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,26	sl	2H	---	6,55	t	2H	---
7,60-7,69	m	2H	---	7,54	d	2H	---
8,37	sl	4H	---	7,87	d	2H	---
				8,13	d	2H	---
13,26	sl	1H	---	---	---	---	---

Tabela 14 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 52, pág.144	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 111,8; 119,4; 122,3; 123,5; 127,3; 135,2; 135,9; 143,8; 147,7; 148,9	δ (ppm): 111,7; 119,2; 121,9; 123,1; 124,3; 130,9; 132,6; 134,6; 143,6; 147,3; 149,0

2.2.3 – 2-(3-Nitrofenil)-1H-benzimidazol (3)



Aspecto físico: Sólido amarelo, recristalizado em tolueno.

TF: 203,2-204,7°C [Literatura: 205,0-206,0°C (López *et al.*, 2009) e 202,0-204,0°C (Khosravi e Kazemi, 2012)].

PARTE EXPERIMENTAL

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 56, pág. 146): 3369 (m), 2357 (f), 1587 (f), 1516 (F), 1473 (m), 1431 (m), 1344 (F), 1309 (m), 1275 (m), 810 (m), 739 (F), 698 (m).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 240,0768, encontrado: 240,0683.

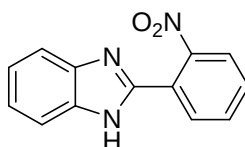
Tabela 15 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Chen *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 54, pág. 145				RMN de ^1H (a 600 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Chen <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,24	s	2H	---	7,22-7,29	m	2H	---
7,65	sl	2H	---	7,58	d	1H	7,7
				7,72	d	1H	7,8
7,78	t	1H	8,0	7,84	t	1H	8,0
8,25	d	1H	8,0	8,31	dd	1H	8,0 / 1,6
8,57	d	1H	8,0	8,60	d	1H	7,9
8,98	sl	1H	---	9,00	t	1H	1,8
13,23	s	1H	---	13,29	s	1H	---

Tabela 16 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Khan *et al.*, 2009)

RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 55, pág. 146	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Khan <i>et al.</i> , 2009)
δ (ppm): 120,7; 124,0; 130,4; 131,6; 132,3; 148,2; 149,0	δ (ppm): 121,0; 123,0; 124,4; 131,0; 131,7; 132,6; 148,5; 149,2

2.2.4 – 2-(2-Nitrofenil)-1H-benzimidazol (4)



Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 260,3-262,4°C [Literatura: 266,0-268,0°C (Chari *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 59, pág. 148): 2646 (m), 1591 (f), 1574 (f), 1524 (F), 1444 (m), 1416 (m), 1348 (F), 1279 (m), 854 (m), 746 (F), 741 (F), 721 (F).

PARTE EXPERIMENTAL

LCMS-IT-TOF calculado para $C_{13}H_{10}N_3O_2$ $[M + H]^+$: 240,0768, encontrado: 240,0692.

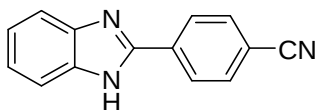
Tabela 17 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Chen e Dong, 2012)

RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 57, pág. 147				RMN de ^1H (a 600 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Chen e Dong, 2012)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,26	sl	2H	---	7,23	t	1H	7,8
				7,28	t	1H	7,8
7,64-7,89	m	4H	---	7,58	d	1H	7,9
				7,67	d	1H	7,8
				7,75-7,78	m	1H	---
				7,86-7,89	m	1H	---
8,01	t	2H	7,2	7,99	dd	1H	7,6 / 1,0
				8,04	d	1H	8,4
13,10	s	1H	---	13,07	s	1H	---

Tabela 18 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Chari *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 58, pág. 147	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Chari <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 122,2; 122,4; 122,6; 124,2; 130,8; 130,9; 132,6; 147,3; 148,9	δ (ppm): 115,0; 116,4; 122,9; 124,0; 127,9; 130,0; 131,9; 132,0; 133,1; 135,0; 136,1; 144,0; 147,5

2.2.5 – 2-(4-Cianofenil)-1H-benzimidazol (5)



Aspecto físico: Sólido amarelo claro, recristalizado em tolueno.

TF: 262,3-262,8°C [Literatura: 262,0°C (Sharghi *et al.*, 2008) e 262,0-263,0°C (Chuanming *et al.*, 2009)].

PARTE EXPERIMENTAL

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 62, pág. 149): 3066 (m), 2796 (m), 1610 (f), 1448 (F), 1436 (F), 1282 (m), 966 (m), 852 (F), 748 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 220,0874, encontrado: 220,0808.

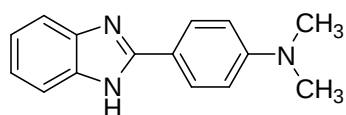
Tabela 19 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Savall e Fontimayor, 2008)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 60, pág. 148				RMN de ^1H (a 400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Savall e Fontimayor, 2008)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,26	sl	2H	---	7,19-7,32	m	2H	---
7,66	sl	2H	---	7,51-7,78	m	2H	---
8,01	sl	2H	---	8,03	d	2H	8,4
8,34	sl	2H	---	8,35	d	2H	8,4
13,24	sl	1H	---	13,05-13,36	sl	1H	---

Tabela 20 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Savall e Fontimayor, 2008)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 61, pág. 149	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, CD_3OD) Literatura (Savall e Fontimayor, 2008)
δ (ppm): 111,8; 118,6; 122,7; 126,9; 132,8; 134,2; 149,3	δ (ppm): 114,5; 119,3; 124,6; 128,4; 134,0; 135,2; 151,2

2.2.6 – 2-(4-*N,N*-Dimetilaminofenil)-1*H*-benzimidazol (6)



Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 286,3-286,9°C [Literatura: 288,0-290,0°C (Mao *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 65, pág. 151): 3420 (f), 3156 (m), 2888 (m), 1622 (F), 1610 (F), 1506 (F), 1438 (F), 1366 (F), 1200 (F), 824 (F), 748 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 238,1344, encontrado: 238,1254.

Tabela 21 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (a 300 MHz, DMSO- d_6)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 63, pág. 150				Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
2,97	s	6H	---	2,99	s	6H	---
6,83	d	2H	8,6	6,82	d	2H	9,0
7,12-7,16	m	2H	---	7,14-7,08	m	2H	---
7,50-7,53	m	2H	---	7,43	sl	1H	---
				7,55	sl	1H	---
8,04	d	2H	8,6	7,98	d	2H	9,0
12,58	sl	1H	---	12,53	sl	1H	---

Tabela 22 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6)	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, DMSO- d_6)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 64, pág. 150	Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 39,7; 111,8; 117,3; 121,3; 127,5; 151,1; 152,3	δ (ppm): 39,9; 110,7; 111,9; 117,4; 118,0; 121,2; 121,6; 127,6; 135,0; 144,1; 151,3; 152,3

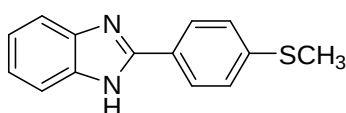
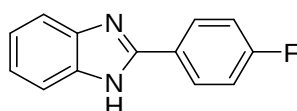
2.2.7 – 2-(4-Metiltiofenil)-1H-benzimidazol (7)**Aspecto físico:** Sólido amarelo claro.**TF:** 253,4-254,6°C.**IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 68, pág. 152):** 3412 (f), 3050 (f), 2918 (f), 1630 (m), 1602 (m), 1462 (F), 1122 (F), 1092 (F), 966 (m), 822 (m), 742 (F).**RMN de ^{13}C (a 50MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 67, pág. 152):** δ 14,2; 122,0; 125,7; 126,4; 126,8; 140,7; 151,0.**LCMS-IT-TOF para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$:** 241,0799, encontrado: 241,0713.

Tabela 23 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Ziaulla *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 66, pág. 151				RMN de ^1H (a 400 MHz, CD_3OD) Literatura (Ziaulla <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
2,52	s	3H	---	2,53	s	3H	---
---	---	---	---	4,82	s	1H	---
7,17-7,21	m	2H	---	7,22	m	2H	---
7,41	d	2H	8,2	7,38	d	2H	8,8
7,60	sl	2H	---	7,58	m	2H	---
8,14	d	2H	8,2	7,99	d	2H	10,8
12,91	sl	1H	---	---	---	---	---

2.2.8 – 2-(4-Fluorofenil)-1*H*-benzimidazol (**8**)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 251,4-253,5°C [Literatura: 250,0-252,0°C (López *et al.*, 2009)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 71, pág. 154): 3052 (m), 2748 (m), 1604 (m), 1498 (F), 1434 (F), 1228 (F), 838 (F), 748 (F).

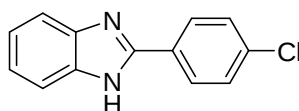
LCMS-IT-TOF para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{FN}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 213,0828, encontrado: 213,0758.

Tabela 24 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Panda e Jain, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 69, pág. 153				RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Panda e Jain, 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,19-7,23	m	2H	---	7,19	m	2H	---
7,39	t	2H	8,6	7,39	d	2H	8,2
7,62	sl	2H	---	7,65	m	2H	---
8,26	t	2H	6,8	8,23	d	2H	8,2
12,98	sl	1H	---	12,94	s	1H	---

Tabela 25 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Savall e Fontimayor, 2008)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6)	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, CD_3OD)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 70, pág. 153	Literatura (Savall e Fontimayor, 2008)
δ (ppm): 115,7; 116,2; 122,1; 126,8; 128,6; 128,8; 150,4; 160,6; 165,5	δ (ppm): 116,0; 117,4; 117,6; 124,4; 127,9; 127,9; 130,4; 130,5; 152,8; 164,6; 167,0

2.2.9 – 2-(4-Clorofenil)-1H-benzimidazol (9)

Aspecto físico: Sólido amarelo, recristalizado em etanol.

TF: 291,2-292,4°C [Literatura: 289,0-291,0°C (Kim *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 74, pág. 155): 2785 (m), 1603 (f), 1587 (f), 1540 (f) 1427 (F), 1321 (m), 1273 (m), 831 (F), 743 (F), 729 (F).

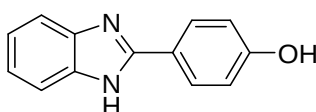
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClN}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 229,0533, encontrado: 229,0445.

Tabela 26 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (a 300 MHz, DMSO- d_6)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 72, pág. 154				Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,20-7,23	m	2H	---	7,22-7,25	m	2H	---
7,61	d	4H	8,0	7,63-7,67	m	4H	---
8,20	d	2H	8,0	8,21	d	2H	8,7
12,97	sl	1H	---	13,02	sl	1H	---

Tabela 27 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 73, pág. 155	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 122,2; 128,1; 128,9; 134,4; 150,1	δ (ppm): 111,5; 119,0; 121,9; 122,8; 128,2; 129,1; 134,5; 135,0; 143,7; 150,2

2.2.10 – 2-(4-Hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**10**)

Aspecto físico: Sólido branco.

TF: 279,8-280,7°C [Literatura: 280,0°C (Panda e Jain, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 77, pág. 157): 3258 (m), 3062 (m), 2586 (m), 1612 (F), 1594 (F), 1464 (F), 1452 (F), 1388 (F), 1250 (F), 1188 (F), 838 (F), 746 (F).

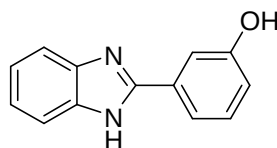
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 211,0871, encontrado: 211,0789.

Tabela 28 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Alpan *et al.*, 2007)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 75, pág. 156				RMN de ^1H (a 400 MHz, CD_3OD) Literatura (Alpan <i>et al.</i> , 2007)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,97	d	2H	7,8	6,93	d	2H	8,6
7,18	sl	2H	---	7,21	dd	2H	6,2 / 3,1
7,57	sl	2H	---	7,55	dd	2H	6,3 / 3,1
8,06	d	2H	7,6	7,93	d	2H	9,0

Tabela 29 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Alpan *et al.*, 2007)

RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 76, pág. 157	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, CD_3OD) Literatura (Alpan <i>et al.</i> , 2007)
δ (ppm): 114,9; 116,2; 121,0; 122,3; 128,1; 128,7; 139,3; 152,1; 159,7	δ (ppm): 115,7; 120,9; 122,4; 128,3; 138,9; 152,7; 159,8

2.2.11 – 2-(3-Hidroxifenil)-1H-benzimidazol (11)

Aspecto físico: Sólido amarelo.

TF: 224,6-225,8°C.

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 80, pág. 158): 3442 (f), 3234 (m), 3058 (m), 1618 (m), 1588 (F), 1468 (F), 1448 (F), 1244 (F), 888 (m), 740 (F).

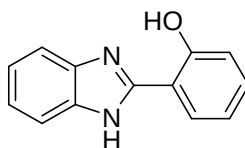
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 211,0871, encontrado: 211,0799.

Tabela 30 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Chari *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 78, pág. 157				RMN de ^1H (a 400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Chari <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,95	d	1H	7,4	6,90	d	1H	9,0
7,24	sl	2H	---	7,20	t	2H	9,0
7,37	t	1H	7,4	7,32-7,37	m	1H	---
7,65	sl	4H	---	7,50-7,70	m	4H	---
9,61	sl	2H	---	9,75	sl	1H	---
---	---	---	---	12,83	sl	1H	---

Tabela 31 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Khan *et al.*, 2009)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 79, pág. 158	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Khan <i>et al.</i> , 2009)
δ (ppm): 113,5; 114,9; 117,4; 122,5; 130,1; 130,6; 138,5; 151,1; 157,8	δ (ppm): 114,1; 115,5; 117,6; 118,0; 122,6; 130,4; 131,7; 139,6; 152,2; 158,3

2.2.12 – 2-(2-Hidroxifenil)-1H-benzimidazol (12)

Aspecto físico: Sólido amarelo.

TF: 233,7-234,9°C [Literatura: 231,0-233,0°C (Khosravi e Kazemi, 2012)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 83, pág. 160): 3324 (m), 3240 (m), 3058 (f), 1630 (m), 1590 (m), 1490 (F), 1260 (F), 840 (m), 740 (F).

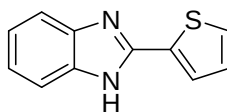
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 211,0871, encontrado: 211,0797.

Tabela 32 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Sarikaya *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 81, pág. 159				RMN de ^1H (a 400 MHz, CD_3OD) (Sarikaya <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,98-7,07	m	2H	---	7,02	td	1H	7,8 / 1,2
				7,04	d	1H	8,2
7,26-7,42	m	3H	---	7,29	m	2H	6,3 / 3,1
				7,39	td	1H	8,2 / 1,6
7,67	sl	2H	---	7,66	m	2H	---
8,08	d	1H	7,8	8,06	dd	1H	7,8 / 1,2
13,22	s	1H	---	13,15	s	1H	---

Tabela 33 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Coban *et al.*, 2009)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 82, pág. 159	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, CD_3OD) (Literatura: Coban <i>et al.</i> , 2009)
δ (ppm): 112,6; 117,1; 119,1; 122,8; 126,2; 131,7; 151,7; 158,0	δ (ppm): 113,3; 117,9; 119,8; 123,5; 126,9; 132,4; 152,4; 158,7

2.2.13 – 2-(2-Tienil)-1H-benzimidazol (13)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 335,1-336,5°C [Literatura: 342,0-343,0°C (Kim *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 86, pág. 161): 3046 (m), 2672 (F), 1622 (f), 1570 (F), 1450 (F), 1426 (F), 1234 (F), 1096 (m), 1074 (m), 944 (F), 744 (F), 704 (F).

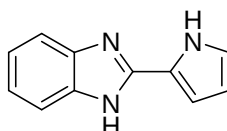
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 201,0486, encontrado: 201,0428.

Tabela 34 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 84, pág. 160				RMN de ^1H (a 300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,22	sl	3H	---	7,14-7,24	m	3H	---
7,57	sl	2H	---	7,50	dd	1H	6,9 / 2,1
				7,59-7,62	m	1H	---
7,71	d	1H	4,6	7,72	dd	1H	5,0 / 1,1
7,84-7,87	m	1H	---	7,83	dd	1H	3,6 / 1,2
12,98	sl	1H	---	12,94	s	1H	---

Tabela 35 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 85, pág. 161	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 122,1; 126,6; 128,2; 128,7; 133,7; 147,0	δ (ppm): 111,1; 118,5; 121,7; 122,6; 126,7; 128,3; 128,8; 133,7; 134,7; 143,6; 147,0

2.2.14 – 2-(2-Pirrol)-1H-benzimidazol (14)

PARTE EXPERIMENTAL

Aspecto físico: Sólido bege.

TF: 236,5-237,3°C.

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 89, pág. 163): 3064 (F), 2864 (m), 1628 (F), 1616 (F), 1522 (F), 1452 (F), 1272 (F), 1134 (F), 746 (F), 742 (F).

LCMS-IT-TOF para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3$ [$\text{M} + \text{H}$] $^{+}$: 184,0874, encontrado: 184,0816.

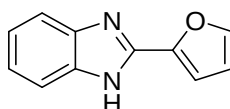
Tabela 36 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Trofimov *et al.*, 2009)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 87, pág. 162				RMN de ^1H (a 400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Trofimov <i>et al.</i> , 2009)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,25	sl	1H	---	6,58	dd	1H	8,8 / 3,8
6,99	d	2H	9,00	6,80	d	1H	8,8
				7,22	m	2H	---
7,19	sl	2H	---	7,33	d	1H	3,8
7,54	sl	2H	---	7,48	m	2H	---
8,64	sl	1H	---	9,76	sl	2H	---
11,94	s	1H	---				

Tabela 37 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Trofimov *et al.*, 2009)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 88, pág. 162	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Trofimov <i>et al.</i> , 2009)
δ (ppm): 109,6; 110,2; 114,1; 121,5; 122,0; 122,2; 137,9; 149,2.	δ (ppm): 101,3; 108,5; 114,3; 114,6; 114,7; 117,8; 119,4; 119,6; 135,0; 136,6; 145,1

2.2.15 – 2-(2-Furanil)-1H-benzimidazol (15)



Aspecto físico: Sólido marrom.

TF: 277,4-278,2°C [Literatura: 285,0-287,0°C (Kim *et al.*, 2011)].

PARTE EXPERIMENTAL

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 92, pág. 164): 3060 (m), 2664 (m), 1630 (m), 1526 (m), 1418 (F), 1280 (m), 1236 (m), 990 (m), 738 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 185,0715, encontrado: 185,0653.

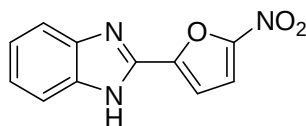
Tabela 38 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Chen e Dong, 2012)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 90, pág. 163				RMN de ^1H (a 300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Chen e Dong, 2012)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,71	s	1H	---	6,73-6,74	m	1H	---
7,22	sl	3H	---	7,19-7,22	m	3H	---
7,59	sl	2H	---	7,57	s	2H	---
7,93	s	1H	---	7,95	d	1H	1,2
12,94	sl	1H	---	12,93	s	1H	---

Tabela 39 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 91, pág. 164	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 110,5; 112,3; 122,2; 143,7; 144,6; 145,6	δ (ppm): 110,5; 111,4; 112,3; 118,7; 121,8; 122,4; 134,2; 143,6; 144,6; 145,6

2.2.16 – 2-(5-Nitro-2-furanil)-1H-benzimidazol (16)



Aspecto físico: Sólido marrom esverdeado.

TF: 214,0-215,6°C [Literatura: 225,0-226,0°C (Moraski *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 95, pág. 166): 2360 (f), 1549 (f), 1516 (m), 1491 (m), 1340 (F), 1024 (F), 912 (m), 810 (m), 750 (F), 737 (F).

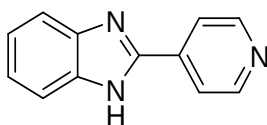
RMN de ^{13}C (a 50MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ (ppm), Figura 94, pág. 165): δ 112,1; 112,9; 115,0; 119,4; 122,7; 124,0; 134,5; 140,9; 143,5; 147,4; 151,7.

LCMS-IT-TOF calculado para $C_{11}H_8N_3O_3$ $[M + H]^+$: 230,0566, encontrado: 230,0463.

Tabela 40 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Moraski *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 93, pág. 165				RMN de ^1H (a 300 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Moraski <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,29	sl	2H	---	7,30	m	2H	---
7,46	d	1H	4,0	7,48	d	1H	3,7
7,63	sl	2H	---	7,66	m	2H	---
7,85	d	1H	3,8	7,91	d	1H	3,9
13,49	s	1H	---	---	---	---	---

2.2.17 – 2-(4-Piridil)-1H-benzimidazol (17)



Aspecto físico: Sólido creme.

TF: 217,0°C [Literatura: 218,0°C (Moorthy e Neogi, 2011)].

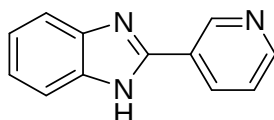
IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 98, pág. 167): 2887 (f), 1608 (m), 1585 (f), 1562 (f), 1435 (m), 1317 (m), 1286 (f), 1238 (f), 1215 (f), 999 (m), 827 (F), 737 (F), 690 (F).

RMN de ^{13}C (a 50MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 97, pág. 167): δ 116,1; 121,2; 123,7; 138,6; 139,4; 148,5; 149,5.

LCMS-IT-TOF calculado para $C_{12}H_{10}N_3$ $[M + H]^+$: 196,0869, encontrado: 196,0815.

Tabela 41 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Moorthy e Neogi, 2011)

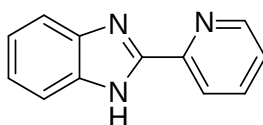
RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (a 400 MHz, Acetona- d_6)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 96, pág. 166				Literatura (Moorthy e Neogi, 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,28-7,31	m	2H	---	7,26-7,28	m	3H	---
7,67-7,80	m	3H	---	7,68	sl	2H	---
8,20	d	2H	5,2	8,11	dd	2H	---
8,81	d	2H	5,0	8,74	dd	2H	---

2.2.18 – 2-(3-Piridil)-1H-benzimidazol (**18**)**Aspecto físico:** Sólido amarelo.**TF:** 253,5-255,3°C [Literatura: 245,0-248,0°C (Nagawade e Shinde, 2007)]**IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 101, pág. 169):** 3044 (F), 2884 (F), 2794 (F), 1576 (m), 1490 (m), 1448 (F), 1430 (F), 1316 (F), 1228 (F), 962 (m), 812 (m), 754 (F), 744 (F), 712 (F), 700 (F).**LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$:** 196,0869, encontrado: 196,0804.**Tabela 42** – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Nagawade e Shinde, 2007)

RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (a 200 MHz, CD_3OD)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 99, pág. 168				Literatura (Nagawade e Shinde, 2007)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,23-7,25	m	2H	---	7,40	m	2H	---
7,56-7,65	m	3H	---	7,70	m	3H	---
8,51	td	1H	8,0 / 1,8	8,60	m	1H	---
8,68	dd	1H	4,8 / 1,6	8,75	dd	1H	---
9,36-9,39	m	1H	---	9,35	d	1H	---
13,11	s	1H	---	13,05	s	1H	---

Tabela 43 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Nagawade e Shinde, 2007)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 100, pág. 168	RMN de ^{13}C (a 50 MHz, CD $_3$ OD) Literatura (Nagawade e Shinde, 2007)
δ (ppm): 123,9; 126,1; 133,7; 147,5; 148,8; 150,4	δ (ppm): 112,1; 119,2; 121,3; 121,7; 123,1; 124,5; 134,9; 137,3; 143,8; 148,5; 149,2; 150,7

2.2.19 – 2-(2-Piridil)-1H-benzimidazol (**19**)

Aspecto físico: Sólido amarelo, recristalizado em tolueno.

TF: 217,3-219,9°C [Literatura: 216-219°C (Gogoi e Konwar, 2006)]

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 104, pág. 170): 2366 (f), 2345 (f), 1643 (f), 1599 (f), 1383 (m), 733 (F).

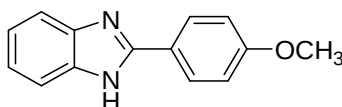
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 196,0869, encontrado: 196,0805.

Tabela 44 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Nikham e Fatehi-Raviz, 2007)

RMN de ^1H (a 400 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 102, pág. 169				RMN de ^1H (a 500 MHz, DMSO- d_6) (Literatura: Nikham e Fatehi-Raviz, 2007)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,19-7,27	m	2H	---	7,18-7,21	m	2H	---
7,46-7,49	m	1H	---	7,50	t	1H	6,5
7,58	d	1H	7,6	7,60-7,61	m	2H	---
7,73	d	1H	7,6				
7,97	td	1H	7,6 / 1,6	7,98	t	1H	7,7
8,37	d	1H	7,6	8,31	d	1H	7,7
8,69-8,72	m	1H	---	8,71	d	1H	4,5
13,13	s	1H	---	13,04	sl	1H	---

Tabela 45 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Quezada-Buendía *et al.*, 2008)

RMN de ^{13}C (a 100 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 103, pág. 170	RMN de ^{13}C (a 125 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Quezada-Buendía <i>et al.</i> , 2008)
δ (ppm): 112,0; 119,2; 121,3; 121,8; 123,0; 124,6; 134,9; 137,4; 143,8; 148,5; 149,2; 150,7	δ (ppm): 112,1; 119,3; 121,4; 121,9; 123,1; 124,7; 134,9; 137,5; 143,9; 148,5; 149,3; 150,7

2.2.20 – 2-(4-Metoxifenil)-1*H*-benzimidazol (**20**)

Aspecto físico: Sólido creme, recristalizado em tolueno.

TF: 222,0-224,4°C [Literatura 220,0-221,0°C (Kumar *et al.*, 2013)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 107, pág. 172): 3054 (f), 2922 (f), 2838 (f), 1612 (F), 1500 (F), 1436 (F), 1254 (F), 1178 (m), 1032 (m), 966 (m), 844 (f), 746 (F).

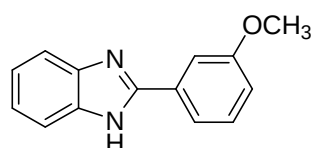
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 225,1028, encontrado: 225,0947.

Tabela 46 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 105, pág. 171				RMN de ^1H (a 300 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
3,83	s	3H	---	3,84	s	3H	---
7,09-7,19	m	4H	---	7,09-7,13	m	2H	---
				7,14-7,20	m	2H	---
7,58	sl	2H	---	7,54-7,57	m	2H	---
8,15	d	2H	7,6	8,09-8,14	m	2H	---
12,78	sl	1H	---	12,74	sl	1H	---

Tabela 47 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 106, pág. 171	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 55,2; 114,3; 121,7; 122,7; 125,2; 128,0; 128,1; 128,8; 151,3; 160,5	δ (ppm): 55,3; 114,4; 121,8; 122,7; 128,0; 151,3; 160,6

2.2.21 – 2-(3-Metoxifenil)-1H-benzimidazol (**21**)

Aspecto físico: Sólido amarelo.

TF: 208,9-210,1°C [Literatura 210,0°C (López *et al.*, 2009)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 110, pág. 173): 3072 (m), 2972 (m), 1606 (m), 1590 (m), 1464 (F), 1436 (F), 1236 (F), 1034 (F), 868 (m), 746 (F).

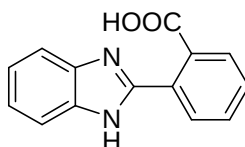
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 225,1028, encontrado: 225,0945.

Tabela 48 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Savall e Fontimayor, 2008)

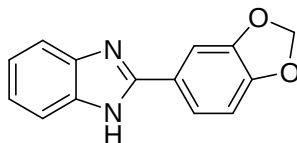
RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 108, pág. 172				RMN de ^1H (a 400 MHz, CD_3OD) Literatura (Savall e Fontimayor, 2008)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
3,86	s	3H	---	3,89	s	3H	---
7,05	d	1H	7,8	7,06	dd	1H	8,3 / 2,5
7,20-7,24	m	2H	---	7,26	dd	2H	6,1 / 3,1
7,46	t	1H	8,2	7,43	t	1H	8,0
7,64	sl	2H	---	7,57-7,64	m	2H	
7,81-7,84	m	2H	---	7,63-7,71	m	2H	---
12,99	s	1H	---	---	---	---	---

Tabela 49 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Savall e Fontimayor, 2008)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 109, pág. 173	RMN de ^{13}C (a 100 MHz, CD_3OD) Literatura (Savall e Fontimayor, 2008)
δ (ppm): 55,2; 111,4; 115,8; 118,7; 122,0; 122,4; 130,1; 131,5; 135,0; 143,6; 143,8; 151,1; 159,6	δ (ppm): 56,3; 111,0; 113,3; 114,7; 117,8; 120,0; 120,4; 123,5; 124,4; 125,2; 131,6; 132,6; 153,7; 162,1

2.2.22 – 2-(2-Carboxifenil)-1*H*-benzimidazol (**22**)**Aspecto físico:** Sólido amarelo claro.**TF:** 256,5-257,5°C.**IV** ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (**Figura 6, pág. 17**): 3068 (f), 2926 (m), 2742 (m), 1642 (m), 1598 (F), 1516 (m), 1434 (m), 1384 (F), 1224 (m), 868 (m), 846 (m), 734 (F), 692 (m).**RMN de ^{13}C (50MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 13, pág. 22):** δ 115,5; 122,4; 130,0; 130,4; 130,5; 131,3; 133,7; 139,2; 151,7; 169,2.**LCMS-IT-TOF para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$:** 239,0820, encontrado: 239,0730.**Tabela 50** – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Tiwari e Mishra, 2006)

RMN de ^1H (a 200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 12, pág. 21				RMN de ^1H (a 300 MHz, CD_3OD) Literatura (Tiwari e Mishra, 2006)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
---	---	---	---	3,10	s	1H	---
7,21-7,26	m	2H	---	---	---	---	---
7,57-7,71	m	4H	---	7,30	m	4H	---
7,82-7,90	m	2H	---	7,80	m	5H	---
10,83	sl	2H	---	---	---	---	---

2.2.23 – 2-(1,3-Benzodioxol-5-il)-1H-benzimidazol (23).

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 249,0-250,4°C [Literatura 240,0°C (Kim *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 113, pág. 175): 3050 (f), 2990 (f), 2880 (m), 2646 (m), 1620 (f), 1592 (f), 1472 (F), 1452 (F), 1246 (F), 1228 (F), 1038 (F), 934 (m), 816 (F), 748 (F), 742 (F).

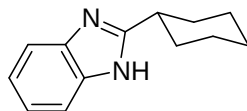
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 239,0820, encontrado: 239,0733.

Tabela 51 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 111, pág. 174				RMN de ^1H (a 300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,12	s	2H	---	6,12	s	2H	---
7,07-7,19	m	3H	---	7,08-7,18	m	3H	---
7,58	sl	2H	---	7,50	sl	1H	---
				7,62	sl	1H	---
7,72-7,76	m	2H	---	7,69-7,75	m	2H	---
12,77	sl	1H	---	12,75	sl	1H	---

Tabela 52 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Kim *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (a 50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 112, pág. 174	RMN de ^{13}C (a 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Literatura (Kim <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 101,5; 106,4; 108,7; 120,8; 121,9; 121,9; 124,2; 147,8; 148,7; 151,1	δ (ppm): 101,6; 106,5; 108,8; 111,3; 118,5; 120,9; 122,0; 124,3; 135,1; 143,8; 147,9; 148,8; 151,2

2.2.24 – 2-Cicloexil-1H-benzimidazol (24)

Aspecto físico: Sólido creme, recristalizado em tolueno.

TF: 281,5-283,4°C [Literatura 282,0°C (Nagawade e Shinde, 2007)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 116, pág. 176): 3054 (m), 2928 (F), 2852 (F), 1624 (f), 1592 (f), 1456 (F), 1422 (F), 1274 (F), 988 (m), 736 (F).

RMN de ^{13}C (a 50MHz, Piridina- d_5 , δ (ppm), Figura 115, pág. 176): δ 26,6; 32,7; 39,4; 115,8; 124,2; 136,3; 150,6; 160,4.

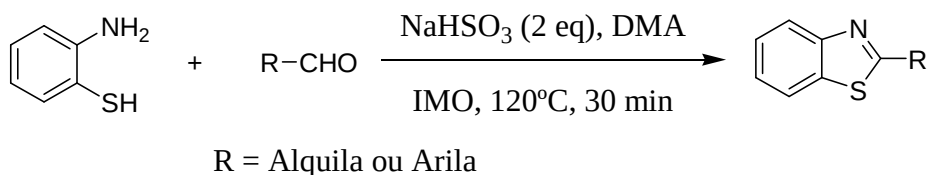
LCMS-IT-TOF para $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 201,1391, encontrado: 201,1315.

Tabela 53 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Moorthy e Neogi, 2011)

RMN de ^1H (a 200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 114, pág. 175				RMN de ^1H (a 400 MHz, $\text{Acetona}-d_6$) Literatura (Moorthy e Neogi, 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
1,20-2,05	m	10H	---	1,29-1,49	m	2H	---
				1,64-1,74	m	2H	---
				1,82-1,86	m	2H	---
				2,03-2,11	m	3H	---
2,78-2,89	m	1H	---	2,87-2,95	m	2H	---
7,10-7,11	m	2H	---	7,09-7,12	m	2H	---
7,46	sl	2H	---	7,45-7,46	m	2H	---
12,15	sl	1H	---	---	---	---	---

2.3 – Procedimento geral para a síntese dos benzotiazóis

Os benzotiazóis sintetizados neste trabalho foram obtidos reagindo-se o *o*-aminotiofenol com uma variedade de aldeídos (Esquema 18).

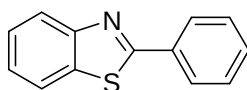


Esquema 18 – Síntese dos derivados benzotiazóis.

O bissulfito de sódio (NaHSO_3) (10,0 mmol) foi pesado num balão de fundo redondo de 10 mL, onde adicionaram-se 2 mL de dimetilacetamida (DMA) e o *o*-aminotiofenol (5,0 mmol). Em seguida, o aldeído (5,5 mmol) foi adicionado e a mistura de reação foi colocada sob irradiação de micro-ondas (IMO) em sistema aberto a 120°C com potência máxima de 200 watts, tempo de rampa de 2 min e de reação de 30 min, sob resfriamento. Após o término da reação, esta foi resfriada até atingir a temperatura ambiente e vertida em água gelada. O sólido formado foi filtrado sob pressão reduzida e, quando necessário, recristalizado.

2.4 – Caracterização dos benzotiazóis

2.4.1 – 2-Fenilbenzotiazol (25)



Aspecto físico: Sólido branco.

TF: 109,1-110,4°C [Literatura: 112-113°C (Londhe *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 5, pág. 16): 3062 (f), 1510 (f), 1478 (F), 1432 (F), 1312 (m), 1224 (m), 962 (F), 766 (F), 730 (m), 686 (F).

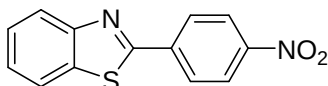
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{NS}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 212,0528, encontrado: 212,0477.

Tabela 54 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 14, pág. 23				Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,40-7,56	m	5H	---	7,40	m	1H	---
				7,43-7,58	m	4H	---
8,05-8,11	m	4H	---	7,90	dd	1H	4,6 e 4,0
				8,03-8,18	m	3H	---

Tabela 55 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 15, pág.24	Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)
δ (ppm): 122,1; 122,8; 125,4; 126,5; 127,1; 129,2; 131,2; 132,7; 134,4; 153,5; 167,1	δ (ppm): 121,7; 123,3; 125,3; 126,4; 127,6; 129,1; 131,1; 133,7; 135,1; 154,2; 168,2

2.4.2 – 2-(4-Nitrofenil)benzotiazol (26)

Aspecto físico: Sólido amarelo, recristalizado em acetato de etila.

TF: 229,5-230,9°C [Literatura: 230,0-231,0°C (Londhe *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 119, pág. 178): 3088 (f), 3062 (f), 2990 (f), 2936 (f), 2844 (f), 1606 (m), 1596 (m), 1522 (F), 1342 (F), 1312 (F), 1108 (m), 970 (m), 852 (F), 766 (F).

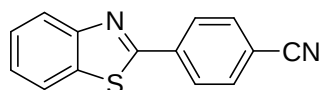
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 257,0356, encontrado: 257,0325.

Tabela 56 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 117, pág. 177				Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,47	t	1H	7,5	7,47	t	1H	7,5
7,57	t	1H	7,1	7,56	t	1H	7,2
7,97	d	1H	7,8	7,96	d	1H	7,9
8,14	d	1H	8,0	8,14	d	1H	8,1
8,27	d	2H	8,9	8,27	d	2H	8,8
8,36	d	2H	8,9	8,35	d	2H	8,8

Tabela 57 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 118, pág. 177	Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 121,8; 124,0; 124,3; 126,2; 126,9; 128,3; 135,6; 139,2; 149,1; 154,2; 164,8	δ (ppm): 121,8; 123,9; 124,3; 126,2; 126,9; 128,2; 135,5; 139,1; 149,0; 154,1; 164,8

2.4.3 – 2-(4-Cianofenil)benzotiazol (27)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro, recristalizado em etanol.

TF: 167,8-168,9°C [Literatura: 169,0-172,0°C (Weekes *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 122, pág. 179): 3062 (f), 2992 (f), 2226 (m), 1606 (f), 1558 (f), 1480 (m), 1406 (m), 1314 (m), 1250 (m), 968 (F), 838 (F), 764 (F).

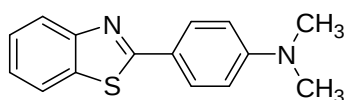
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 237,0481, encontrado: 237,0407

Tabela 58 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 120, pág. 178				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,51	sl	2H	---	7,46	t	1H	8,2
				7,55	t	1H	8,2
7,92-8,14	m	6H	---	7,77	d	2H	7,6
				7,93	d	1H	8,0
				8,11	d	1H	8,0
				8,19	d	2H	7,6

Tabela 59 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 121, pág.179	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 113,2; 118,2; 122,4; 123,2; 126,1; 126,8; 127,6; 133,1; 134,8; 136,5; 153,3; 165,1	δ (ppm): 114,1; 118,3; 121,8; 123,8; 126,1; 126,8; 127,9; 132,7; 135,3; 137,4; 154,0; 165,3

2.4.4 – 2-(4-*N,N*-Dimetilaminofenil)benzotiazol (28)

Aspecto físico: Sólido amarelo, recristalizado em etanol.

TF: 168,2-169,9°C [Literatura: 171,3-172,2°C (Wang *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 125, pág. 181): 3052 (m), 3028 (f), 2900 (m), 2814 (m), 1610 (F), 1554 (F), 1484 (F), 1430 (F), 1368 (F), 1314 (F), 1226 (F), 1188 (F), 818 (F), 752 (F), 720 (F).

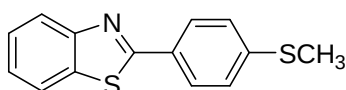
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 255,0956, encontrado: 255,0890.

Tabela 60 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 123, pág. 180				Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
3,03	s	6H	---	3,05	s	6H	---
6,73	d	2H	8,8	6,75	dd	2H	7,1 / 1,9
7,29	t	1H	8,0	7,33	t	1H	7,8
7,43	t	1H	7,6	7,43	t	1H	8,0
7,83	d	1H	8,0	7,85	d	1H	7,6
7,92-8,00	m	3H	---	7,96-8,02	m	3H	---

Tabela 61 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 124, pág.180	Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 40,1; 111,8; 121,3; 121,6; 122,3; 124,1; 125,9; 128,9; 134,7; 152,3; 154,5; 168,7	δ (ppm): 40,1; 111,7; 121,3; 122,3; 124,2; 126,0; 128,9; 134,5; 152,3; 154,4; 168,8

2.4.5 – 2-(4-Metiltiofenil)benzotiazol (29)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro, recristalizado em etanol.

TF: 146,3-147,6°C [Literatura: 142,0-144,0°C (Park *et al.*, 2012b)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 128, pág. 182): 3052 (f), 2986 (f), 2918 (f), 1654 (f), 1596 (m), 1474 (F), 1434 (F), 1310 (m), 1230 (m), 1094 (F), 960 (F), 814 (F), 758 (F).

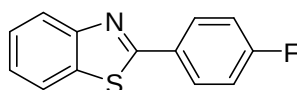
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NS}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 258,0411, encontrado: 258,0397.

Tabela 62 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 126, pág. 181				Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
2,54	s	3H	---	2,52	s	3H	---
7,30-7,53	m	4H	---	7,27-7,33	m	2H	---
				7,36	ddd	1H	8,0/7,2/1,2
				7,47	m	1H	---
7,89	d	1H	7,4	7,86	ddd	1H	7,9/1,3/0,6
7,98-8,07	m	3H	---	7,94-8,02	m	2H	---
				8,05	ddd	1H	8,2/1,2/0,6

Tabela 63 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 127, pág.182	Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)
δ (ppm): 15,3; 121,5; 123,1; 125,1; 126,2; 126,3; 127,8; 130,3; 135,0; 142,8; 154,3; 167,5	δ (ppm): 15,2; 121,6; 123,0; 125,1; 125,9; 126,3; 127,8; 130,1; 134,9; 142,8; 154,2; 167,6

2.4.6 – 2-(4-Fluorofenil)benzotiazol (**30**)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro, recristalização em etanol.

TF: 93,8-95,9°C [Literatura: 96,7-98,3°C (Wang *et al.*, 2011)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 131, pág. 184): 3052 (m), 3028 (m), 2990 (f), 1604 (F), 1520 (F), 1480 (F), 1434 (F), 1314 (F), 1228 (F), 968 (F), 836 (F), 756 (F), 728 (F).

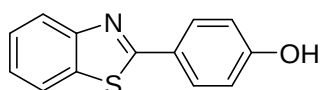
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FNS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 230,2801 encontrado: 230,2770.

Tabela 64 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 129, pág. 183				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,33-7,57	m	4H	---	7,18	t	2H	8,6
				7,40	t	1H	7,5
				7,49	t	1H	7,6
8,02-8,15	m	4H	---	7,89	d	1H	8,0
				8,06-8,11	m	3H	---

Tabela 65 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 130, pág.183	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 116,2 (d); 122,2; 122,7; 125,4; 126,6; 129,4 (d); 134,5; 153,4; 161,3; 166,0; 166,3	δ (ppm): 116,1 (d); 121,6; 123,2; 125,2; 126,4; 129,5 (d); 129,9; 135,0; 154,1; 164,4 (d); 166,7

2.4.7 – 2-(4-Hidroxifenil)benzotiazol (31)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 224,1-225,9°C [Literatura: 227,0°C (Sharghi e Asemani., 2009)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 134, pág. 185): 3054 (m), 2994 (m), 2796 (m), 2590 (m), 1606 (F), 1586 (F), 1432 (F), 1284 (F), 1224 (F), 976 (F), 826 (F), 756 (F), 724 (F).

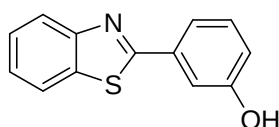
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 228,0478, encontrado: 228,0389.

Tabela 66 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 132, pág. 184				RMN de ^1H (300 MHz, CD_3COD_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,95	sl	2H	---	7,01	d	2H	8,6
7,37-7,50	m	2H	---	7,39	t	1H	7,6
				7,50	t	1H	7,3
7,94-8,04	m	4H	---	7,95-8,02	m	4H	---
---	---	---	---	9,08	s	1H	---

Tabela 67 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 133, pág.185	RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3COD_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 116,1; 122,0; 122,2; 123,9; 124,8; 126,3; 129,0; 134,1; 153,7; 160,7; 167,4	δ (ppm): 115,9; 121,7; 122,5; 124,8; 126,2; 129,1; 134,7; 154,4; 160,3; 167,5

2.4.8 – 2-(3-Hidroxifenil)benzotiazol (32)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

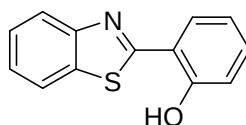
TF: 167,2-168,0°C [Literatura: 169°C (Sharghi e Arsemani, 2009)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 137, pág. 187): 3058 (F), 2698 (m), 2564 (m), 1600 (F), 1480 (F), 1446 (F), 1294 (F), 1270 (F), 1242 (F), 996 (F), 886 (F), 760 (F).

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 135, pág. 186): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento (J/Hz)): 6,99 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz); 7,32-7,55 (m, 5H); 8,07 (t, 2H, $J = 8,3$ Hz); 9,89 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 136, pág. 186): δ 113,4; 118,0; 118,4; 122,1; 122,8; 125,3; 126,5; 130,4; 134,0; 134,3; 153,4; 157,9; 167,3.

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 228,0478, encontrado: 228,0398.

2.4.9 – 2-(2-Hidroxifenil)benzotiazol (33)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 126,7-127,1°C [Literatura: 127,0-128,0°C (Sharghi e Asemani, 2009)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 140, pág. 188): 3058 (f), 2996 (f), 2938 (f), 1624 (F), 1590 (F), 1488 (F), 1316 (F), 1272 (F), 1220 (F), 974 (F), 818 (F), 756 (F), 742 (F).

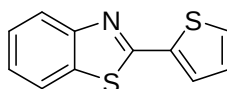
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^{+}$: 228,0478, encontrado: 228,0388.

Tabela 68 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Liu *et al.*, 2013)

RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 138, pág. 187				RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) Literatura (Liu <i>et al.</i> , 2013)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,97-7,12	m	2H	---	6,94	d	1H	8,3
				7,13	t	1H	7,5
7,37-7,57	m	3H	---	7,33-7,42	m	2H	---
				7,48	t	1H	7,6
8,04-8,17	m	3H	---	7,65	dd	1H	7,8/1,0
				7,85	d	1H	7,9
				7,96	d	1H	8,1
11,67	sl	1H	---	12,53	s	1H	---

Tabela 69 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Liu *et al.*, 2013)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 139, pág.188	RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) Literatura (Liu <i>et al.</i> , 2013)
δ (ppm): 116,9; 118,2; 119,6; 121,9; 122,0; 125,0; 126,4; 128,4; 132,4; 134,1; 151,3; 156,4; 165,3	δ (ppm): 116,6; 117,7; 119,4; 121,3; 122,0; 125,4; 126,5; 128,3; 132,4; 132,6; 151,7; 157,8; 169,2

2.4.10 – 2-(2-Tienil)benzotiazol (34)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 92,4-94,1°C [Literatura: 92,0-94,0°C (Park *et al.*, 2012b)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 143, pág. 190): 3096 (f), 3056 (f), 1542 (F), 1476 (F), 1312 (F), 1222 (F), 912 (F), 852 (F), 826 (F), 762 (F), 714 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{NS}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 218,0093, encontrado: 217,9985.

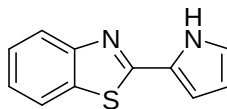
Tabela 70 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^1H : Figura 141, pág. 189				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,20-7,24	m	1H	---	7,13	dd	1H	5,1/3,7
7,38-7,55	m	2H	---	7,37	ddd	1H	8,0/7,3/1,2
7,80-7,86	m	2H	---	7,45-7,52	m	2H	---
				7,65	dd	1H	3,7/1,1
7,97-8,09	m	2H	---	7,85	ddd	1H	7,9/1,3/0,6
				8,04	ddd	1H	8,2/1,2/0,6

Tabela 71 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Park *et al.*, 2012b)

RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 142, pág.189	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) Literatura (Park <i>et al.</i> , 2012b)
δ (ppm): 122,2; 122,4; 125,4; 126,6; 128,6; 129,5; 130,7; 134,1; 136,3; 153,0; 160,8	δ (ppm): 121,5; 123,0; 125,3; 126,5; 128,1; 128,7; 129,4; 134,7; 137,4; 153,7; 161,4

2.4.11 – 2-(2-Pirrol)benzotiazol (35)



Aspecto físico: Sólido marrom.

TF: 153,4-155,3°C [Literatura: 158,0-160,0°C (George e Papadopoulos, 1977)].

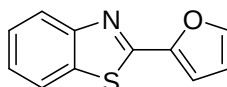
IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 146, pág. 191): 3154 (F), 3124 (F), 3006 (m), 2860 (m), 1610 (f), 1572 (F), 1488 (F), 1440 (F), 1398 (F), 1102 (F), 912 (F), 762 (F), 740 (F).

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 144, pág. 190): δ (multiplicidade, integração, constante de acoplamento (J/Hz)): 6,24 (s1, 1H); 6,85 (s1, 1H); 7,05 (s1, 1H); 7,35-7,47 (m, 2H); 7,89-8,01 (m, 2H); 12,12 (s, 1H).

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm), Figura 145, pág. 191): δ 110,0; 112,3; 121,5; 121,9; 123,1; 124,3; 125,5; 126,2; 133,4; 153,4; 159,8.

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 201,0481, encontrado: 201,0402.

2.4.12 – 2-(2-Furanil)benzotiazol (36)



Aspecto físico: Sólido marrom.

TF: 102,2-104,0°C [Literatura: 102,0-103,0°C (Londhe *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 149, pág. 193): 3144 (f), 3122 (f), 3050 (f), 1598 (m), 1578 (m), 1434 (F), 1246 (F), 1014 (F), 898 (F), 748 (F), 730 (F).

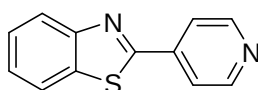
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 202,0321, encontrado: 202,0281.

Tabela 72 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 147, pág. 192				Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,76-6,78	m	1H	---	6,58-6,60	m	1H	---
7,34-7,57	m	3H	---	7,19-7,20	m	1H	---
				7,37	t	1H	---
				7,49	t	1H	8,0
7,99-8,03	m	2H	---	7,59-7,61	m	1H	---
				7,87	d	1H	8,1
8,11	d	1H	7,8	8,06	d	1H	8,2

Tabela 73 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 148, pág.192	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 111,8; 113,0; 122,2; 122,6; 125,3; 126,7; 133,6; 146,0; 147,9; 153,3; 156,7	δ (ppm): 111,4; 112,5; 121,5; 123,1; 125,2; 126,5; 134,3; 144,7; 148,7; 153,7; 157,5

2.4.13 – 2-(4-Piridil)benzotiazol (37)

Aspecto físico: Sólido bege.

TF: 129,8-131,2°C [Literatura: 130,0-132,0°C (Gorepatil *et al.*, 2013)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 152, pág. 194): 3052 (f), 3026 (f), 2984 (f), 1598 (F), 1588 (F), 1476 (F), 1406 (F), 1312 (F), 1256 (m), 980 (F), 756 (F), 704 (F).

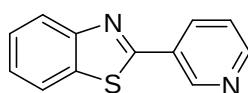
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 213,0481, encontrado: 213,0422.

Tabela 74 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Gorepatil *et al.*, 2013)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 150, pág. 193				Literatura (Gorepatil <i>et al.</i> , 2013)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,59	sl	2H	---	7,44-7,50	m	2H	---
8,01-8,20	m	4H	---	7,57	t	1H	8,1
				8,01	d	1H	7,9
				8,13	d	1H	8,2
				8,40	td	1H	8,0/1,7
8,80	sl	2H	---	8,73	dd	2H	4,8/1,7

Tabela 75 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Gorepatil *et al.*, 2013)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6)	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 151, pág.194	Literatura (Gorepatil <i>et al.</i> , 2013)
δ (ppm): 120,8; 122,5; 123,4; 126,2; 126,9; 134,7; 139,4; 150,8; 153,2; 164,8.	δ (ppm): 121,8; 123,3; 123,8; 125,6; 129,6; 134,4; 135,1; 148,5; 154,0; 164,7

2.4.14 – 2-(3-Piridil)benzotiazol (38)

Aspecto físico: Sólido amarelo claro, recristalizado em etanol.

TF: 124,4-125,7°C [Literatura: 137,0-138°C (Deligeorgiev, 1990)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 155, pág. 196): 3050 (f), 3032 (f), 1586 (m), 1574 (m), 1426 (F), 1310 (F), 1234 (m), 964 (F), 814 (m), 766 (F), 702 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 213,0481, encontrado: 213,0399.

Tabela 76 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Kundu *et al.*, 2010)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 153, pág. 195				Literatura (Kundu <i>et al.</i> , 2010)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
7,44-7,62	m	3H	---	7,39-7,45	m	2H	---
				7,52	m	1H	---
8,09	d	1H	7,8	7,92	d	1H	7,7
8,16	d	1H	7,4	8,10	d	1H	8,1
8,41	d	1H	7,8	8,37	m	1H	---
8,74	d	1H	3,8	8,71	dd	1H	4,8/1,4
9,25	sl	1H	---	9,29	d	1H	2,1

Tabela 77 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura ((Billeau *et al.*, 2006)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 154, pág.195	RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Billeau <i>et al.</i> , 2006)
δ (ppm): 122,4; 123,0; 124,2; 125,8; 126,7; 128,8; 134,4; 134,5; 147,6; 151,8; 153,3; 164,4	δ (ppm): 122,7; 123,3; 124,6; 126,1; 127,1; 129,1; 134,9; 147,9; 152,1; 153,6; 164,7

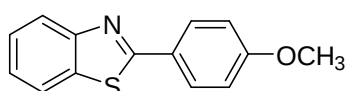
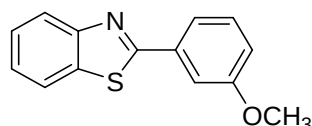
2.4.15 – 2-(4-Metoxifenil)benzotiazol (39)**Aspecto físico:** Sólido bege.**TF:** 117,7-119,3°C [Literatura: 119,0-120,0°C (Londhe *et al.*, 2010)].**IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 158, pág. 197):** 3062 (f), 2928 (F), 2852 (F), 1594 (f), 1560 (f), 1516 (F), 1438 (F), 1314 (m), 1246 (m), 992 (m), 758 (F), 730 (F).**LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$:** 242,0634, encontrado: 242,0688.

Tabela 78 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 156, pág. 196				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
3,83	s	3H	---	3,89	s	3H	---
7,08	d	2H	8,4	7,01	dd	2H	6,8/2,1
7,37-7,54	m	2H	---	7,37	t	1H	8,0
				7,47	t	1H	7,5
7,99-8,08	m	4H	---	7,88	d	1H	8,0
				8,03-8,06	m	3H	---

Tabela 79 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 157, pág.197	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 55,3; 114,6; 122,0; 122,4; 124,9; 125,4; 126,4; 128,7; 134,1; 153,6; 161,7; 166,9	δ (ppm): 55,4; 114,4; 121,5; 122,8; 124,8; 126,2; 126,4; 129,1; 134,9; 154,2; 161,9; 167,9

2.4.16 – 2-(3-Metoxifenil)benzotiazol (**40**)

Aspecto físico: Sólido bege.

TF: 79,2-81,3°C [Literatura: 80,0-81,0°C (Weekes *et al.*, 2010)].

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 161, pág. 199): 3078 (m), 3060 (m), 2962 (m), 2934 (m), 2834 (m), 1606 (F), 1582 (F), 1512 (F), 1430 (F), 1314 (F), 1290 (m), 996 (F), 900 (F), 762 (F), 728 (F).

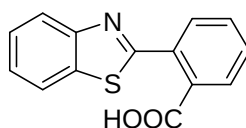
LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NOS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 242,0634, encontrado: 242,0703.

Tabela 80 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Yamamoto *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 159, pág. 198				RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) Literatura (Yamamoto <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
3,38	s	3H	---	3,92	s	3H	---
7,10-7,16	m	1H	---	7,04	dd	1H	8,3/2,0
7,41-7,54	m	3H	---	7,37-7,41	m	2H	---
				7,49	t	1H	7,6
7,57-7,64	m	2H	---	7,64	d	1H	7,6
				7,68	s	1H	---
8,09	t	2H	7,4	7,90	d	1H	8,3
				8,07	d	1H	8,3

Tabela 81 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Yamamoto *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 160, pág.198	RMN de ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) Literatura (Yamamoto <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 55,2; 111,5; 117,2; 119,7; 122,2; 122,8; 125,4; 126,5; 130,4; 134,1; 134,4; 153,4; 159,6; 167,0	δ (ppm): 55,5; 112,0; 117,3; 120,2; 121,6; 123,2; 125,2; 126,3; 130,0; 134,9; 135,0; 154,0; 160,0; 167,9

2.4.17 – 2-(2-Carboxifenil)benzotiazol (**41**)**Aspecto físico:** Sólido amarelo.**TF:** 179,3-180,7°C [Literatura: 177,0-178,0°C (Baum e Chen, 1985)].**IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 7, pág. 17):** 3066 (m), 2866 (m), 2756 (m), 2582 (f), 2466 (f), 1702 (F), 1592 (m), 1438 (F), 1318 (m), 1254 (F), 1200 (F), 976 (F), 770 (F), 752 (F).

PARTE EXPERIMENTAL

LCMS-IT-TOF calculado para $C_{14}H_{10}NO_2S$ $[M + H]^+$: 256,0427, encontrado: 256,0321.

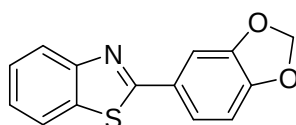
Tabela 82 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Chakraborti *et al.*, 2004)

RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^1H : Figura 8, pág. 18				RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Chakraborti <i>et al.</i> , 2004)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
---	---	---	---	4,26	sl	1H	---
7,45-7,62	m	2H	---	7,50-7,55	m	2H	---
7,65-7,85	m	4H	---	7,58-7,63	m	1H	---
				7,67-7,75	m	2H	---
				7,79-7,81	m	1H	---
8,05	d	1H	7,2	8,08	d	1H	7,9
8,17	d	1H	7,6	8,17	d	1H	7,9

Tabela 83 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Chakraborti *et al.*, 2004)

RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 10, pág.20	RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) Literatura (Chakraborti <i>et al.</i> , 2004)
δ (ppm): 122,1; 122,9; 125,4; 126,4; 129,2; 130,4; 131,0; 132,3; 133,2; 135,5; 153,1; 166,3; 168,7	δ (ppm): 122,1; 122,8; 125,4; 126,4; 129,2; 130,3; 130,4; 131,1; 132,2; 133,0; 135,4; 153,0; 166,4; 168,8

2.4.18 – 2-(1,3-Benzodioxol-5-il)benzotiazol (42)



Aspecto físico: Sólido amarelo claro.

TF: 118,4-120,0°C [Literatura: 125,0-126,0°C (Baum e Chen, 1985)].

PARTE EXPERIMENTAL

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (Figura 164, pág. 200): 3058 (f), 2996 (f), 2908 (f), 2784 (f), 1604 (m), 1512 (F), 1474 (F), 1442 (F), 1256 (F), 1032 (F), 928 (F), 882 (F), 806 (F), 756 (F), 728 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 256,0427, encontrado: 256,0366.

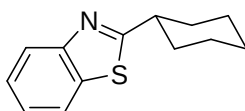
Tabela 84 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 162, pág. 199				Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
6,03	s	2H	---	6,05	s	2H	---
6,88	d	1H	8,4	6,90	d	1H	7,9
7,34	t	1H	7,5	7,38	t	1H	7,5
7,46	t	1H	7,7	7,46	t	1H	7,5
7.55-7.60	m	2H	---	7,58-7,62	m	2H	---
7,85	d	1H	7,6	7,87	d	1H	8,0
8,02	d	1H	7,6	8,03	d	1H	8,1

Tabela 85 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Wang *et al.*, 2011)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 163, pág. 200	Literatura (Wang <i>et al.</i> , 2011)
δ (ppm): 101,7; 107,5; 108,6; 121,4; 122,4; 122,9; 124,9; 126,2; 128,0; 134,8; 148,3; 150,0; 154,1; 167,5	δ (ppm): 101,7; 107,5; 108,6; 121,5; 122,5; 122,9; 124,9; 126,2; 128,0; 134,9; 148,4; 150,1; 154,1; 167,6

2.4.19 – 2-Cicloexil-benzotiazol (43)



Aspecto físico: Óleo amarelo claro, purificado por cromatografia em coluna utilizando o eluente hexano/acetona (8:2) [Literatura: óleo (Sung *et al.*, 2013)].

PARTE EXPERIMENTAL

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1} , KBr) (**Figura 167, pág. 202**): 3062 (f), 2928 (F), 2852 (F), 1516 (F), 1438 (F), 1314 (m), 1246 (m), 992 (m), 758 (F), 730 (F).

LCMS-IT-TOF calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NS}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 218,0998, encontrado: 218,0870.

Tabela 86 – Dados de RMN de ^1H comparados com a literatura (Sung *et al.*, 2013)

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3)				RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3)			
Espectro de RMN de ^1H : Figura 165, pág. 201				Literatura (Sung <i>et al.</i> , 2013)			
δ (ppm)	M	I	J (Hz)	δ (ppm)	M	I	J (Hz)
1,27-1,93	m	8H	---	1,20-1,41	m	3H	---
				1,52-1,70	m	3H	---
				1,78-1,82	m	2H	---
2,17-2,24	m	2H	---	2,14	d	2H	12,9
3,10	tt	1H	11,6 / 3,6	2,97-3,07	m	1H	---
7,32	dt	1H	7,6 / 1,4	7,20-7,25	m	1H	---
7,44	dt	1H	7,6 / 1,4	7,33-7,38	m	1H	---
7,84	dd	1H	7,6 / 0,9	7,74	d	1H	8,0
7,97	dd	1H	8,2 / 1,0	7,96	d	1H	8,2

Tabela 87 – Dados de RMN de ^{13}C comparados com a literatura (Sung *et al.*, 2013)

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)	RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)
Espectro de RMN de ^{13}C : Figura 166, pág. 201	Literatura (Sung <i>et al.</i> , 2013)
δ (ppm): 25,7; 26,0; 33,4; 43,4; 121,5; 122,5; 124,4; 125,7; 134,5; 153,1; 177,5	δ (ppm): 25,8; 26,0; 33,3; 43,3; 121,4; 122,6; 124,4; 125,7; 134,6; 153,2; 177,1

2.5 – Avaliação *in vitro* do potencial de benzotiazóis e benzimidazóis como inibidores da atividade ureolítica de ureases

A capacidade dos benzotiazóis e dos benzimidazóis sintetizados inibirem a atividade de ureases foi inicialmente investigada por meio de triagem *in vitro*, utilizando-se o método do indofenol (Weatherburn 1967) com modificações e urease purificada de *Canavalia ensiformis*. Cada meio de reação contendo tampão fosfato 20

mM (pH 7,0), EDTA 1 mM, ureia 10 mM, 12,5 mU de urease e composto-teste (0 ou 1,6 mM) foi incubado por 10 min a 25 °C e 600 rpm. As reações foram então interrompidas pela adição de 0,45 volume de uma solução contendo fenol a 1% e nitroprussiato de sódio (SNP) a 5 ppm, seguida da adição de 0,7 volume de uma solução de NaOH 0,5% preparada em NaOCl 0,1%. Após incubação dos sistemas a 50 °C por 5 min, avaliou-se a densidade ótica de cada reação a 630 nm para se determinar a quantidade de íon amônio (NH_4^+) formado no meio. Sistemas de reação desprovidos de enzima foram usados como controle, enquanto que a hidroxiiureia e a tioureia foram empregadas como referências de inibidor de urease. Os experimentos foram realizados em quadruplicata. A inibição da atividade urease foi determinada em termos percentuais, tendo-se como referência a produção de NH_4^+ em reações sem inibidor de urease.

2.6 – Avaliação do potencial de benzotiazóis e benzimidazóis como inibidores da atividade ureolítica de ureases da microbiota do solo

Latossolo vermelho distrófico (pH 6,3; P 10 mg L⁻¹; K 129 mg L⁻¹; Ca 4,4 cmol_c L⁻¹; Mg 0,9 cmol_c L⁻¹; Al 0,1 cmol_c L⁻¹; H+Al 2,6 cmol_c L⁻¹; soma de bases de 5,6 cmol_c L⁻¹; saturação de bases de 68% e material orgânico de 2,5 dag kg⁻¹) com 6% de areia grossa, 4% de areia fina, 12% de silte e 78% de argila, foi coletado no Cerrado brasileiro (19°28'01.2"S, 44°10'24.5"W). Amostras de solo peneirado (500 mg; partículas < 2 mm) foram incubadas com ureia 72 mM na presença dos inibidores (0 ou 1,6 mM) por 1 h a 37 °C. A atividade urease foi interrompida pela adição de 5 mL de solução de KCl 1 M preparada em HCl 10 mM, seguida de incubação a 25 °C por 30 min. Uma alíquota foi removida do sobrenadante e adicionada a 5 volumes de uma solução contendo salicilato de sódio 3,4%, citrato de sódio 2,5%, tartarato de sódio 2,5% e SNP 120 ppm (Kandeler e Gerber 1988). Decorridos 15 min de incubação a 25 °C e na ausência de luz, 0,1 volume de uma solução de NaOH 3% contendo NaOCl 1% foi adicionado a cada sistema, seguindo-se novamente incubação na ausência de luz, a 25 °C e 600 rpm por 1 h. O NH_4^+ formado no meio foi detectado por medidas espectrofotométricas a 660 nm. O NBPT e a tioureia foram usados como padrões de inibidor de urease. A inibição da atividade urease foi determinada em termos percentuais, tendo-se como referência a produção de NH_4^+ em reações sem inibidor de urease. Os experimentos foram realizados em quadruplicata.

2.7 – Avaliação cinética da enzima *Canavalia ensiformes*

O perfil de inibição exibido pelos benzotiazóis e pelos benzimidazóis foi investigado em reações preparadas de forma similar às descritas no item 2.5, exceto que concentrações fixas do inibidor, necessárias para inibir a atividade em 30 a 40%, foram usadas em meios de reação, cuja concentração de ureia variou de 1 a 32 mM. A interrupção das reações, após apenas 5 min de incubação, foi conduzida de maneira análoga à descrita no item 2.5. Os parâmetros cinéticos na ausência ou presença do inibidor foram obtidos por meio do programa Hyper32. A hipérbole de Michaelis-Menten e a plotagem de Lineweaver-Burk foram obtidos pelo programa Origin 8.0[®] (OriginLab Corporation). Os experimentos foram realizados em quadruplicata.

2.8 – Avaliação da atividade antiproliferativa

A atividade antiproliferativa foi realizada no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas na Universidade Estadual de Campinas, sob a coordenação do prof. Dr. João Ernesto de Carvalho.

As linhas de células tumorais humanas U251 (glioma), UACC-62 (melanoma), MCF7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário, com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos), 786-0 (rim), NCI-H460 (pulmão, células não pequenas), OVCAR-3 (ovário), HT29 (cólon) e K-562 (leucemia) foram gentilmente cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer – Frederick, MA, EUA. Além destas, uma linhagem de células normais HaCat (queratinócitos humanos) foi utilizada, sendo cedida pelo Dr. Ricardo Della Coletta (FOP, UNICAMP). As culturas estoque foram cultivadas em meio de RPMI 1640 (GIBCO BRL, Life Technologies), suplementadas com soro bovino fetal a 5% e uma mistura de penicilina (na concentração final de 1 mg/mL) e estreptomicina (na concentração final de 200 U/mL) (da Silva *et al.*, 2012).

As células foram dispostas em microplacas de 96 poços (100 µL células/poço) e foram expostas a diferentes concentrações dos benzimidazóis **1-24** e benzotiazóis **25-43** (0,25; 2,50; 25,00 e 250,00 µg/mL) a 37°C e 5% de CO₂ por 48 h. Em seguida, as células foram fixadas com solução de ácido tricloroacético 50% (v/v) e a proliferação foi determinada por quantificação espectrofotométrica (540 nm) do componente celular proteico, utilizando-se o ensaio da sulforodamina B (Monks *et al.*, 1991). Três medidas foram obtidas: no tempo zero (T_0), no início da incubação e 48 h pós-incubação. Essas

medidas foram realizadas tanto para os poços contendo amostras (*T*) quanto nos poços do branco (*B*). A proliferação celular foi determinada de acordo com a equação $100 \times [(T-T_0)/(B-T_0)]$. Construíram-se curvas de resposta versus concentração para cada amostra, utilizando-se o programa Origin 8.0[®] (OriginLab Corporation). A partir destas curvas foi determinado o valor de GI₅₀ (concentração de inibidor para inibir 50% do crescimento celular ou efeito citocida) por meio de regressão não-linear, utilizando-se o mesmo programa. A doxorrubicina (Dox) foi usada como controle positivo. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. O índice de seletividade (IS), que representa a seletividade de um composto frente a uma linhagem de célula tumoral em relação a uma linhagem de célula normal, foi calculado: $IS = GI_{50} \text{ de células normais} / GI_{50} \text{ de células tumorais}$. Considerou-se um valor significativo de IS maior ou igual a 2,0 (Suffness e Pezzuto, 1991), ou seja, este valor significa que os compostos são duas vezes mais ativos na linhagem de células tumorais do que em células normais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Douh, M.H.; Hamid, S.A.; Osman, H. 1D and 2D NMR studies of 2-(2-(benzyloxy)-3-methoxyphenyl)-1*H*-benzimidazole. *Ind. J. Chem.*, (2007), 7, 190-196.

Alpan, A.S.; Gunes, H.S.; Topcu, Z. 1*H*-Benzimidazole derivatives as mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. *Acta Biochim. Polonica* (2007), 54, 561-565.

Amtul, Z.; Atta-ur-Rahman; Siddiqui, R.A.; Choudhary, M.I. Chemistry and Mechanism of Urease Inhibition. *Curr. Med. Chem.* (2002), 9, 1323-1348.

Armareg, W.L.F.; Chai, C.L.L. Purification of laboratory chemicals (2009), 6^a Edition, Ed. Elsevier.

Azizian, H.; Nabati, F.; Sharifi, A.; Siavoshi, F.; Mahdavi, M.; Amanlou, M. Large-scale virtual screening for the identification of new helicobacter pylori urease inhibitor scaffolds. *J. Mol. Model.* (2011), 18, 2917-2927.

Bachhav, H.M.; Bhagat, S.B.; Telvekar, V.N. Efficient protocol for the synthesis of quinoxaline, benzoxazole and benzimidazole derivatives using glycerol as green solvent. *Tetrahedron Lett.* (2011), 52, 5697-5701.

Bahrami, K.; Khodaei, M.M.; Kaviani, I. A simple and efficient one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *Synthesis* (2007), 4, 547-550.

Balasubramanian, A.; Ponnuraj, K. Crystal structure of the first plant urease from jack bean: 83 years of journey from its first crystal to molecular structure. *J. Mol. Biol.* (2010), 400, 274-283.

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

Barrios, A.M.; Lippard, S.J. Interaction of urea with a hydroxide-bridged dinuclear nickel center: an alternative model for the mechanism of urease. *J. Am. Chem. Soc.* (2000), 122, 9172-9177.

Baum, J.S.; Chen, T.S. Benzothiazole derivatives for plant growth and development modification. *US 4556411* (1985).

Baumann, T.; Delgado, J.; Santacruz, R.; Martínez-Trillos, A.; Royo, C.; Navarro, A.; Pinyol, M.; Rozman, M.; Pereira A.; Villamor N.; Aymerich, M.; López, C.; Carrió, A.; Montserrat, E. Chronic lymphocytic leukemia in the elderly: Clinico-biological features, outcomes, and proposal of a prognostic model. *Haematologica* (2014), 99, 1599-1604.

Bhuva, H.A.; Kini, S.G. Synthesis, anticancer activity and docking of some substituted benzothiazoles as tyrosine kinase inhibitors. *J. Mol. Graphics Mod.* (2010), 29, 32-37.

Billeau, S.; Chatel, F.; Robin, M.; Faure, R.; Galy, J.P. ¹H and ¹³C chemical shifts for 2-aryl and 2-N-arylamino benzothiazole derivatives. *Magn. Reson. Chem.* (2006), 44, 102–105.

Bogert, M.T.; Meyer, M. Researches on thiazoles. II. 2-para-toly-benzothiazole, dehydrothio-para-toluidine, and some related compounds. *Contribution from the Chemical Laboratories of Columbia University* (1922), 1568-1572.

Caleta, I.; Grdisa, M.; Mrvos-Sermek, D.; Cetina, M.; Tralic-Kulenovic, V.; Pavelic, K.; Karminski-Zamola, G. Synthesis, Crystal structure and antiproliferative evaluation of some new substituted benzothiazoles and styrylbenzothiazoles. *IL Farmaco* (2004), 59, 297-305.

Cantarella, H.; Marcelino, R. O uso de inibidor de urase para aumentar a eficiência da uréia. *Palestra apresentada no 1º Simpósio sobre informações recentes para otimização da produção agrícola* (2006), INPI - Piracicaba.

Cesme, M.; Gölcü, A.; Demirtas, I. New metal based drugs: spectral, electrochemical, DNA-binding, surface morphology and anticancer activity properties. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* (2015), 135, 887-906.

Chakraborti, A.K.; Selvam, C.; Kaur, G.; Bhagat, S. An efficient synthesis of benzothiazoles by direct condensation of carboxylic acids with 2-Aminothiophenol under microwave irradiation. *Synlett* (2004), 5, 0851-0855.

Chari, M.A.; Shobha, D.; Sasaki, T. Room temperature synthesis of benzimidazole derivatives using reusable Cobalt Hydroxide (II) and Cobalt Oxide (II) as efficient solid catalysts. *Tetrahedron Lett.* (2011), 52, 5575-5580.

Chen, G-F.; Dong, X-F. Facile and selective synthesis of 2-substituted benzimidazoles catalyzed by FeCl₃/Al₂O₃. *E-Journal Chem.* (2012), 9, 289-293.

Chen, G-F.; Dong, X-Y.; Meng, F-Z; Chen, B-H; Li, J-T; Wang, S-X; Bai, G-Y. Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles Catalyzed by FeCl₃/Al₂O₃ Under Ultrasonic Irradiation. *Lett. Org. Chem.* (2011), 8, 464-469.

Chien, S.H.; Prochnow, L.I.; Cantarella, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. *Adv. Agron.* (2009), 102, 267-322.

Chuanming, Y.; Peng, G.; Can, J.; Weike, S. The synthesis of benzimidazole derivatives in the absence of solvent and catalyst. *J. Chem. Res.* (2009), 5, 333-336.

Coban, G.; Zencir, S.; Zupkó, I.; Réthy, B.; Gunes, H.S.; Topcu, Z. Synthesis and biological activity evaluation of 1H-benzimidazoles via mammalian DNA topoisomerase I and cytostaticity assays. *Eur. J. Med. Chem.* (2009), 44, 2280-2285.

Costa, M.C.G.; Vitti, G.C.; Cantarella, H. Volatilização de n-nh₃ de fontes nitrogenadas em cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* (2003), 27, 631-637.

Csermely, P.; Hódsági, J.; Korcsmáros, T.; Módos D.; Perez-Lopez, A.R.; Szalay, K.; Veres, D.V.; Lenti, K.; Wu, L.; Zhang, X. Cancer stem cells display extremely large evolvability: alternating plastic and rigid networks as a potential Mechanism Network models, novel therapeutic target strategies, and the contributions of hypoxia, inflammation and cellular senescence. *Semin. Cancer Biol.* (2015), 30, 42-51.

Da Silva, D.L.; Reis, F.S.; Muniz, D.R.; Ruiz, A.L.T.G.; De Carvalho, J.E.; Sabino, A.A.; Modolo, L.V.; De Fátima, A. Free radical scavenging and antiproliferative properties of Biginelli adducts. *Bioorg. Med. Chem.* (2012), 20, 2645-2650.

Deligeorgiev, T.G. An improved method for the preparation of 2-aryl-,2-hetaryl- and 2-styrylbenzothiazoles. *Dyes Pigments* (1990), 12, 243-248.

Ding, H.; Han, C.; Gibson-D'Ambrosio, R.; Steele, V.E.; D'Ambrosio, S.M. Piroxicam selectively inhibits the growth of premalignant and malignant human oral cell lines by limiting their progression through the S phase and reducing the levels of cyclins and AP-1. *Int. J. Cancer* (2003), 107, 830-836.

Domínguez, M.J.; Sanmartín, C.; Font, M.; Palop, J.A.; Francisco, S.S.; Urrutia, O.; Houdusse, F.; García-Mina, J.M. Design, synthesis, and biological evaluation of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors. *J. Agric. Food. Chem.* (2008), 56, 3721-3731.

Du, L.-H.; Wang, Y.-G. A rapid and efficient synthesis of benzimidazoles using hypervalent iodine as oxidant. *Synthesis* (2007), 5, 675-678.

Dubey, A.K.; Sanyal, P.K. Benzimidazoles in a wormy world. *Online Vet. J.* (2010), 5, Artigo 63.

Estiu, G.; Merz, K.M. Competitive hydrolytic and elimination mechanisms in the urease catalyzed decomposition of urea. *J. Phys. Chem.* (2007), 111, 10263-10274.

Fichtner, I.; Monks, A.; Hose, C.; Stevens, M.F.G.; Bradshaw, T.D. The experimental antitumor agents phortress and doxorubicin are equiactive against human-derived breast carcinoma xenograft models. *Breast Cancer Res. Treat.* (2004), 87, 97-107.

Follmer, C.; Carlini, C.R. Effect of chemical modification of histidines on the copper-induced oligomerization of jack bean urease. *Arch. Biochem. Biophys.* (2005), 435, 15-20.

Font, M.; Domínguez, M.; Sanmartín, C.; Palop, J.A.; San-Francisco, S.; Urrutia, O.; Houdusse F.; García-Mina, J.M. Structural characteristics of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors. requirements for activity. *J. Agric. Food Chem.* (2008), 56, 8451-8460.

Foo, J.; Michor, F. Evolution of acquired resistance to anti-cancer therapy. *J. Theor. Biology* (2014), 355, 10–20.

Gao, X.; Yu, B.; Zhao, Y.; Hao, L.; Liu, Z. Hydrosilane-promoted cyclization of 2-aminothiophenols by CO₂ to benzothiazoles. *Royal Soc. Chem.* (2014), 4, 56957-56960.

George, B; Papadopoulos, E.P. Heterocycles from *N*-ethoxycarbonylthioamides and dinucleophilic reagents. 2. Five-membered rings containing two heteroatoms at 1,3 positions. *J. Org. Chem.* (1977), 42, 441-443.

Gogoi, P.; Konwar, D. An efficient and one-pot synthesis of imidazolines and benzimidazoles via anaerobic oxidation of carbon–nitrogen bonds in water. *Tetrahedron Lett.* (2006), 47, 79-82.

Gorepatil, P.B.; Mane, Y.D.; Ingle, V.S. Samarium (III) triflate as an efficient and reusable catalyst for facile synthesis of benzoxazoles and benzothiazoles in aqueous medium. *Synlett* (2013), 24, A-D.

Gull, Y.; Rasool, N.; Noreen, M.; Nasim, F.; Yaqoob, A.; Kousar, S.; Rashid, U.; Bukhari, I.H.; Zubair, M. Islam, M.S. Efficient synthesis of 2-Amino-6-arylbenzothiazoles via Pd(0) Suzuki cross coupling reactions: potent urease enzyme

inhibition and nitric oxide scavenging activities of the products. *Molecules* (2013), 18, 8845-8857.

Guo, H.Y.; Li, J.C.; Shang, Y.L, A simple and efficient synthesis of 2-substituted benzothiazoles catalyzed by H₂O₂/HCl. *Chin. Chem. Lett.* (2009), 20, 1408-1410.

Gupta, A.; Rawat, S. Synthesis and cyclization of benzothiazole: Review. *J. Curr. Pharm. Res.*, (2010), 3, 13-23.

Ha, Y.M.; Park, J.Y.; Park, Y.J.; Park, D.; Choi, Y.J.; Kim, J.M.; Lee, E.K.; Han, Y.K.; Kim, J.; Lee, J.Y.; Moon, H.R.; Chung, H.Y. Synthesis and biological activity of hydroxyl substituted phenyl-benzo[d]thiazole analogues for antityrosinase activity in B16 cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2011), 21, 2445-2449.

Hallek, M.; Kay, N.E.; Osterborg, A.; Chanan-Khan, A.A.; Mahler, M.; Salman, M.; Wan, Y.; Sun, S.; Hong, S.; Howes, Z.A. The HELIOS trial protocol: a Phase III study of ibrutinib in combination with bendamustine and rituximab in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Future Oncol.* (2015), 11, 51-59.

Hanahan, D.; Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* (2000), 100, 57-70.

Hasinoff, B.B.; Wu, X.; Yadav, A.A.; Patel, D.; Zhang, H.; Wang, D.; Chen, Z.; Yalowich, J.C. Cellular mechanisms of the cytotoxicity of the anticancer drug elesclomol and its complex with Cu(II). *Biochem. Pharmacol.* (2014), no prelo.

Health-based reassessment of administrative occupational exposure limits. Sodium hydrogen sulphite. *Committee on updating of occupational exposure limits, a committee of the health council of the Netherlands* (2005), 157-1 a 157-18.

Hobrecker, F. *Berichte der deutschen chemischen gesellschaft* (1872), 5, 920-924.

Hofmann, A.W. Zur Kenntniss des o-amidophenylmercaptans. *Chem. Ber.* (1887), 20, 1784-1788.

Horiuchi, S.; Kagawa, F.; Hatahara, K.; Kobayashi, K.; Kumai, R.; Murakami, Y.; Tokura, Y. Above-room-temperature ferroelectricity and antiferroelectricity in benzimidazoles. *Nature Commun.* (2012), 3, 1308-1313.

Hutchinson, I.; Jennings, S.A.; Vishnuvajjala, B.R.; Westwell, A.D.; Stevens, M.F.G. Antitumor benzothiazoles. 16. Synthesis and pharmaceutical properties of antitumor 2-(4-Aminophenyl)benzothiazole amino acid prodrugs. *J. Med. Chem.* (2002), 45, 744-747.

Jonkers, D.; Stobberingh, E.; Stockbrügger, R. Omeprazole inhibits growth of gram-positive and gram-negative bacteria including helicobacter pylori in vitro. *J. Antimicrob. Chemoter.* (1996), 37, 145-150.

Kandeler, E.; Gerber, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Bio Fertil Soils* (1988), 6, 68-72.

Karpinska, M.M.; Matysiak, J.; Niewiadomy, A. Synthesis of novel 4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzene-1,3-diols and their cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Arch. Pharm. Res.* (2011), 34, 1639-1647.

Khan, A.T.; Parvin, T.; Choudhury, L.H. A simple and convenient one-pot synthesis of benzimidazole derivatives using cobalt(II) chloride hexahydrate as catalyst. *Synth. Commun.* (2009), 39, 2339-2346.

Khatun, N.; Jamir L.; Ganesh, M.; Patel, B.K. A one-pot strategy for the synthesis of 2-aminobenzothiazole in water by copper catalysis. *Royal Soc. Chem.* (2012), 2, 11557-11565.

Khosravi, K.; Kazemi, S. Synthesis of 2-arylbenzimidazoles and 2-arylbenzothiazoles in both room temperature and microwave condition catalyzed by hexamethylenetetramine–bromine. complex *Chin. Chem. Lett.* (2012), 23, 61-64.

Kim, S; Sakchaisri, K.; Thimmegowda, N.R.; Soung, N.K.; Jang, J.; Kim, Y.S.; Lee, K.S.; Kwon, Y.T.; Asami, Y.; Ahn, J.S.; Erikson, R.L.; Kim, B.Y. STK295900, a dual

inhibitor of Topoisomerase 1 and 2, induces G₂ arrest in the absence of DNA damage. *PLOS One* (2013), 8, e53908.

Kim, Y.; Kumar, M.R.; Park, N.; Heo, Y.; Lee, S. Copper-catalyzed, one-pot, three-component synthesis of benzimidazoles by condensation and C-N bond formation. *J. Org. Chem.* (2011), 76, 9577-9583.

Krajewska, B.; Zaborska, W. jack bean urease: The effect of active-site binding inhibitors on the reactivity of enzyme thiol groups. *Bioorg. Chem.* (2007), 35, 355-365.

Krajewska, B.; Zaborska, W.; Leszko, M. Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow-binding inhibitors: Ni⁺², F⁻ and acetohydroxamic acid. *J. Mol. Catal. B Enzym.* (2001), 14, 101-109.

Kühler, T.C.; Fryklund, J.; Bergman, N.; Weilitz, J.; Lee, A.; Larsson, H. Structure-activity relationship of omeprazole and analogues as helicobacter pylori urease inhibitors. *J. Med. Chem.* (1995), 38, 4906-4916.

Kumar, K.R.; Satyanarayana, P.V.V.; Reddy, S. NaHSO₄-SiO₂-promoted solvent-free synthesis of benzoxazoles, benzimidazoles, and benthiazoles derivatives. *J. Chem.* (2013), ID151273, 1-10.

Kumar, T.B.; Sumanth, C.; Rao, A.V.D.; Kalita, D.; Rao, M.S.; Sekhar, K.B.C.; Kumar, K.S.; Pal, M. Catalysis by FeF₃ in water: a green synthesis of 2-substituted 1,3-benzazoles and 1,2-disubstituted benzimidazoles. *Royal Soc. Chem.* (2012), 2, 11510-11519.

Kundu, N.; Audhya, A.; Abtab, S.M.T.; Ghosh S.; Tiekink, E.R.T.; Chaudhury, M. Anion-controlled assembly of silver(I) complexes of multiring heterocyclic ligands: a structural and photophysical study. *Cryst. Growth Des.* (2010), 10, 1269–1282.

Langa, F.; De La Cruz, P.; De La Hoz, A.; Díaz-Ortiz, A.; Díez-Barra, E. Microwave irradiation: more than Just a method for accelerating reactions. *Contemp.Org. Synth.* (1997), 373-386.

Lehninger, A.L.; Cox, M.M.; Nelson, D.L. Princípios de bioquímica. Ed. Sarvier (1995), 2ª Edição.

Lindgren, E.B.; De Brito, M.A.; Vasconcelos, T.R.A.; De Moraes, M.O.; Montenegro, R.C.; Yoneda, J.D.; Leal, K.Z. Synthesis and anticancer activity of (*E*)-2-benzothiazoles hydrazones. *Eur. J. Med. Chem.* (2014), 86, 12-16.

Liu, S.; Zhang, L.; Liu, X. A highly sensitive and selective fluorescent probe for Fe³⁺ based on 2-(2-hydroxyphenyl)benzothiazole. *New J. Chem.* (2013), 37, 821-826.

Londhe, B.S.; Pratap, U.R.; Mali, J.R.; Mane, R.A. Synthesis of 2-arylbenzothiazoles catalysed by biomimetic catalyst, B-Cyclodextrin. *Bull. Korean Chem. Soc.* (2010), 31, 2329-2332.

López, S.E.; Restrepo, J.; Pérez B.; Ortiz, S.; Salazar, J. One pot microwave promoted synthesis of 2-aryl-1*H*-benzimidazoles using sodium hydrogen sulfite. *Bull. Korean Chem. Soc.* (2009), 30, 1628-1630.

Mao, Z.; Wang, Z.; Li, J.; Song, X.; Luo, Y. Rapid and cheap synthesis of benzimidazoles via intermittent microwave promotion: a simple and potential industrial application of air as oxidant. *Synthetic Comm.* (2010), 40, 1963-1977.

Marques, D.A.; Shepherd, S.L.K.; Crocomo, O.H. Influência de fontes de nitrogênio sobre o desenvolvimento das gemas axilares de explantes caulinares de *Chrysanthemum morifolium* Ramat. cultivado in vitro. *Rev. Bras. Bot.* (1998), 21, versão on-line, n. 2.

McCarty, G.W.; Bremner, J.M.; Cha, H.S. Effect of N-(n-butyl) thiophosphoric triamide on hydrolysis of urea by plant, microbial, and soil uréase. *Biol. Fertil. Soils* (1989), 8, 123-127.

Menegassi, A.; Wassermann, G.E.; Olivera-Severo, D.; Becher-Ritt, A.B.; Martinelli, A.H.S.; Feder, V.; Carlini, C.R. Urease from cotton (*Gossypium hirsutum*) seeds:

isolation, physicochemical characterization, and antifungal properties of the protein. *J. Agric. Food Chem.* (2008), 56, 4399-4405.

Mohammadi, M.; Bardajee, G.R.; Pesyan, N.N. A novel method for the synthesis of benzothiazole heterocycles catalyzed by a copper-DiAmSar complex loaded on SBA-15 in aqueous media. *Royal Soc. Chem. Adv.* (2014), 4, 62888-62894.

Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Nat. Cancer Inst.* (1991), 83, 757-766.

Moorthy, J.N; Neogi, I. IBX-mediated one-pot synthesis of benzimidazoles from primary alcohols and arylmethyl bromides. *Tetrahedron Lett.* (2011), 52, 3868-3871.

Moraski, G.C.; Thanassi, J.A.; Podos, S.D.; Pucci, M.J.; Miller, M.J. One step syntheses of nitrofuranyl benzimidazoles that are active against multi-drug resistant bacteria. *J. Antibiot. (Tokyo)* (2011), 64, 667-671.

Murru, S.; Mondal, P.; Yella, R.; Patel, B.K. Copper(I)-catalyzed cascade synthesis of 2-substituted 1,3-benzothiazoles: direct access to benzothiazolones. *Eur. J. Org. Chem.* (2009), 31, 5406-5413.

Nagawade, R.R.; Shinde, D.B. TiCl_4 promoted synthesis of benzimidazole derivatives. *Indian J. Chem.* (2007), 46B, 349-351.

Naryzhny, S.N.; Levina, V.V.; Varfolomeeva, E.Y.; Drobchenko, E.A.; Filatov, M.V. Active dissociation of the fluorescent dye Hoechst 33342 from DNA in a living cell: Who could do it? *Electrophoresis* (1999), 20, 1033-1038.

Nikham, K.; Fatehi-Raviz, A. Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles and Bis-benzimidazoles by Microwave in the Presence of Alumina-Methanesulfonic Acid. *J. Iran. Chem. Soc.* (2007), 4, 438-443.

O'Day, S.J.; Eggermont, A.M.M.; Chiarion-Sileni, V.; Kefford, R.; Grob, J.J.; Mortier, L.; Robert, C.; Schachter, J.; Testori, A.; Mackiewicz, J.; Friedlander, P.; Garbe, C.; Ugurel, S.; Collichio, F.; Guo, W.; Lufkin, J.; Bahcall, S.; Vukovic, V.; Hauschild, A.; Final results of phase III symmetry study: randomized, double-blind trial of elesclomol plus paclitaxel versus paclitaxel alone as treatment for chemotherapy-naïve patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.* **(2013)**, 31, 1211-1218.

Okumura, R.S.; Mariano, D.C. Aspectos agronômicos da ureia tratada com inibidor de urease. *Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais* **(2012)**, 8, 403-414.

Olivera-Severo, D.; Wassermann, G.E.; Carlini, C.R. Ureases display biological effects independent of enzymatic activity. Is there a connection to diseases caused by urease-producing bacteria? *Braz. J. Med. Biol. Res.* **(2006)**, 39, 851-861.

Panda, S.S.; Jain, S.C. Synthesis of 2-arylbenzimidazoles in water. *Synth. Commun.* **(2011)**, 41, 729-735.

Park, H.; Hong, S.; Hong, S.; Nocodazole is a High-affinity ligand for the cancer-related kinases ABL, c-KIT, BRAF, and MEK. *Chem. Med. Chem.* **(2012a)**, 7, 53-56.

Park, N.; Heo, Y.; Kumar, M.R.; Kim, Y.; Song, K.H.; Lee, S. Synthesis of benzothiazoles through copper-catalyzed one-pot three-component reactions with use of sodium hydrosulfide as a sulfur surrogate. *Eur. J. Org. Chem.* **(2012b)**, 1984-1993.

Pontes, F.V.M.; Monteiro, M.I.C; da Silva, L.I.D.; Carneiro, M.C. *Método do indofenol para determinação de nitrogênio em amostras de solo. In: XII Jornada de Iniciação Científica do CETEM* **(2004)**, Rio de Janeiro. Anais da XII JIC, 2004.

Quezada-Buendía, X.; Esparza-Ruiz, A.; Peña-Hueso, A.; Barba-Behrens, N.; Contreras, R.; Flores-Parra, A.; Bernès, S.; Castillo-Blum, S.E. Synthesis and structural analyses of Co(III) coordination compounds of 2-(20-pyridyl)benzimidazole and 2-(2-hydroxyphenyl)-1H-benzimidazole. *Inorg. Chimica Acta* **(2008)**, 2759-2767.

Rademaker-Lakhai, J.M.; Bongard, D.V.D.; Pluim, D.; Beijnen, J.H.; Schellens, J.H.M. A phase I and pharmacological study with imidazolium-*trans*-DMSO-imidazoles-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agente. *Clin. Cancer Res.*, **(2004)**, 10, 3717-3727.

Ridley, H.F.; Spickett, R.G.W.; Timmis, G.M. A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. *Spickett and G. M. Timmis, Smith Kline and French Laboratories Ltd. and Chester Beatty Research Institute* **(1965)**, 2, 453-456.

Saify, Z. S.; Kamil, A.; Akhtar, S.; Taha, M.; Khan, A.; Khan, K. M.; Jahan, S.; Rahim, F.; Perveen, S.; Choudhary, I. 2-(2'-Piridil) benzimidazole derivatives and their urease inhibitory activity. *Med. Chem. Res.* **(2014)**, 23, 4447-4454.

Santosh, P.C.; Pandeya, S.N.; Pathak, A.A. Benzimidazole: a versatile chemical entity. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* **(2011)**, 2, 1726-1737.

Sarikaya, G.; Alpan, A.S.; Tash, H.; Sevin, G.; Korkmaz, C.G.; Günes, H.S. Antimicrobial and cytotoxic studies of new 2-substitue-1*H*benzimidazole derivatives. *Acta Pharm. Sci.* **(2011)**, 53, 381-392.

Saunders, J. Top Drugs: Top Synthetic Routes. *Oxford Chemistry Primers* **(2000)**, Oxford, 37-42.

Savall, B.M.; Fontimayor, J.R. Synthesis of 2-arylbenzimidazoles via microwave suzuki-miyaura reaction of unprotected 2-chlorobenzimidazoles. *Tetrahedron Lett.* **(2008)**, 49, 6667-6669.

Segel, I.H. Enzyme kinetics: behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems. Ed. John Wiley & Sons **(1975)**.

Segel, I.H. Biochemical calculations. Ed. John Wiley & Sons **(1976)**, 2ª Edição.

Serwar, M.; A; Akhtar, T.; Hameed, S.; Khan, K.M. Synthesis, urease inhibition and antimicrobial activities of some chiral 5-aryl-4-(1-phenylpropyl)-2*H*-1,2,4-triazole-3(4*H*)-thiones. *Arkivoc* **(2009)**, 7, 210-221.

Sharghi, H.; Asemani, O. Methanesulfonic acid/SO₂ as an efficient combination for the synthesis of 2-substituted aromatic and aliphatic benzothiazoles from carboxylic acids. *Synth. Commun.* (2009), 39, 860-867.

Sharghi, H.; Asemani, O.; Khalifeh, R. New one-pot procedure for the synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *Synth. Commun.* (2008), 38, 1128-1136.

Sharma, D.; Narasimhan, B.; Kumar, P.; Jalbout, A. Synthesis and QSAR evaluation of 2-(substituted phenyl)-1H-benzimidazole and [2-(substituted phenyl)-benzimidazol-1y1]-pyridin-3-y1-methanones. *Eur. J. Med. Chem.* (2009), 44, 1119-1127.

Silverstein, R.M.; Webster, F. X.; Kiemle, D.J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. Ed. LTC (2000), 7ª Edição.

Singh, M.; Singh, S.K.; Gangwar, M.; Nath, G.; Singh, S.K. Design, synthesis and mode of action of some benzothiazole derivatives bearing an amide moiety as antibacterial agents. *Royal Soc. Chem.* (2014), 4, 19013-19023.

Suffness, M.; Pezzuto, J.M. Assays for bioactivity in methods in plant biochemistry. Ed. K. Hostettmann (1991).

Sung, G.H.; Lee, I.; Kim, B.R.; Shin, D.; Kim, J.; Lee, S.; Yoon, Y. Eco-friendly atom-economical synthesis of 2-substituted-benzo[d]thiazoles and 2-substituted-benzo[d]oxazoles using 2-acylpyridazin-3(2H)-ones. *Tetrahedron* (2013), 69, 3530-3535.

Thomas, K.D.; Adhikari, A.V.; Chowdhury, I.H.; Sumesh, E.; Pal, N.K. New quinolin-4-yl-1,2,3-triazoles carrying amides, sulphonamides and amidopiperazines as potencial antitubercular agents. *Eur. J. Med. Chem.* (2011), 46, 2503-2512.

Tiwari, A.K.; Mishra, A. Synthesis and antiviral activities of N-substituted-2-substituted-benzimidazole derivatives. *Ind. J. of Chem.* (2006), 45B, 489-493.

Todd, M. J.; Hausinger, R. P. Fluoride inhibition of *Klebsiella aerogenes* urease: Mechanistic implications of a pseudo-uncompetitive, slow-binding inhibitor. *Biochemistry* (2000), 39, 5389-5396.

Toncheva, V.D.; Ivanova, S.D.; Velichkova, R.S. Poly(vinyl acetal)s from poly(vinyl alcohol) and 4-dimethylaminobenzaldehyde. *Eur. Polym. J.* (1994), 30, 741-747.

Trivedi, R.; De, S. K.; Gibbs, R. A. A conveniente one-pot synthesis of 2-substituted benzimidazoles. *J. Mol. Catal. A Chem.* (2006), 245, 8-11.

Trofimov, B.A.; Ivanov, A.V.; Skital'tseva, E.V.; Vasil'tsov, A.M.; Ushakov, I.A.; Petrushenko, K.B.; Mikhaleva, A.I. A straightforward synthesis of 2-(1-vinyl-1H-pyrrol-2-yl)-1H-benzimidazoles from 1-vinyl-1H-pyrrole-2-carbaldehydes and o-phenylenediamine. *Synthesis* (2009), 21, 3603-3610.

Upadhyay, L.S.B. Urease inhibitors: A review. *Indian J. Biotech.* (2012), 11, 381-388.

Wang, E.; Zaman, N.; McGee, S.; Milanese, J.; Masoudi-Nejad, A.; O'Connor-McCourt, M. Predictive genomics: A cancer hallmark network for predicting tumor clinical phenotypes using genome sequencing data. *Semin. Cancer Biol.* (2015), 30, 4-12.

Wang, Z.; Tang, R.; Li, J. Na₂S₂O₄-Mediated cyclocondensations of 2,2'-disulfanediyl dianilines with aldehydes: a facile and inexpensive method for the synthesis of 2-substituted benzothiazoles. *Chin. J. Chem.* (2011), 29, 314-320.

Watson, C. Urease inhibitors. *IFA International Workshop on Enhanced-efficiency Fertilizers* (2005), Frankfurt - Germany, 28-30.

Weatherburn, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* (1967), 39, 971-974.

Weekes, A.A.; Dix, M.C.; Bagley, M.C.; Westwell, A.D. Rapid and convenient thermal or microwave-assisted synthesis of substituted 2-phenylbenzothiazoles. *Synth. Commun.* (2010), 40, 3027-3032.

Whitehurst, G.B.; Whitehurst, B.M. Amino alcohol solutions of *N*-(*n*-butyl)thiophosphoric triamide (NBPT) and urea fertilizers using such solutions as urease inhibitors. *US 20110259068 A1* (2011).

WHO – World Health Organization, The World Health Organization's fight against cancer (2007).

WHO – World Health Organization, Cancer Country Profiles (2014).

WHO – World Health Organization, <http://www.who.int/cancer/en/>, acessado em 31 de dezembro de 2014.

Yamada, T.; Abdalla, S.R.S. Informações recentes para otimização da produção agrícola. *Informações Agronômicas* (2007), 117, 1-4.

Yamamoto, T.; Muto, K.; Komiyama, M.; Canivet, J.; Yamaguchi, J.; Itami, K. Nickel-catalyzed C–H arylation of azoles with haloarenes: scope, mechanism, and applications to the synthesis of bioactive molecules. *Chem. Eur. J.* (2011), 17, 10113 – 10122.

Zhang, Y.; Ho, A.; Yue, J.; Kong, L.; Zhou, Z.; Wu, X.; Yang, F.; Liang, H. Structural basis and anticancer properties of ruthenium-based complexed with human serum albumin. *Eur. J. Med. Chem.* (2014), 86, 449-455.

Zhu, M.; Zhou, L. Theoretical study on the mechanism of reaction of novel iminoether-containing Pt(II) anticancer drugs with biological targets. *Comp. Theor. Chem.* (2015), 1051, 24-34.

Ziaulla, M.; Manjunatha, M.N.; Nagasundara, K.R.; Begum, N.S. Synthesis, characterization and crystal structure of 2-(4-methylthio)phenyl)-1*H*-benzo[d]imidazole. *Eur. J. Chem.* (2011), 2, 58-60.

ANEXOS

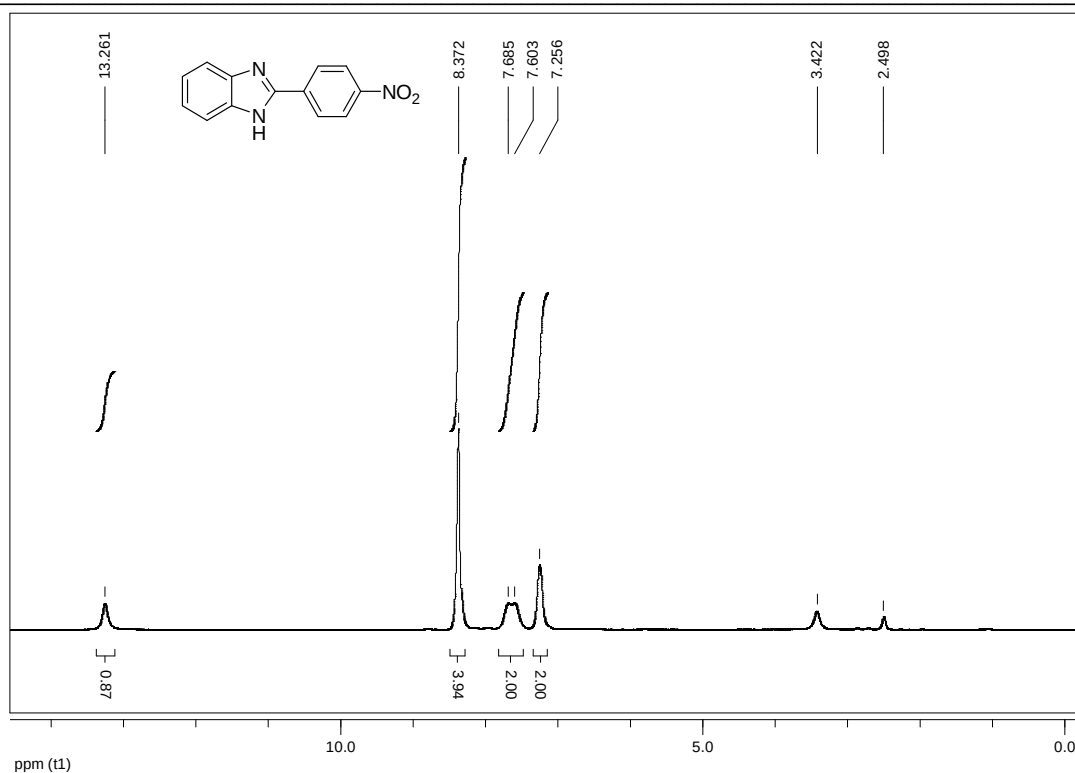


Figura 51 – Espectro de RMN de ¹H (a 200 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 2-(4-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (2).

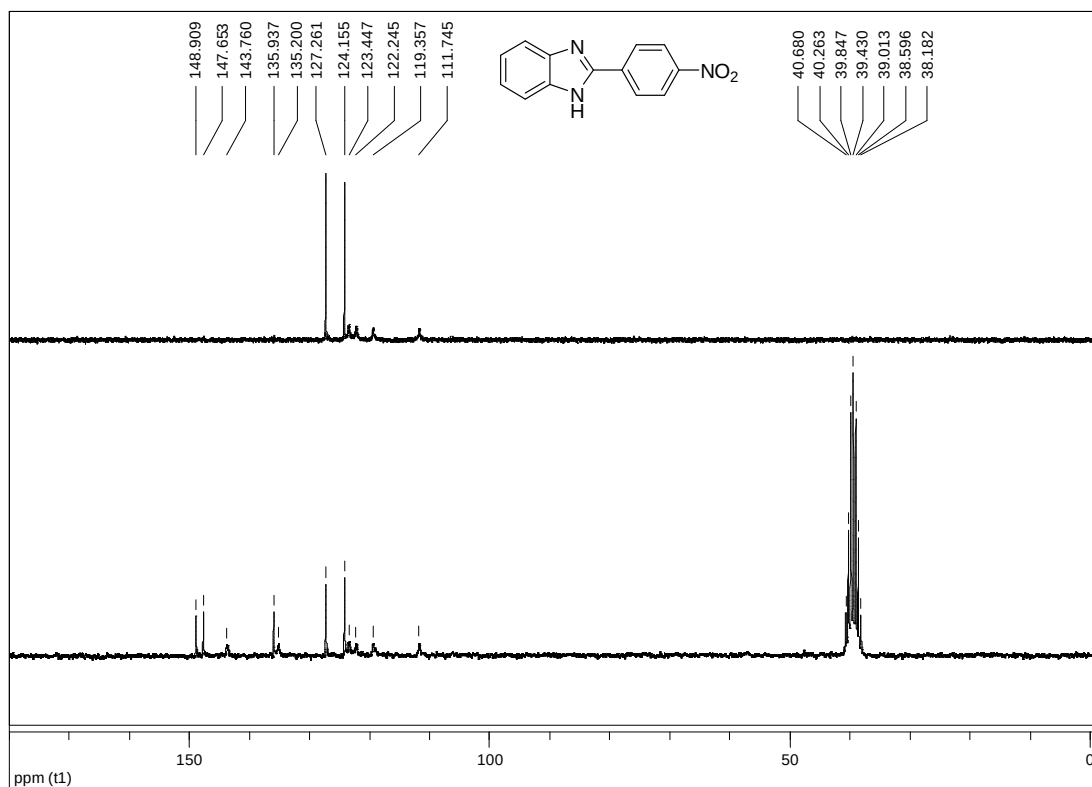


Figura 52 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (a 50 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 2-(4-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (2).

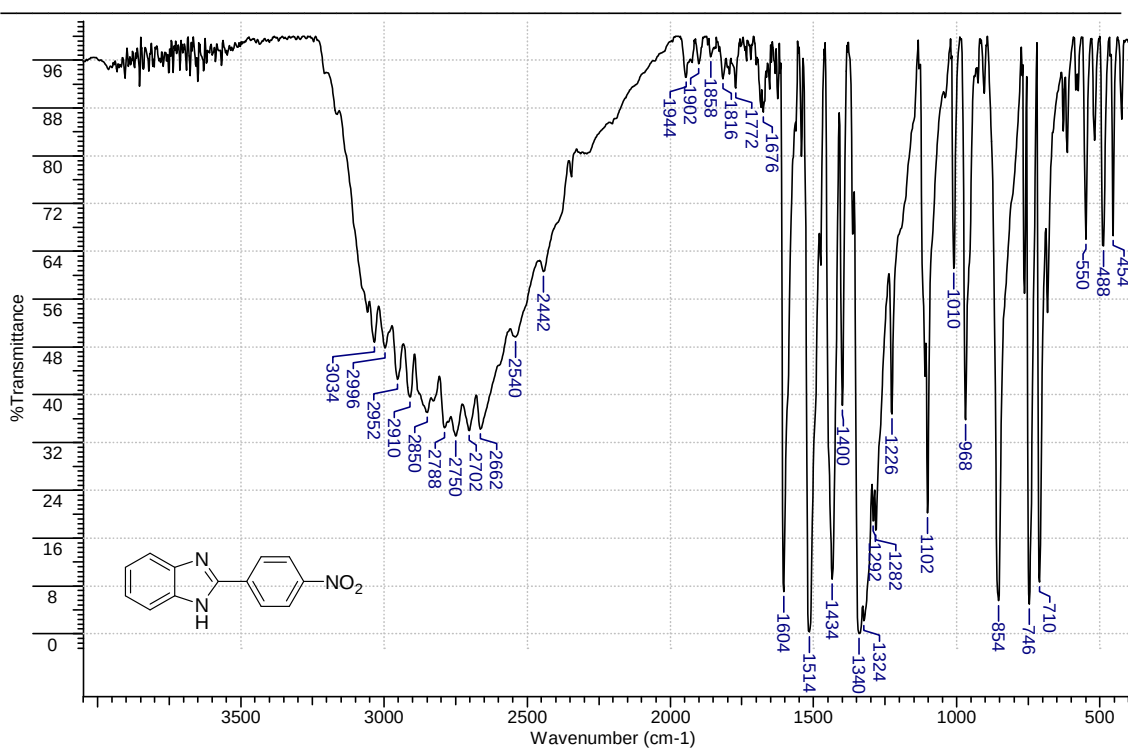


Figura 53 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(4-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (2).

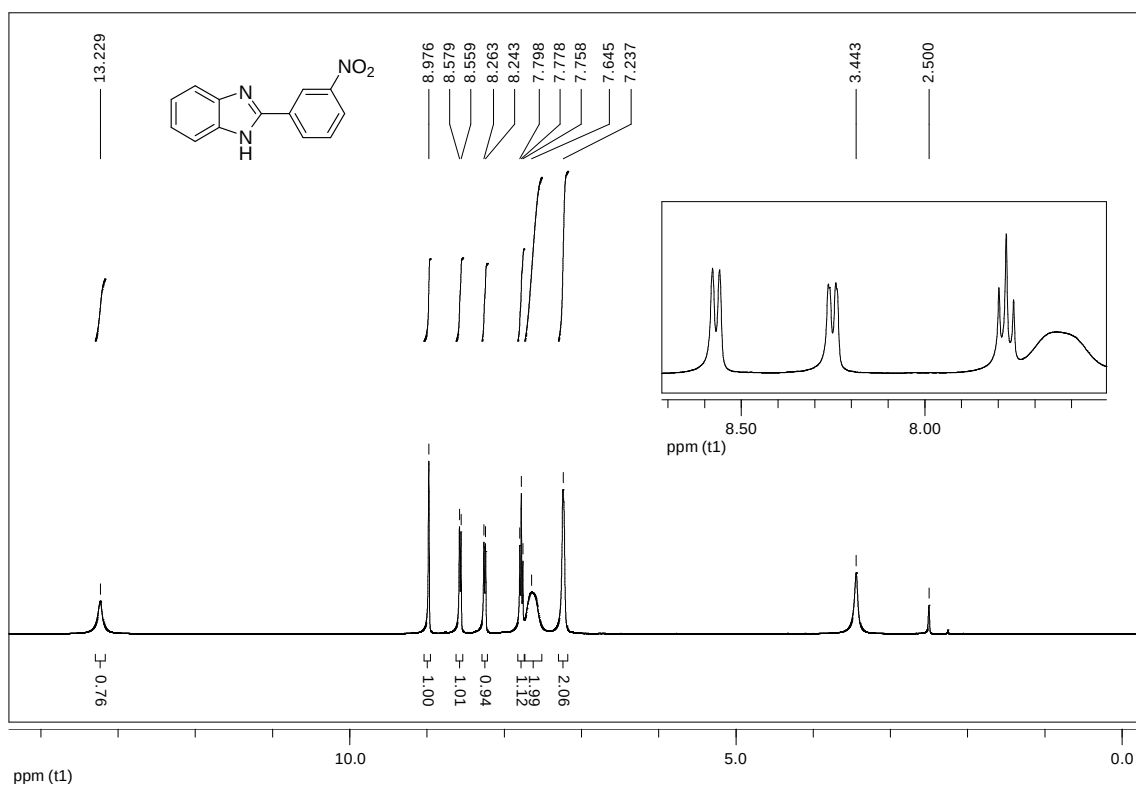


Figura 54 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz) do composto 2-(3-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (3).

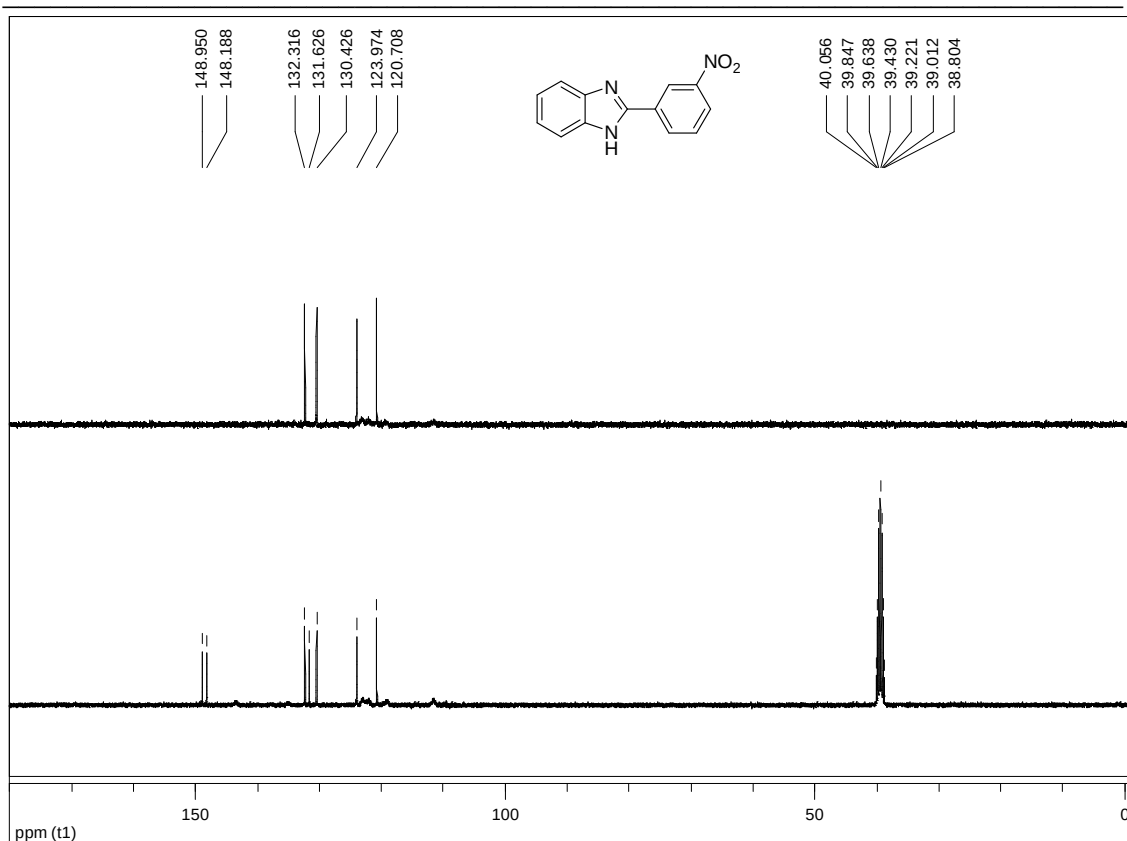


Figura 55 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO-}d_6$, 100MHz) do composto 2-(3-nitrofenil)-1H-benzimidazol (3).

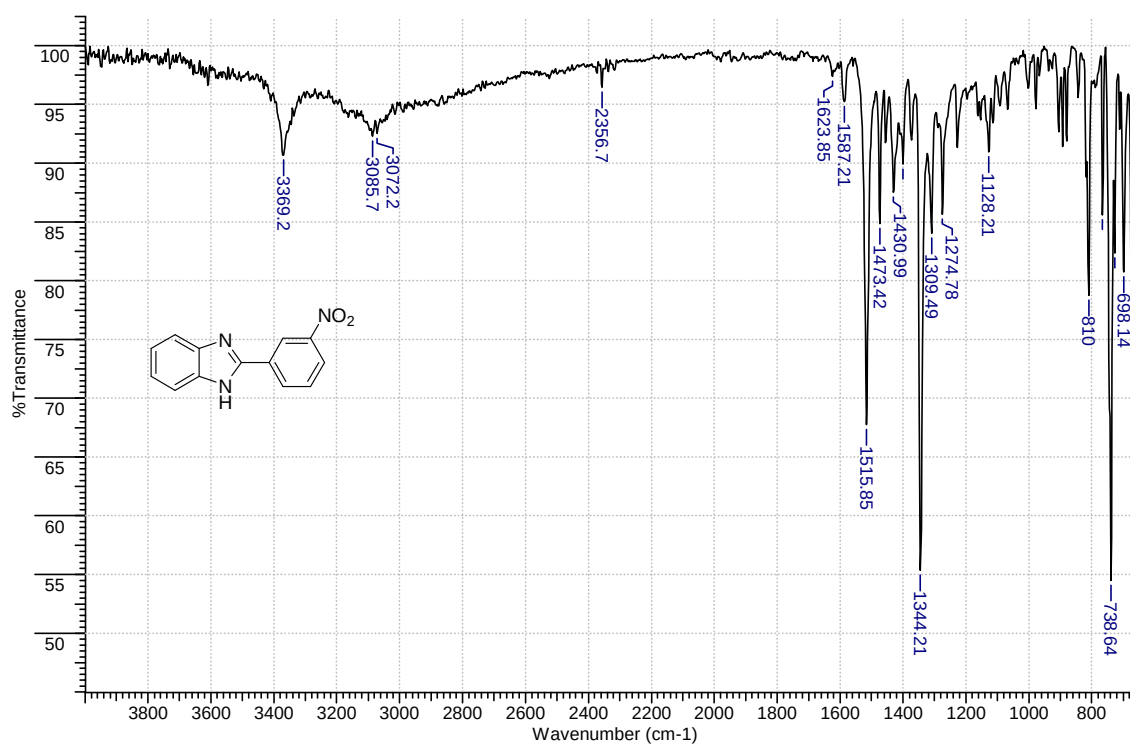


Figura 56 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(3-nitrofenil)-1H-benzimidazol (3).

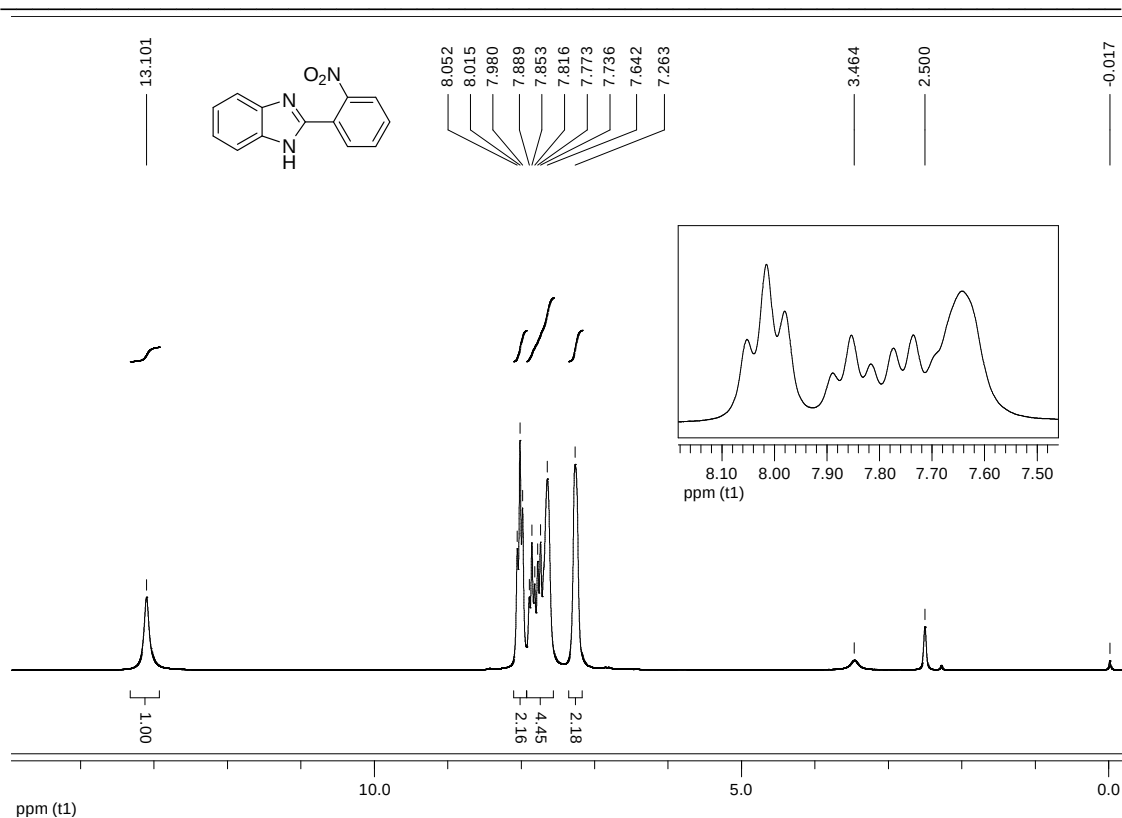


Figura 57 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(2-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (**4**).

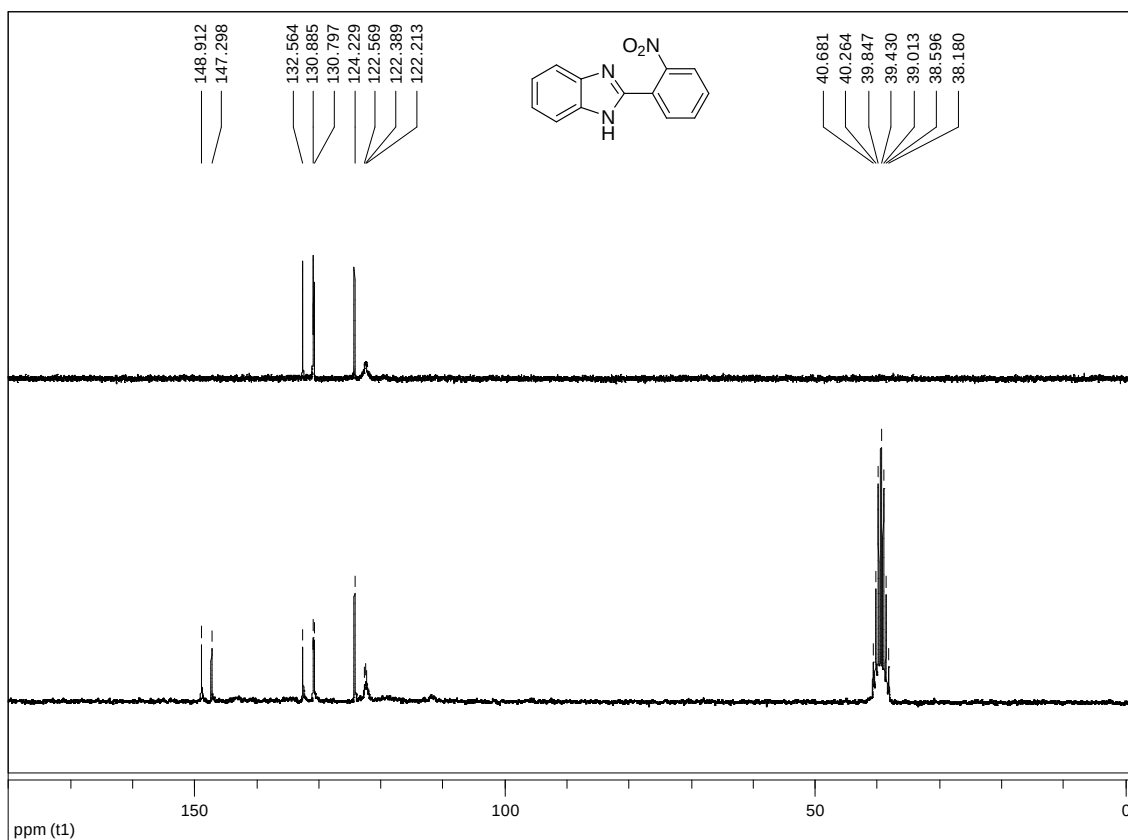


Figura 58 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(2-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol (**4**).

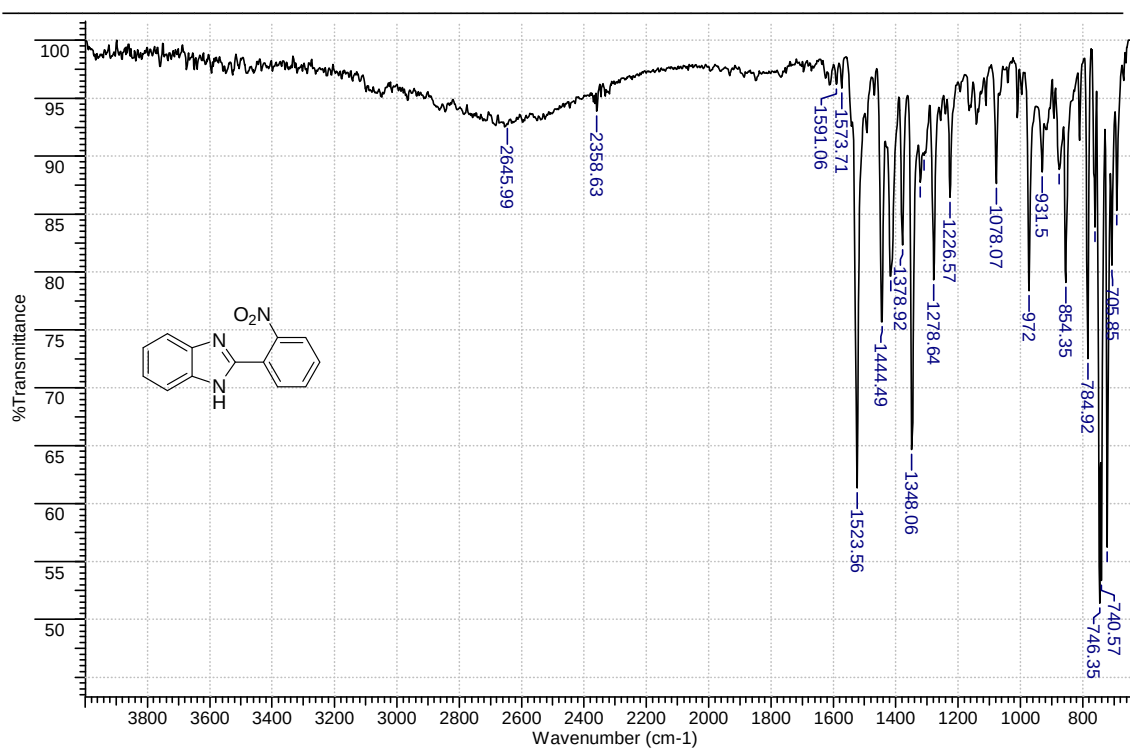


Figura 59 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-nitrofenil)-1H-benzimidazol (4).

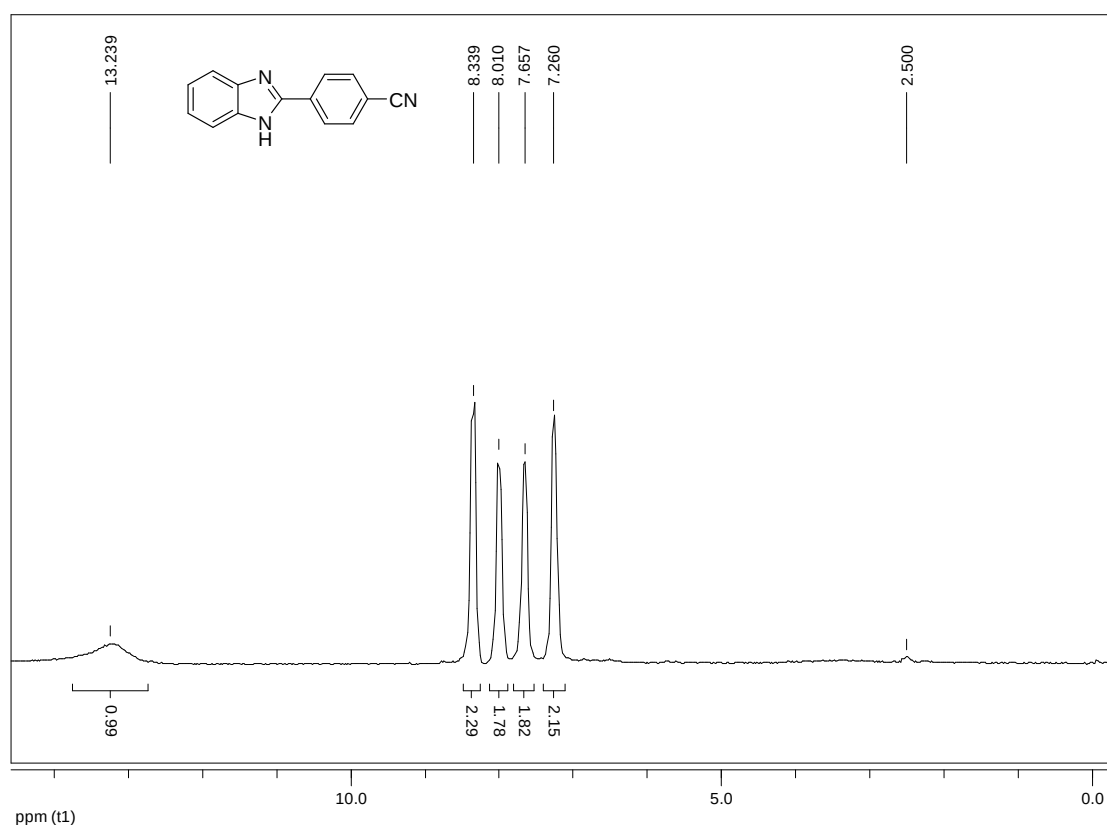


Figura 60 – Espectro de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(4-cianofenil)-1H-benzimidazol (5).

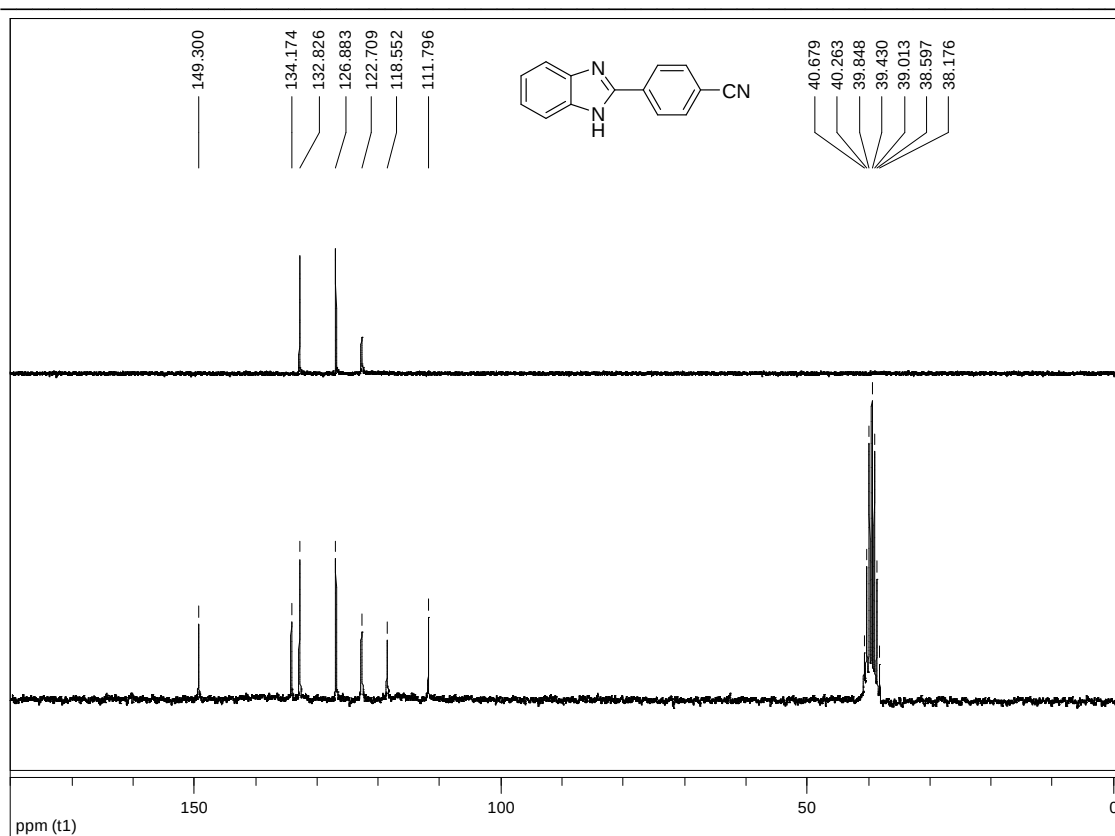


Figura 61 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(4-cianofenil)-1H-benzimidazol (5).

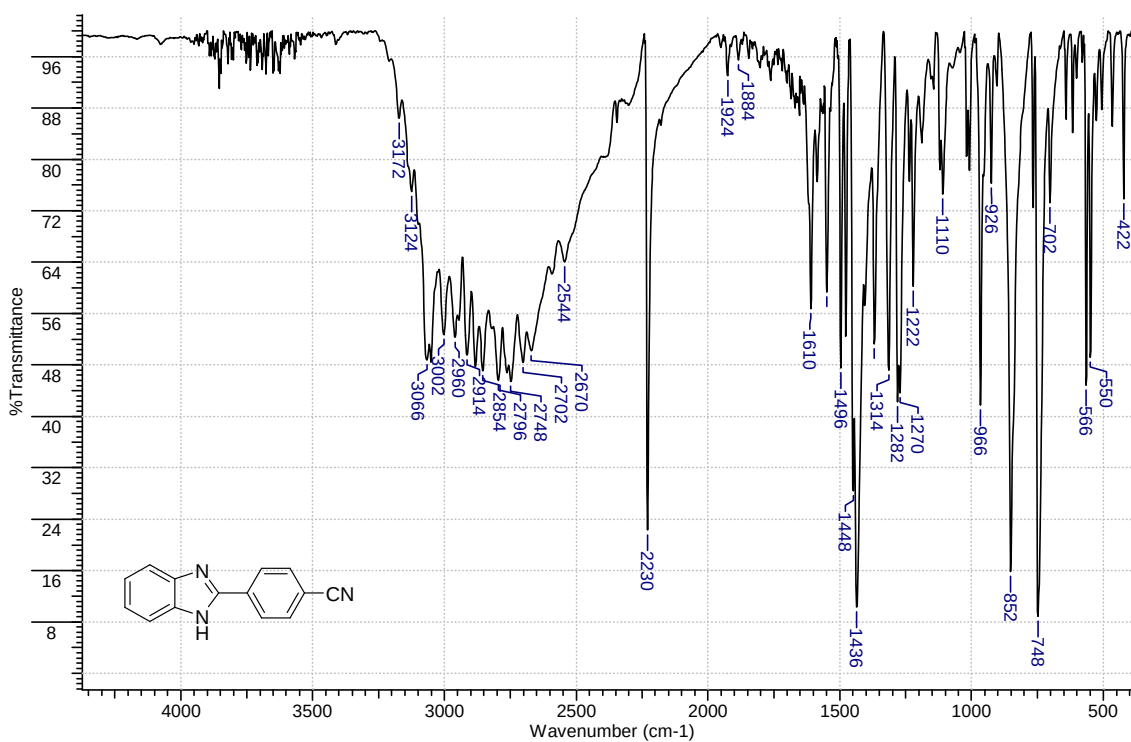


Figura 62 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(4-cianofenil)-1H-benzimidazol (5).

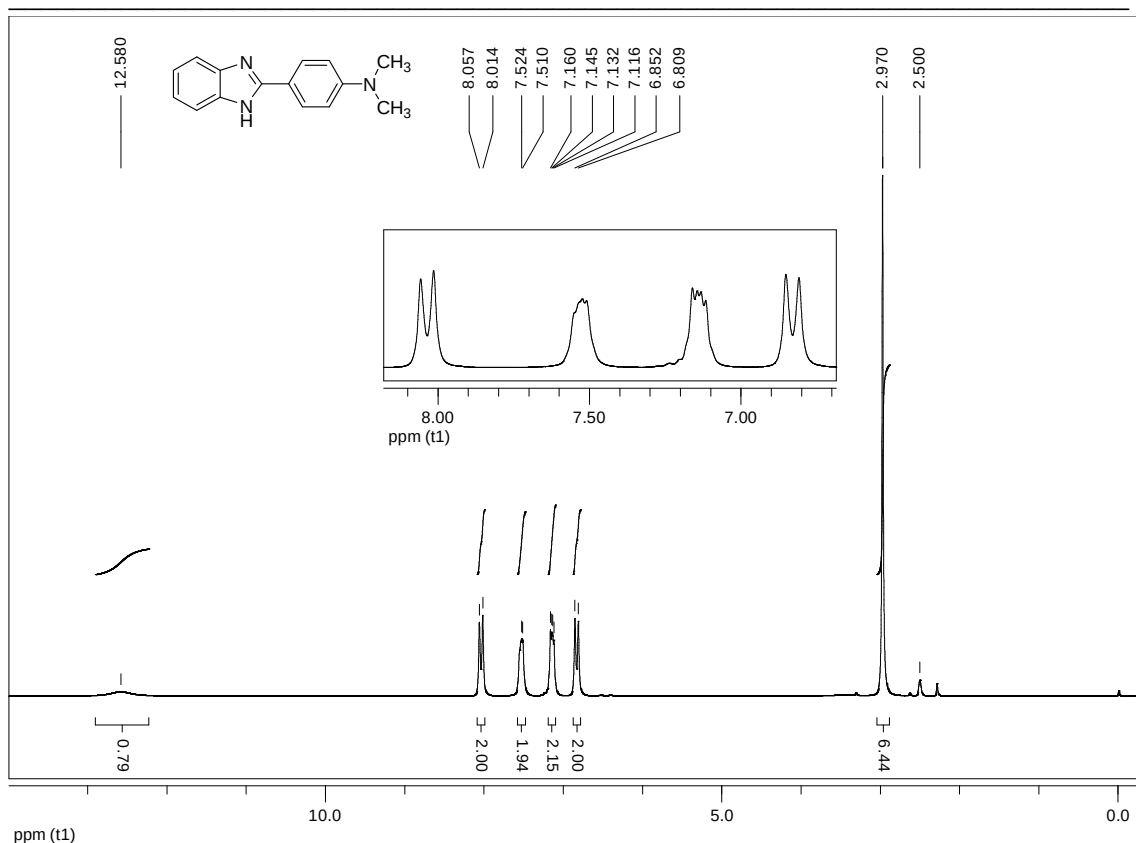


Figura 63 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-1*H*-benzimidazol (**6**).

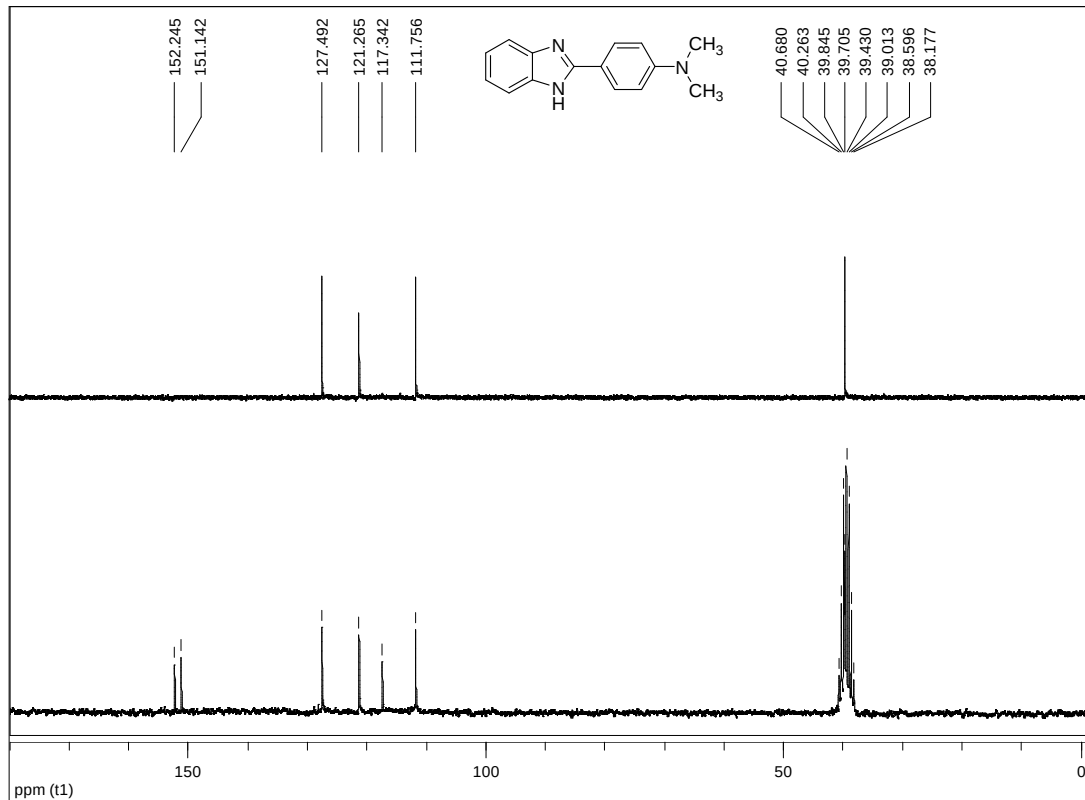


Figura 64 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-1*H*-benzimidazol (**6**).

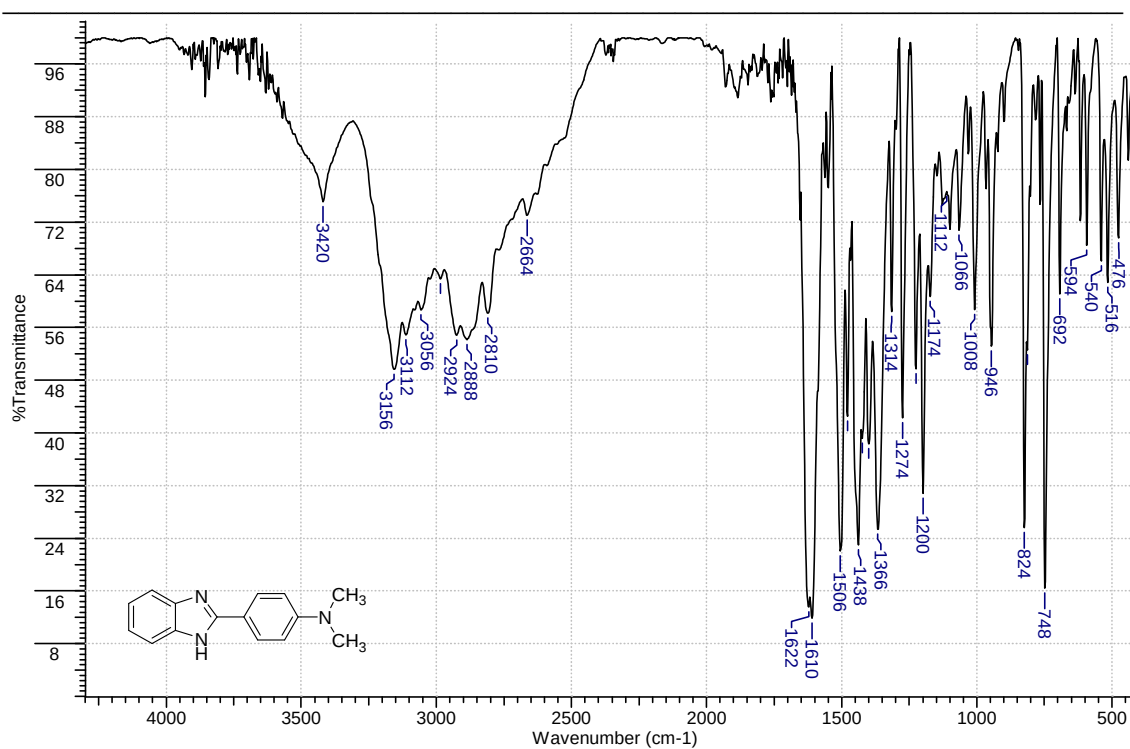


Figura 65 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)-1*H*-benzimidazol (**6**).

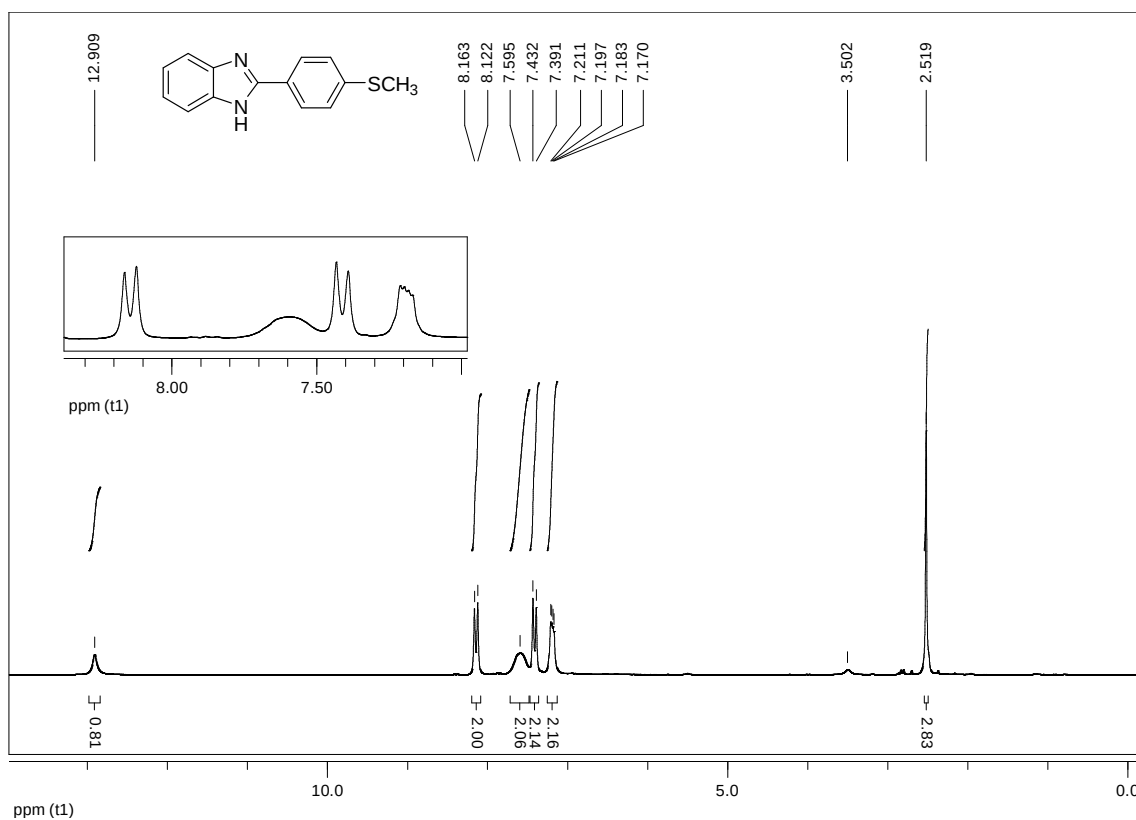


Figura 66 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(4-metiltiofenil)-1*H*-benzimidazol (**7**).

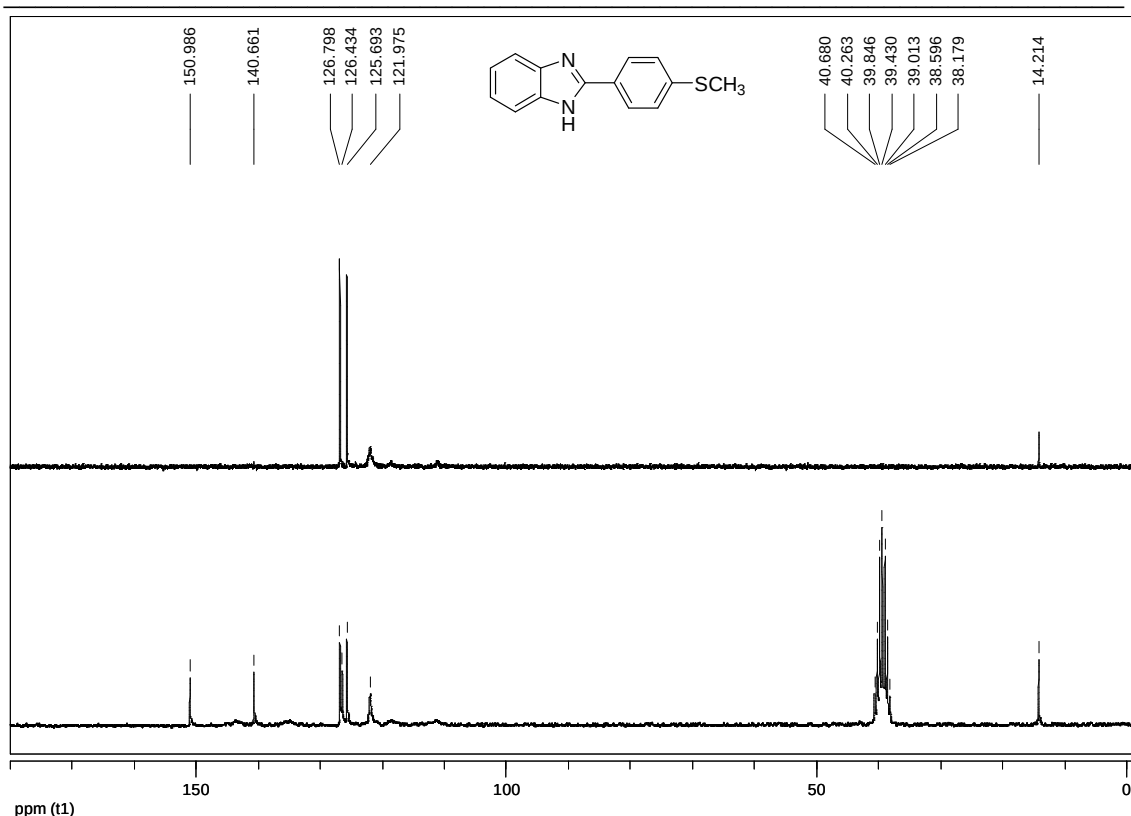


Figura 67 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(4-metiltiofenil)-1H-benzimidazol (7).

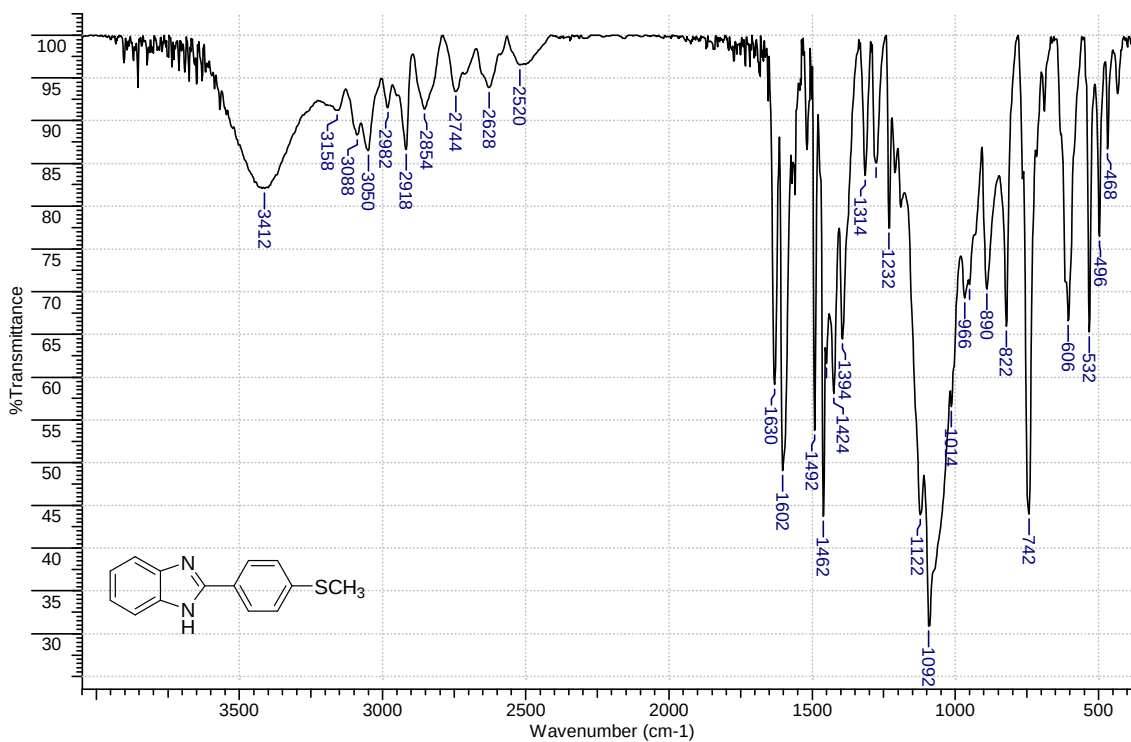


Figura 68 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(4-metiltiofenil)-1H-benzimidazol (7).

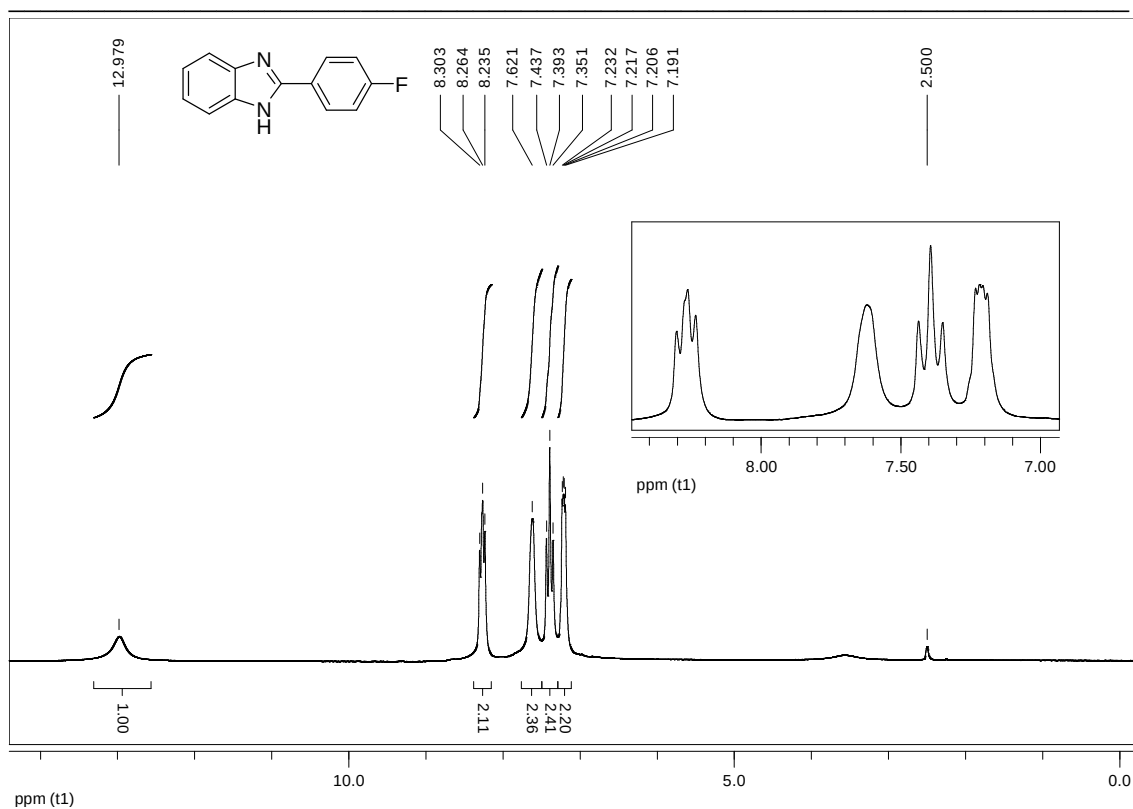


Figura 69 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(4-fluorofenil)-1*H*-benzimidazol (**8**).

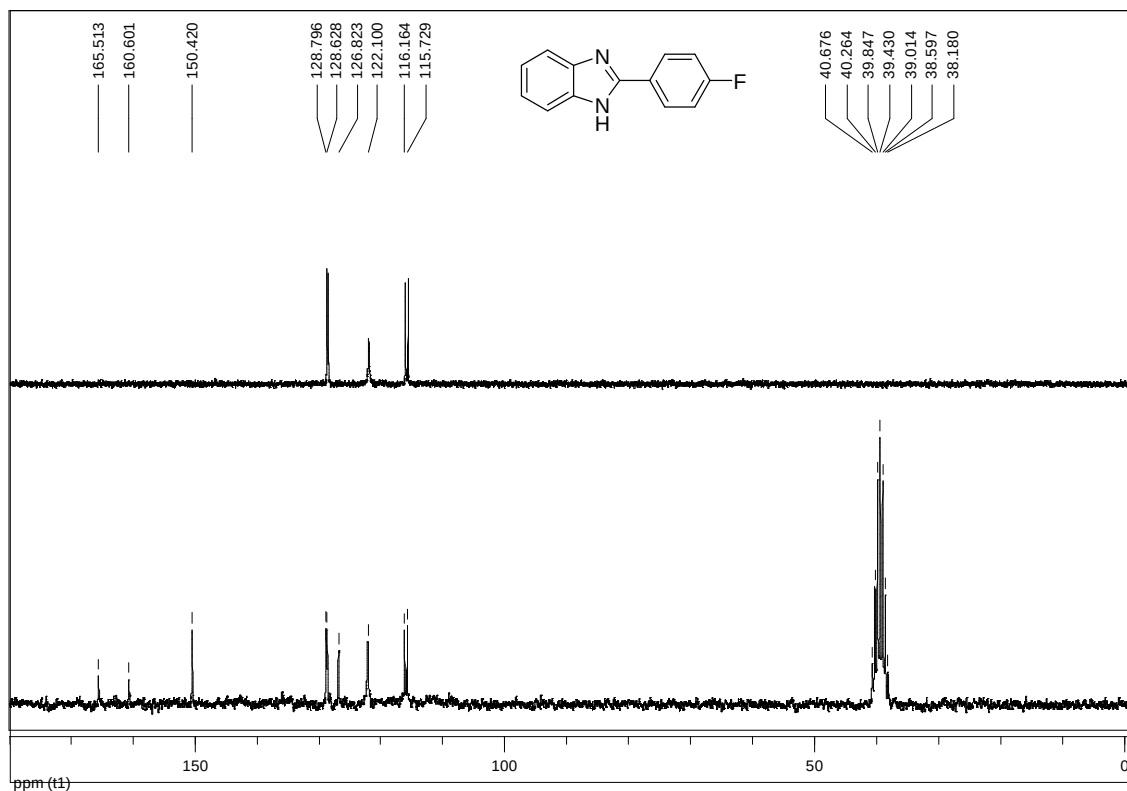


Figura 70 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(4-fluorofenil)-1*H*-benzimidazol (**8**).

c1ccc(cc1)-c2nc3ccccc3[nH]2

Chemical structure: 2-(4-chlorophenyl)-1H-benzotriazole

¹H NMR spectrum (ppm (t1)):

- Peak at 12.973 ppm (integration: 1.00)
- Peak at 8.214 ppm (integration: 2.26)
- Peak at 8.197 ppm (integration: 4.13)
- Peak at 8.193 ppm (integration: 2.24)
- Peak at 7.624 ppm (integration: 2.24)
- Peak at 7.607 ppm (integration: 4.13)
- Peak at 7.603 ppm (integration: 2.24)
- Peak at 7.228 ppm (integration: 4.13)
- Peak at 7.220 ppm (integration: 2.24)
- Peak at 7.213 ppm (integration: 4.13)
- Peak at 7.205 ppm (integration: 2.24)
- Peak at 2.500 ppm (integration: 2.24)

Integration values: 1.00, 2.26, 4.13, 2.24, 2.24, 4.13, 2.24, 4.13, 2.24, 4.13, 2.24, 2.24.

154 | P á g i n a

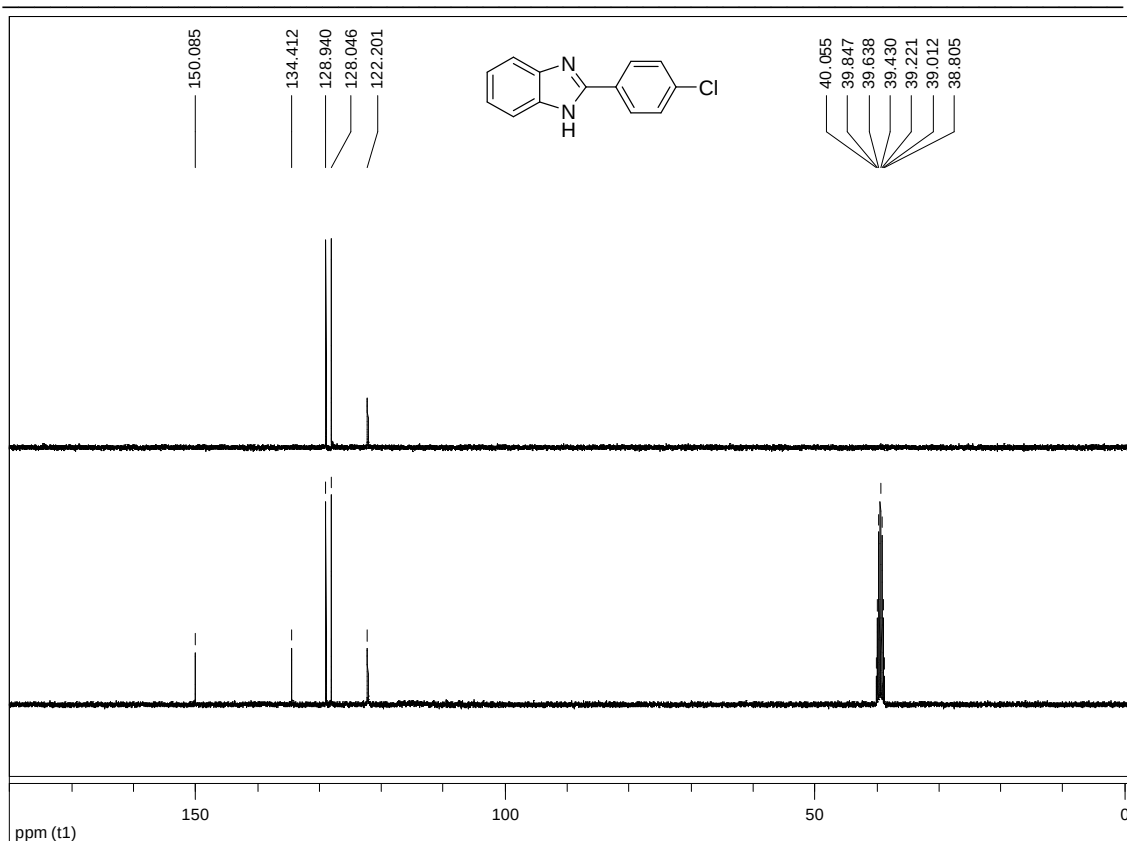


Figura 73 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 100MHz) do composto 2-(4-clorofenil)-1H-benzimidazol (9).

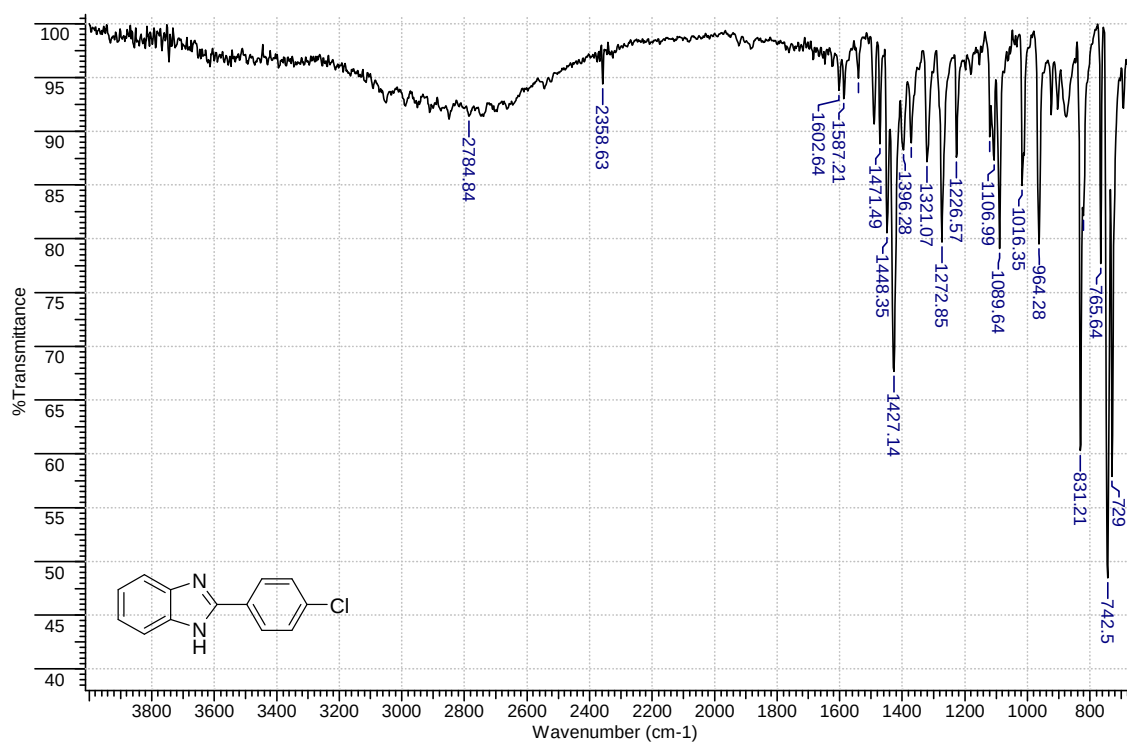


Figura 74 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-clorofenil)-1H-benzimidazol (9).

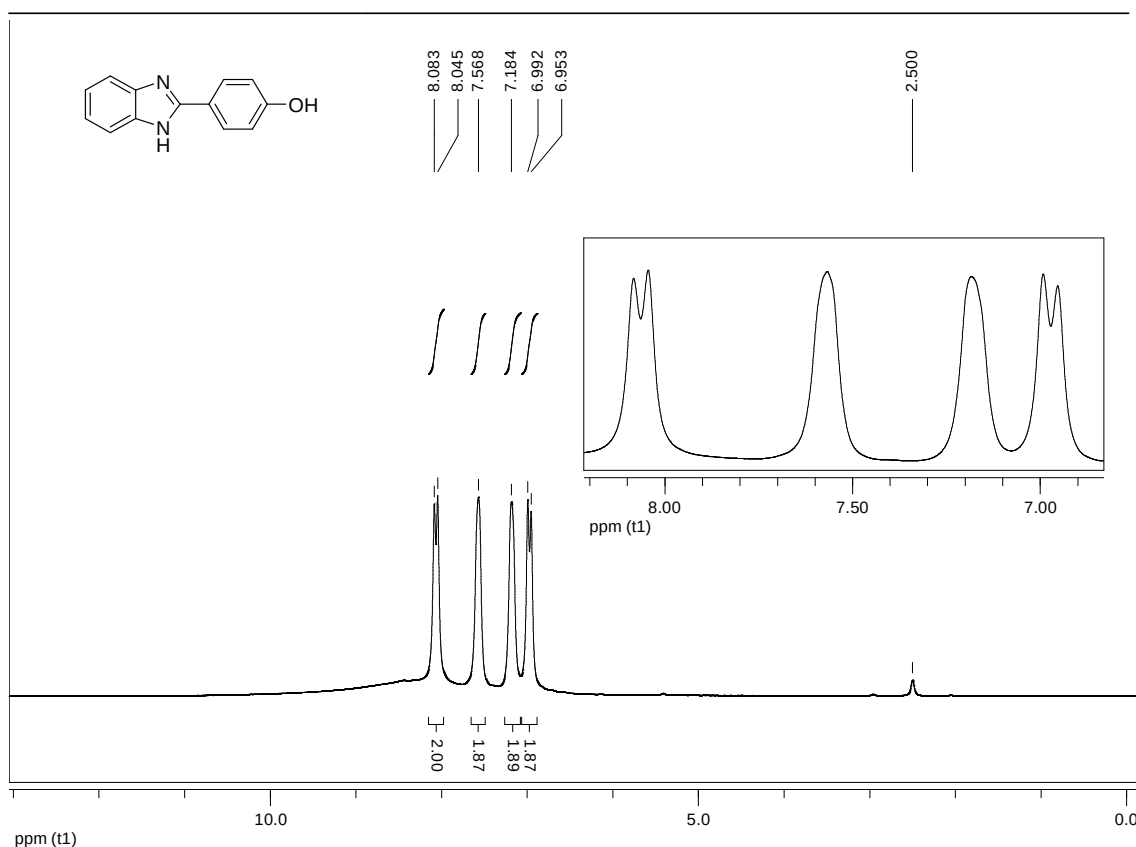


Figura 75 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(4-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**10**).

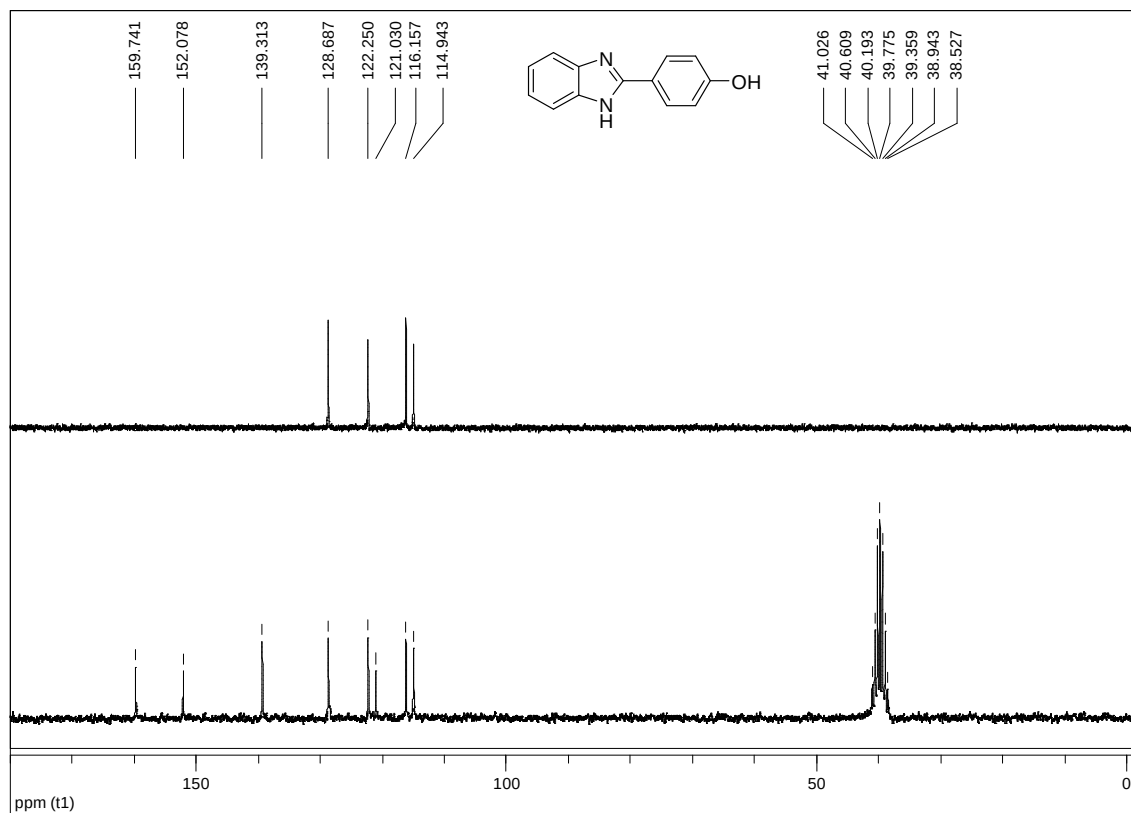


Figura 76 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(4-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**10**).

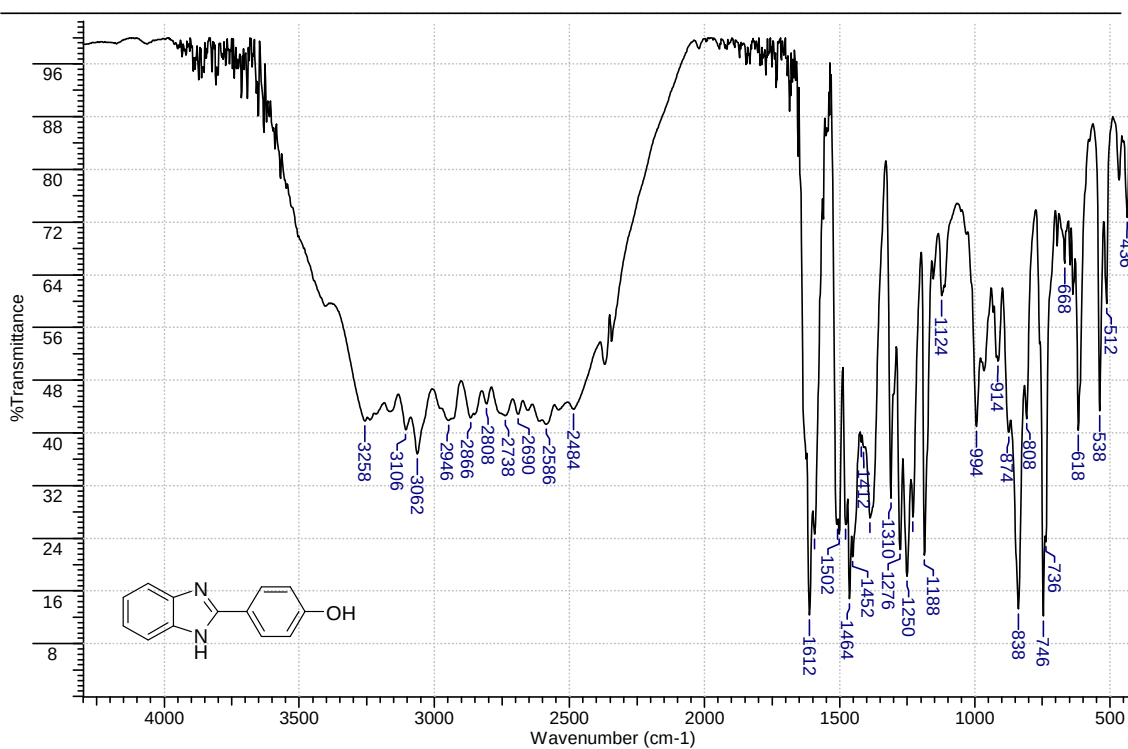


Figura 77 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-hidroxifenil)-1H-benzimidazol (10).

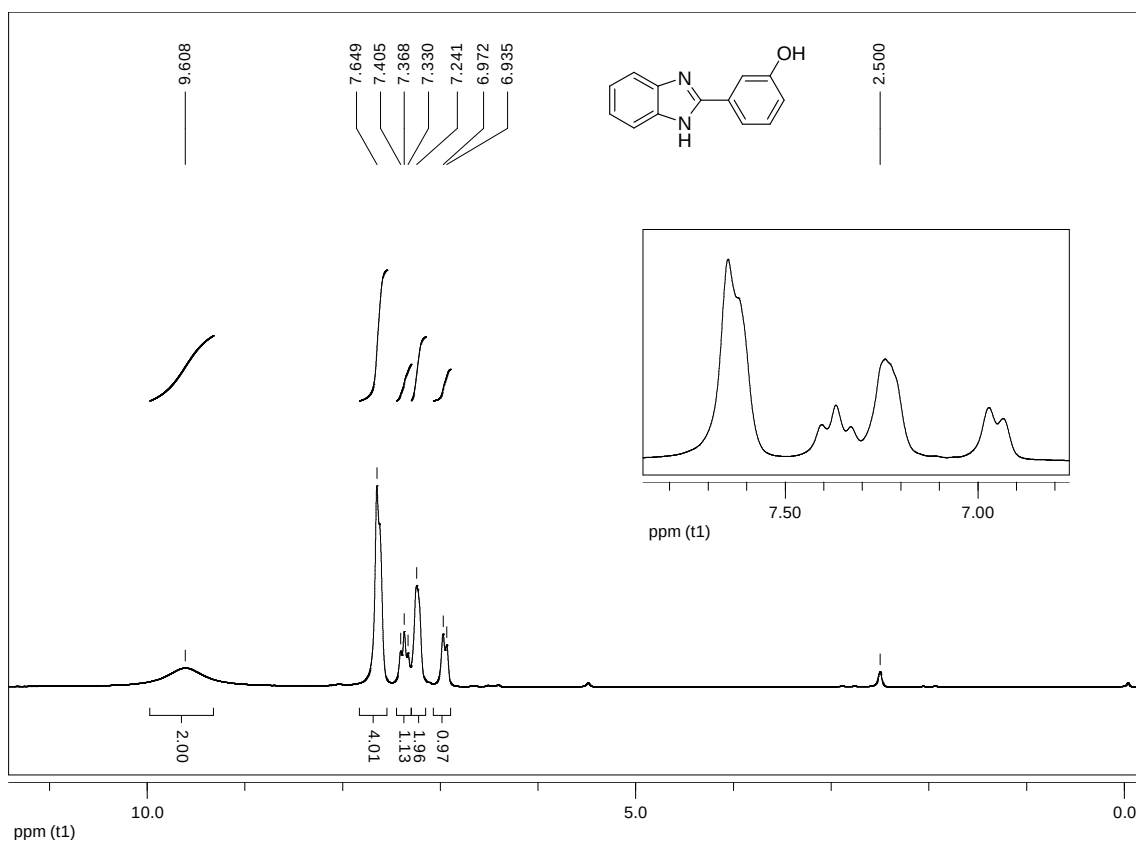


Figura 78 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(3-hidroxifenil)-1H-benzimidazol. (11).

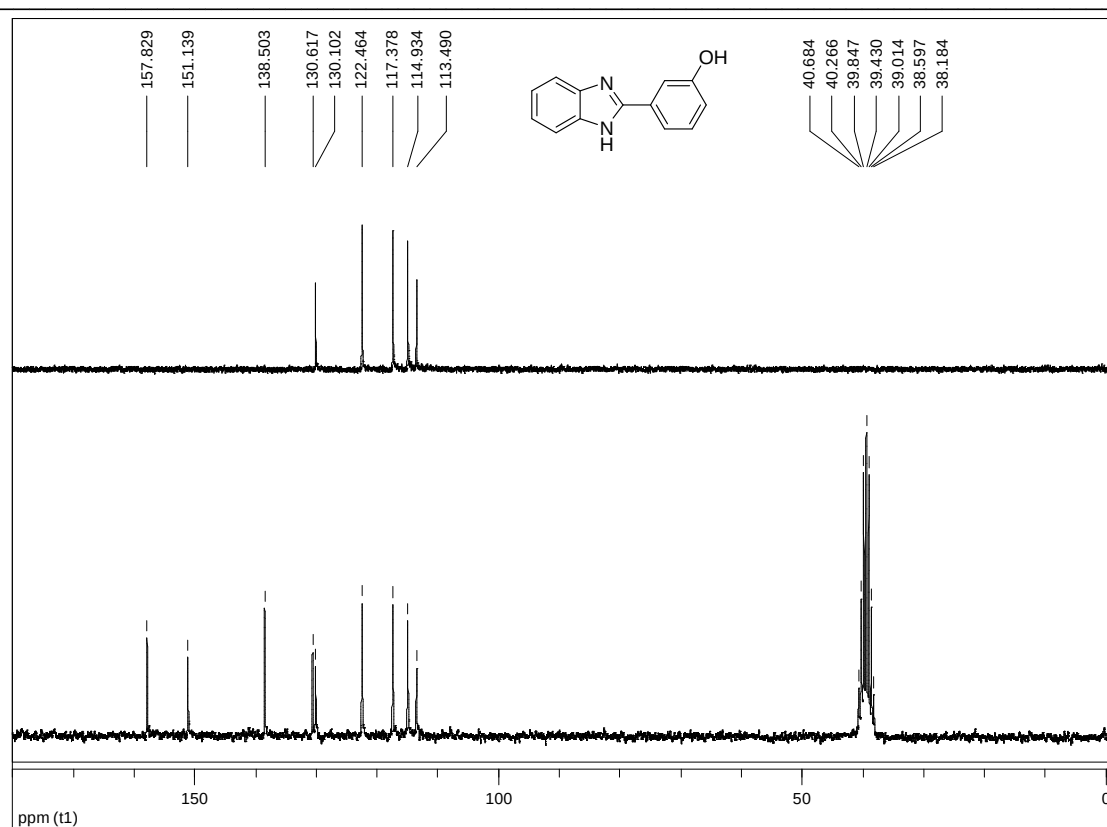


Figura 79 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(3-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**11**).

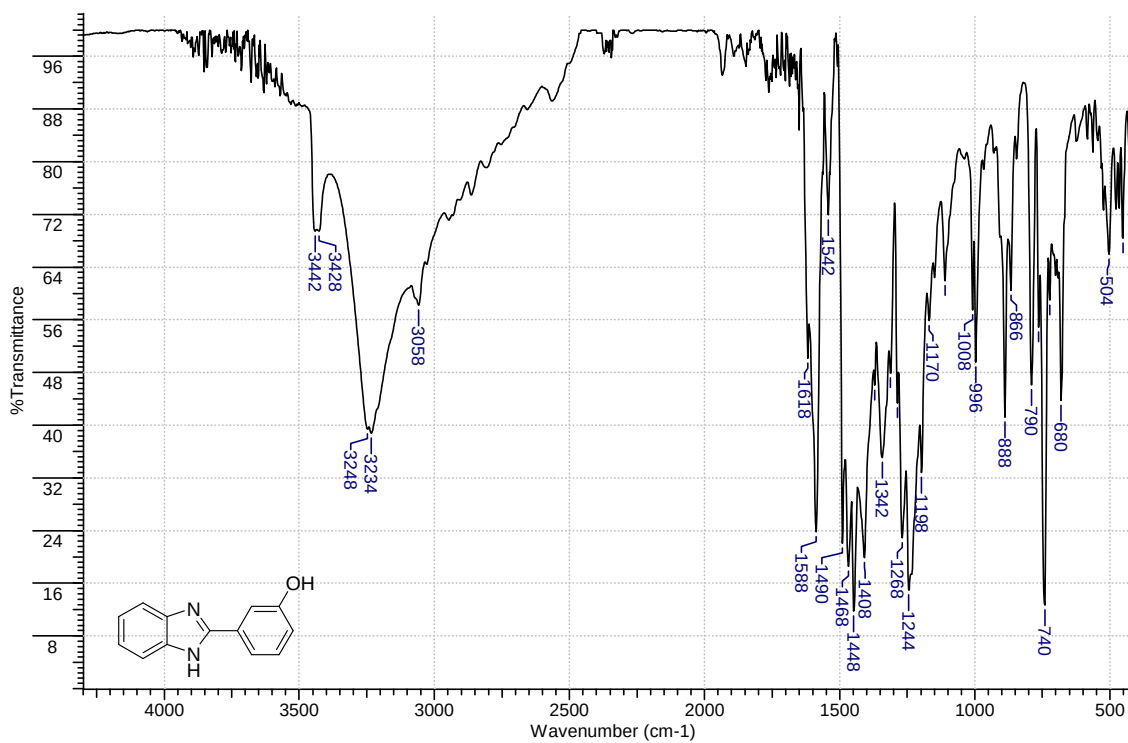


Figura 80 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(3-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**11**).

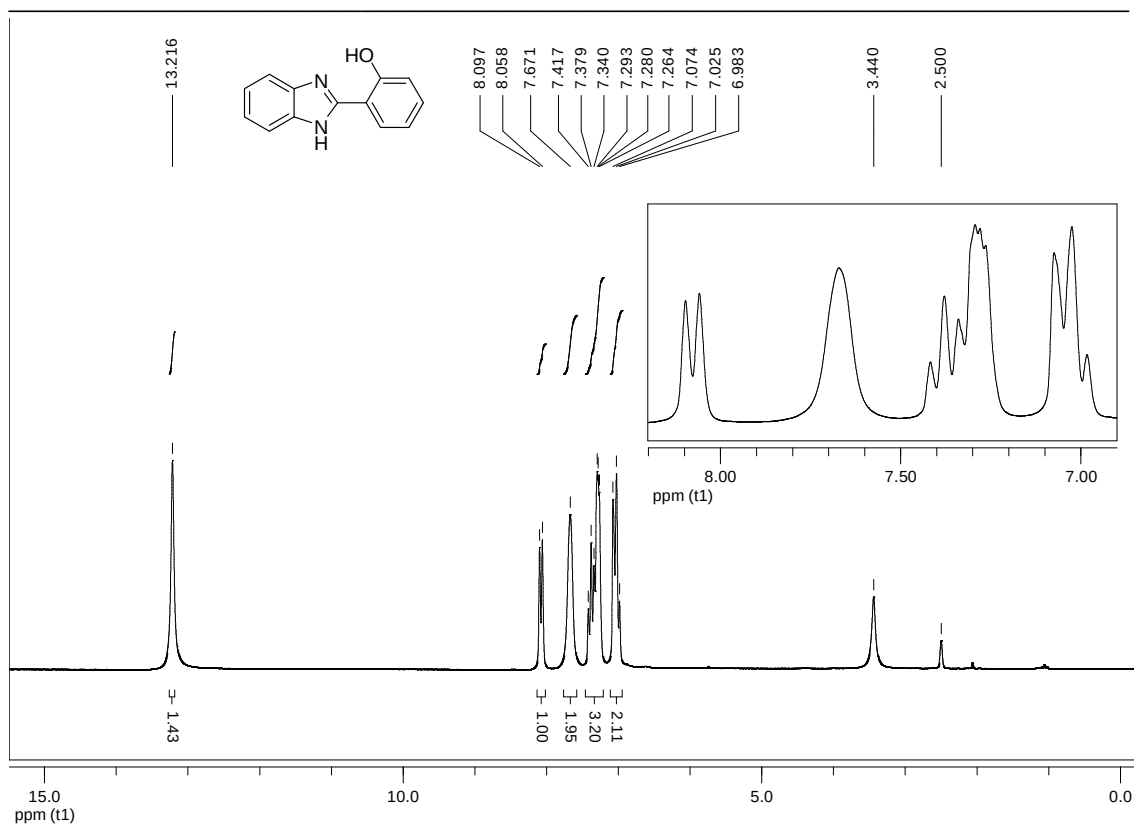


Figura 81 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**12**).

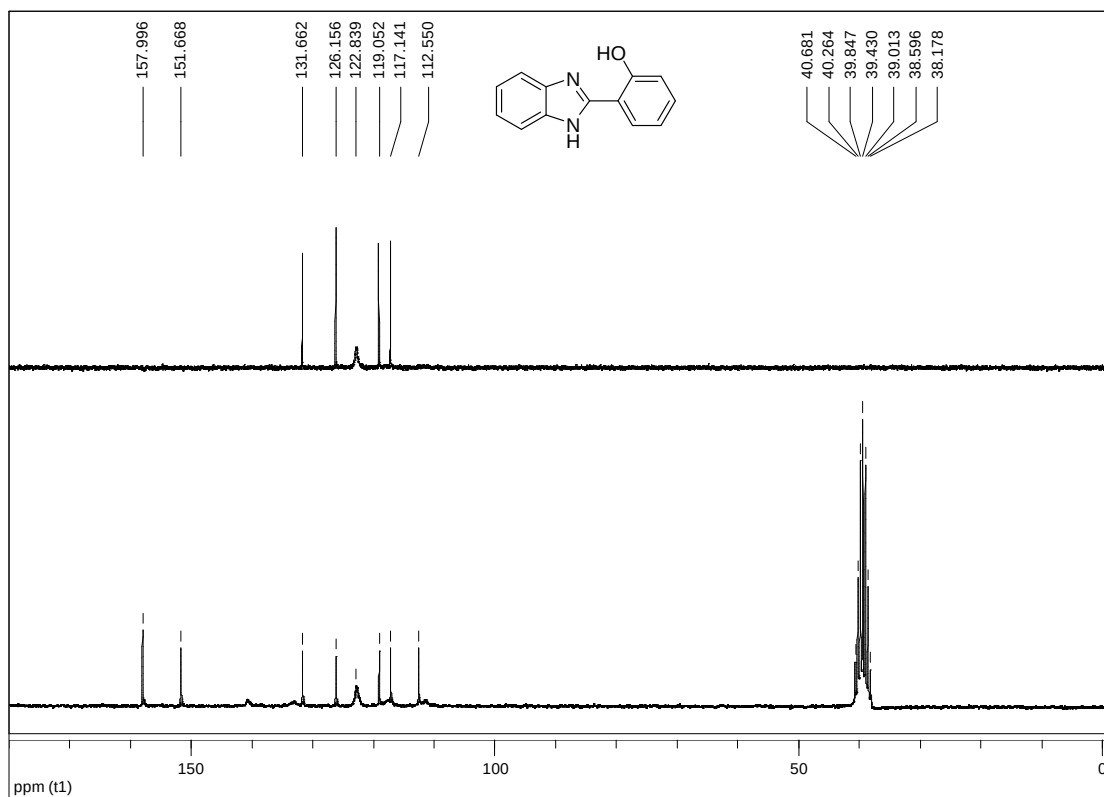


Figura 82 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(2-hidroxifenil)-1*H*-benzimidazol (**12**).

Chemical structure: c1ccc2nc3ccccc3n2c1

¹H NMR spectrum (ppm (t1)) showing peaks at 7.862, 7.849, 7.727, 7.704, 7.571, 7.215, and 2.500 ppm. Integration values are provided for the peaks: 1.00, 1.19, 1.22, 1.22, 1.22, 3.46.

160 | P á g i n a

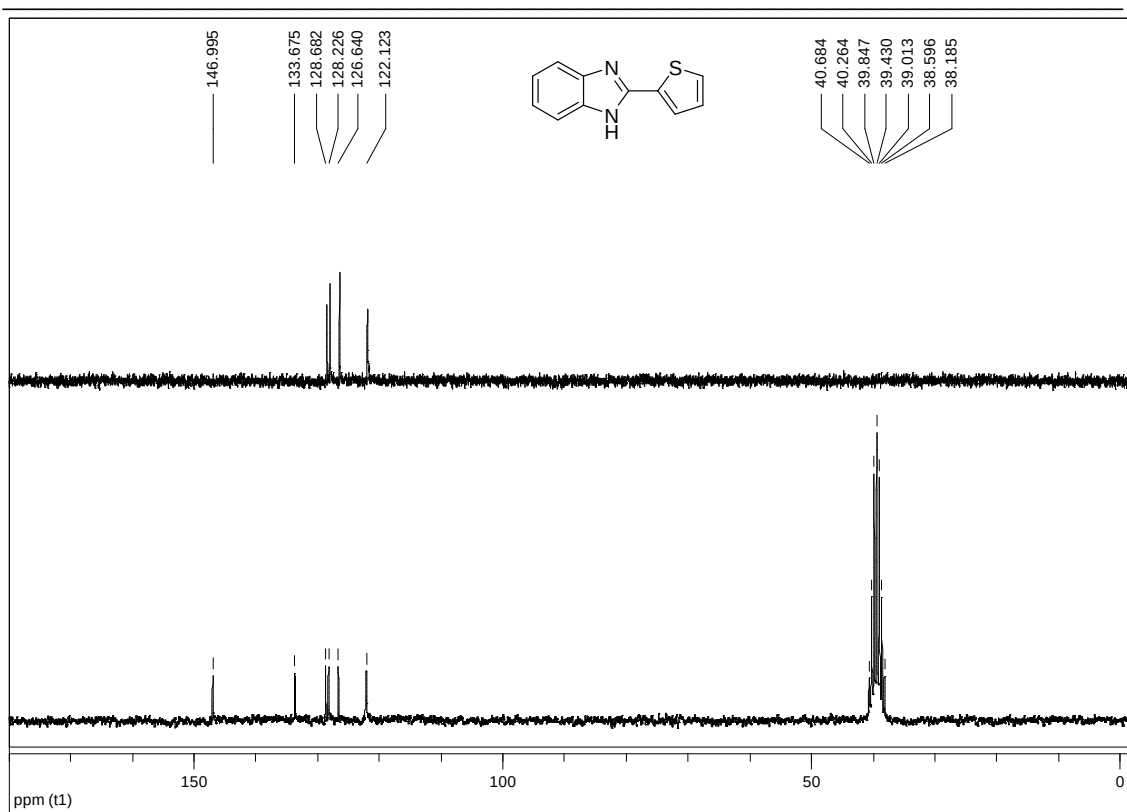


Figura 85 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(2-tienil)-1H-benzimidazol (**13**).

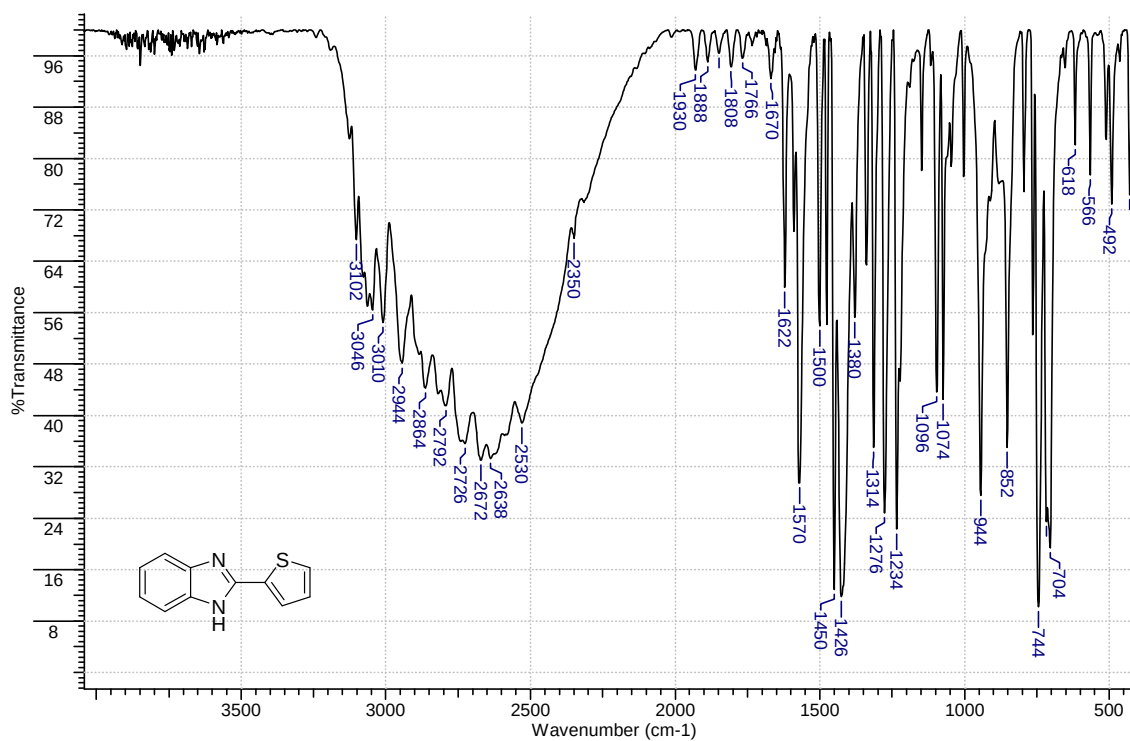


Figura 86 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(2-tienil)-1H-benzimidazol (**13**).

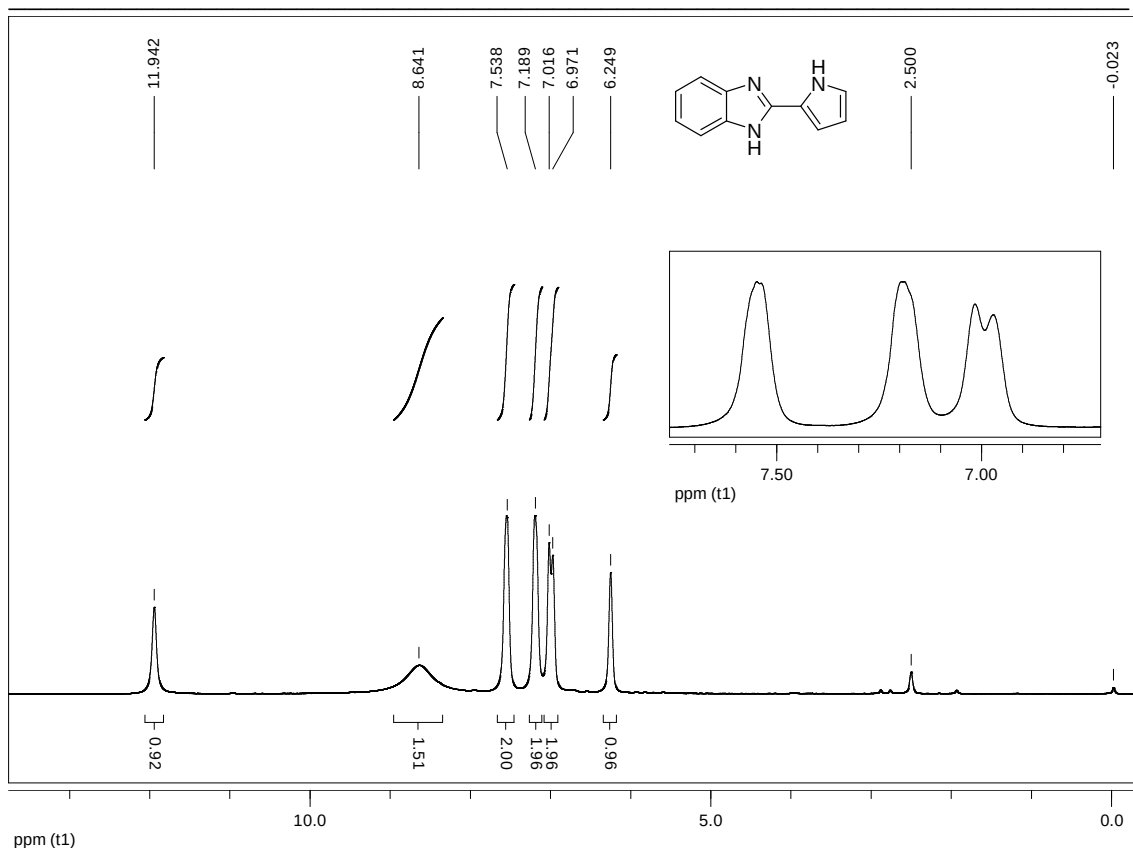


Figura 87 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(2-pirrol)-1*H*-benzimidazol (**14**).

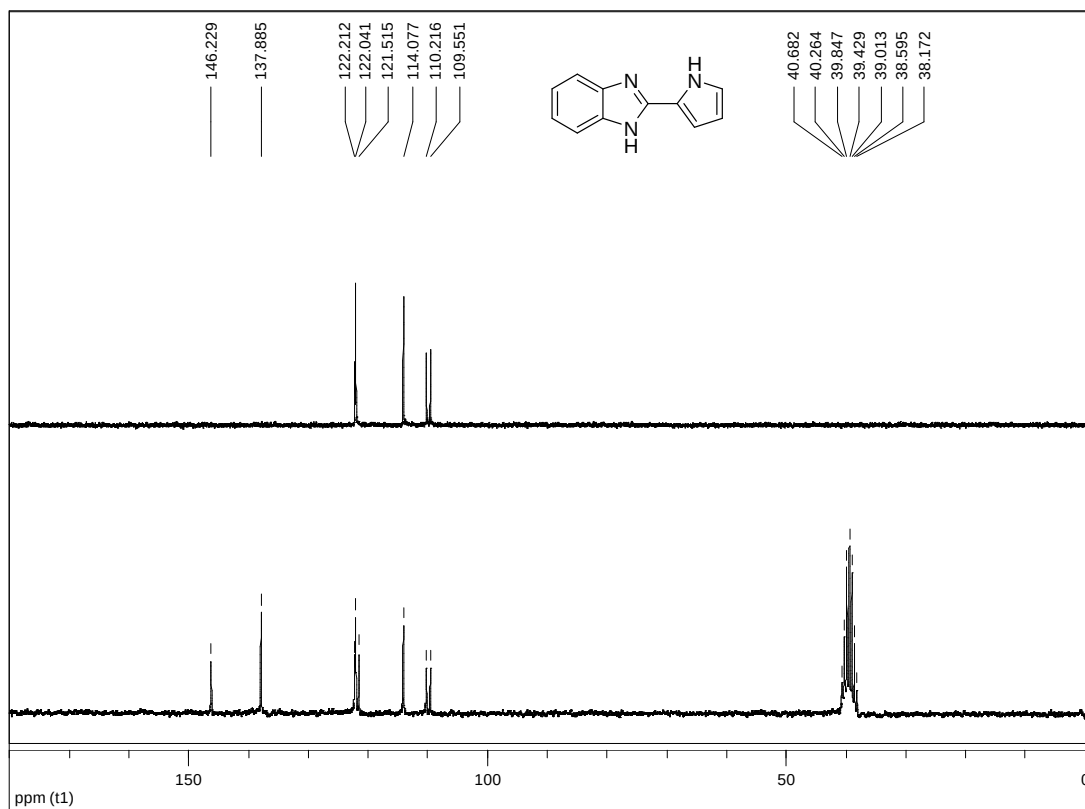


Figura 88 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(2-pirrol)-1*H*-benzimidazol (**14**).

Chemical structure: c1cc2c(c1)nc3ccccc3n2-c4ccoc4

¹H NMR spectrum (ppm (t1)):

Chemical Shift (ppm)	Integration
12.943	0.69
7.929	1.06
7.593	2.14
7.224	3.16
6.711	1.00
2.500	1.00

163 | P á g i n a

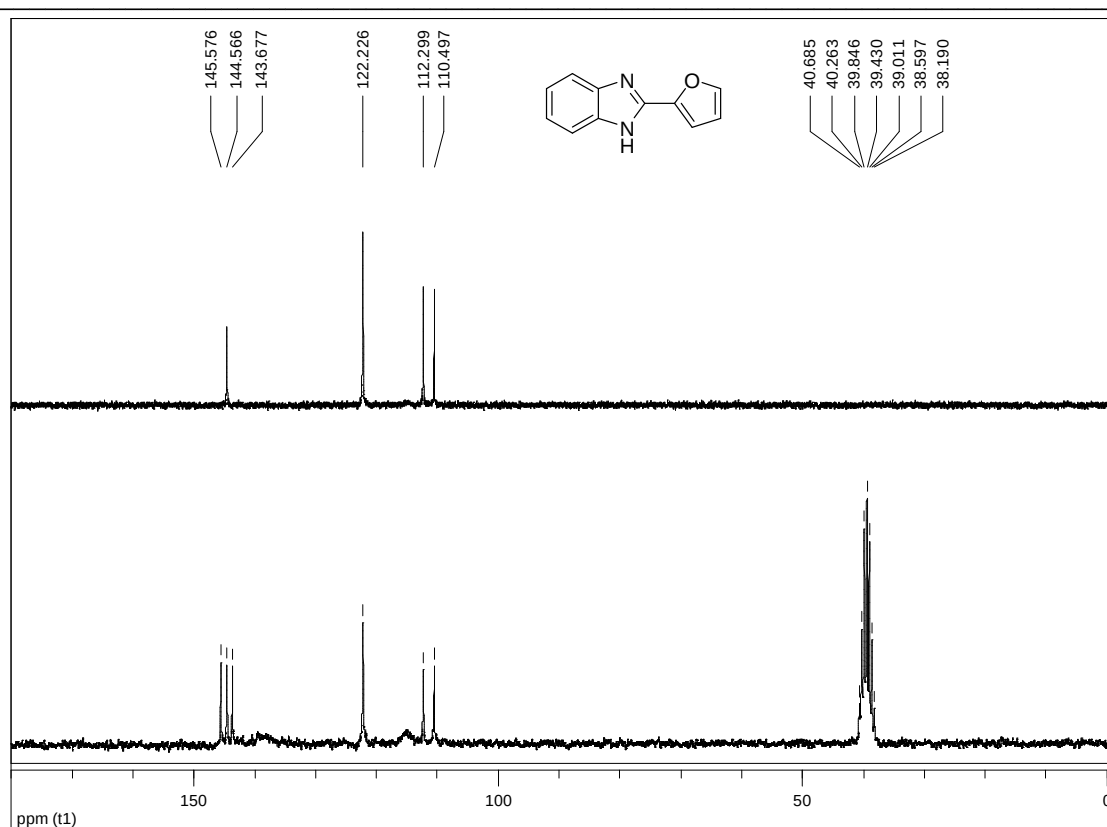


Figura 91 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(2-furânil)-1*H*-benzimidazol (**15**).

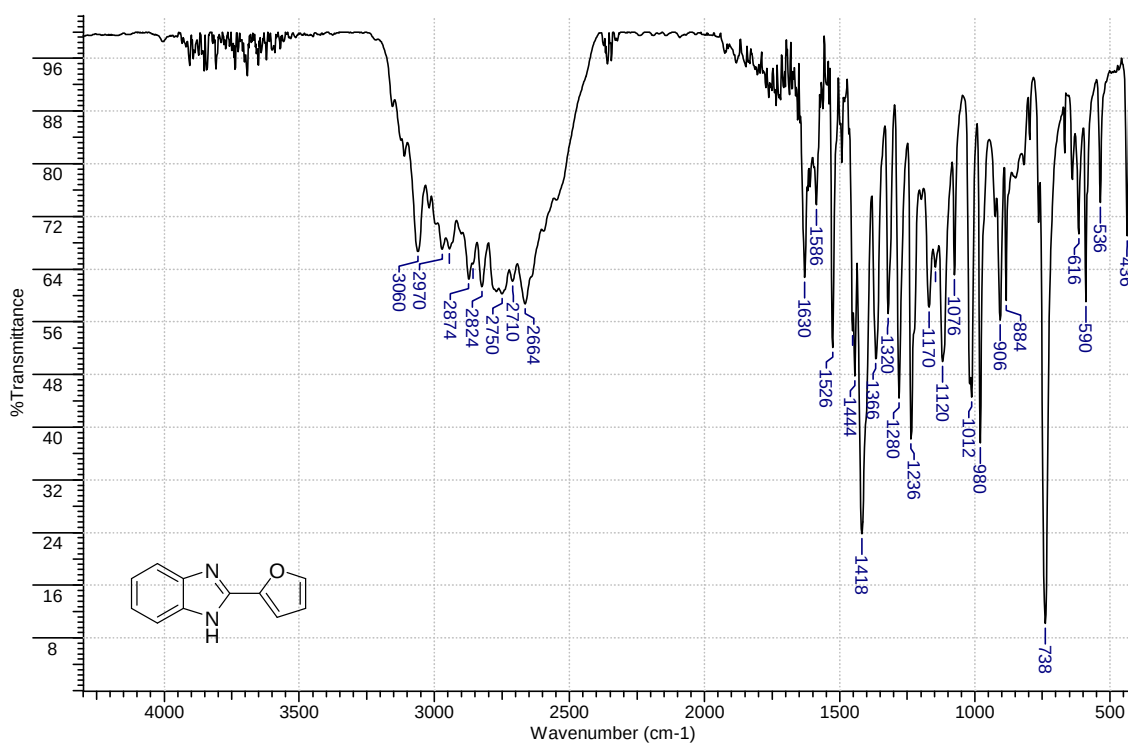


Figura 92 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-furânil)-1*H*-benzimidazol (**15**).

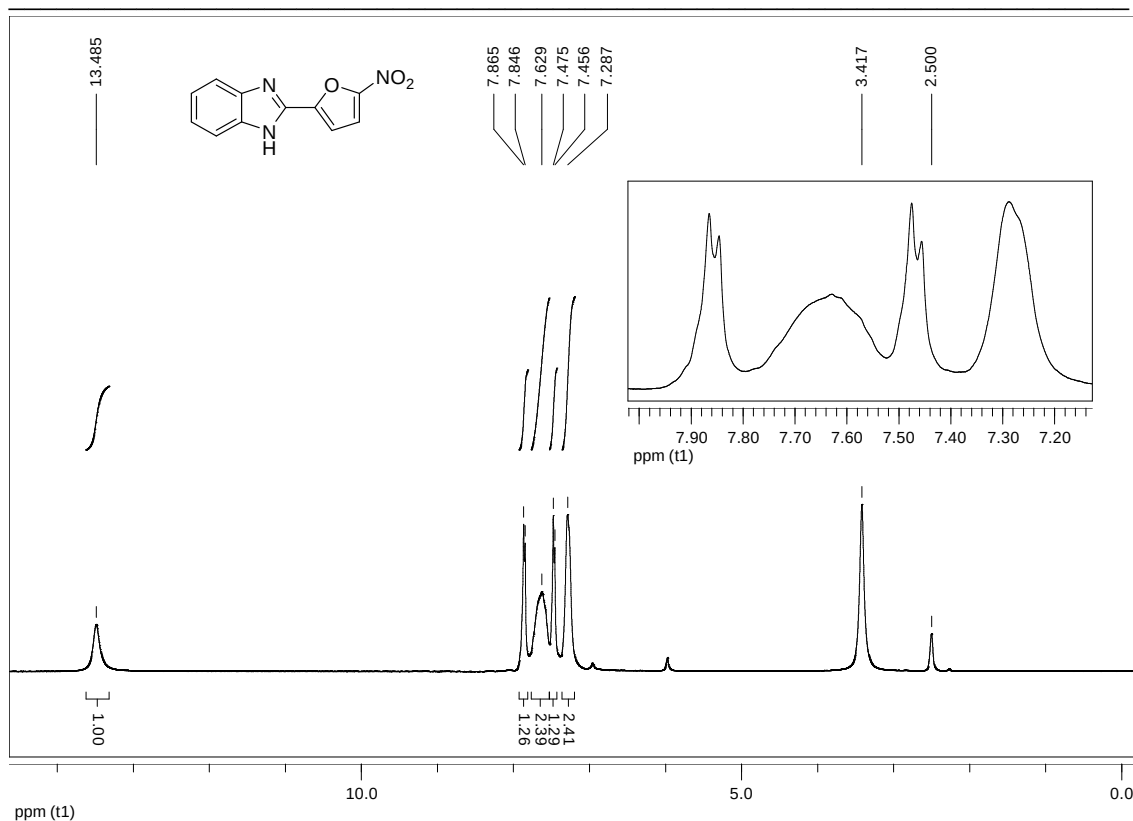


Figura 93 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(5-nitro-2-furanyl)-1*H*-benzimidazol (16).

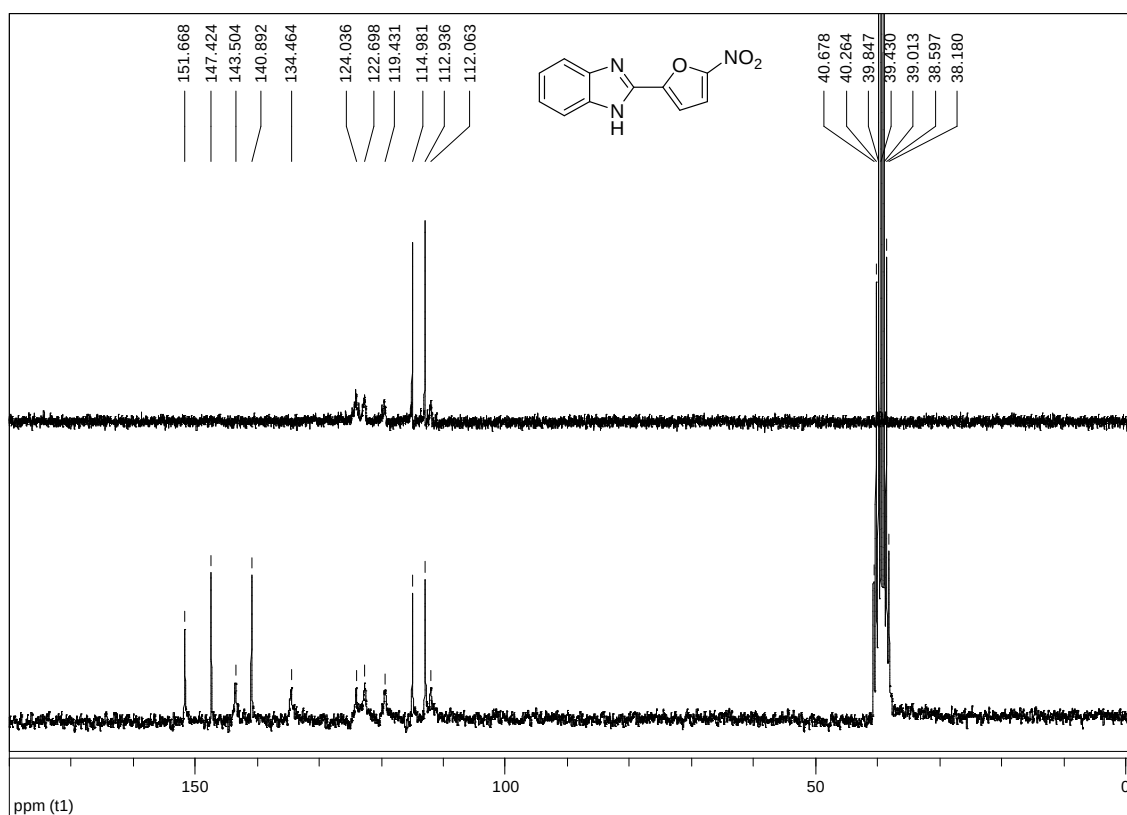


Figura 94 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(5-nitro-2-furanyl)-1*H*-benzimidazol (16).

Chemical structure: c1ccc(cc1)-c2ccncc2

¹H NMR spectrum (CDCl₃) showing peaks at 8.826, 8.801, 8.216, 8.190, 7.800, 7.716, 7.700, 7.686, 7.674, 7.310, 7.294, and 7.281 ppm. Integration values are 2.00, 2.11, 2.53, 1.35, and 2.15. An inset shows the aromatic region from 8.00 to 7.50 ppm. The chemical structure of 2-phenylpyridine is shown.

166 | P á g i n a

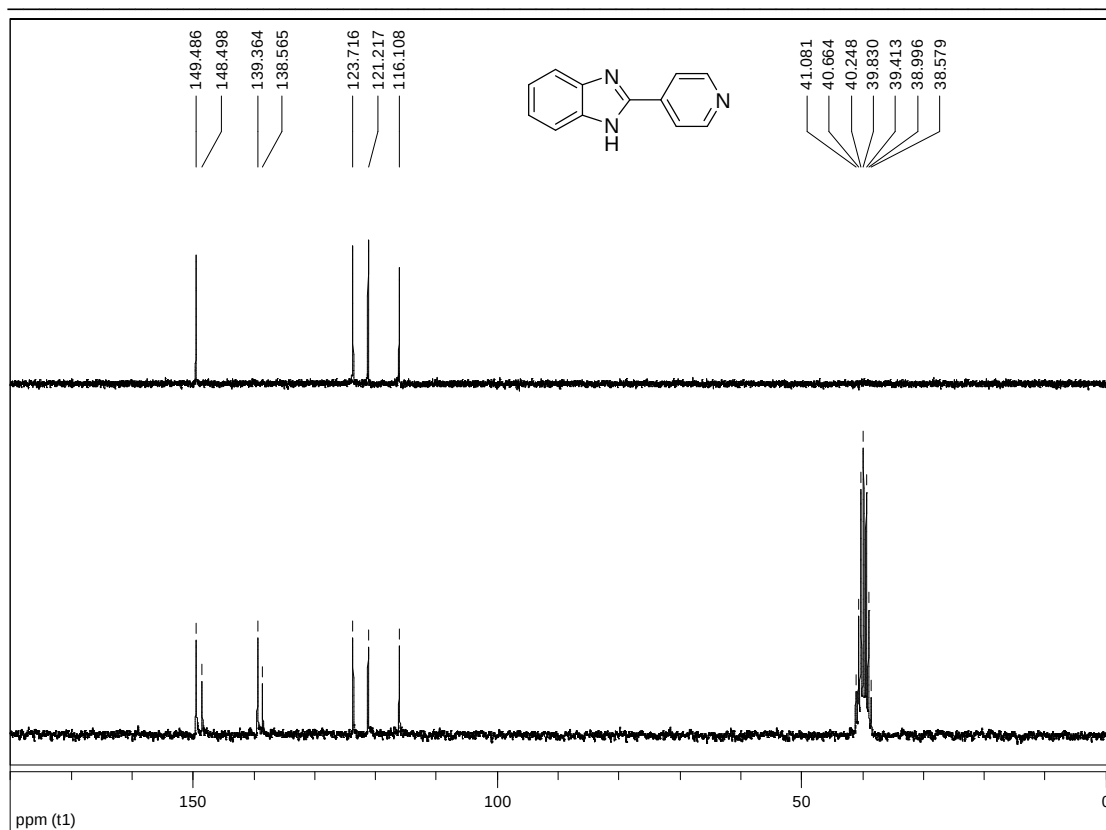


Figura 97 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(4-piridil)-1H-benzimidazol (17).

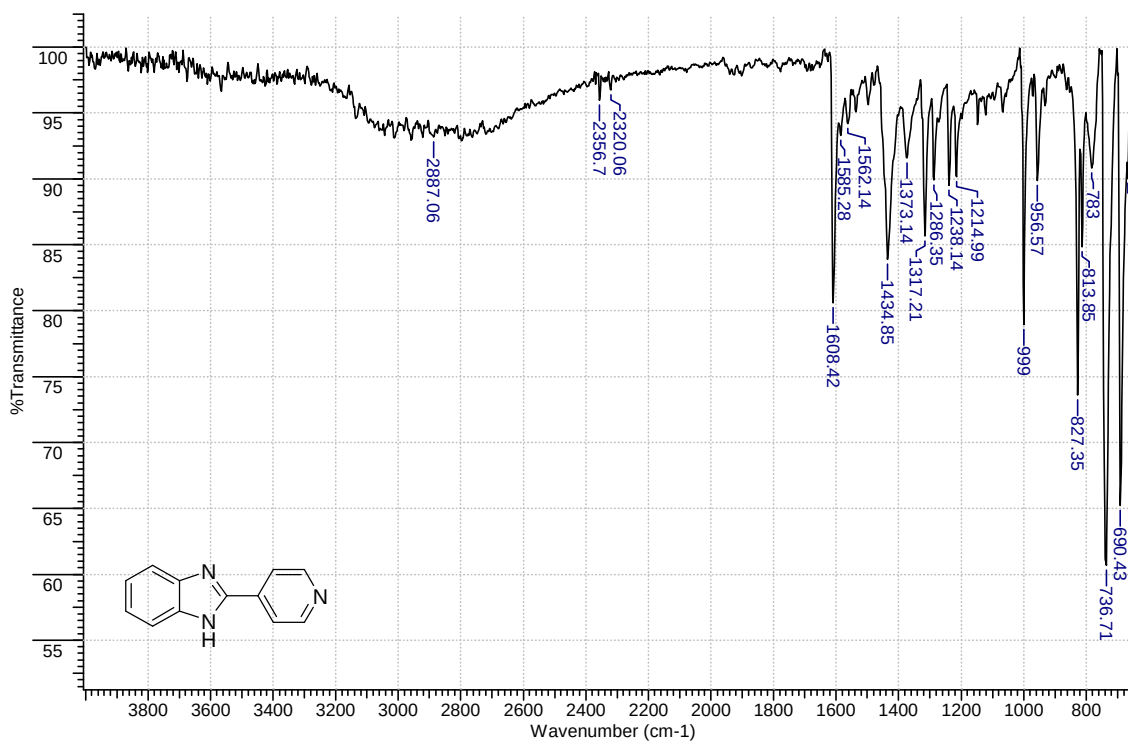


Figura 98 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-piridil)-1H-benzimidazol (17).

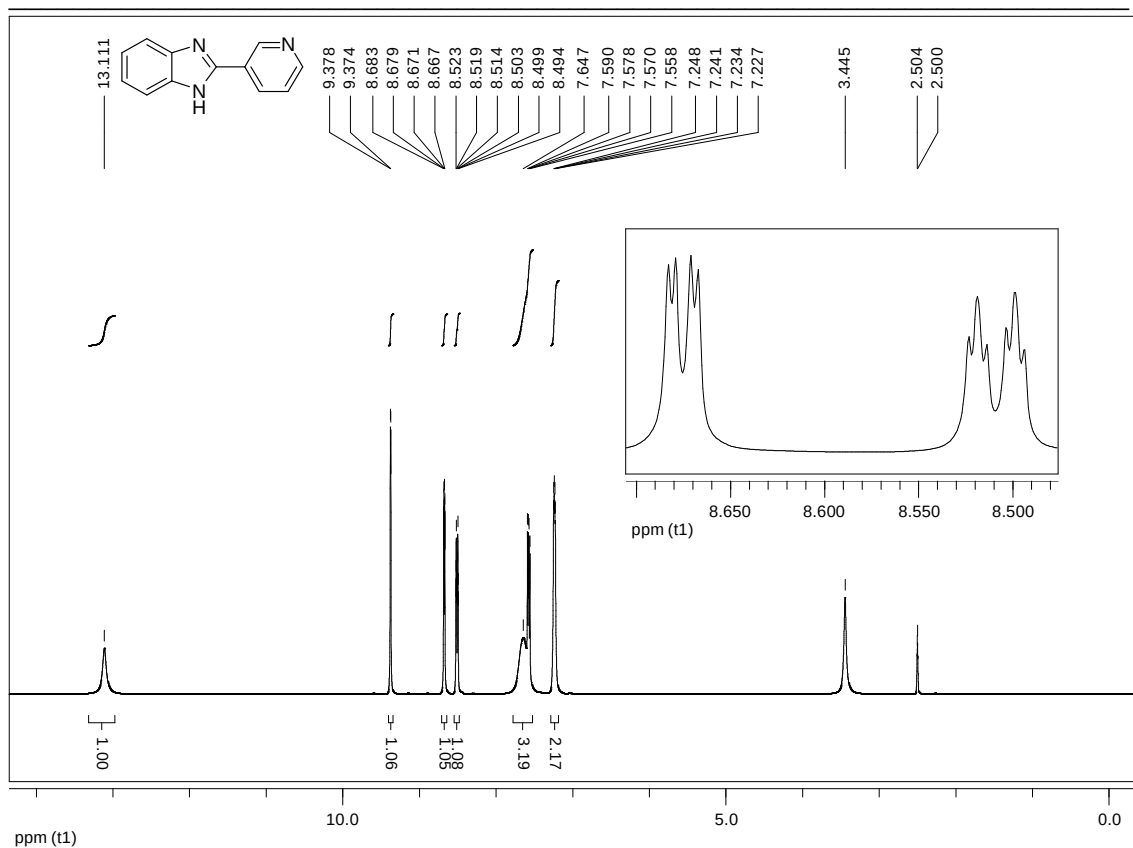


Figura 99 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz) do composto 2-(3-piridil)-1*H*-benzimidazol (**18**).

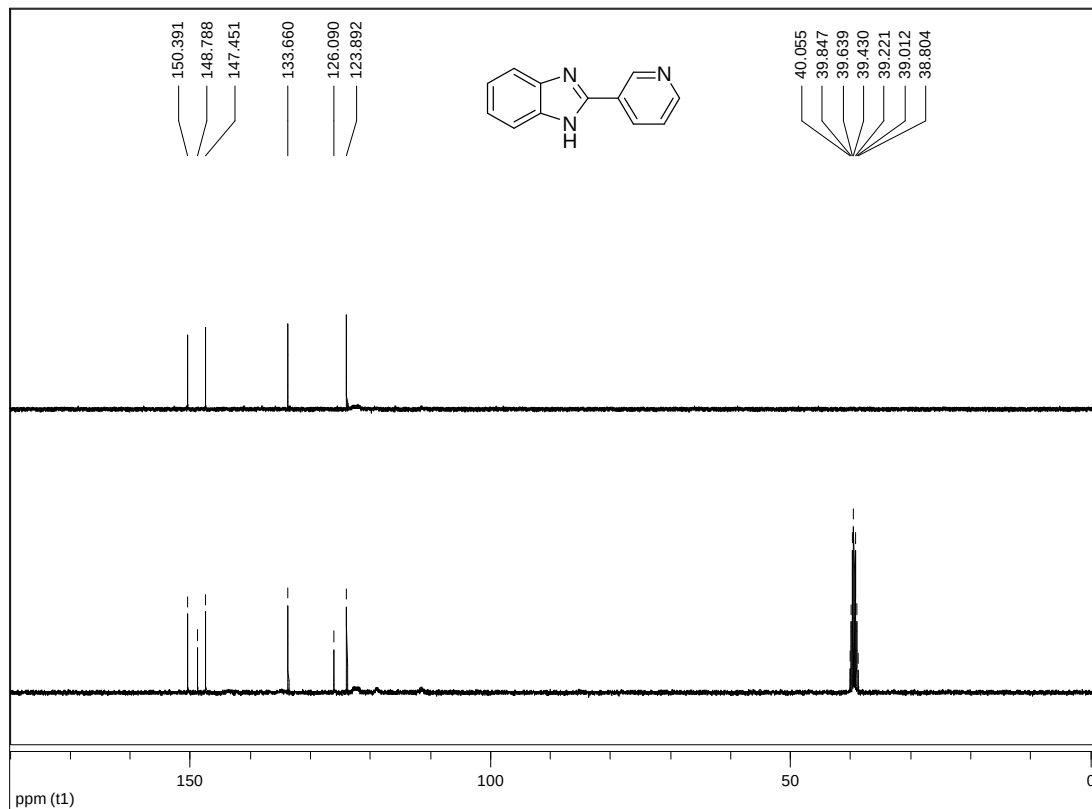


Figura 100 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 100MHz) do composto 2-(3-piridil)-1*H*-benzimidazol (**18**).

Chemical structure: c1ccc2nc3ccccc3nn2c1 (2-(1H-benzotriazol-2-yl)pyridine)

¹H NMR spectrum (CDCl₃) showing peaks from 7.1 to 8.8 ppm. The inset shows the region from 7.5 to 8.6 ppm.

Peak list (ppm): 8.713, 8.701, 8.375, 8.356, 7.992, 7.988, 7.973, 7.969, 7.954, 7.950, 7.743, 7.724, 7.586, 7.567, 7.494, 7.482, 7.479, 7.475, 7.463, 7.269, 7.253, 7.231, 7.210, 7.193, 3.485, 2.500.

Integration values: 1.00, 1.20, 1.19, 1.22, 1.18, 1.18, 2.47.

169 | P á g i n a

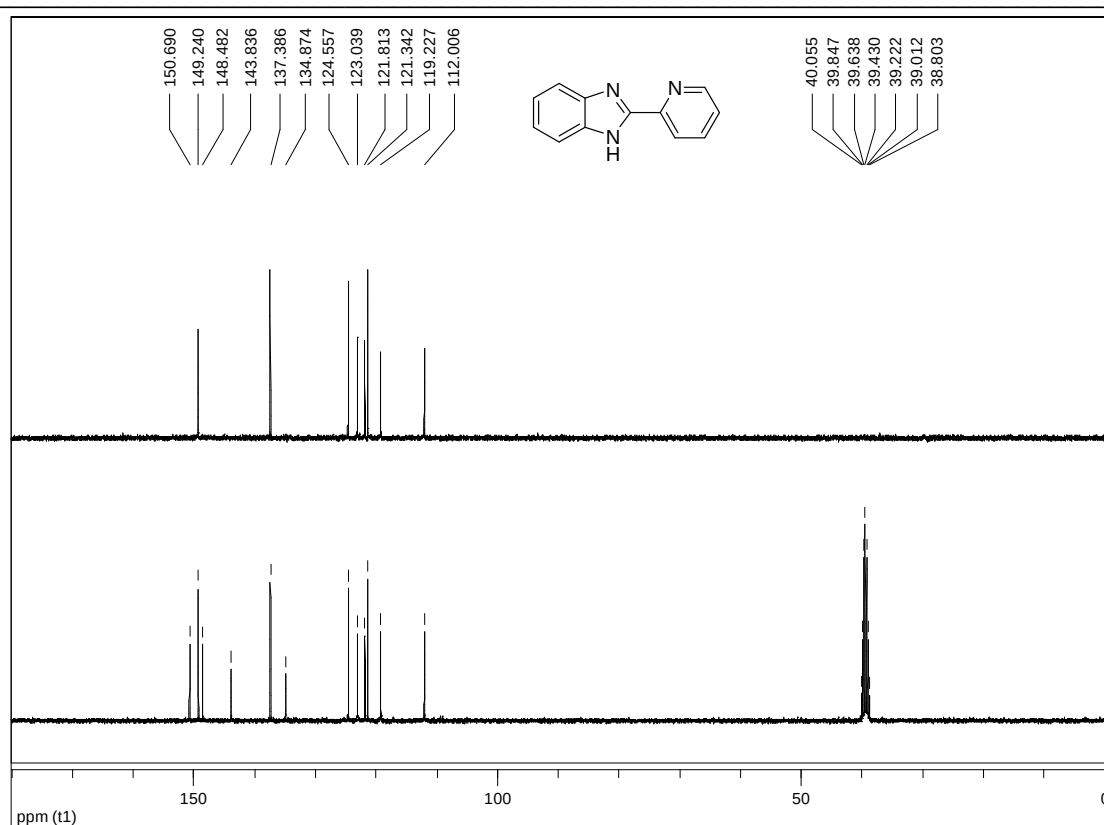


Figura 103 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 100MHz) do composto 2-(2-piridil)-1H-benzimidazol (19).

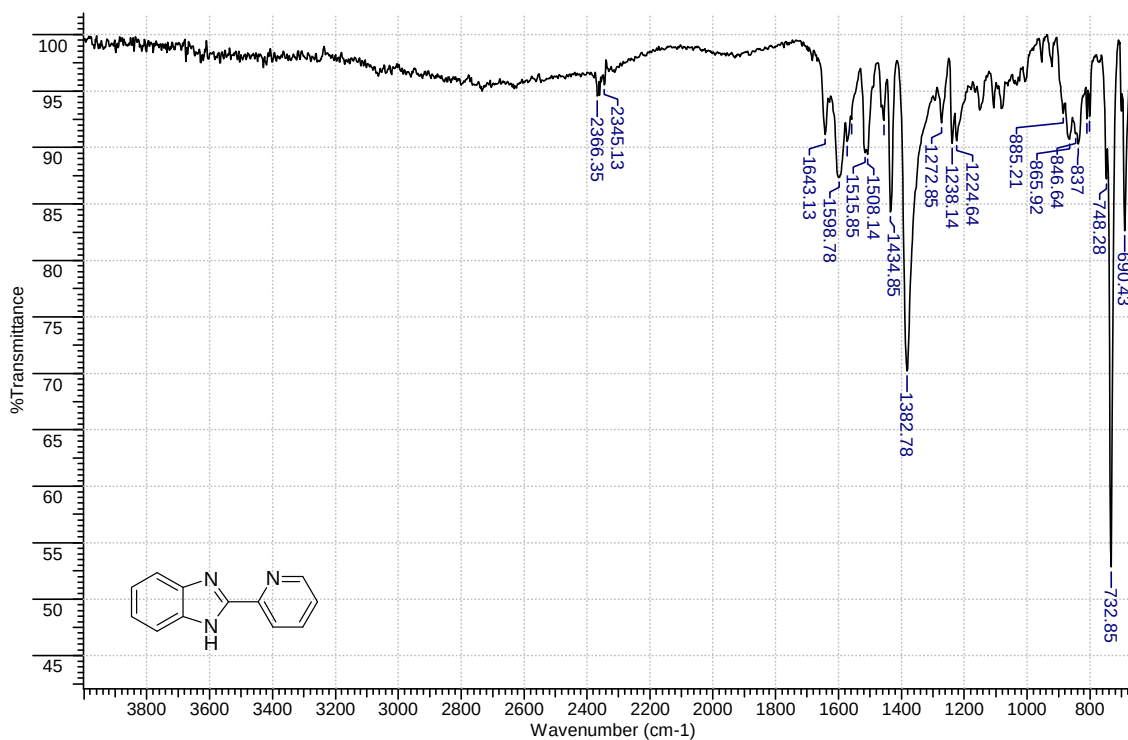


Figura 104 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-piridil)-1H-benzimidazol (19).

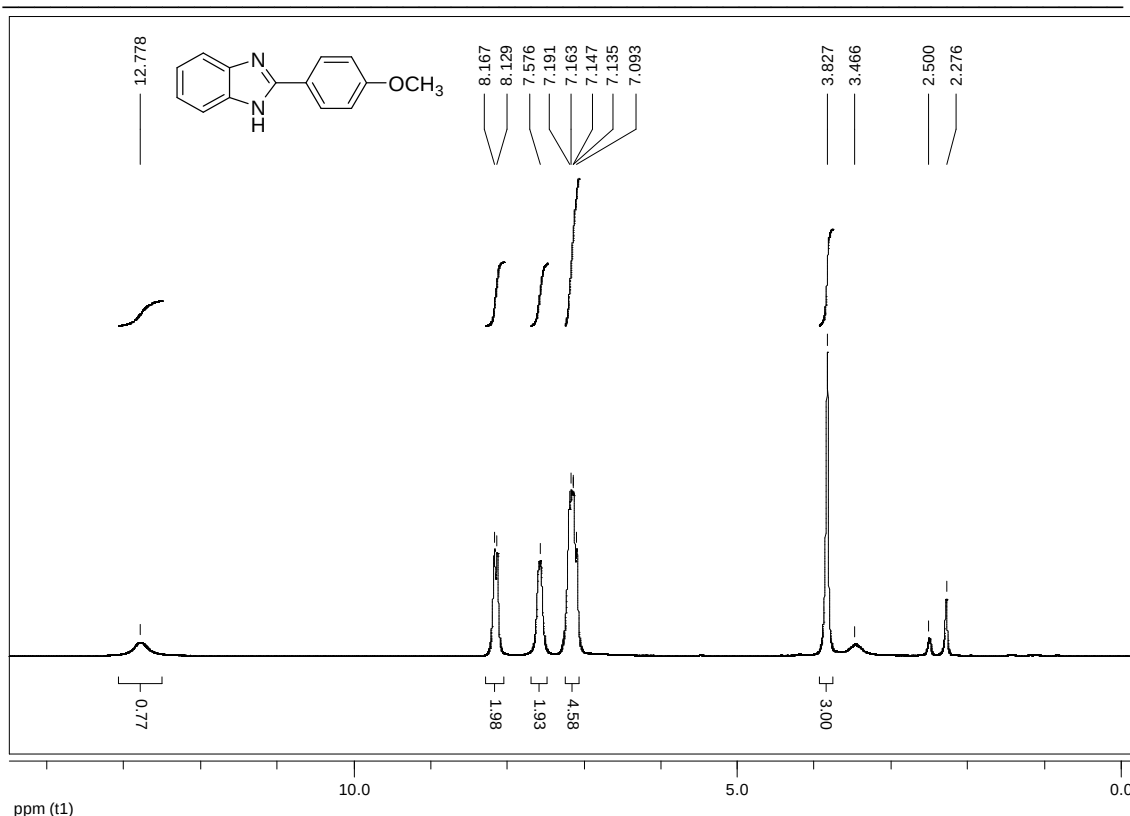


Figura 105 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200MHz) do composto 2-(4-metoxifenil)-1*H*-benzimidazol (**20**).

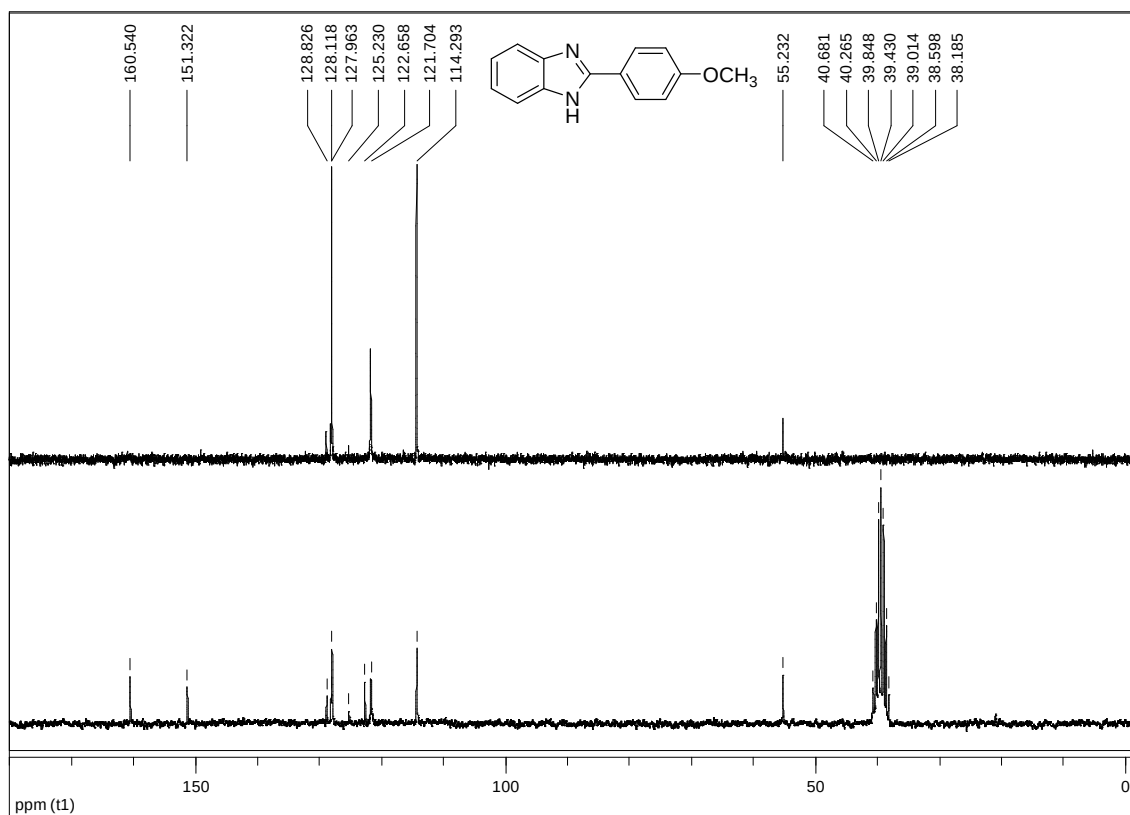


Figura 106 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO-}d_6$, 50MHz) do composto 2-(4-metoxifenil)-1*H*-benzimidazol (**20**).

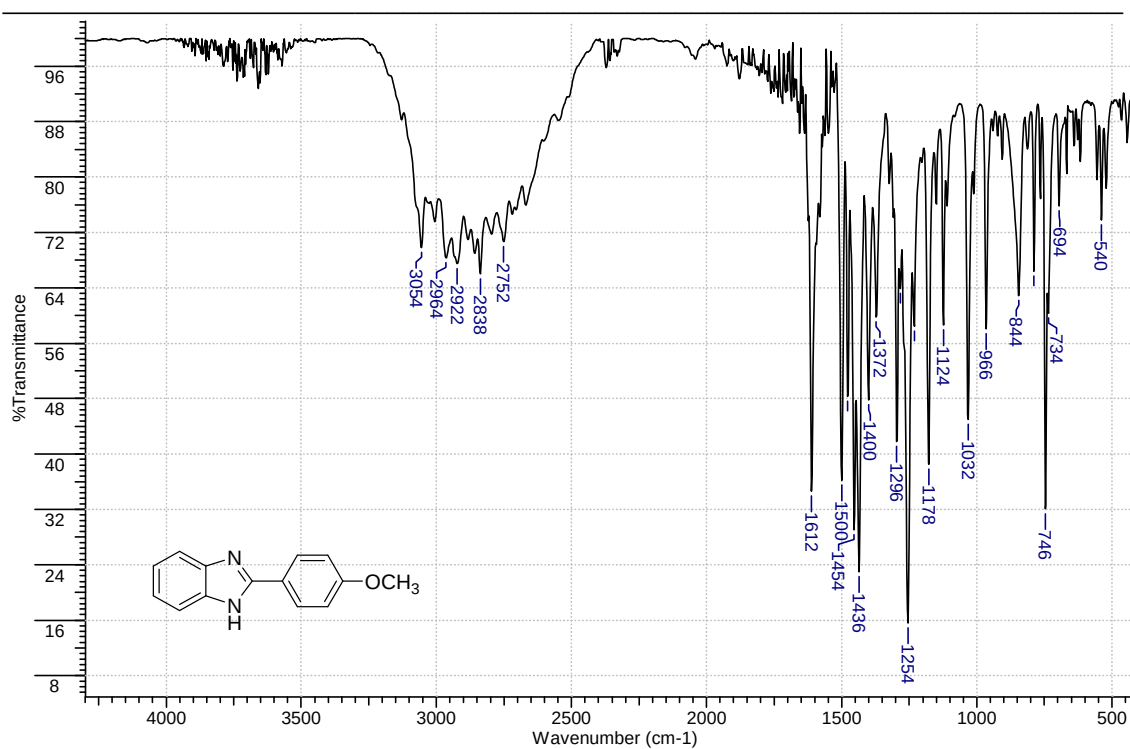


Figura 107 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-metoxifenil)-1H-benzimidazol (20).

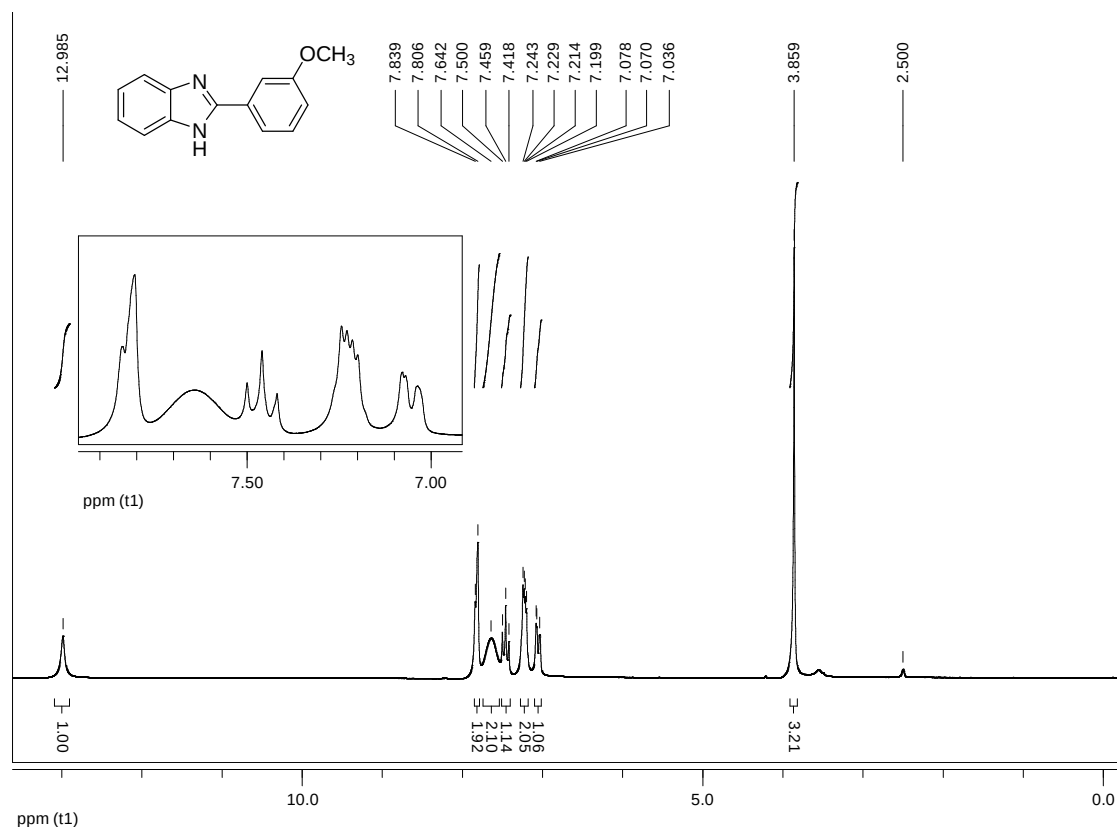


Figura 108 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200MHz) do composto 2-(3-metoxifenil)-1H-benzimidazol (21).

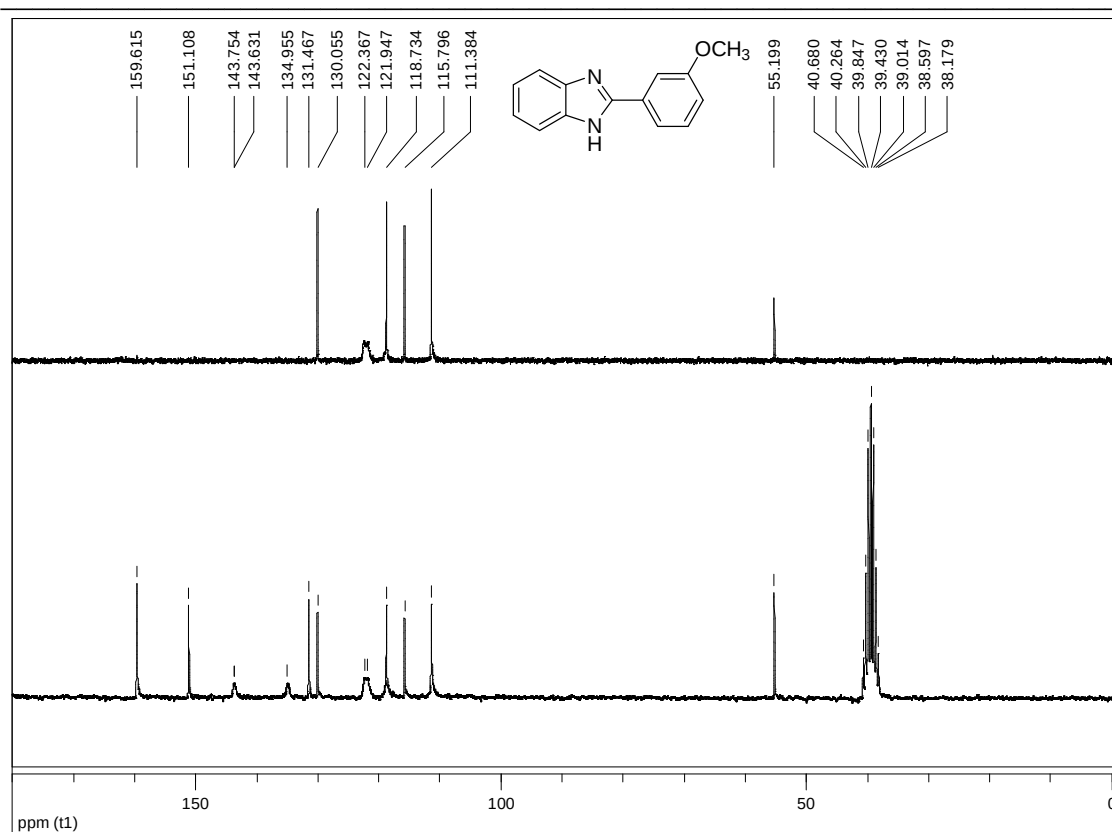


Figura 109 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50MHz) do composto 2-(3-metoxifenil)-1H-benzimidazol (21).

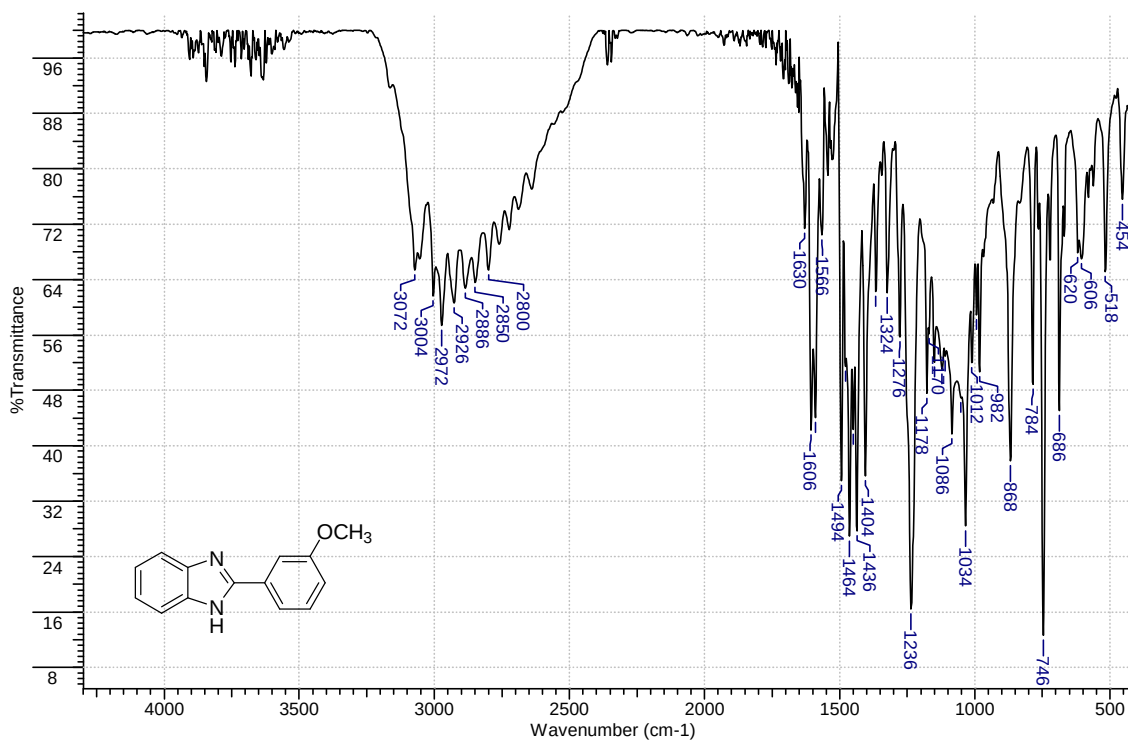


Figura 110 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(3-metoxifenil)-1H-benzimidazol (21).

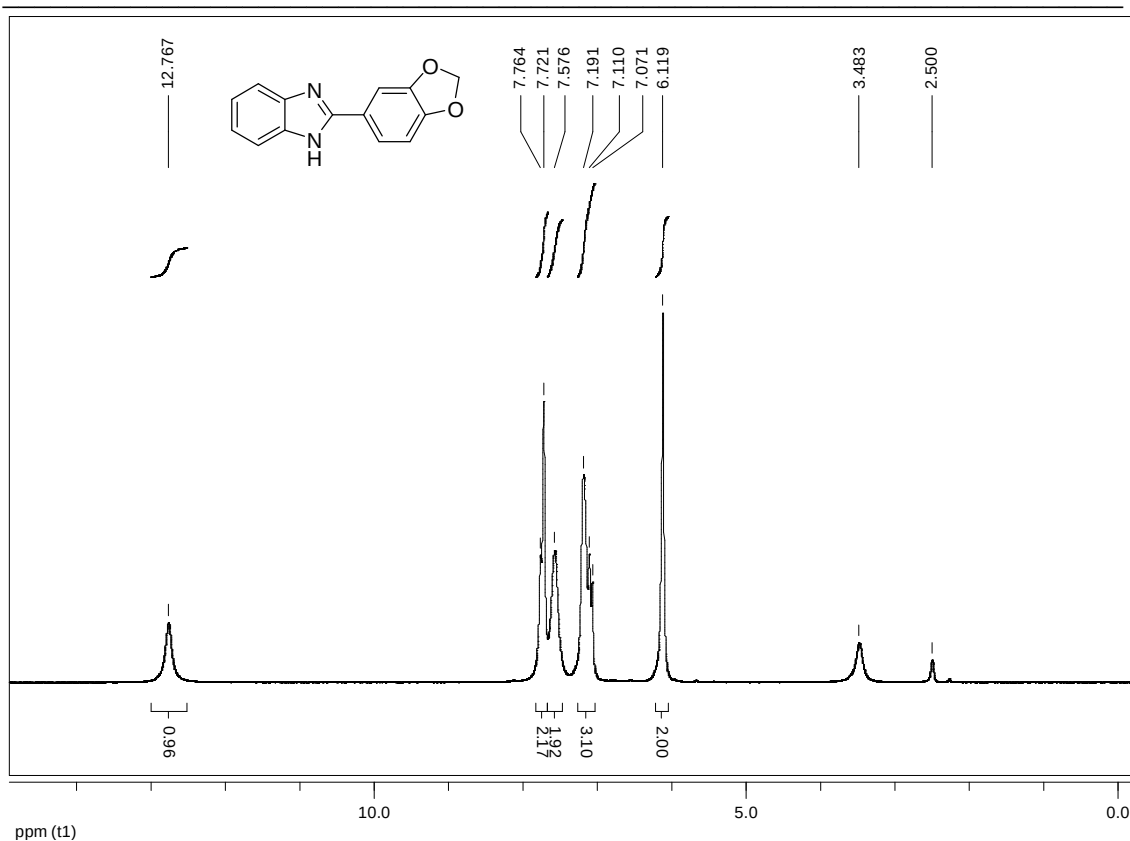


Figura 111 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200MHz) do composto 2-(1,3-benzodioxol-5-il)-1*H*-benzimidazol (**23**).

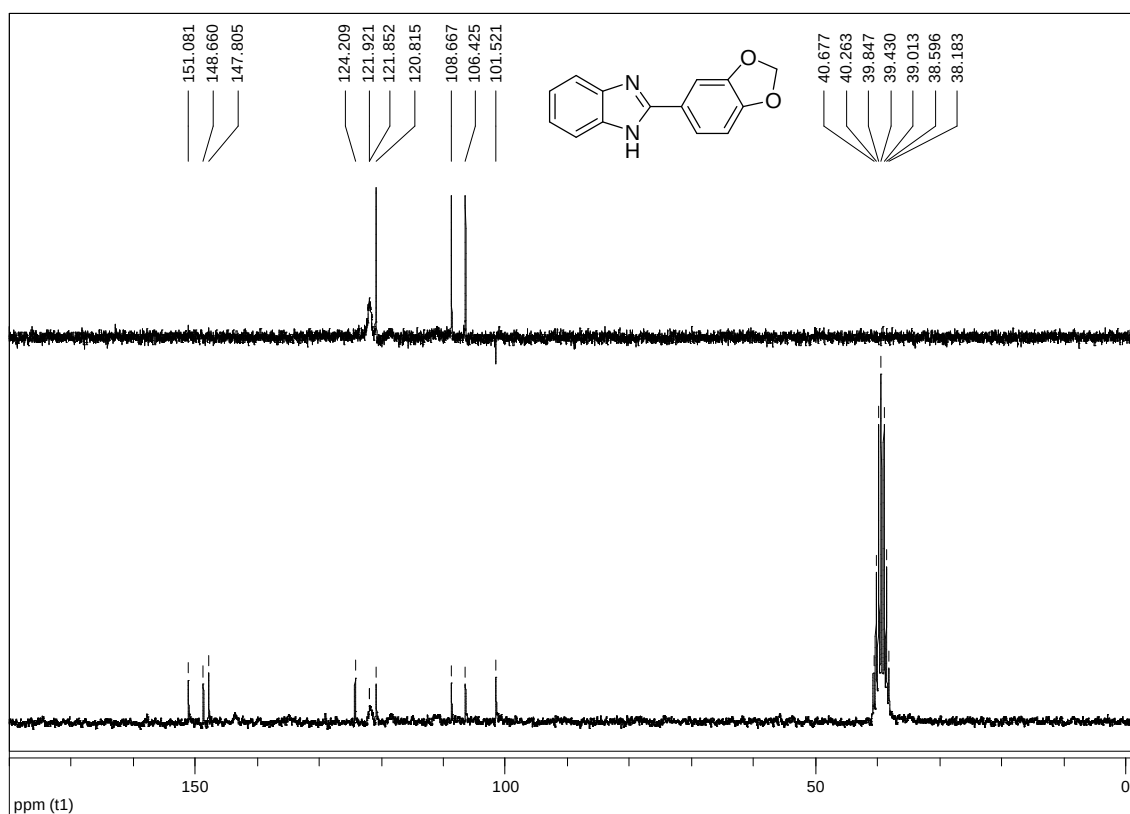


Figura 112 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50MHz) do composto 2-(1,3-benzodioxol-5-il)-1*H*-benzimidazol (**23**).

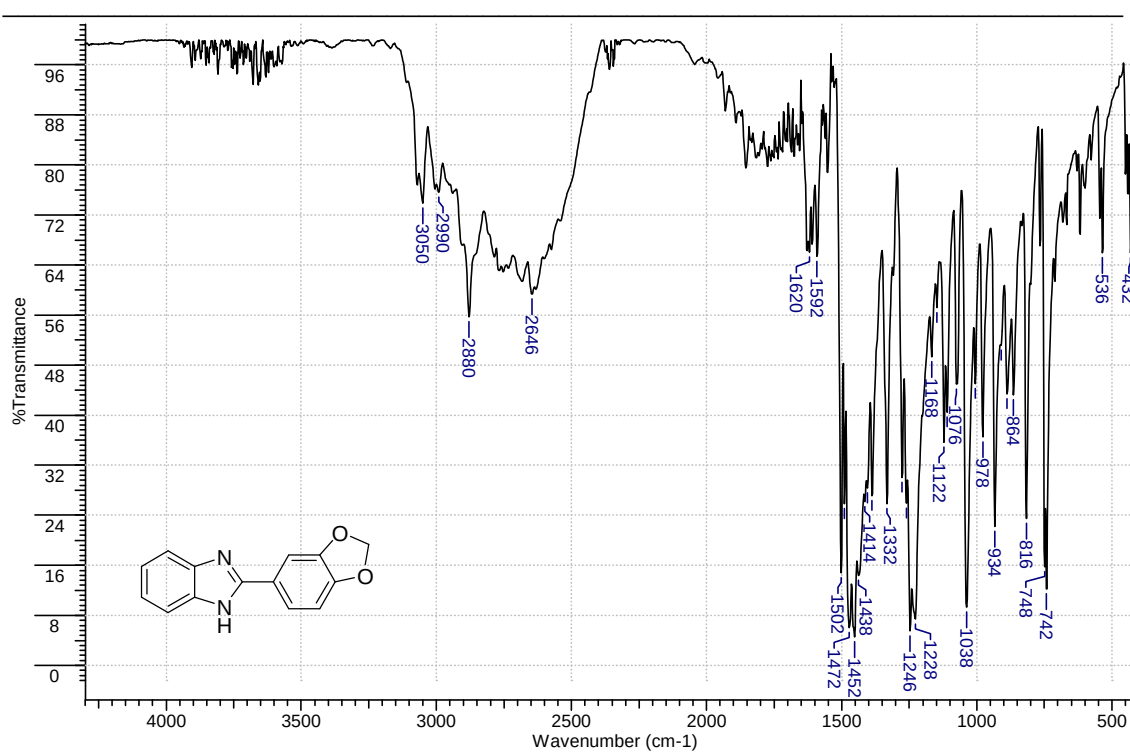


Figura 113 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(1,3-benzodioxol-5-il)-1H-benzimidazol (23).

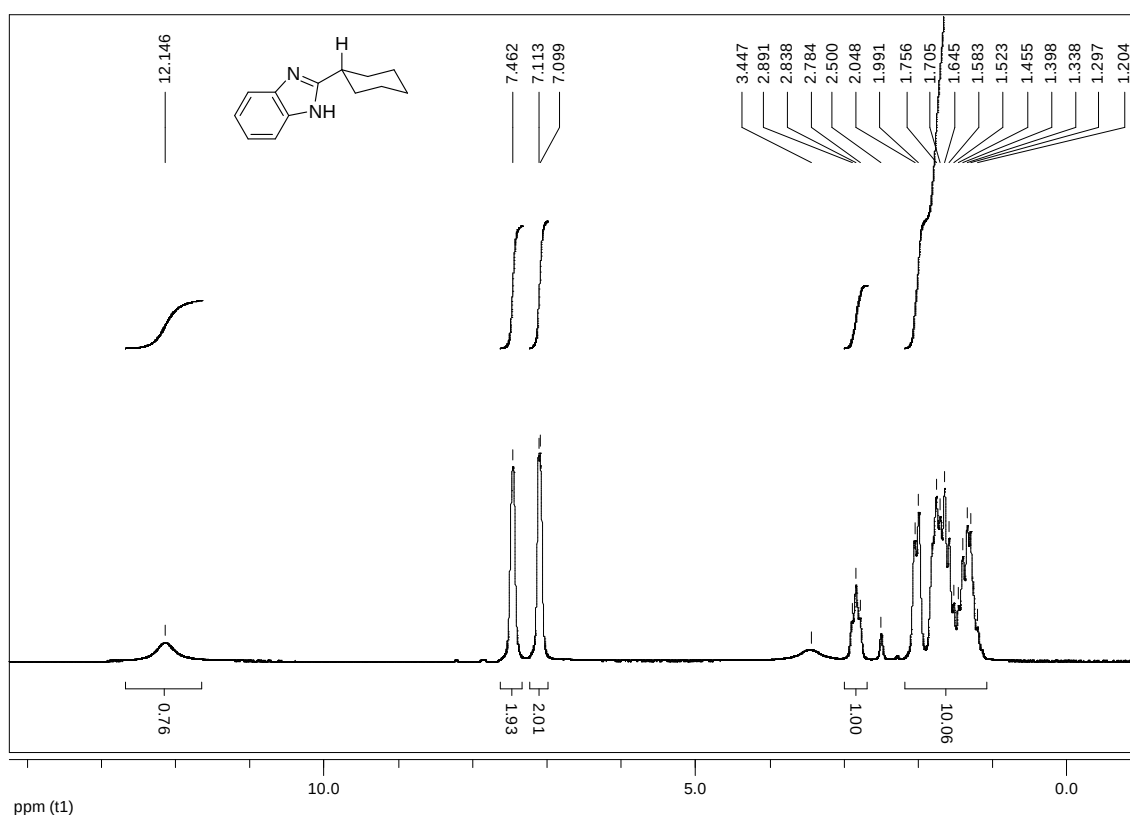


Figura 114 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200MHz) do composto 2-cicloexil-1H-benzimidazol (24).

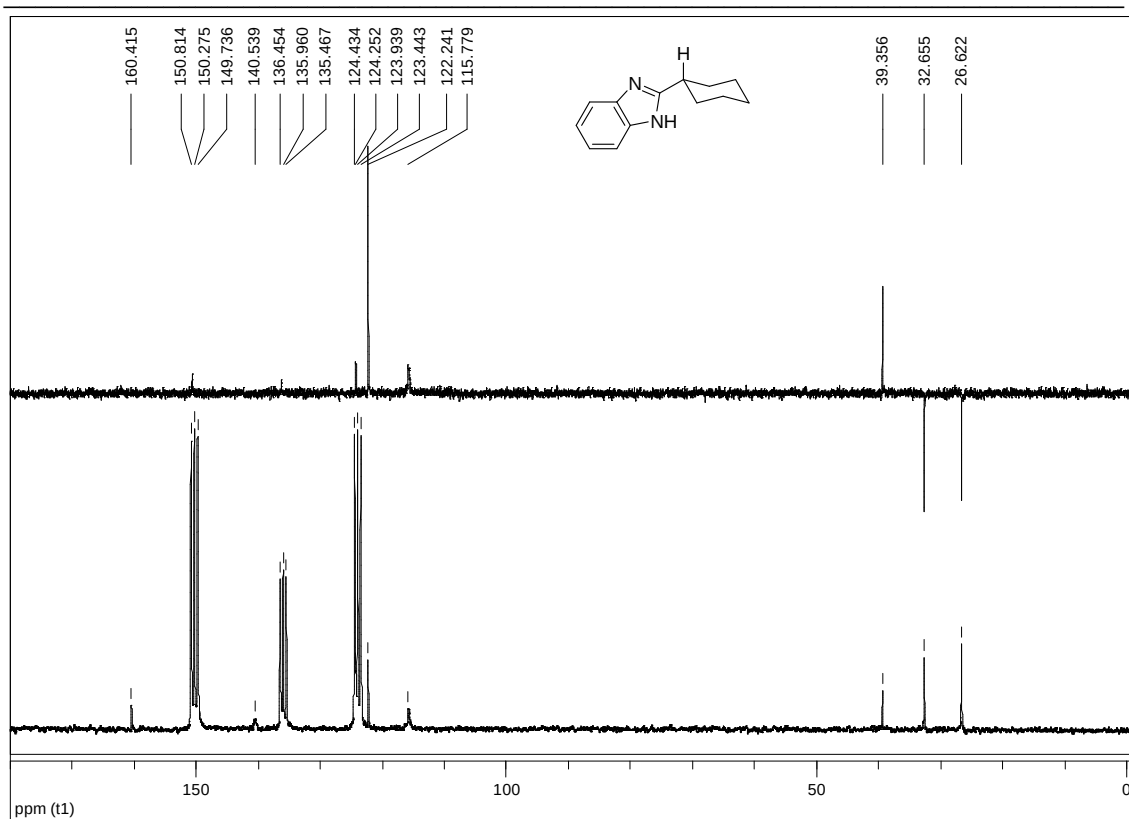


Figura 115 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (Piridina-*d*₅, 50MHz) do composto 2-cicloexil-1*H*-benzimidazol (**24**).

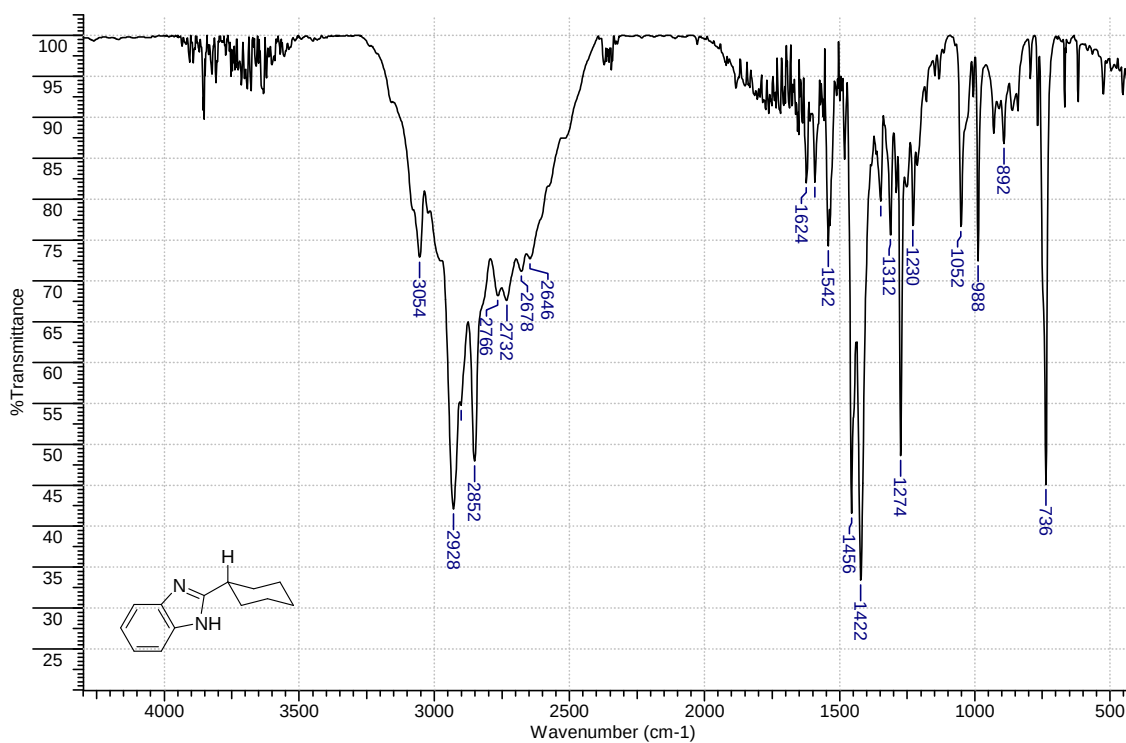


Figura 116 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-cicloexil-1*H*-benzimidazol (**24**).

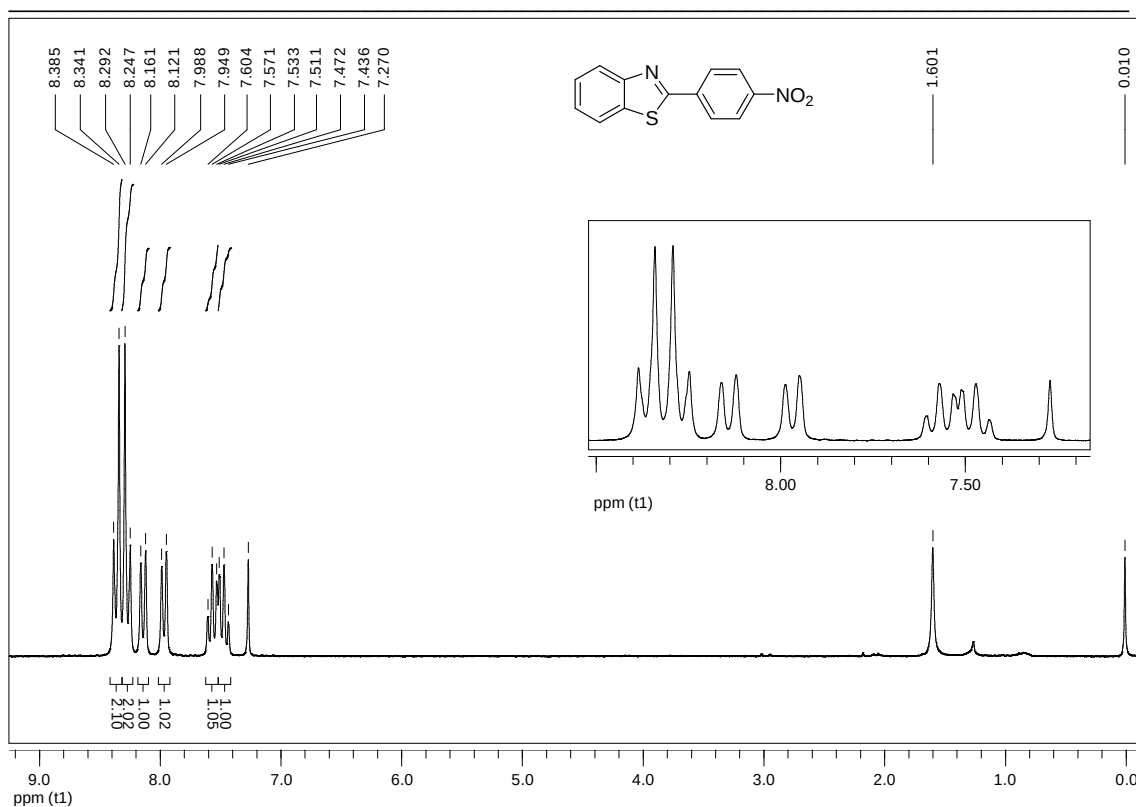


Figura 117 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) do composto 2-(4-nitrofenil)benzotiazol (**26**).

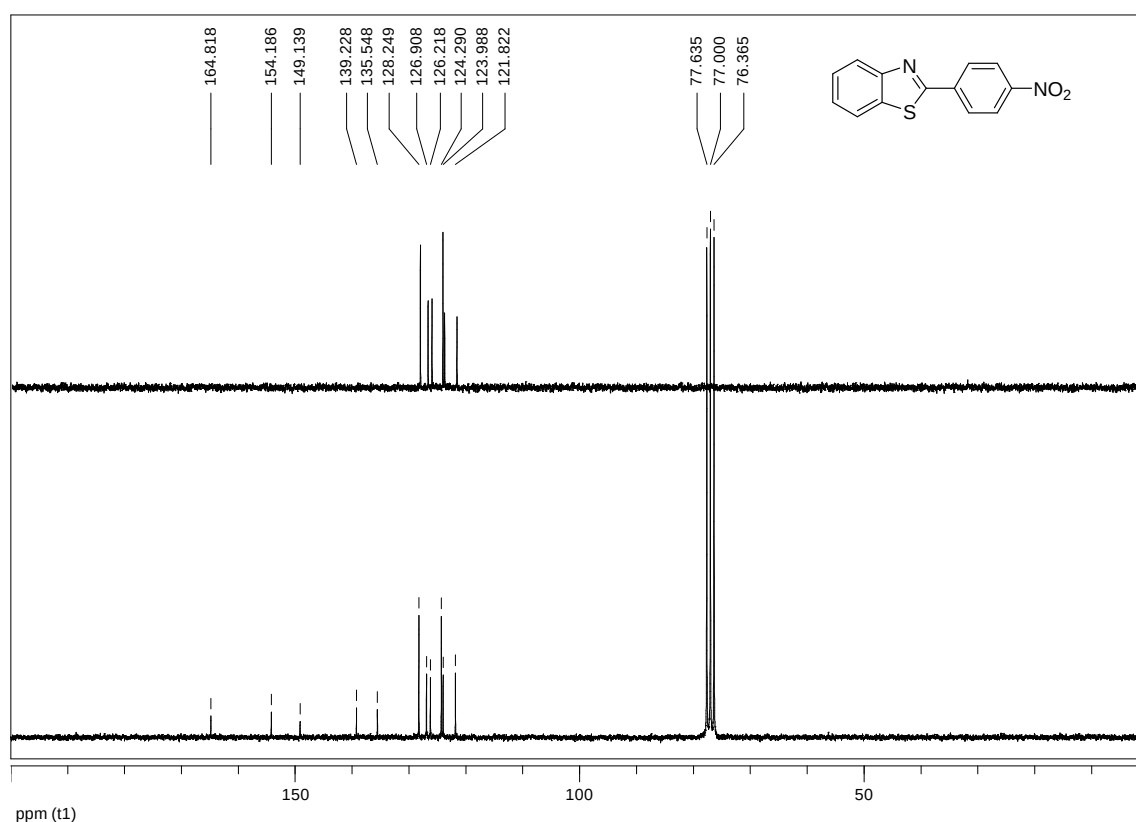


Figura 118 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (CDCl₃, 50 MHz) do composto 2-(4-nitrofenil)benzotiazol (**26**).

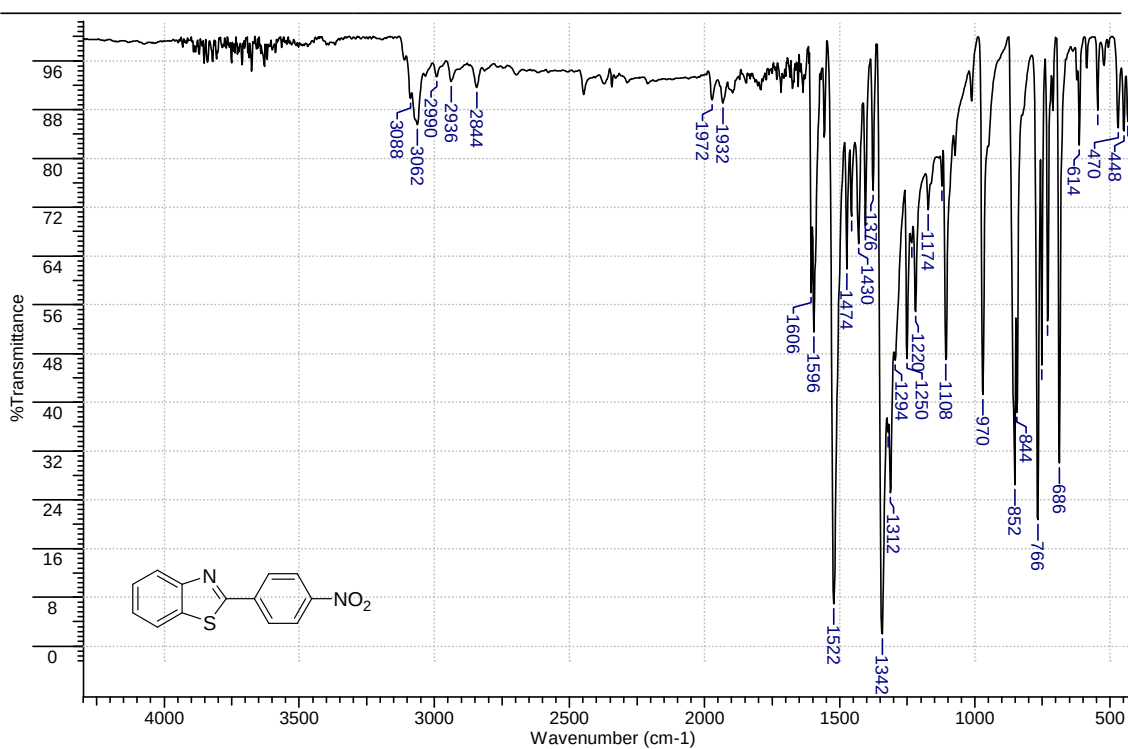


Figura 119 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-nitrofenil)benzotiazol (26).

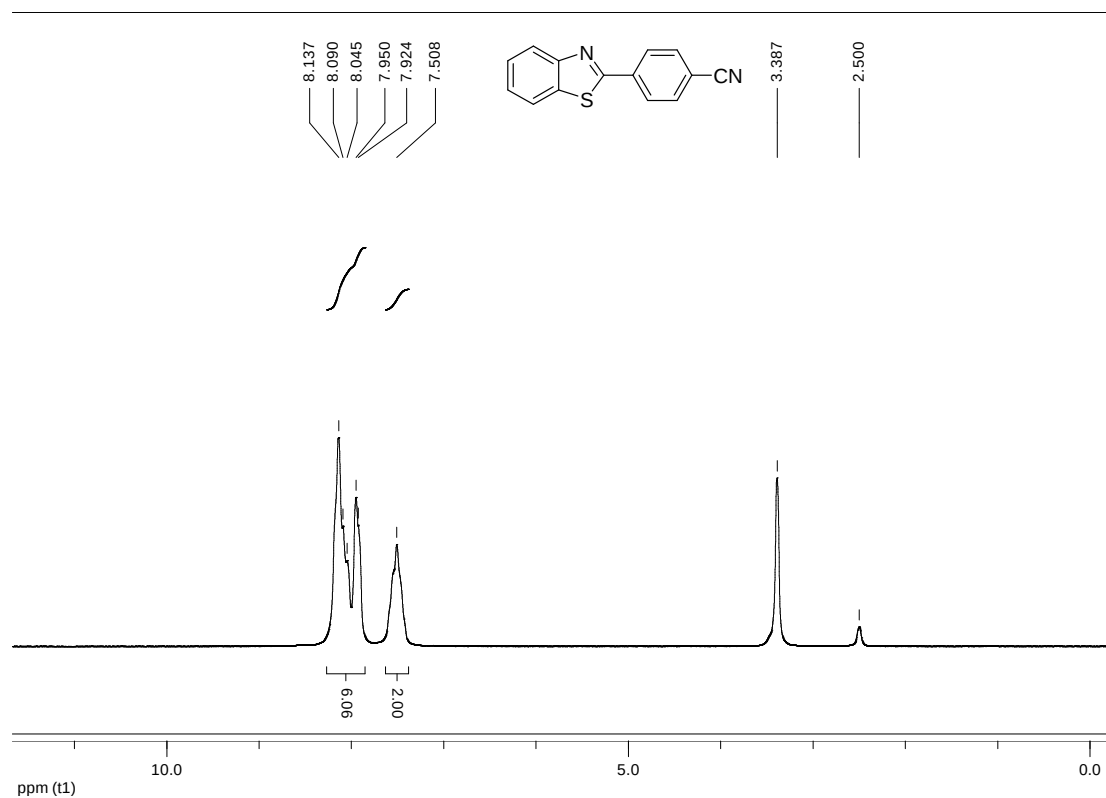


Figura 120 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(4-cianofenil)benzotiazol (27).

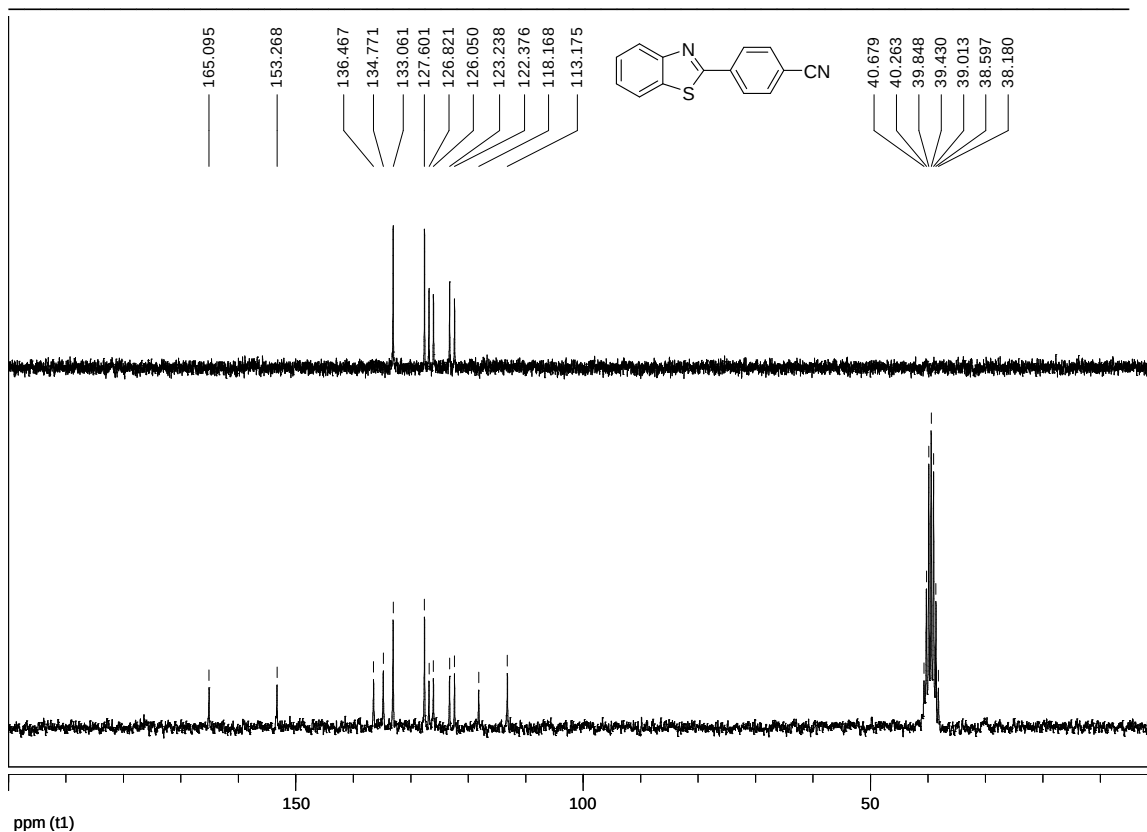


Figura 121 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-(4-cianofenil)benzotiazol (27).

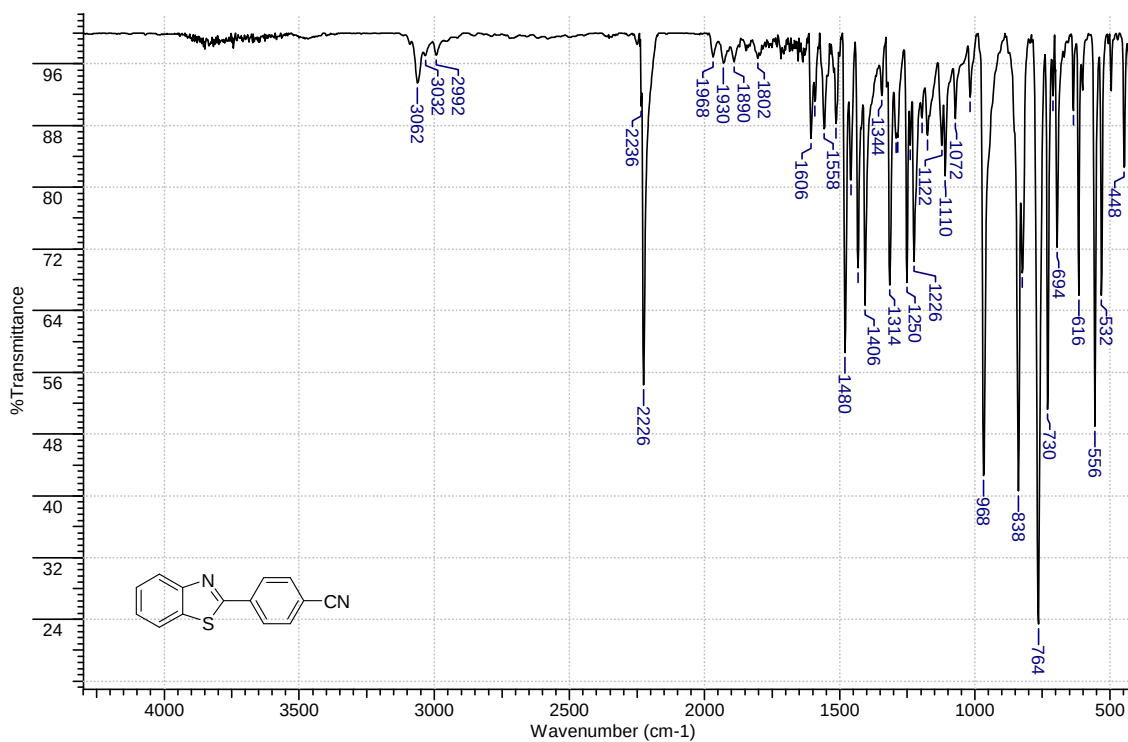


Figura 122 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-cianofenil)benzotiazol (27).

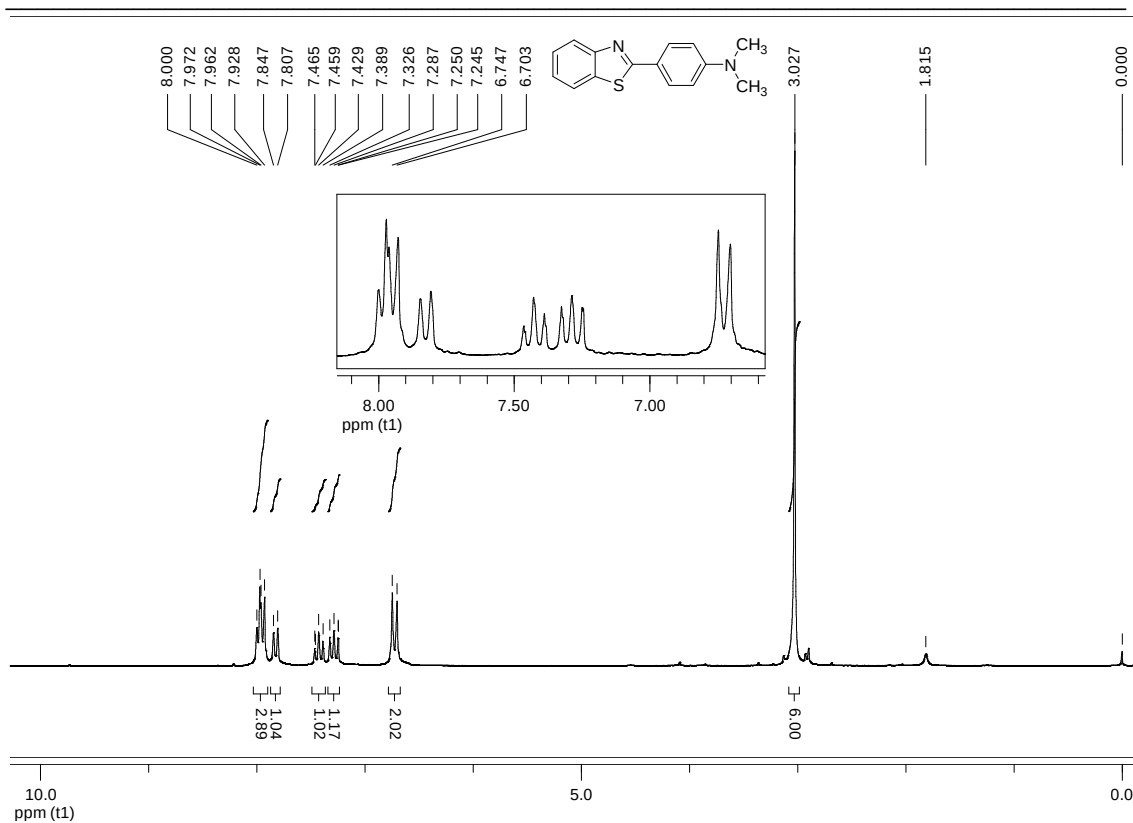


Figura 123 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) do composto 2-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)benzotiazol (**28**).

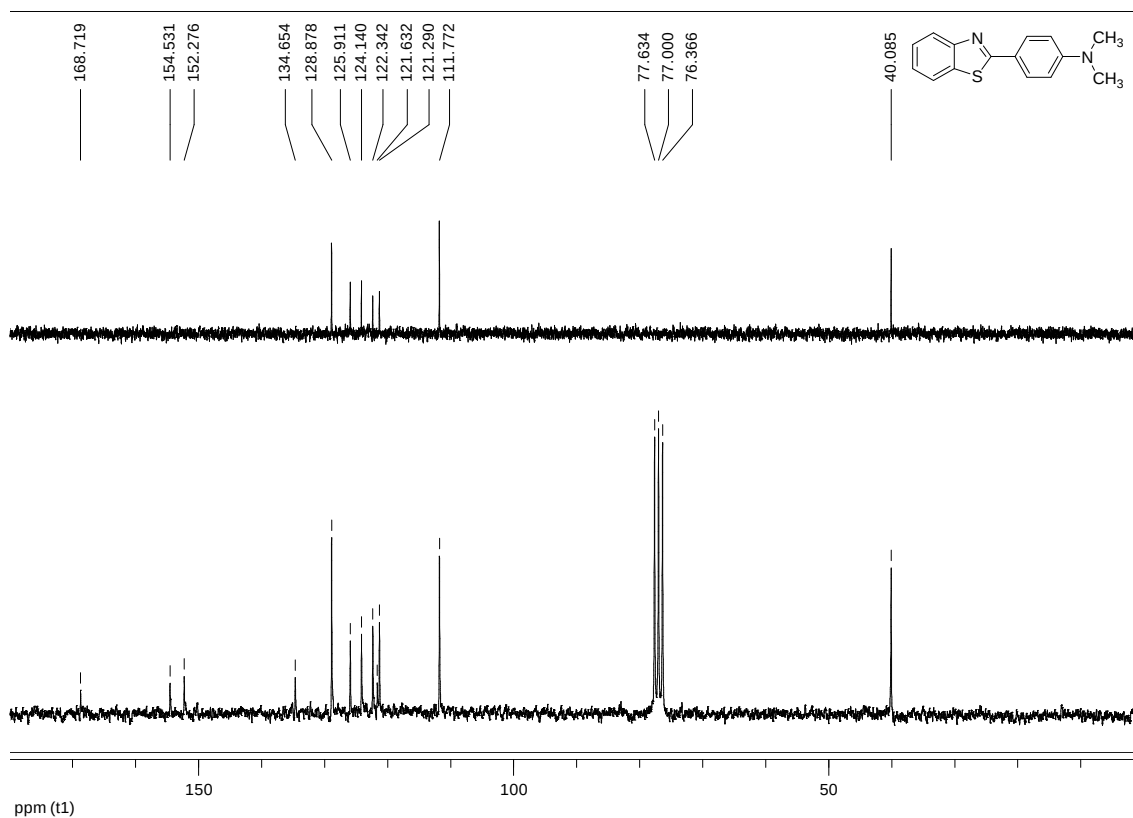


Figura 124 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (CDCl₃, 50 MHz) do composto 2-(4-*N,N*-dimetilaminofenil)benzotiazol (**28**).

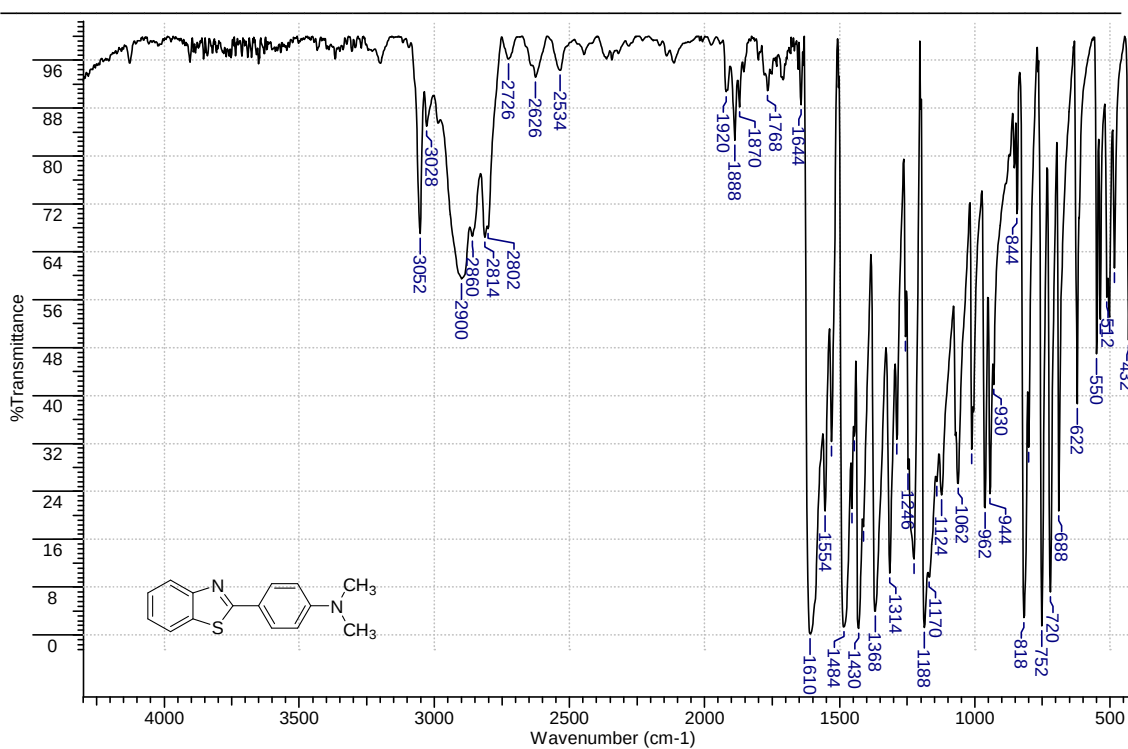


Figura 125 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-N,N-dimetilaminofenil)benzotiazol (28).

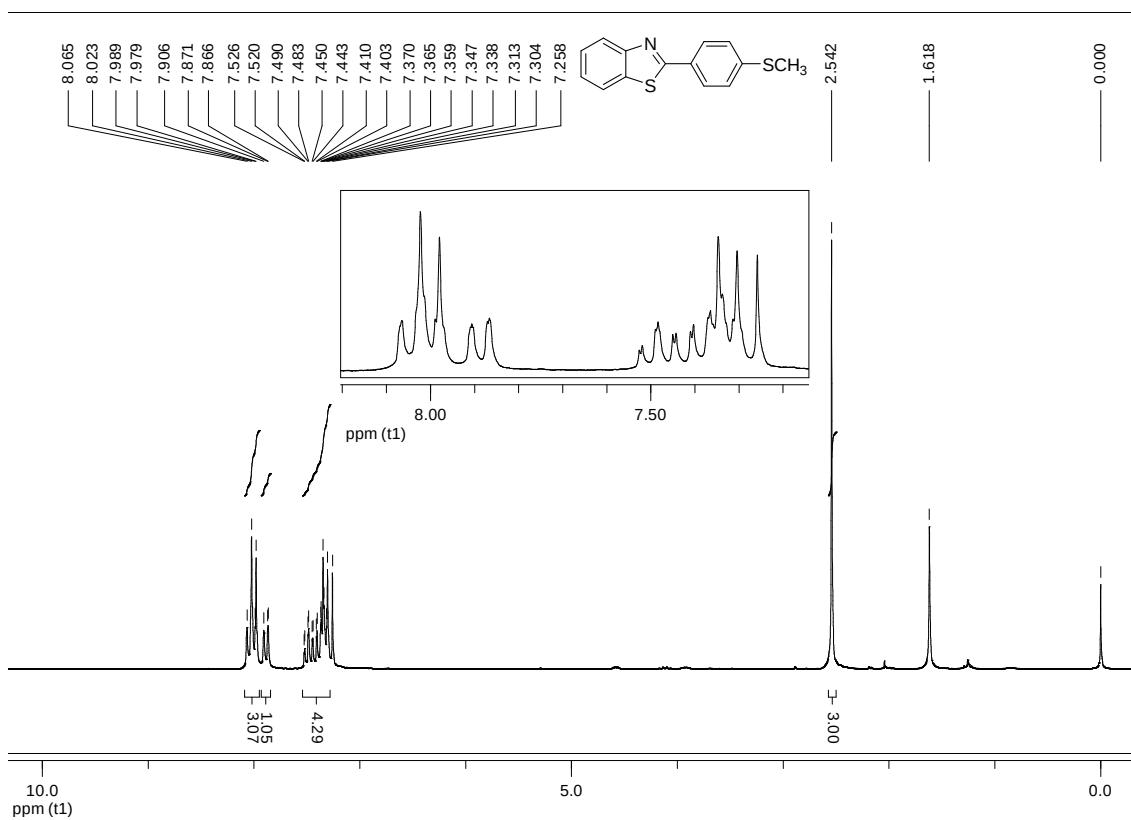


Figura 126 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) do composto 2-(4-metiltiofenil)benzotiazol (29).

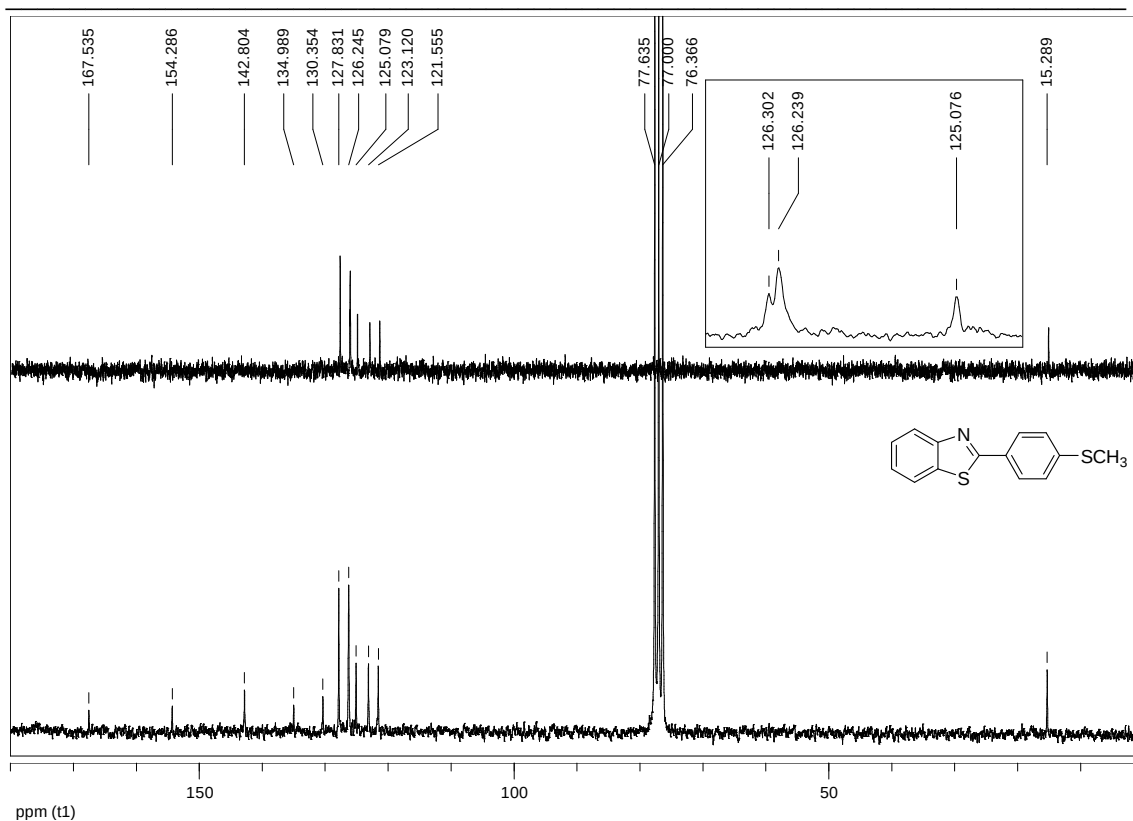


Figura 127 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 (CDCl_3 , 50 MHz) do composto 2-(4-metiltiofenil)benzotiazol (29).

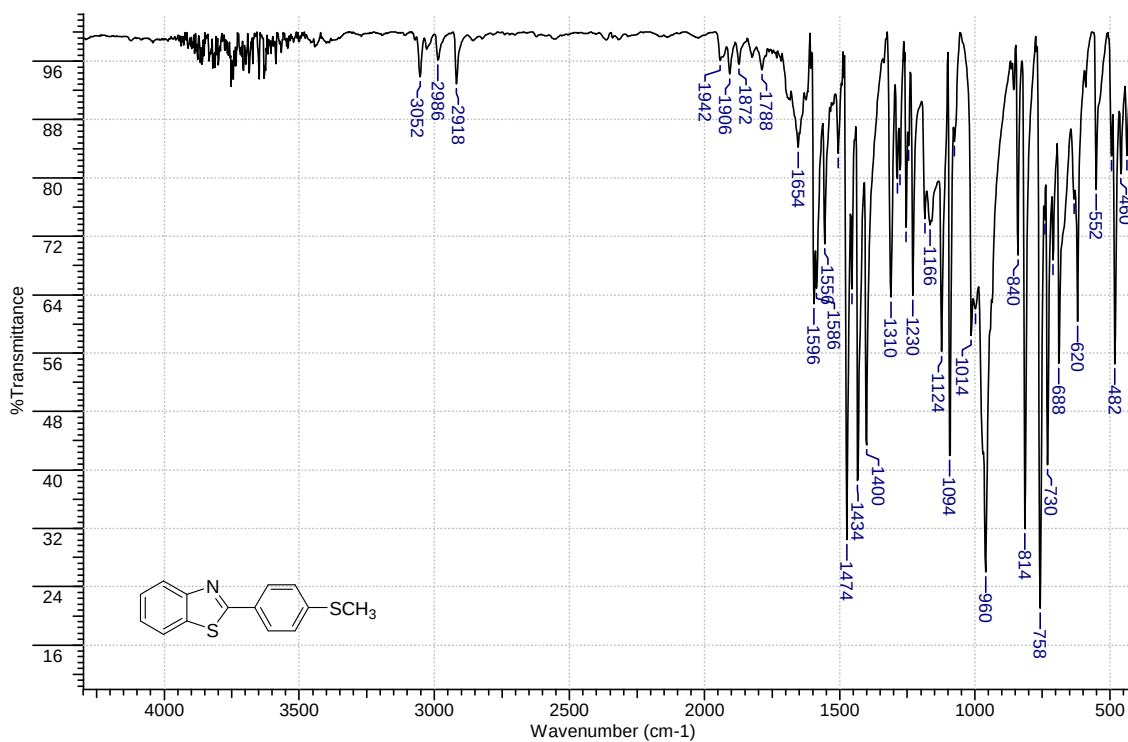


Figura 128 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-metiltiofenil)benzotiazol (29).

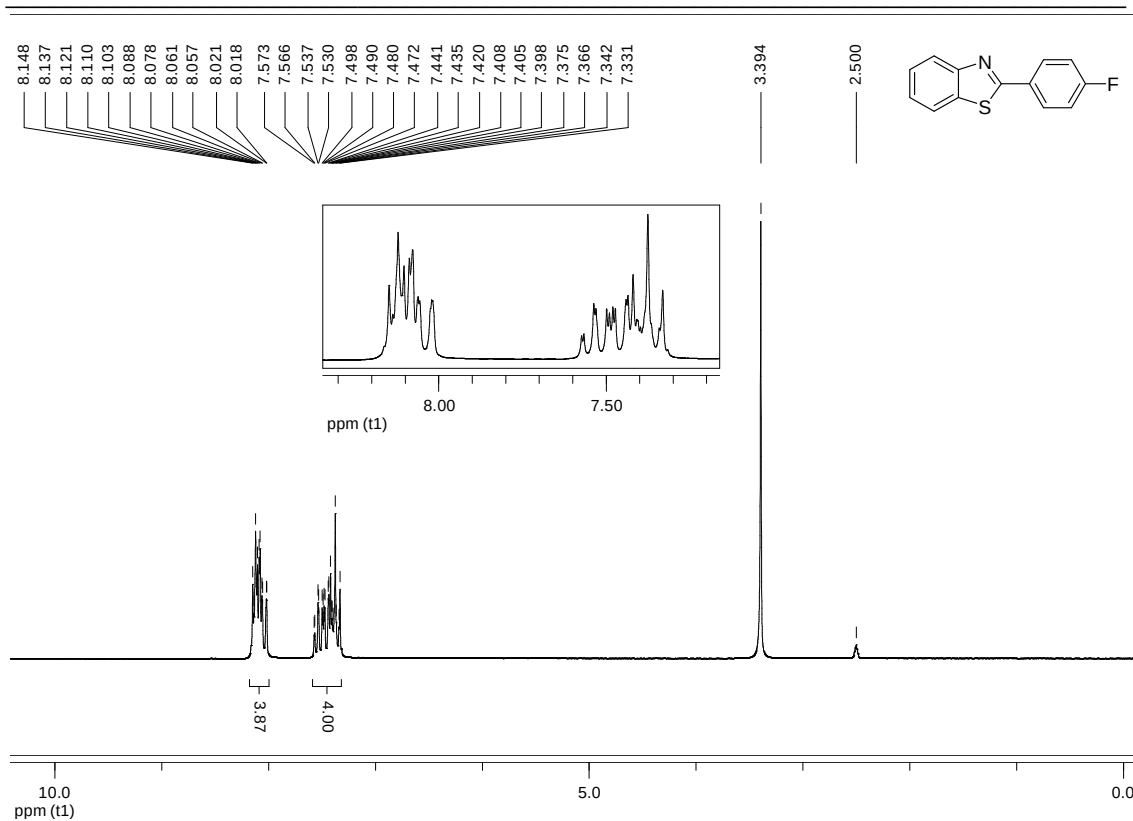


Figura 129 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz) do composto 2-(4-fluorofenil)benzotiazol (**30**).

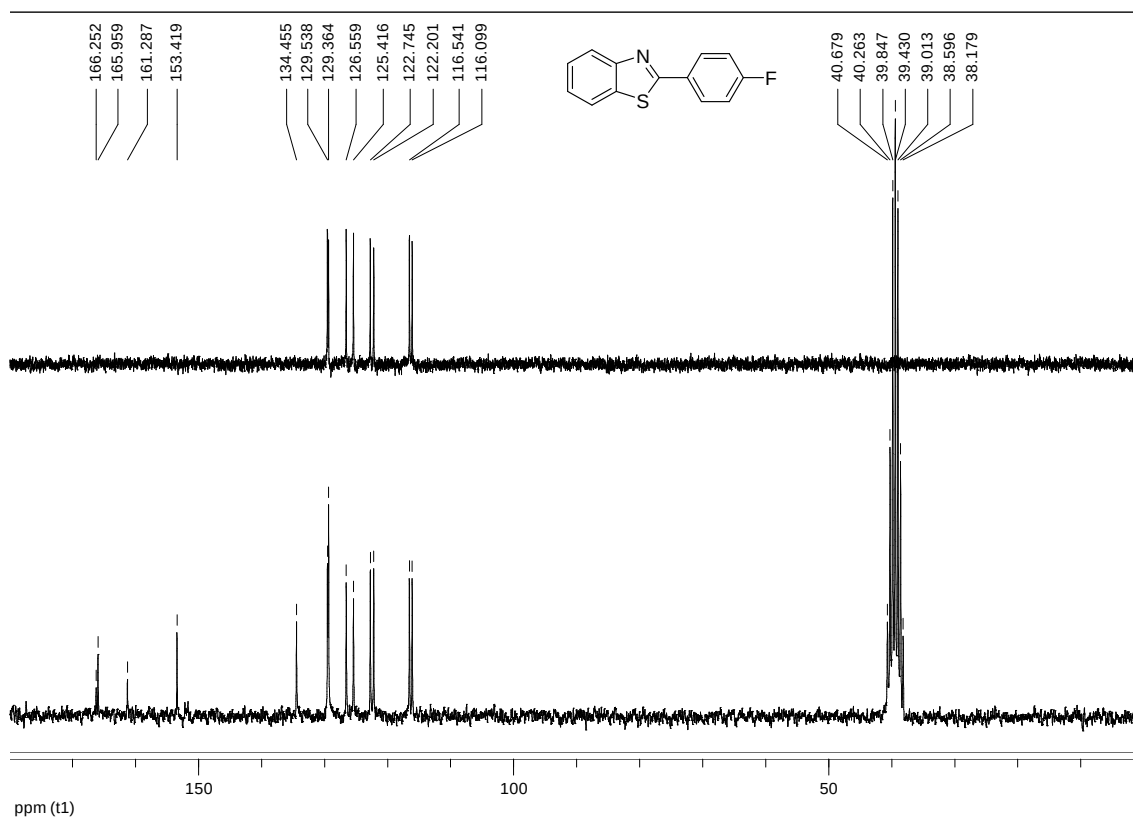


Figura 130 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-(4-fluorofenil)benzotiazol (**30**).

Oc1ccc(cc1)-c2nc3ccccc3s2

Chemical structure of 4-(benzo[d][1,3]thiazol-2-yl)phenol is shown. The spectrum displays peaks in the aromatic region (6.95-8.04 ppm) and a phenolic OH peak at 2.500 ppm. Integration values are provided below the peaks.

Chemical Shift (ppm)	Integration
8.035, 8.006, 7.963, 7.940	2.00
7.498, 7.473, 7.429	1.05
7.394, 7.369, 7.366, 6.968, 6.953	1.02
2.500	-

184 | P á g i n a

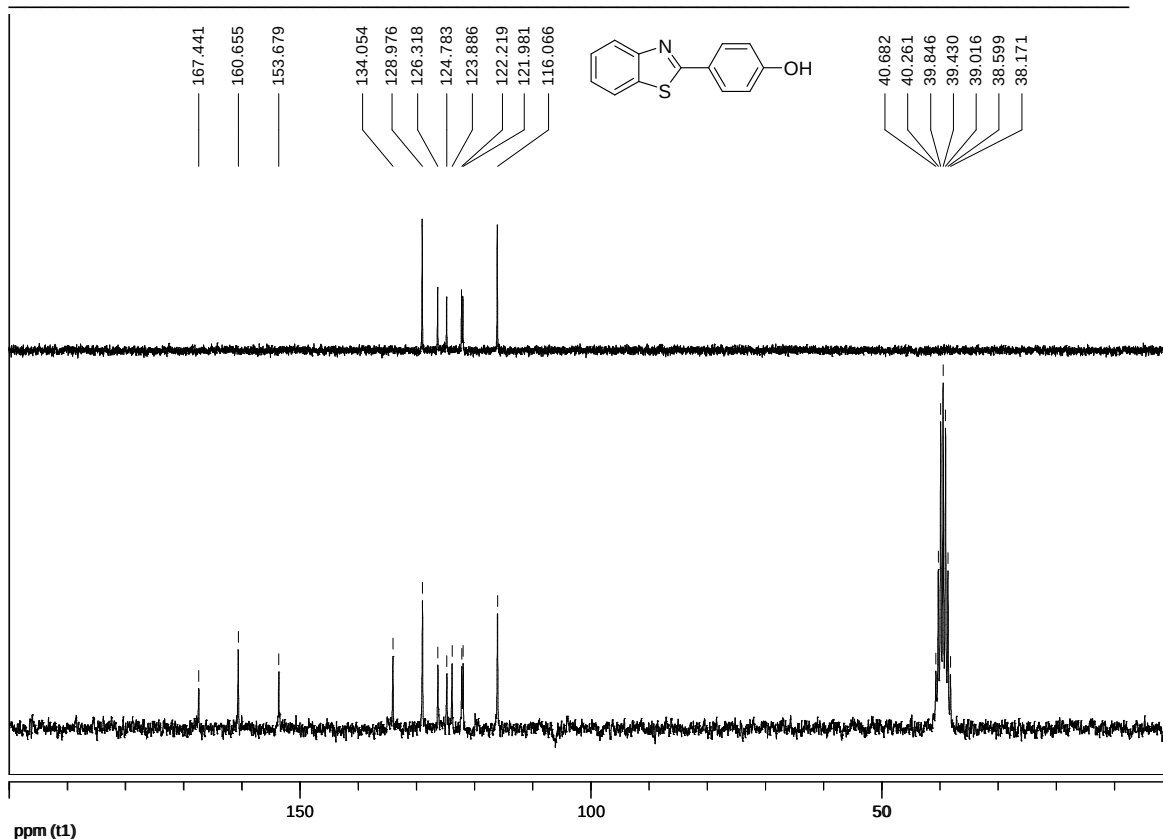


Figura 133 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50 MHz) do composto 2-(4-hidroxifenil)benzotiazol (31).

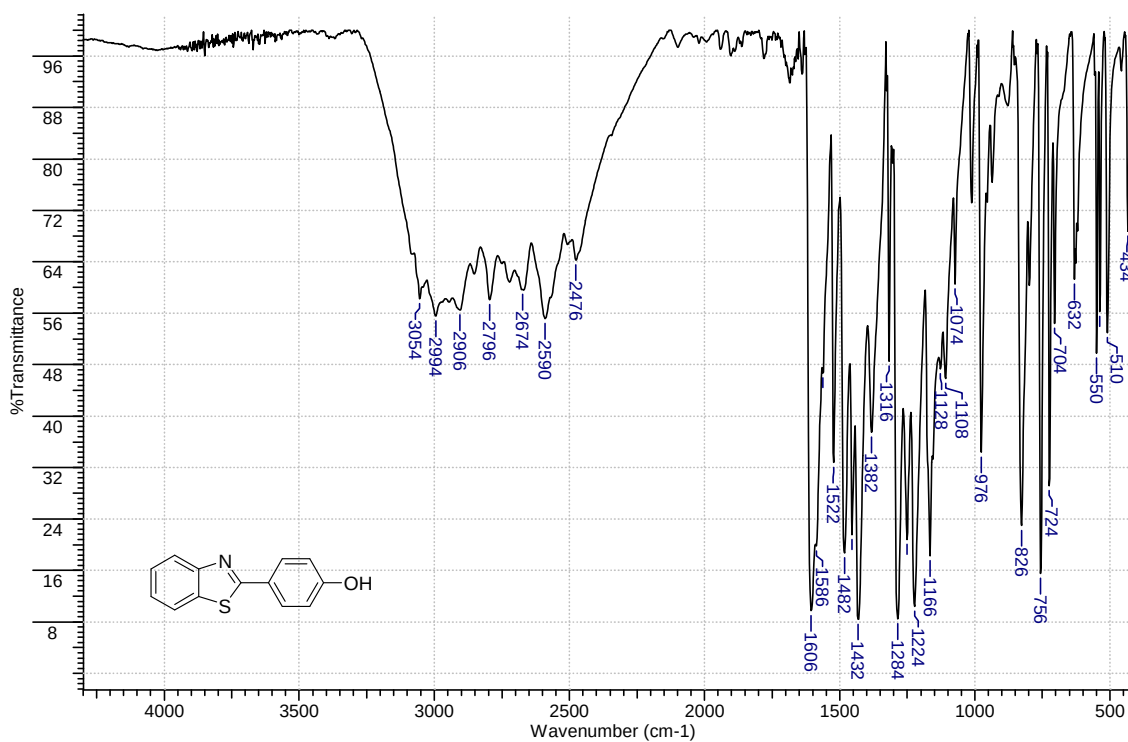


Figura 134 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-hidroxifenil)benzotiazol (31).

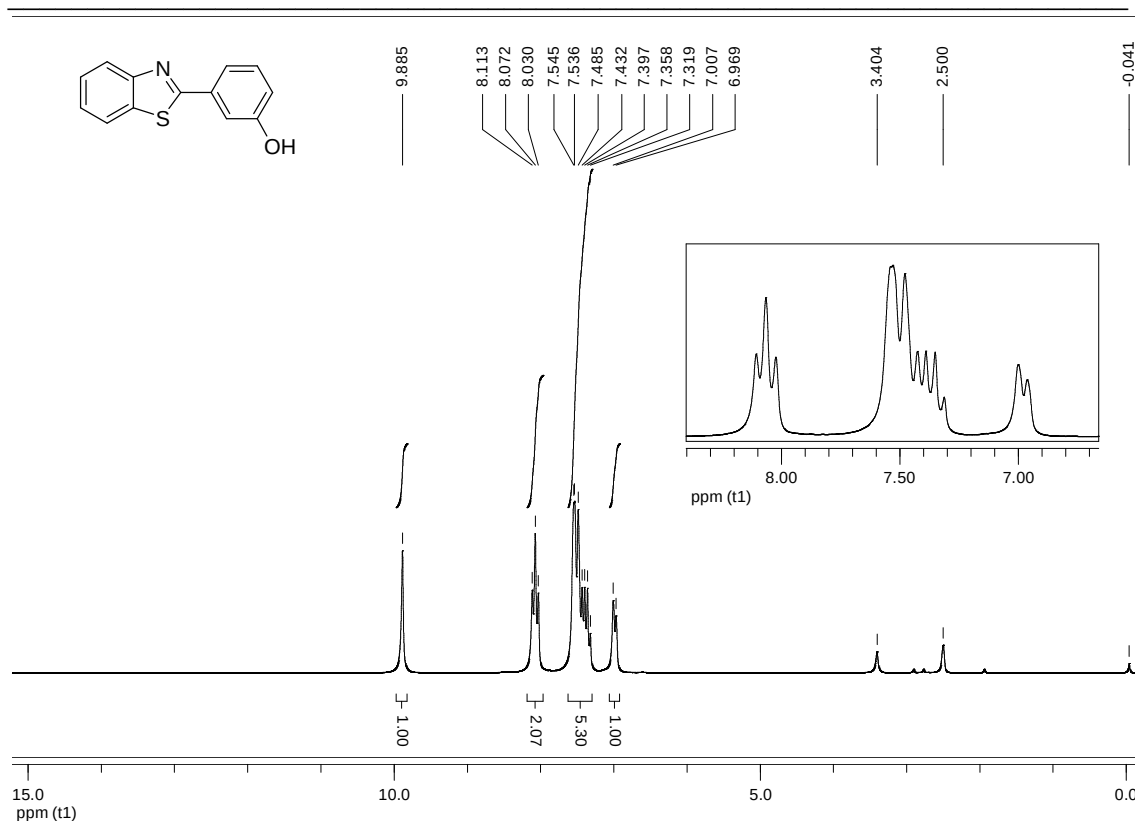


Figura 135 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) do composto 2-(3-hidroxifenil)benzotiazol (32).

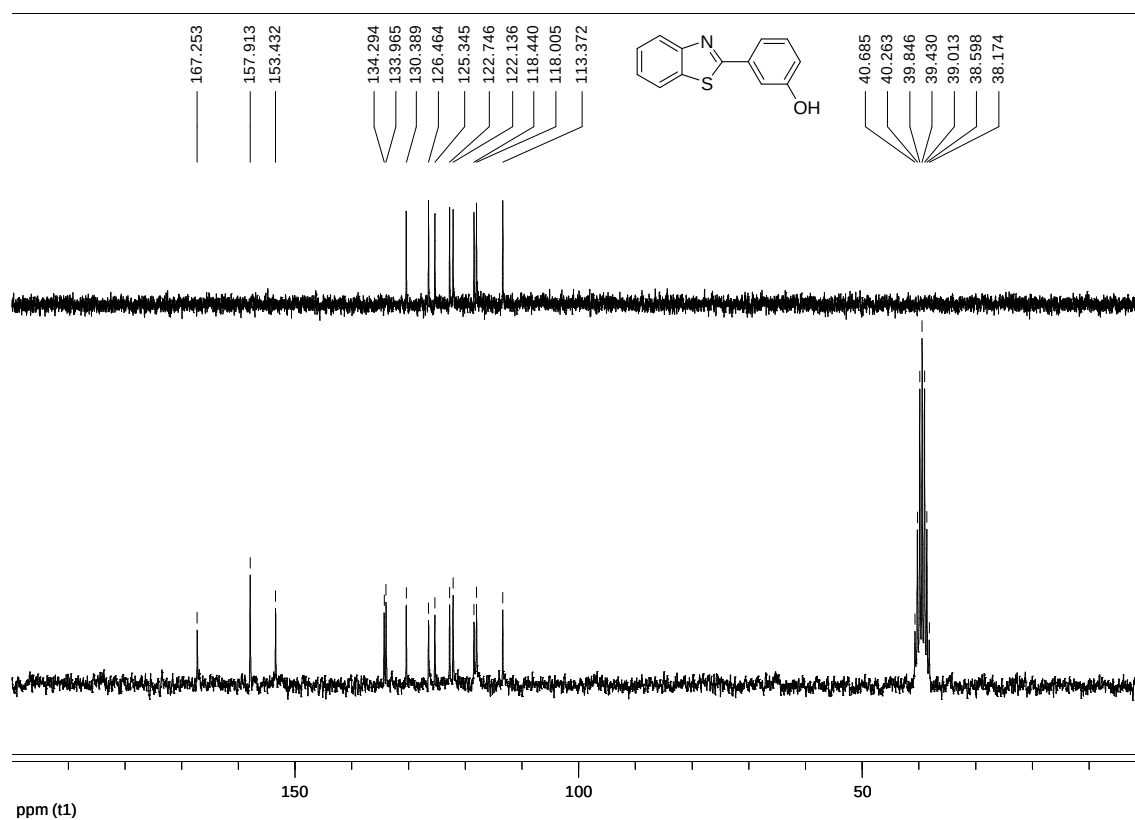


Figura 136 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) do composto 2-(3-hidroxifenil)benzotiazol (32).

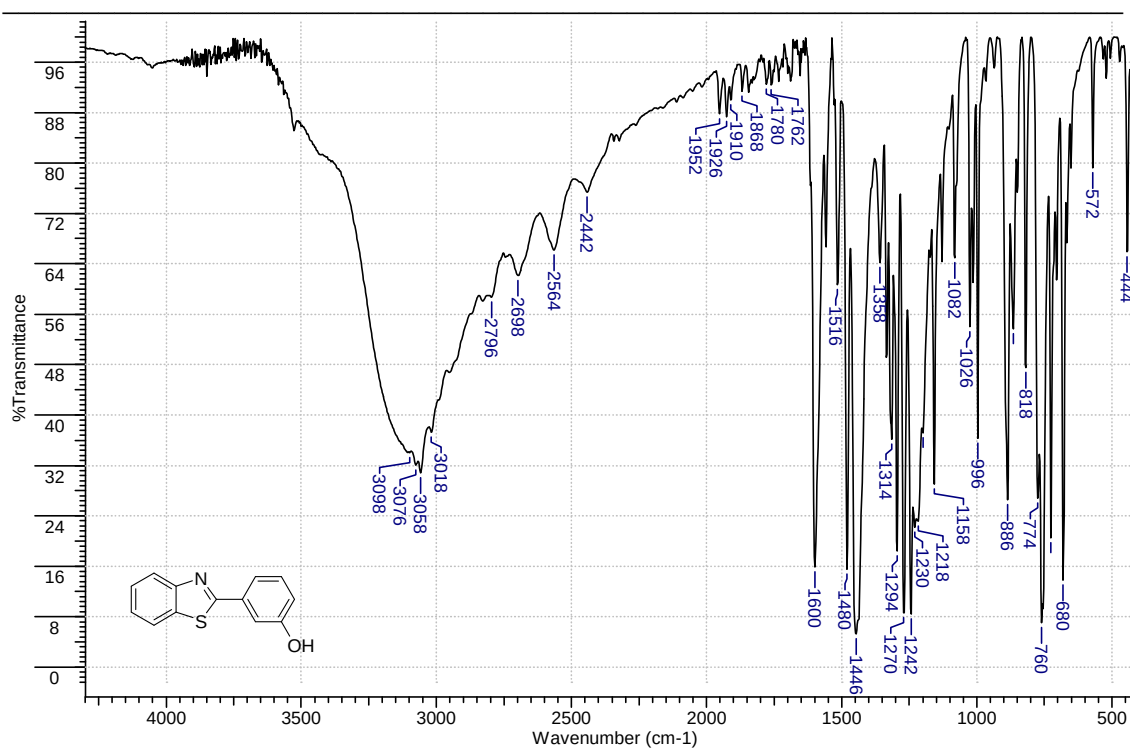


Figura 137 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(3-hidroxifenil)benzotiazol (32).

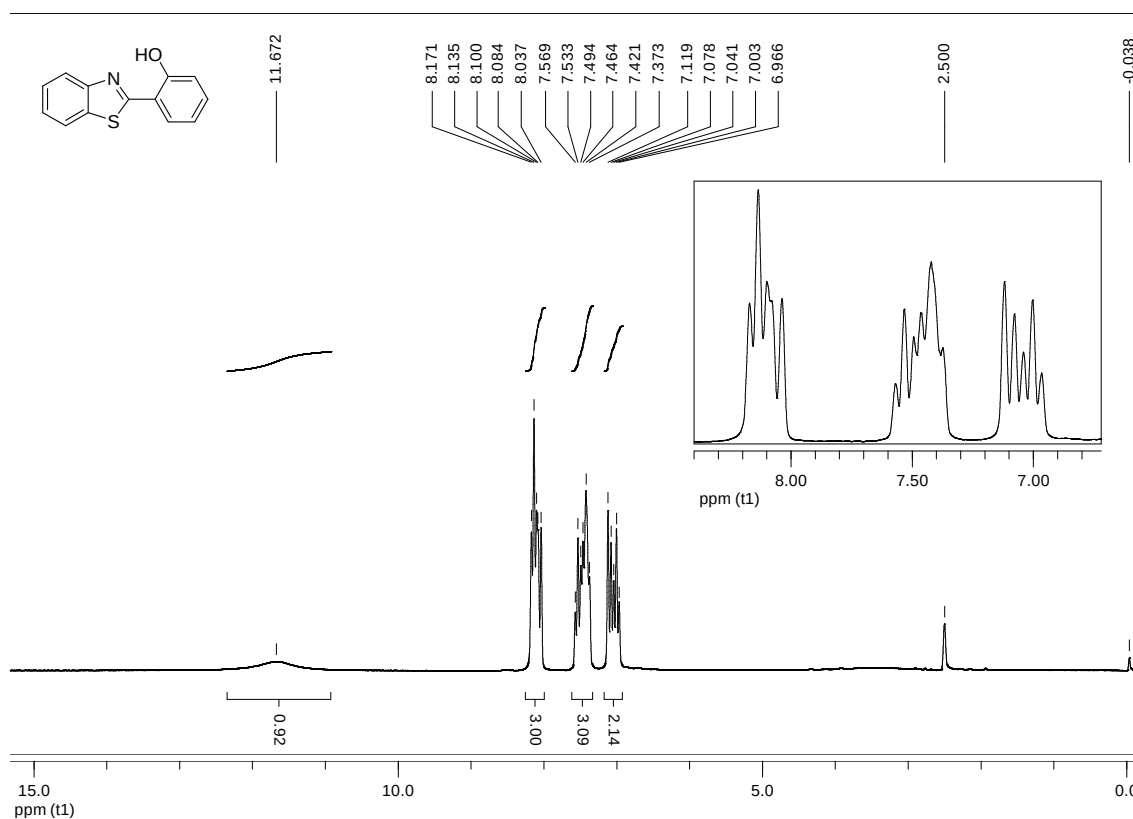


Figura 138 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(2-hidroxifenil)benzotiazol (33).

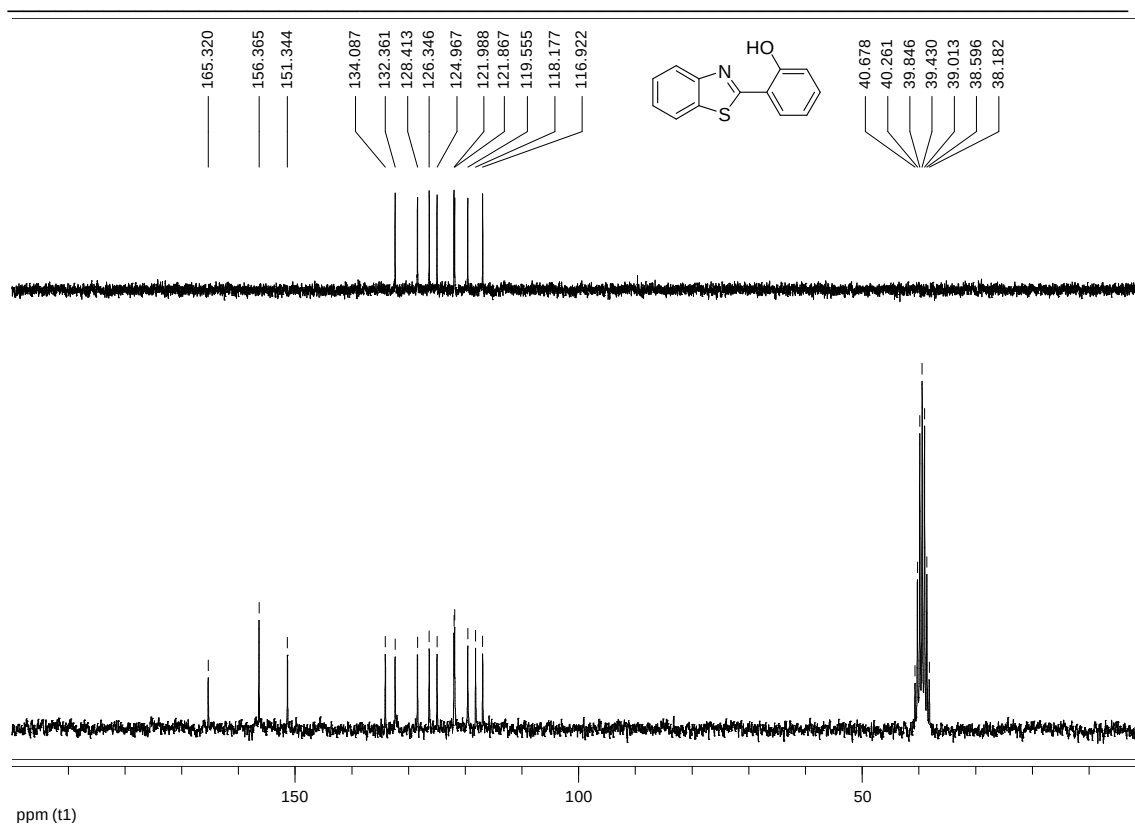


Figura 139 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-(2-hidroxifenil)benzotiazol (33).

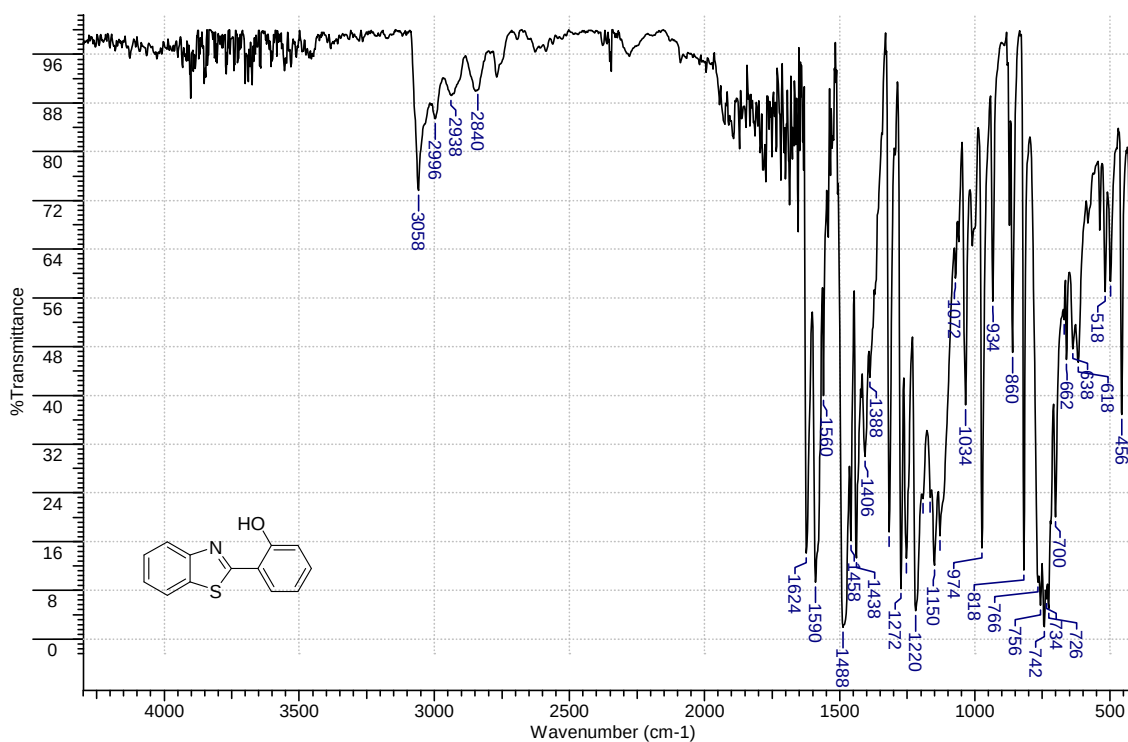


Figura 140 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-hidroxifenil)benzotiazol (33).

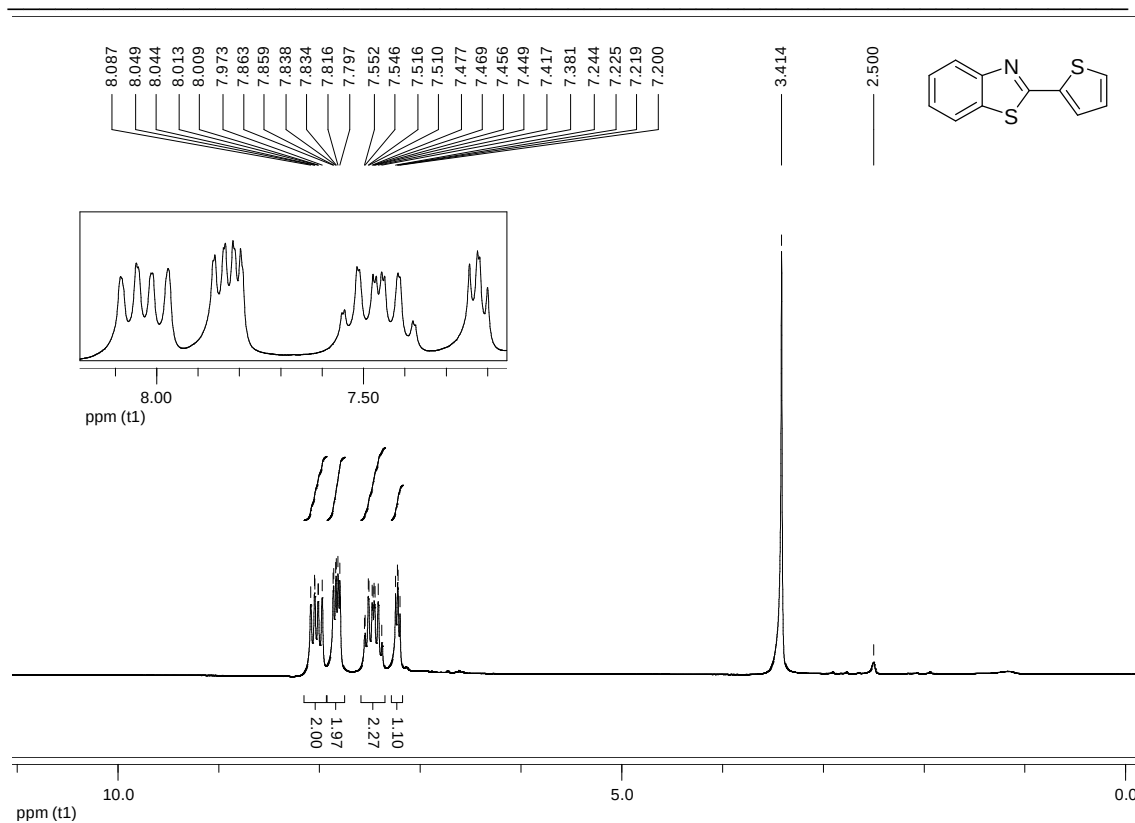


Figura 141 – Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) do composto 2-(2-tienil)benzotiazol (**34**).

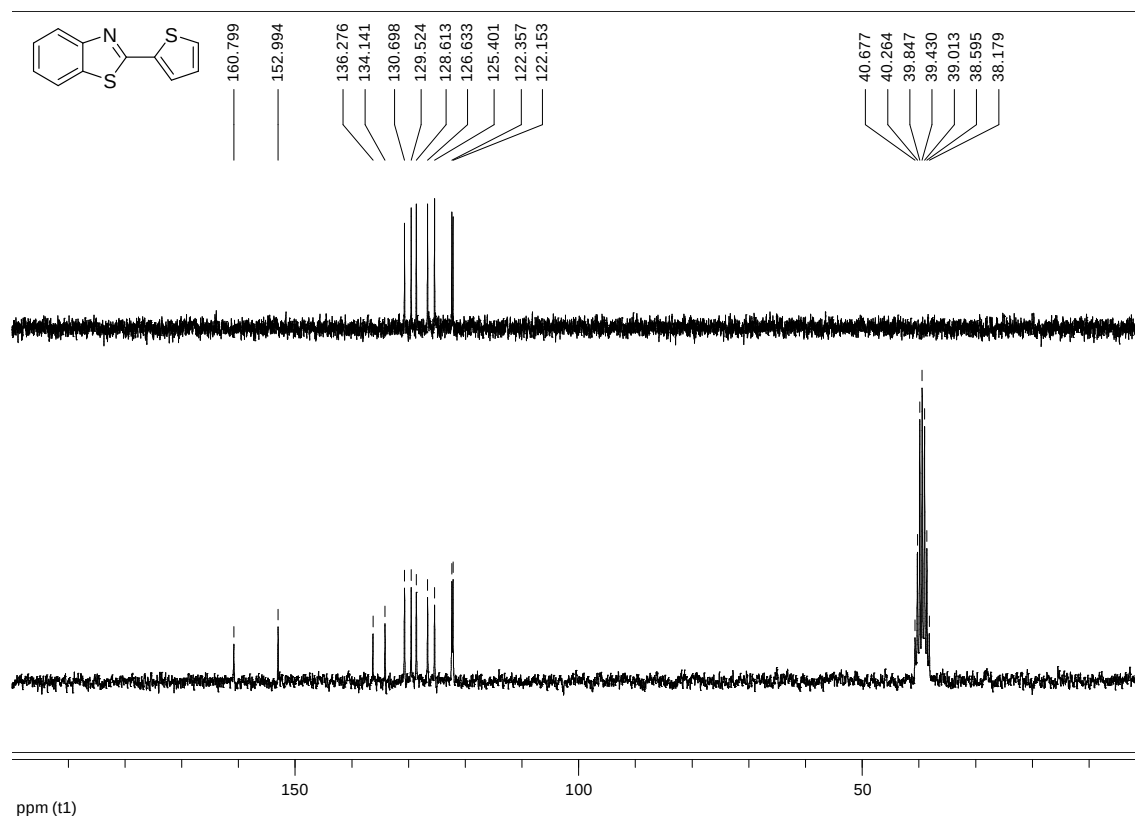


Figura 142 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) do composto 2-(2-tienil)benzotiazol (**34**).

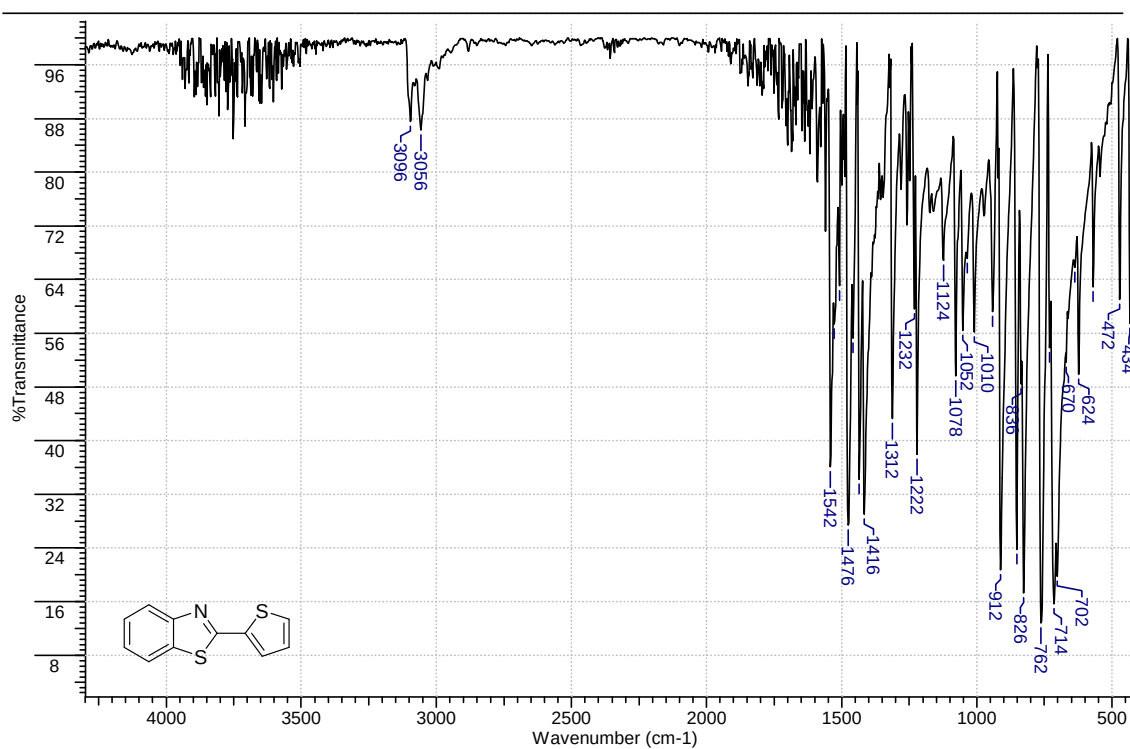


Figura 143 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-tienil)benzotiazol (34).

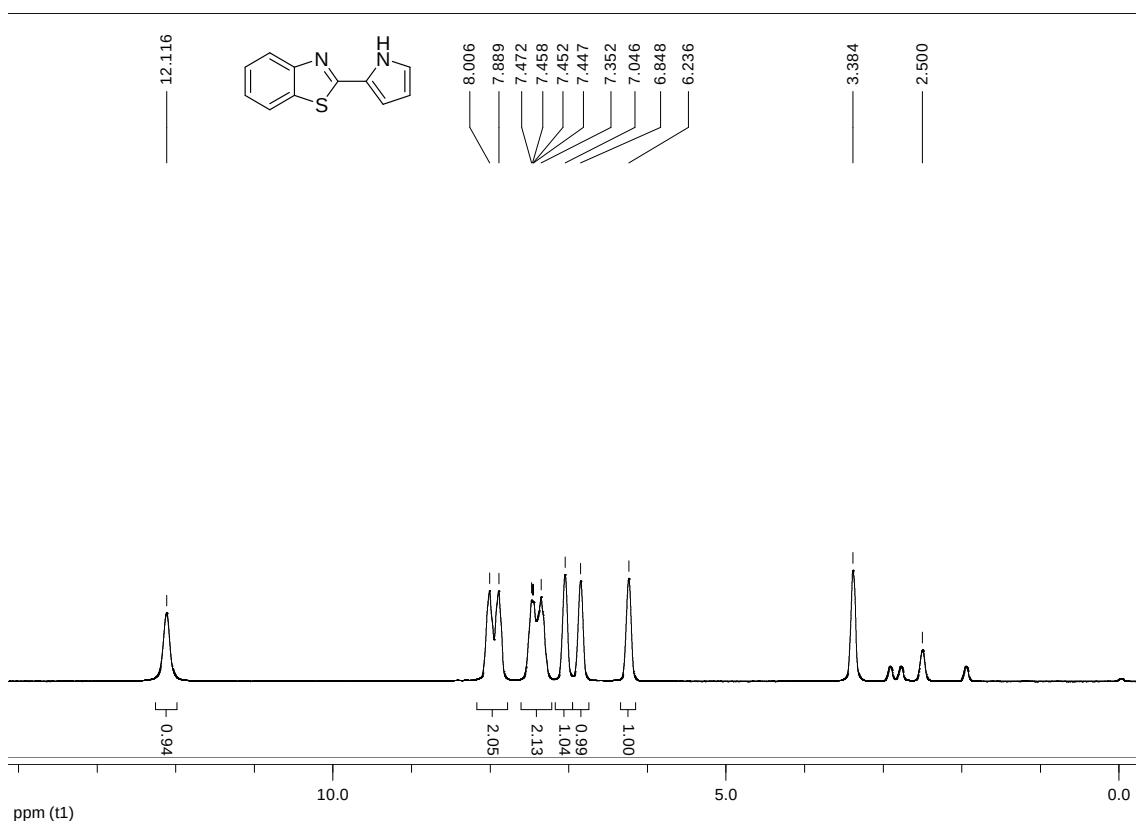


Figura 144 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(2-pirrol)benzotiazol (35).

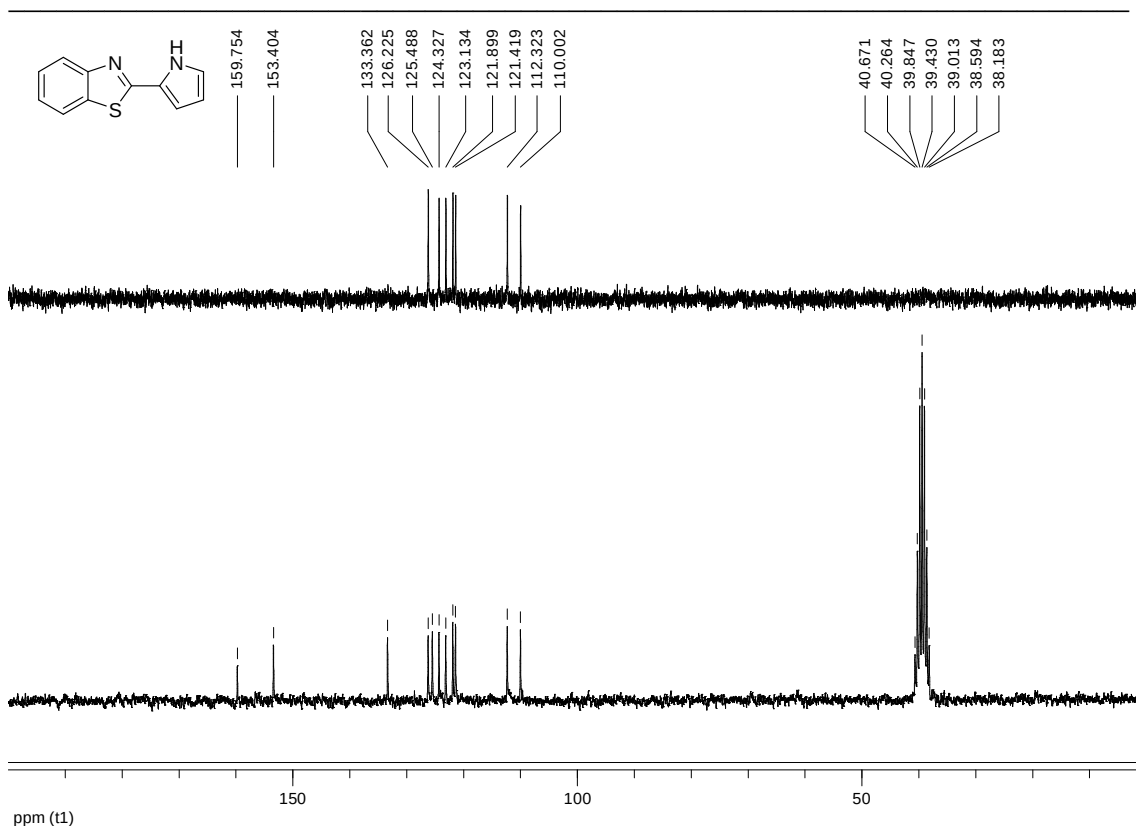


Figura 145 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50 MHz) do composto 2-(2-pirrol)benzotiazol (35).

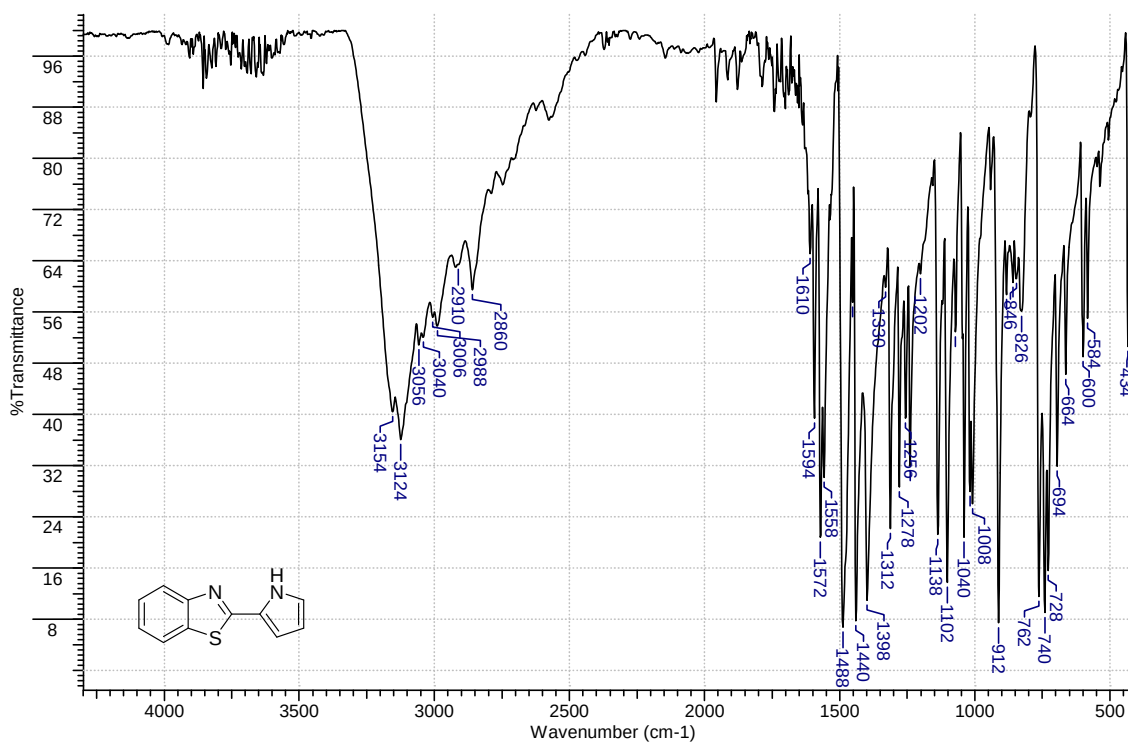


Figura 146 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-pirrol)benzotiazol (35).

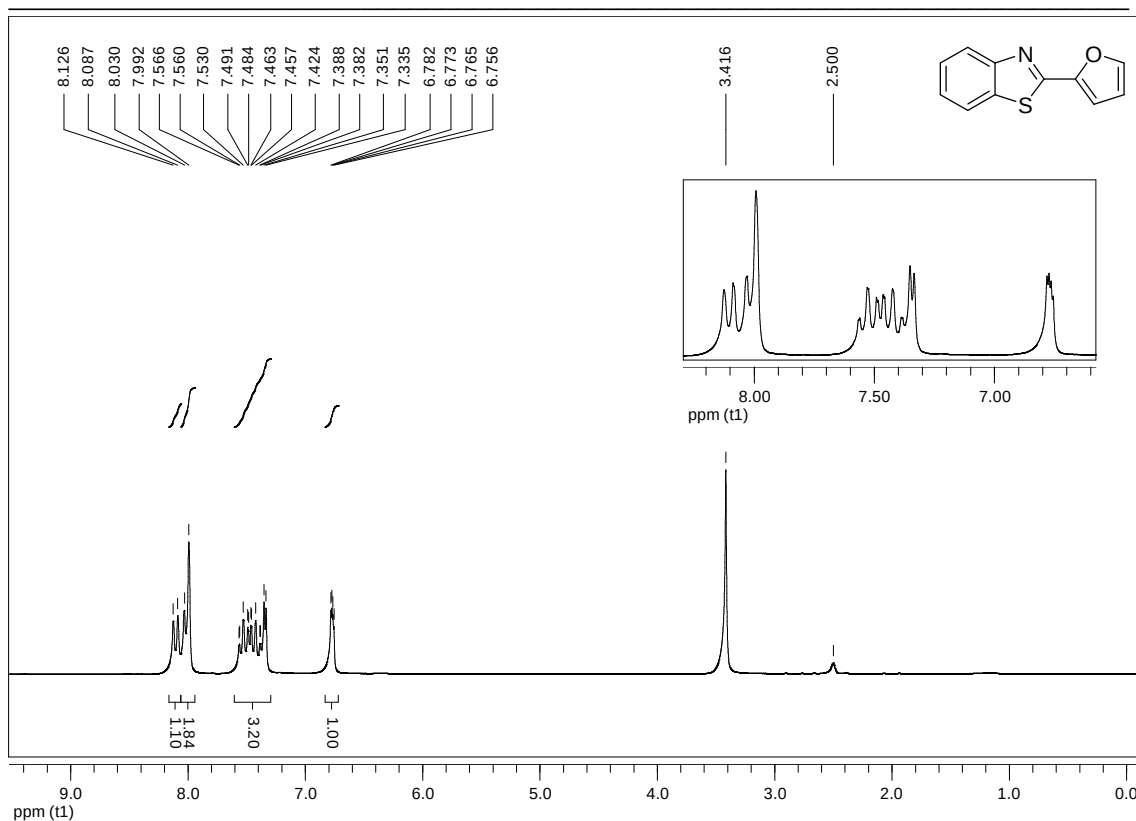


Figura 147 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(2-furanyl)benzotiazol (36).

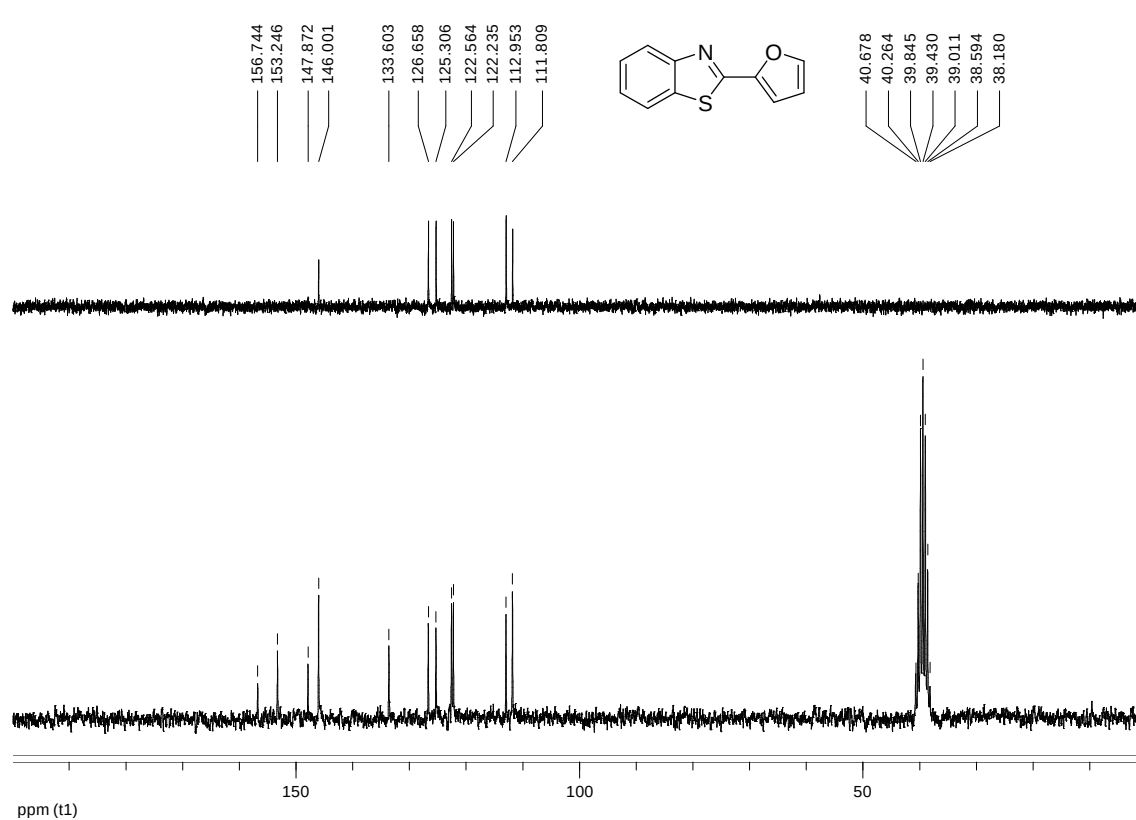


Figura 148 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50 MHz) do composto 2-(2-furanyl)benzotiazol (36).

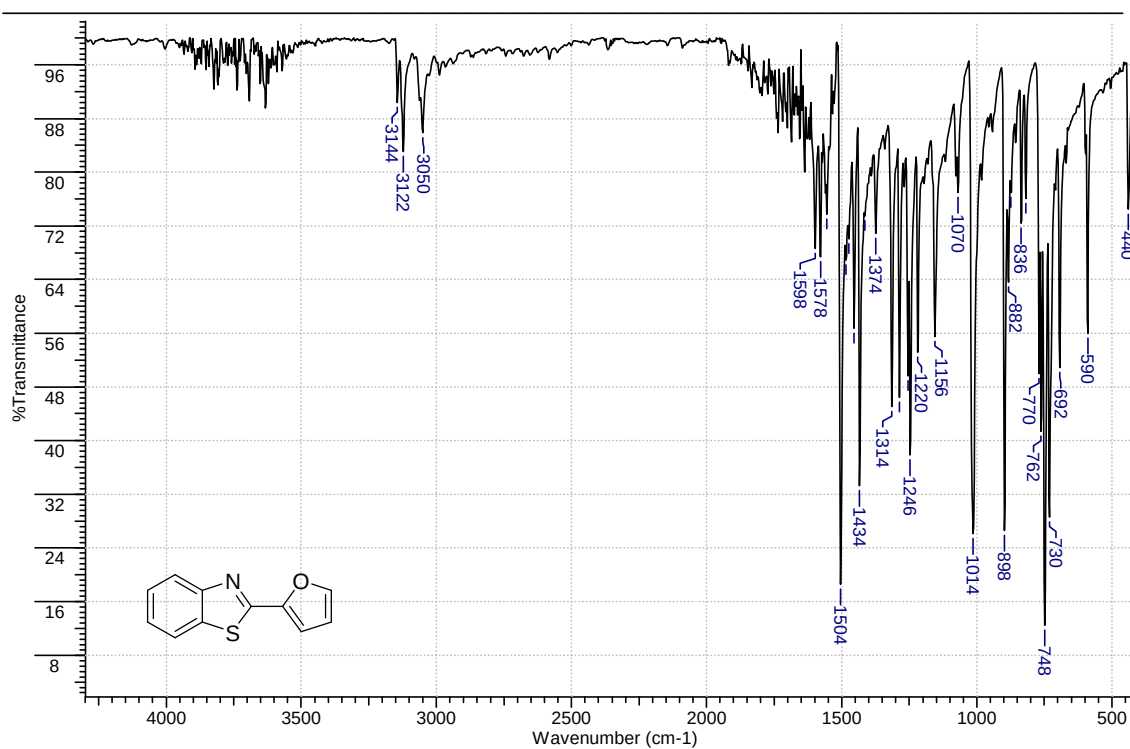


Figura 149 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(2-furânil)benzotiazol (36).

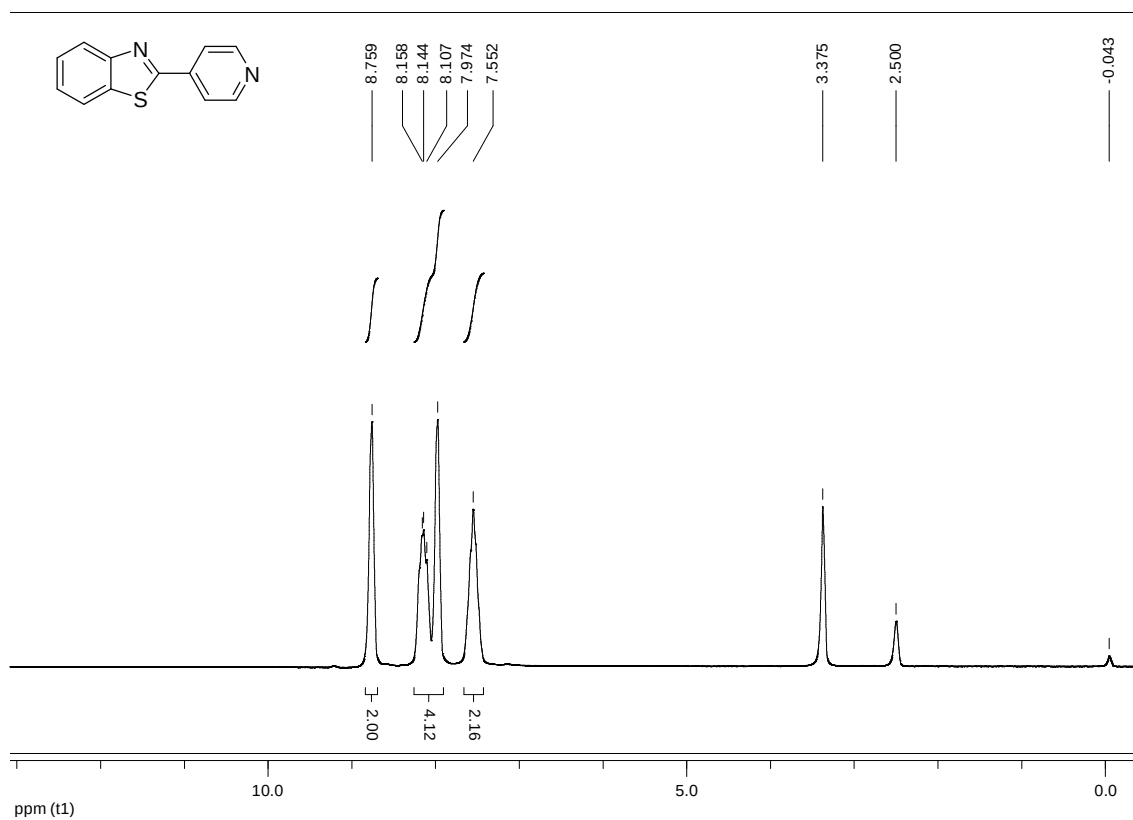


Figura 150 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(4-piridil)benzotiazol (37).

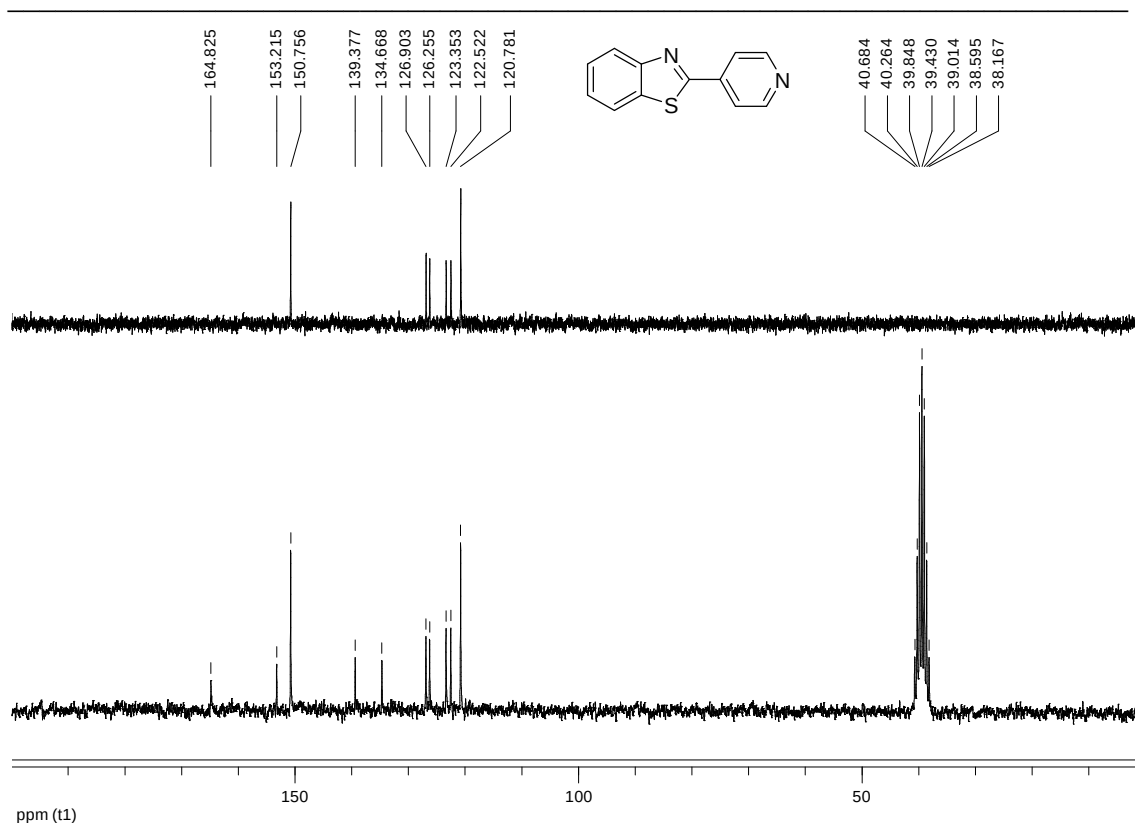


Figura 151 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 (DMSO- d_6 , 50 MHz) do composto 2-(4-piridil)benzotiazol (37).

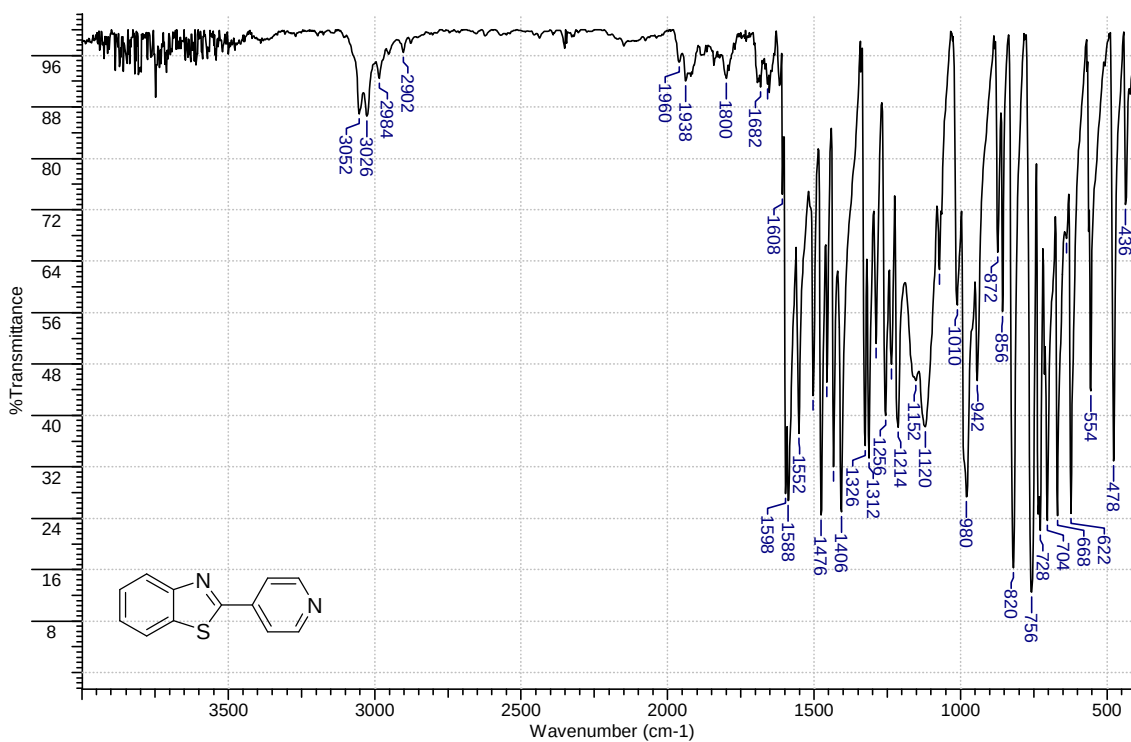


Figura 152 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(4-piridil)benzotiazol (37).

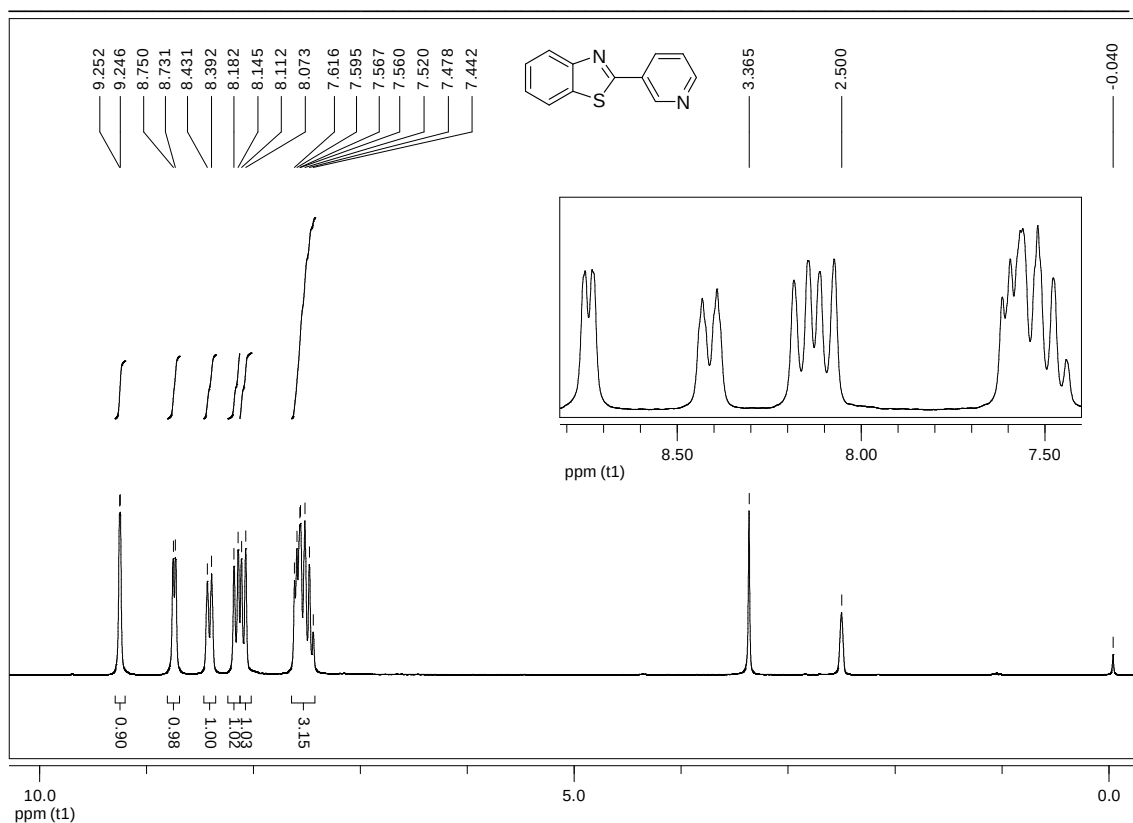


Figura 153 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(3-piridil)benzotiazol (**38**).

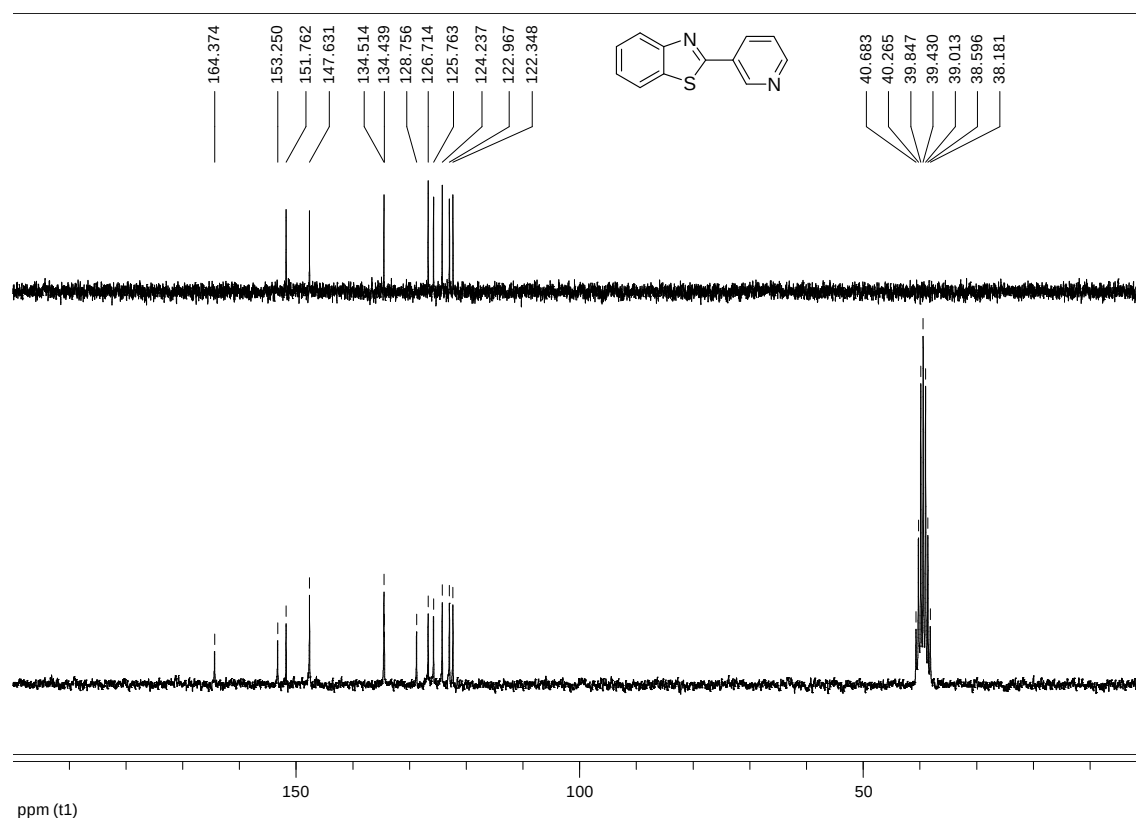


Figura 154 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50 MHz) do composto 2-(3-piridil)benzotiazol (**38**).

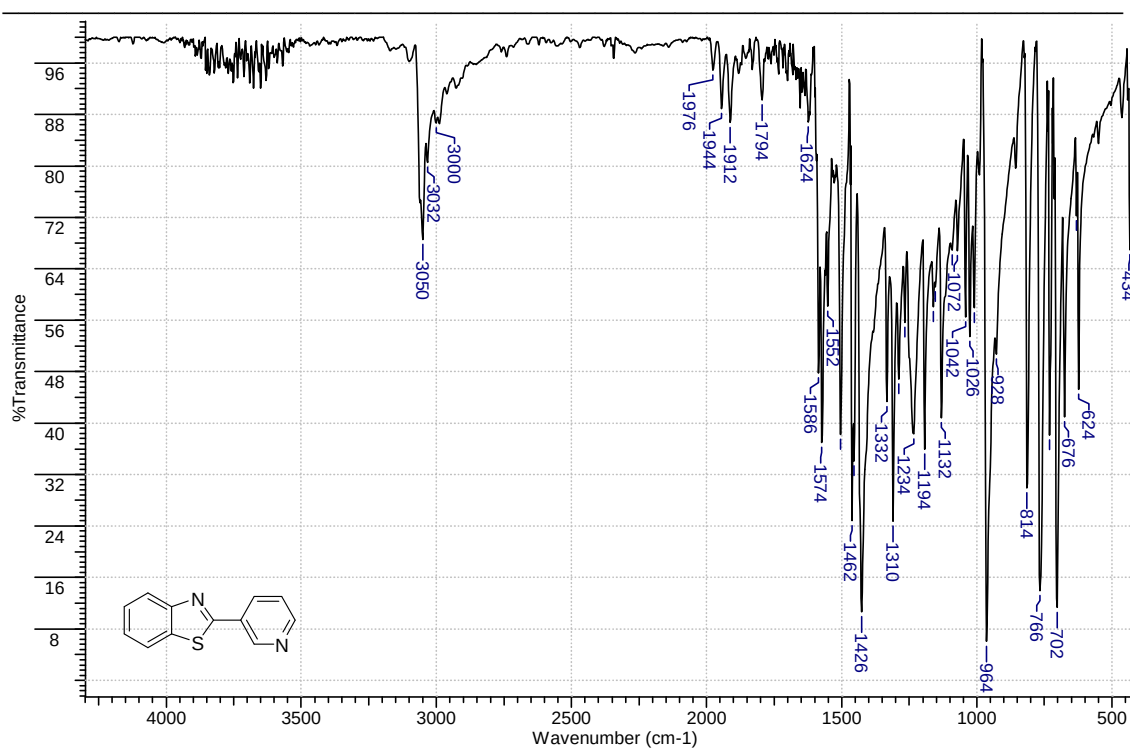


Figura 155 – Espectro de IV (em KBr) do composto 2-(3-piridil)benzotiazol (38).

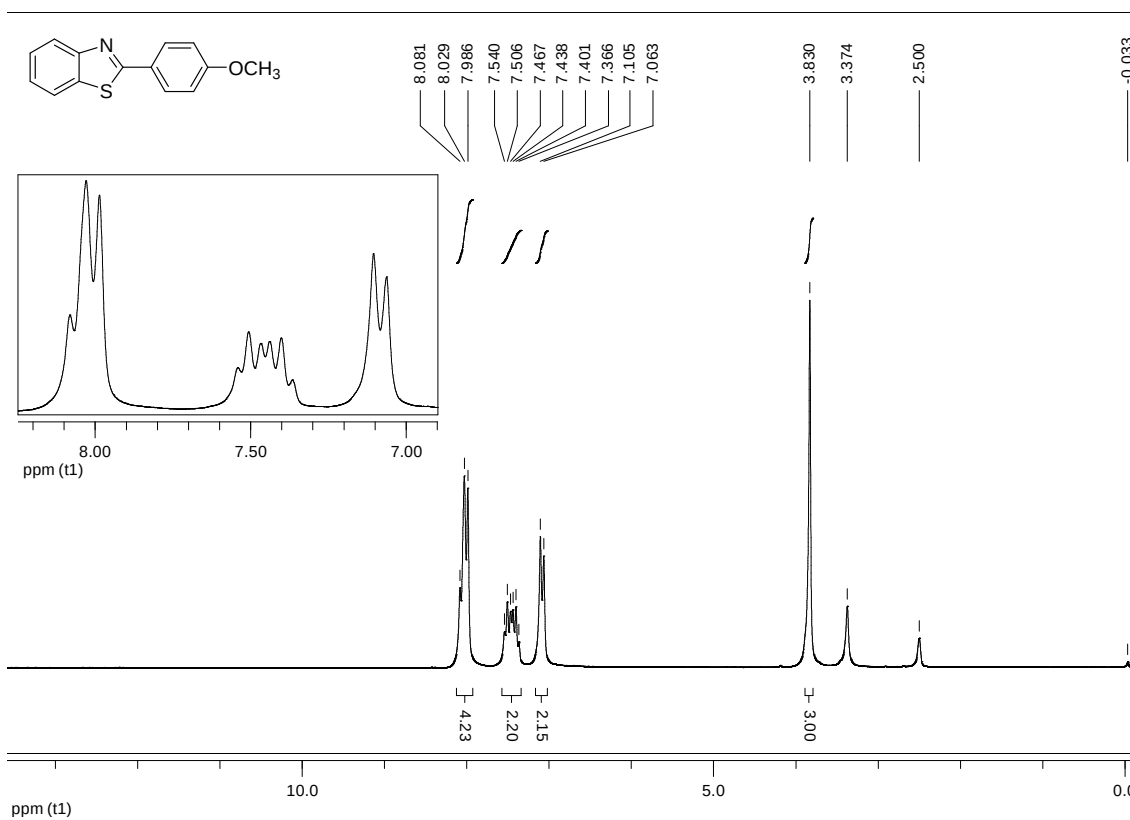


Figura 156 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(4-metoxifenil)benzotiazol (39).

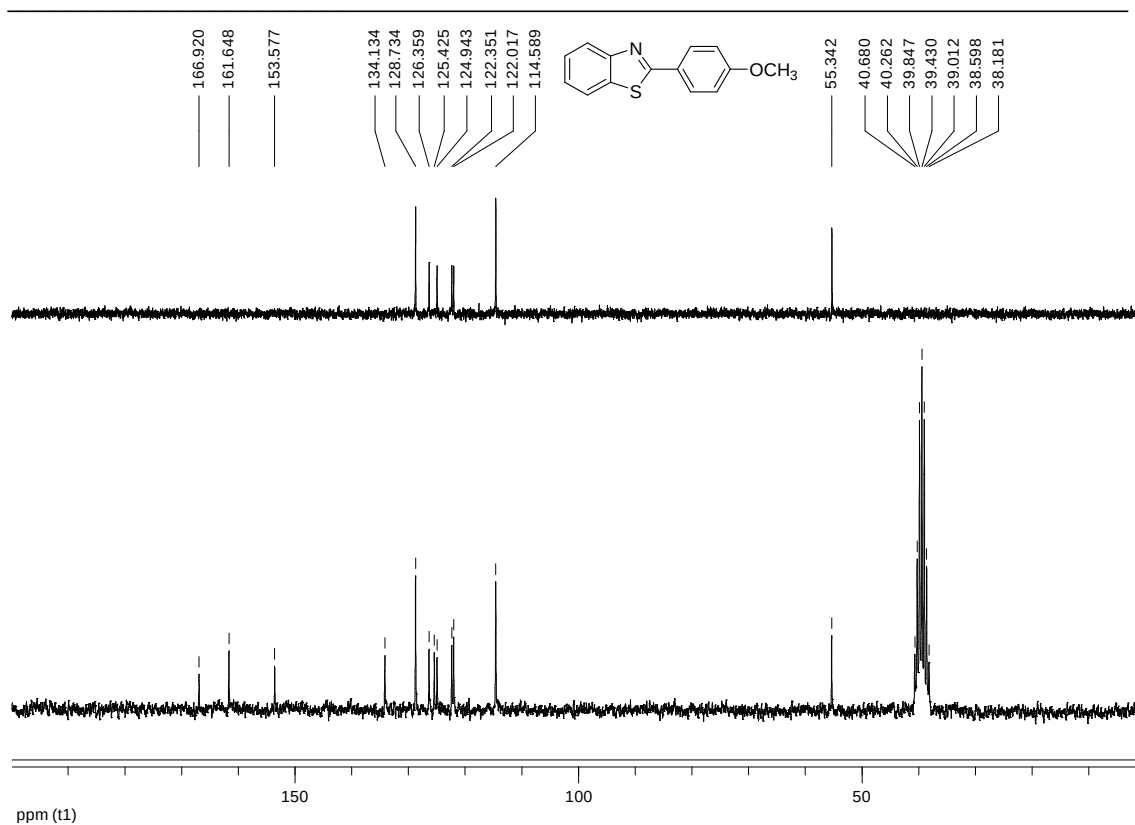


Figura 157 – Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) do composto 2-(4-metoxifenil)benzotiazol (39).

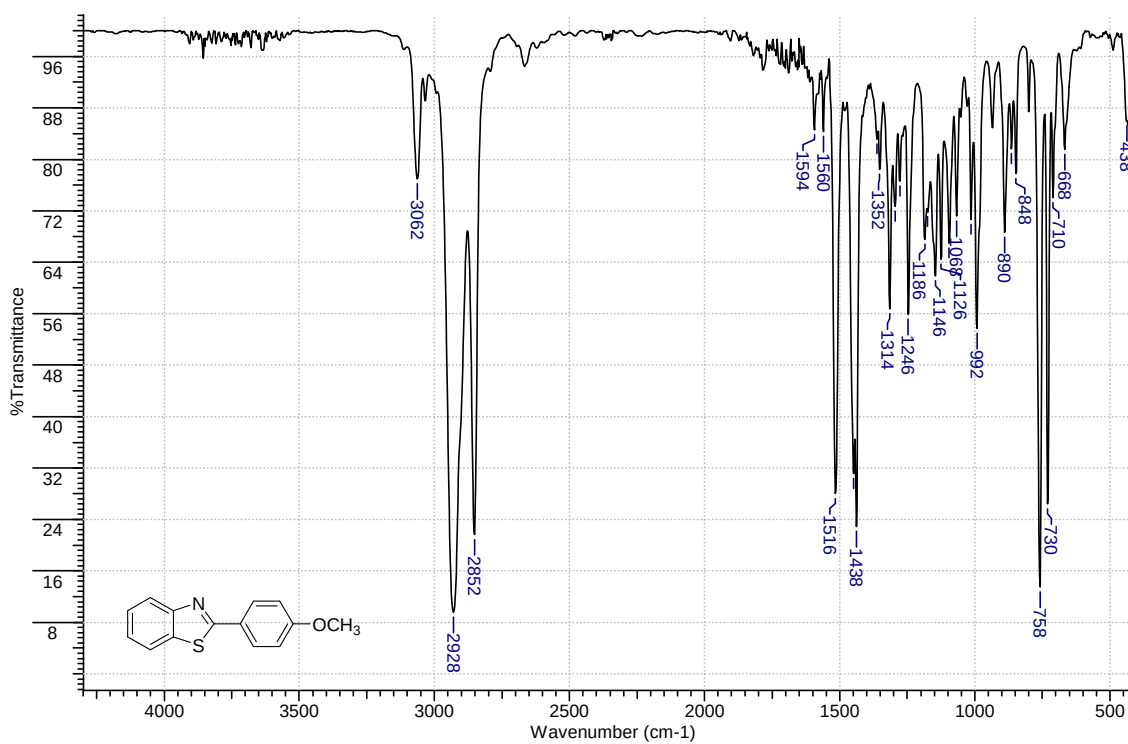


Figura 158 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(4-metoxifenil)benzotiazol (39).

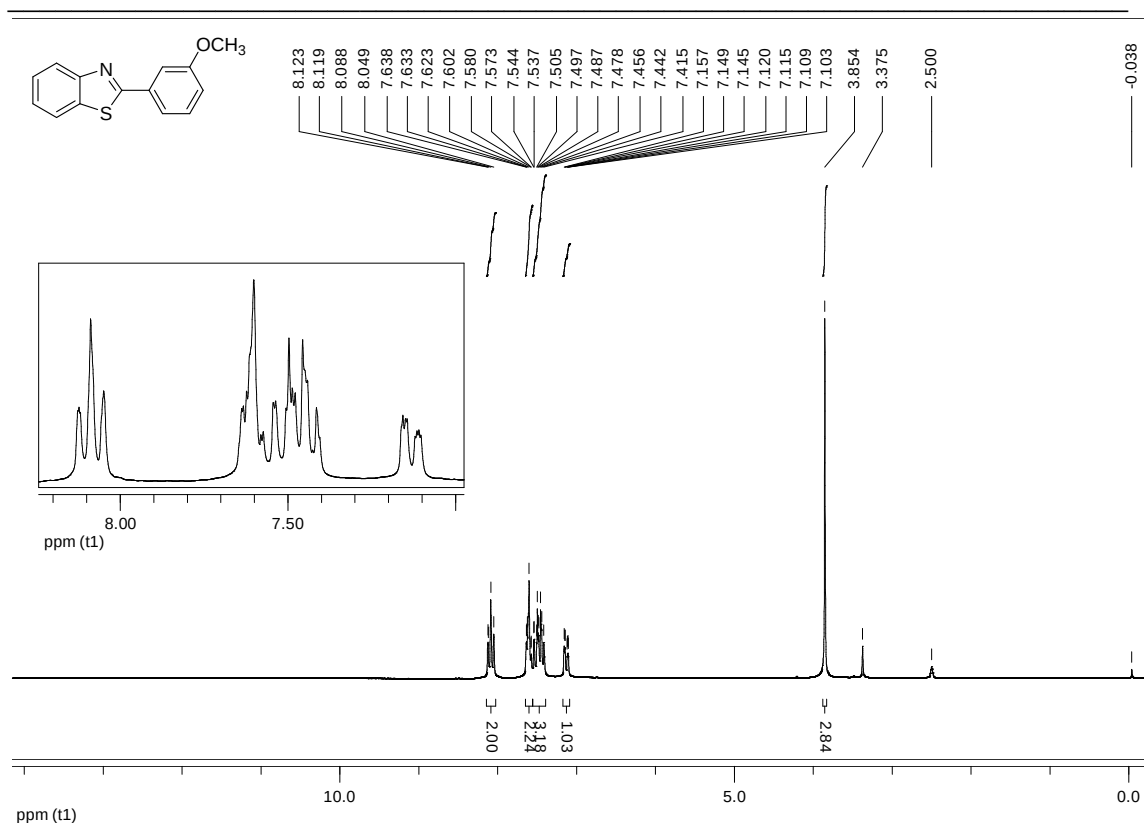


Figura 159 – Espectro de RMN de ¹H (DMSO-*d*₆, 200 MHz) do composto 2-(3-metoxifenil)benzotiazol (40).

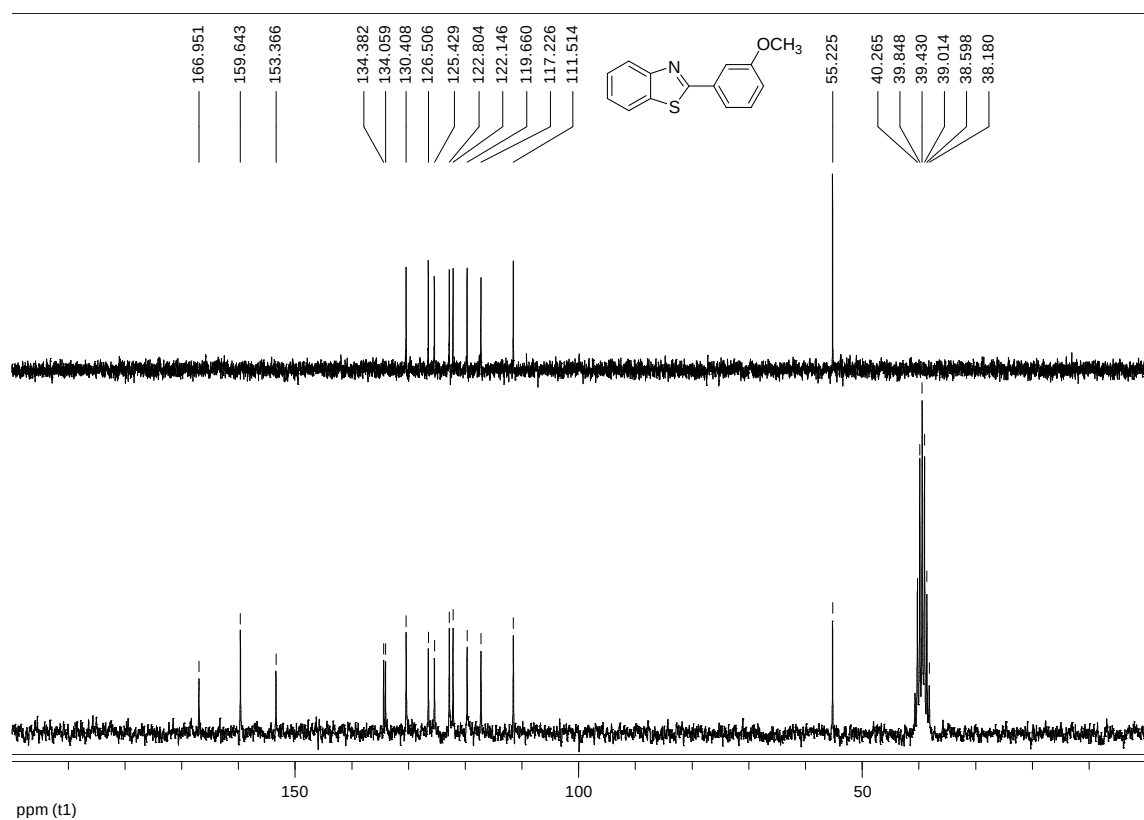


Figura 160 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (DMSO-*d*₆, 50 MHz) do composto 2-(3-metoxifenil)benzotiazol (40).

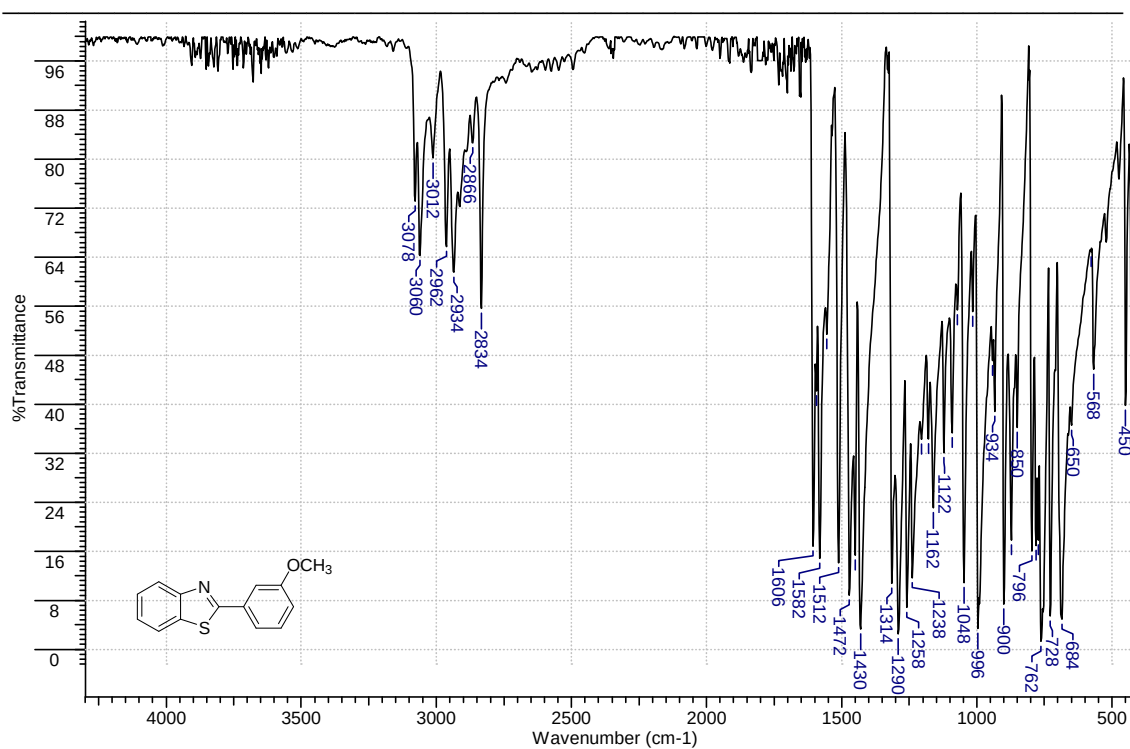


Figura 161 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(3-metoxifenil)benzotiazol (40).

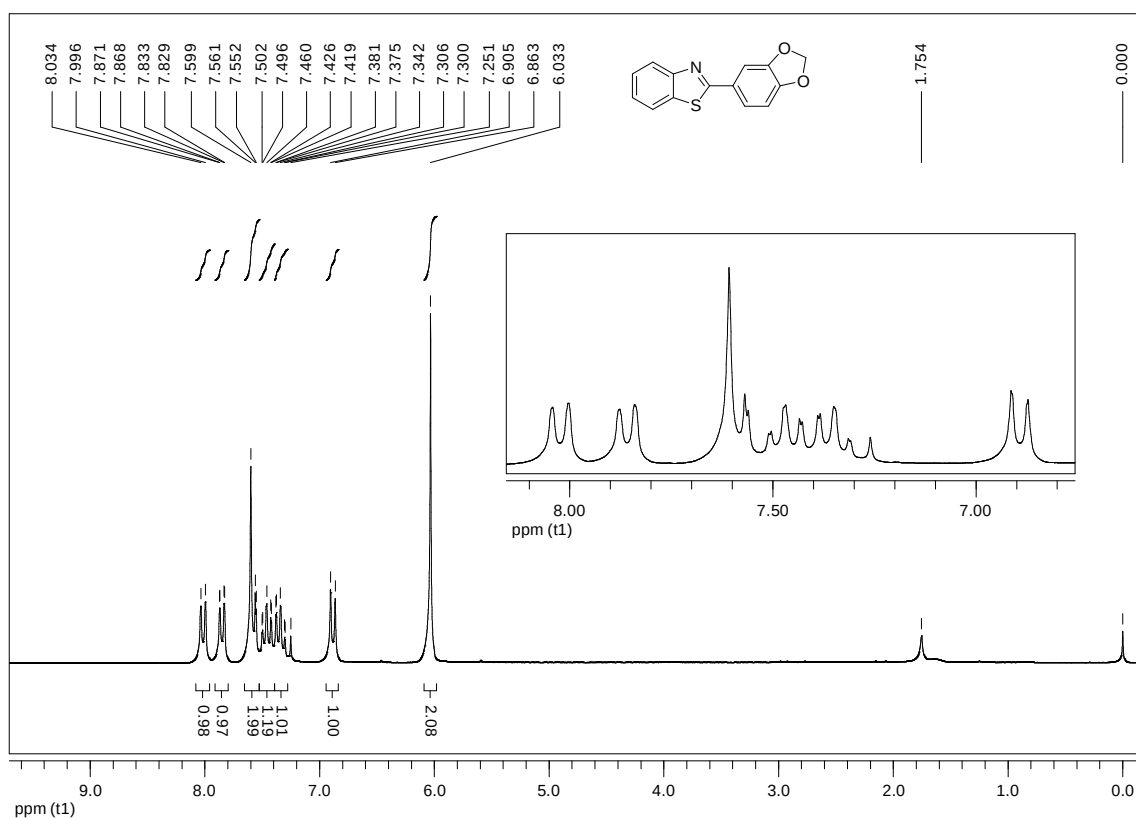


Figura 162 – Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do composto 2-(1,3-benzodioxol-5-il)benzotiazol (42).

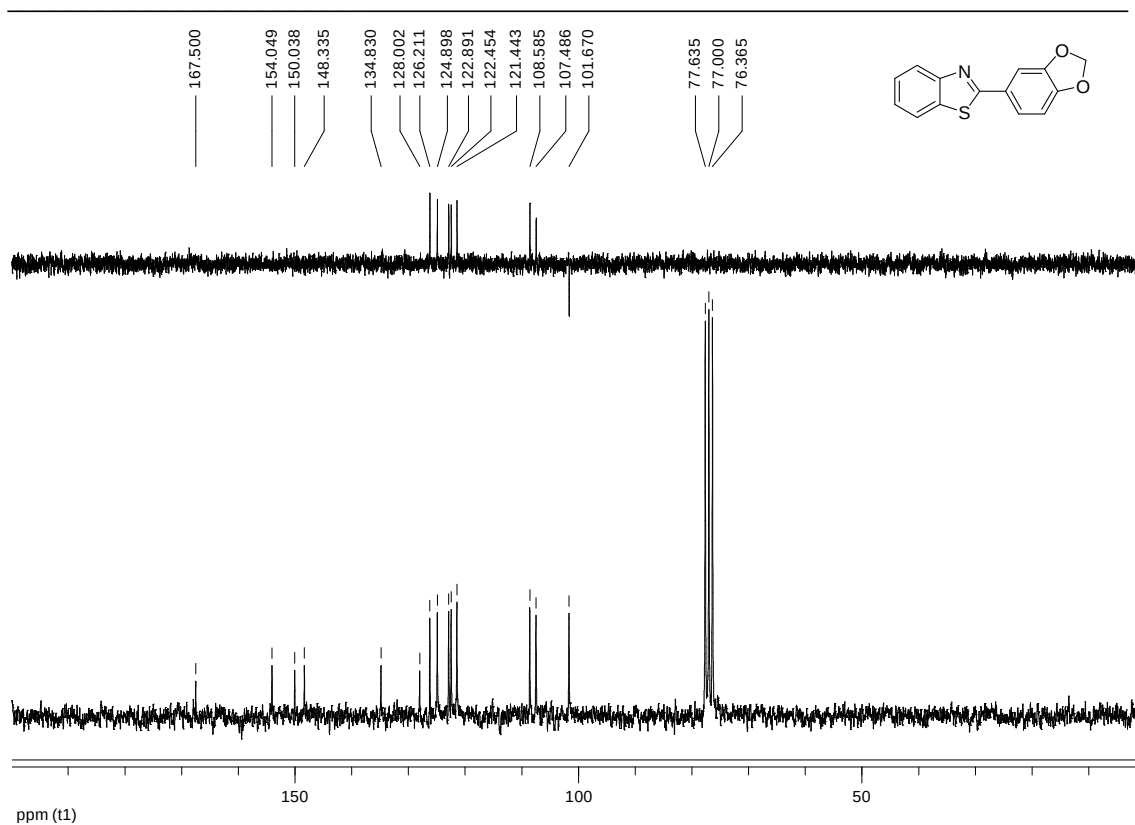


Figura 163 – Espectro de RMN de ¹³C e subespectro DEPT 135 (CDCl₃, 50 MHz) do composto 2-(1,3-benzodioxol-5-il)benzotiazol (42).

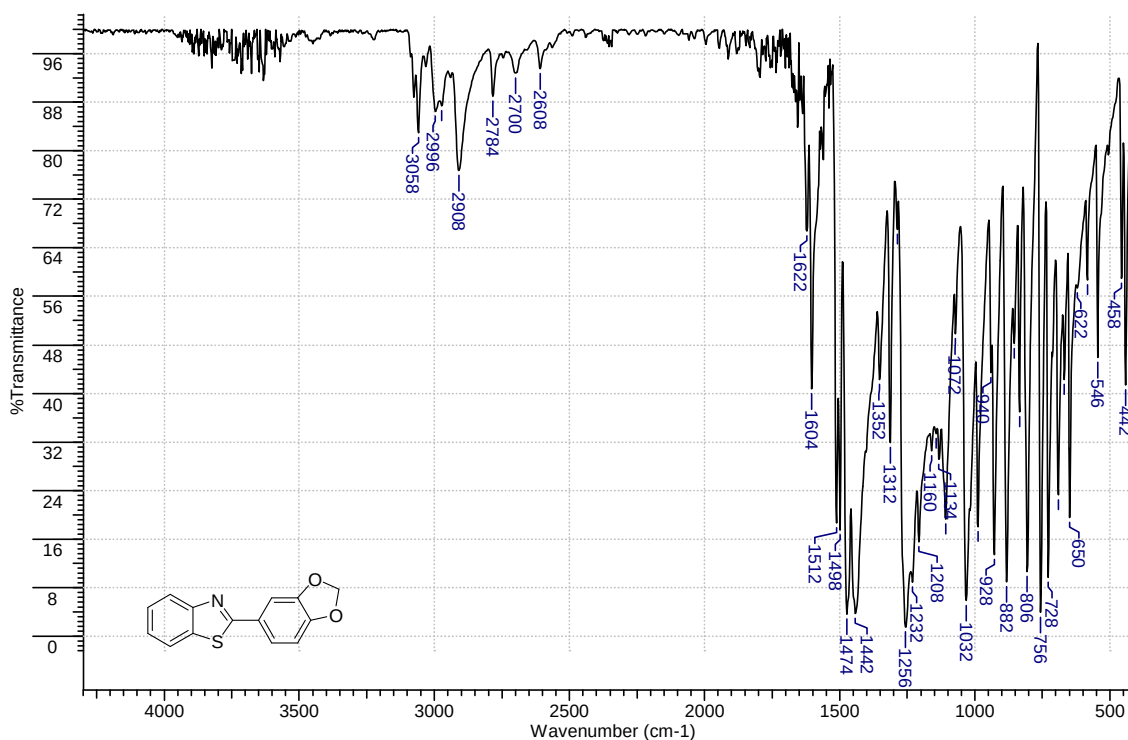


Figura 164 – Espectro no IV (em KBr) do 2-(1,3-benzodioxol-5-il)benzotiazol (42).

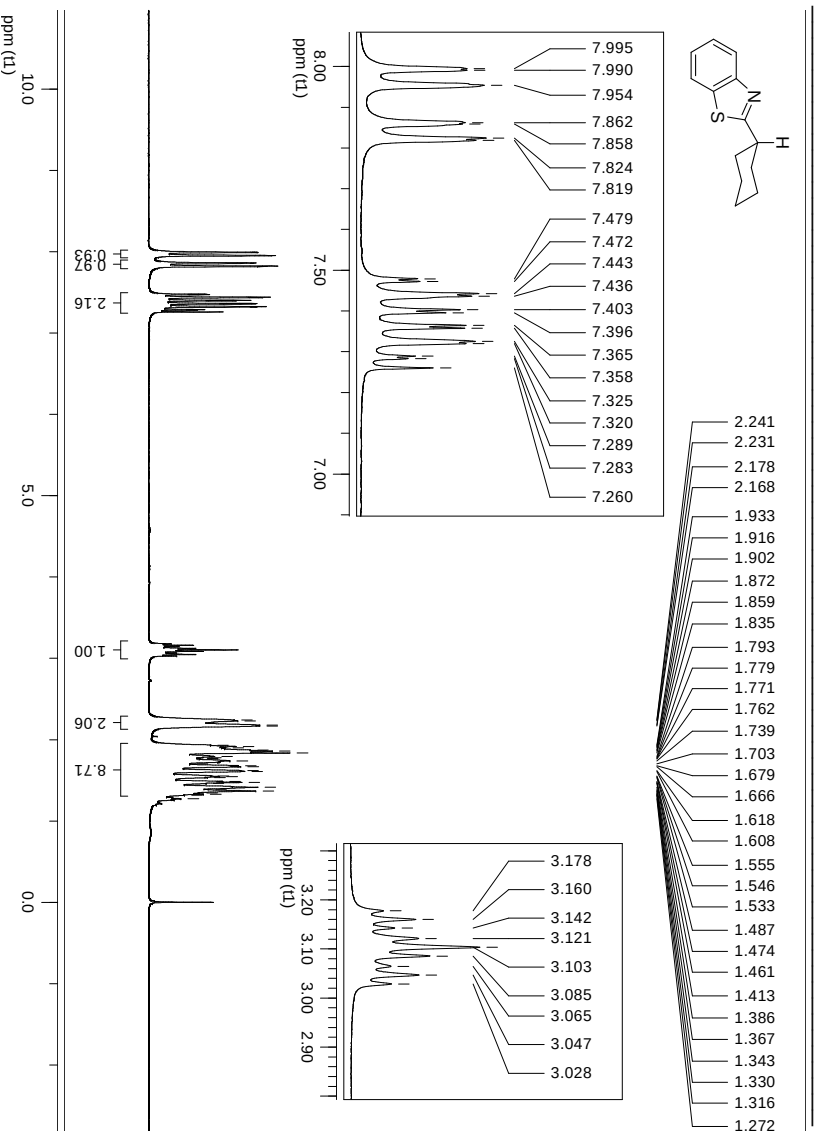


Figura 165 – Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) do composto 2-cicloexil-benzotiazol (43).

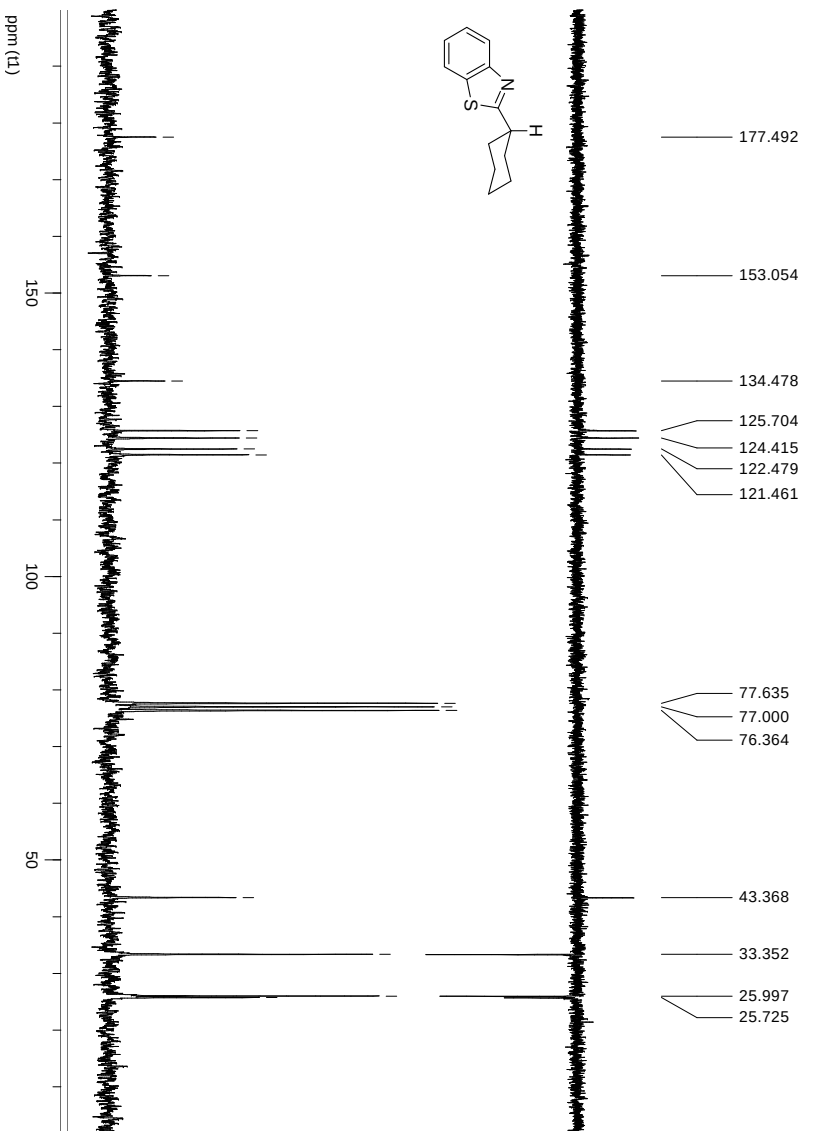


Figura 166 – Espectro de RMN de ¹³C e subspectro DEPT 135 (CDCl₃, 50 MHz) do composto 2-cicloexil-benzotiazol (43).

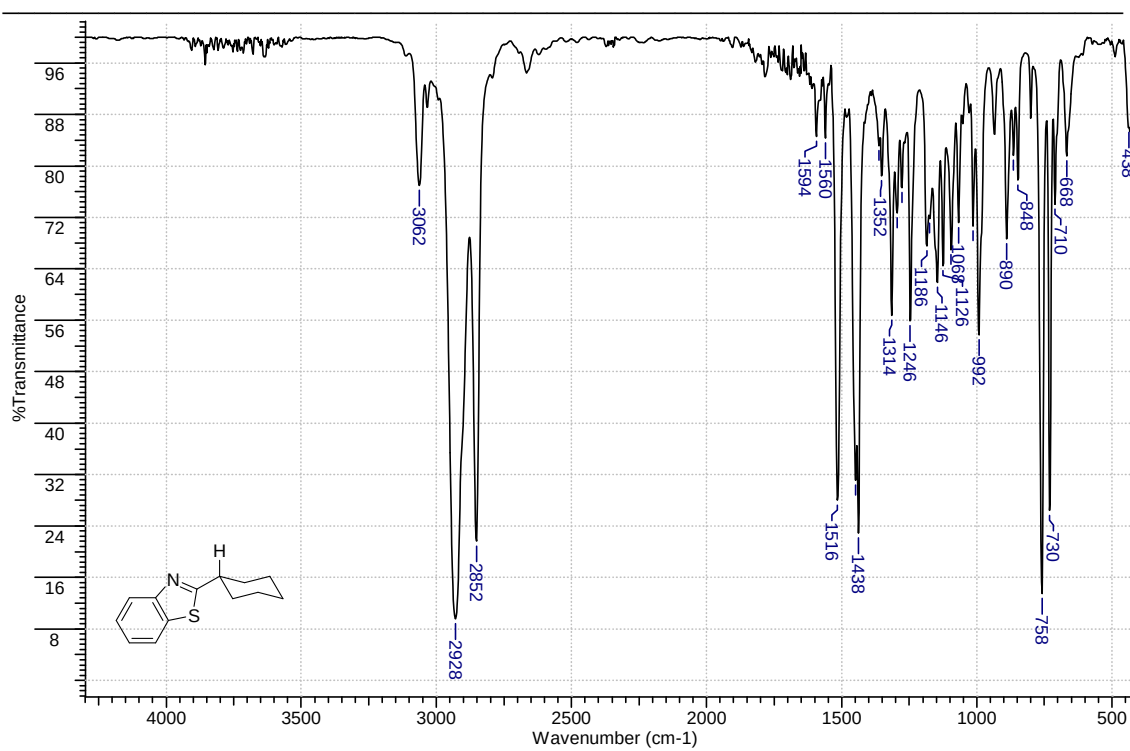


Figura 167 – Espectro no IV (em KBr) do 2-cicloexil-benzotiazol (43).