

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

Lucas Micquéias Arantes

**SÍNTESE DE *BIS*-IMINAS E *BIS*-AMINAS FUNCIONALIZADAS E
AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES CONTRA CÉLULAS DE
CÂNCER, FUNGOS E COMO ANTIOXIDANTES**

Belo Horizonte

2014

UFMG/ICE_x/DQ. 1046^a

T. 475^a

Lucas Micquéias Arantes

**SÍNTESE DE *BIS*-IMINAS E *BIS*-AMINAS FUNCIONALIZADAS E
AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES CONTRA CÉLULAS DE
CÂNCER, FUNGOS E COMO ANTIOXIDANTES**

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

Belo Horizonte

2014

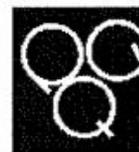
A662s Arantes, Lucas Micquéias
2014 Síntese de bis-íminas e bis-aminas funcionalizadas
T e avaliação de suas atividades contra células de
câncer, fungos e como antioxidantes [manuscrito] /
Lucas Micquéias Arantes. 2014.
[x], 135 + [77] f. : il.

Orientadora: Dorila Piló Veloso.
Coorientador: Adão Aparecido Sabino.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais - Departamento de Química.
Bibliografia: f. 128-135. Anexos: f. I-LXXVII.

1. Química orgânica - Teses 2. Antioxidantes -
Teses 3. Bis-íminas - Teses 4. Agentes
antineoplásicos - Teses 5. Atividade antifúngica -
Teses 6. Bis-aminas - Teses I. Veloso, Dorila Piló,
Orientadora II. Sabino, Adão Aparecido, Coorientador
III. Título.

CDU 043



"Síntese de Bis-iminas e Bis-aminas Funcionalizadas e Avaliação de suas Atividades contra Células de Câncer, Fungos e como Antioxidantes."

Lucas Micquéias Arantes

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Dorila Piló Veloso - Orientadora
UFMG

Prof. Adão Aparecido Sabino - Coorientador
UFMG

Prof. Fernando César de Macedo Júnior
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Mayura Marques Magalhães Rubinger
UFV

Prof. Rosemeire Brondi Alves
UFMG

Prof. Antônio Flávio de Carvalho Alcântara
UFMG

Belo Horizonte, 07 de novembro de 2014.

A Deus.

Aos meus queridos pais Hilton e Maria.

A minha amada Flávia Luzia.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a oportunidade de chegar onde cheguei e por ter sempre guiado meus passos.

Aos meus pais, pela dedicação de uma vida.

Aos meus irmãos, Jonas e Marina, pelo apoio e companheirismo.

A minha esposa Flávia Luzia pelo carinho e companheirismo durante esse período importante para minha vida.

A todos os meus familiares, por me acompanharem em toda minha caminhada, comemorando e sofrendo junto comigo. Agradeço, principalmente, a todos os momentos em que vocês me fizeram presente em suas orações.

Aos meus orientadores Dorila Piló-Veloso e Adão Aparecido Sabino pela orientação e pelos conselhos que me permitiram amadurecer profissionalmente.

À CAPES, pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos do laboratório 258, Aretha, Débora, Juliana, Renato, Cleiton, Flávia, pela agradável convivência e ajuda durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos do Departamento de Química, Vanessa, Letícia, Barbara, Fernando que, de alguma forma, me ajudaram nessa caminhada.

E a todos que se fizeram presentes durante esta caminhada, dando incentivo e força para que eu a concluísse, MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

Siglas, abreviaturas e símbolos	viii
Resumo	x
Abstract	xi
PARTE I - INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	2
1.1.1 Mecanismo de formação de iminas	4
1.2 Aplicações biológicas	5
1.2.1 Fungos	5
1.2.2 Antioxidante	8
1.2.3 Câncer	10
1.2.3.1 Terapia Anti-Câncer	11
1.3 Aplicações em síntese orgânica	14
PARTE II - SÍNTESE DE IMINAS, AMINAS E COMPLEXOS DE PALÁDIO E DE PLATINA	16
2 Objetivos	17
2.1 Resultados	18
2.1.1 Obtenção e caracterização de <i>bis</i> -iminas aromáticas funcionalizadas	18
2.1.1.1 Primeira série de <i>Bis</i> -iminas	18
2.1.1.2 Segunda série de <i>Bis</i> -iminas	35
2.1.2 Obtenção e caracterização de <i>bis</i> -aminas aromáticas funcionalizadas	45
2.1.3 Síntese e caracterização de complexos de platina e de paládio	52
PARTE III – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA COM FUNGOS PATOGÊNICOS DE INTERESSE CLÍNICO E CÉLULAS DE CÂNCER	62
3.1 Atividade contra fungos	63
3.1.1 Objetivos	63
3.1.2 Resultados	64
3.2 Atividade contra células de câncer	75
3.2.1 Objetivos	75

3.2.2	Resultados e discussão	76
	PARTE IV – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SEQUESTRADORA DE RADICAIS	85
4.1	Objetivos	86
4.1.1	Resultados	87
4.1.2	Atividades antioxidantes utilizando método DPPH	87
4.1.3	Atividades sequestradoras de radicais ânions superóxidos	91
	PARTE V - PARTE EXPERIMENTAL	94
5.1	Materiais e métodos	95
5.1.1	Instrumentação e Condições	95
5.1.1.1	Espectroscopia no infravermelho	95
5.1.1.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	95
5.1.1.3	Espectrometria de massas de alta de resolução LCMS-IT-TOF	95
5.2	Procedimento de síntese	96
5.2.1	Preparação das <i>bis</i> -iminas hidroxiladas aromáticas 1-9	96
5.2.2	Preparação das <i>bis</i> -iminas hidroxiladas aromáticas 10-17	102
5.2.3	Preparação das <i>bis</i> -iminas carboxiladas 18-24	107
5.2.4	Preparação das <i>bis</i> -aminas hidroxiladas aromáticas 25-35	112
5.2.5	Preparação dos complexos metálicos 36-38	118
5.3	Testes biológicos	121
5.3.1	Avaliação da Atividade Antiproliferativa	121
5.3.2	Avaliação da Atividade Antifúngica	121
5.3.3	Avaliação da Atividade Sequestradora de Radicais DPPH [•] e de ânions superóxido	122
	PARTE VI - CONCLUSÃO GERAL	124
	PARTE VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
	PARTE VIII - ANEXOS	I

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.

a – Aguda

AUREMN – Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear

CCD – Cromatografia em camada delgada

CIM - Concentração da substância em teste que inibe 50% do crescimento celular

COSY – *Correlation spectroscopy*

CPQBA - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas

CS₅₀ - Concentração da substância em teste que sequestra 50% do radical DPPH[•]

d – Duplete

DCM – Diclorometano

DEPT – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*

DMSO - Dimetilsulfóxido

DOX - Doxorrubicina

DPPH[•] - 2,2-difenil-1-picrilidrazil

ee - Excesso enantiomérico

F – Forte

f – Fraca

HT-29 – Células de cólon humano

INCA - Instituto Nacional do Câncer

ITC . Concentração necessária para inibir 100% de crescimento

IV – Radiação na região do infravermelho

J – Constante de acoplamento

K562 – Células de leucemia humana

L – Larga

m – Médio

m – Multiplete

m/z – Relação massa/carga

MCF-7 - Células de tumor de mama

MM – Massa molar

MS/MS – Análise sequencial de espectrometria de massas

NCI-ADR/RES - Ovário resistente a múltiplos fármacos

NCI-H460 - Células não-pequenas de pulmão

RPMI 1640 - Meio de Cultura de Tecido Animal Desidratado

NO – Não obtido

OVCAR-3 - Células de câncer de ovário humano

P. A. – "Pro analyse", significa que este reagente tem o grau de pureza exigido para não interferir nas análises nas quais será usado

PC-3 - células de câncer de próstata humana

Rend. – Rendimento

RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de carbono - 13

RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

s – Simpleto

sl - Simpleto largo

t – Tripleto

T. a. – Temperatura ambiente

TF - Temperatura de fusão

THF – Tetraidrofurano

TMS – Tetrametilsilano

U251 - Células de glioma humano

UACC-62 – Células de melanoma humano

γ - Deformação angular fora do plano

δ – Deslocamento químico em ppm ou deformação angular no plano

ν – Estiramento

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados trinta e oito compostos a partir da condensação de hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*), dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) com aminofenóis (*orto*, *meta* e *para*) e com os ácidos aminobenzóicos (*orto*, *meta* e *para*). Todos foram obtidos com rendimentos entre 53% a 99%. Algumas dessas condensações resultaram em produtos de ciclização, sendo dois derivados de benzoimidazol e cinco derivados de iminoisindolinas. A partir das dezessete *bis*-iminas acíclicas, que não sofreram ciclização, onze foram transformadas nos respectivos análogos hidrogenados, mediante redução com boroidreto de sódio e cloreto de cério. Duas *bis*-iminas acíclicas foram transformadas em complexos de paládio e uma *bis*-amina foi complexada à com platina. Dentre todos os compostos sintetizados, quinze foram inéditos.

Dezessete compostos foram avaliados *in vitro* contra nove linhagens de células tumorais humanas: ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos); U251 (glioma, SNC); MCF-7 (mama); NCI-H460 (pulmão); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K562 (leucemia); UACC-62 (melanoma), sendo está última a mais susceptível aos compostos testados. Vários compostos apresentaram um amplo espectro de ação, atuando em concentrações entre 1 e 10 µg/mL. Uma das *bis*-iminas acíclicas apresentou um valor de inibição total do crescimento (*ITC*) quatro vezes maior ao apresentado pelo controle positivo (doxorubicina), para a linhagem de célula NCI-ADR/RES (ovário resistente).

Todos os compostos, exceto os complexos metálicos, foram avaliados contra os seguintes fungos patogênicos de interesse clínico: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida krusei* (ATCC 20298), *Candida parapsilosis* (ATCC 20019), *Candida tropicalis* (ATCC 00750), *Candida glabrata* (ATCC 32608), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 32608), *Cryptococcus gattii* (ATCC 28957) e *Candida dubliniensis* (CBS 7987). Vários compostos apresentaram algum tipo de atividade, sendo que a espécie *Cryptococcus neoformans* foi sensível a quatro dos compostos testados, apresentando valores de inibição próximos ao controle positivo (fluconazol).

A atividade sequestradora de radicais livres foi avaliada para 35 compostos, utilizando os métodos de DPPH e ânion superóxido. Esses ensaios revelaram para vários compostos, atividades antioxidantes muito superiores ao controle positivo (resveratrol), sendo as *bis*-aminas mais eficientes do que as *bis*-iminas.

Palavras chaves: *Bis*-iminas, *Bis*-aminas, Antitumoral, Antifúngica, Antioxidante.

ABSTRACT

TITLE: *Bis-imines synthesis and bis-amines functionalized and their evaluation activities against cancer cells, fungi and how antioxidants*

In this work, thirty eight compounds were synthesized from condensation between hydroxybenzaldehydes (*ortho*, *meta*, and *para*) with phenylenediamines (*ortho*, *meta*, and *para*), of aromatic dialdehydes (*ortho*, *meta*, and *para*) with aminophenols (*ortho*, *meta*, and *para*) and benzoic aminoacids (*ortho*, *meta*, and *para*). All the compounds were obtained with yields 53% to 99%. Some of these reactions afforded cyclic compounds, such as benzoimidazole (two compounds) and imineisindoline (five compounds). Seventeen acyclic *bis-imines* were reduced to *bis-amines* using sodium borohydride and cerium chloride. Two palladium complexes were prepared with *bis-imines* and one *bis-amine* was converted in to the respective platinum complex. Fifteen new compounds were synthesized in this work.

Seventeen synthesized compounds were assayed *in vitro* against nine humans tumor cell lines: NCI-ADR/RES (ovarian cancer resistant to multiple drugs); NCI-H460 (Lung); PC-3 (prostate); OVCAR-3 (ovary); U251 (gliome, SNC); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (breast); HT-29 (colon); K562 (leukemia). The cell line UACC-62 (melanoma) was the most susceptible for the evaluated compounds. Several compounds showed a broad spectrum of action in concentrations from 1 to 10 µg/mL. One acyclic *bis-imine* presented a total inhibition of growth (TIG) four times higher than the positive control (doxorubicin), against the cell line NCI-ADR/RES (resistant ovary).

All the compounds, except for the metallic complexes, were evaluated against the following pathogenic fungi of clinical interest: *Candida albicans* – ATCC 18804, *Candida krusei* – ATCC 20298, *Candida parapsilosis* – ATCC 20019, *Candida tropicalis* – ATCC 00750, *Candida glabrata* – ATCC 32608, *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608, *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957, and *Candida dubliniensis* – CBS 7987. Several compounds have displayed some kind of activit *Cryptococcus neoformans* being the most susceptible to the four assayed compounds, showing inhibition levels near thoses achieved with the positive control (fluconazole).

The free radical scavenging activity was evaluated for thirty five compounds using DPPH and superoxide anion radical methods. In both procedures the most of the compounds showed better anti-oxidant activities than that achieved with the positive control (resveratrol). In general, the *bis-amines* were more efficient than *bis-imines*.

keywords: *Bis-imines*, *Bis-amine*, Antitumor, Antifungal, Antioxidant.

PARTE I - INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

1.1 - Histórico

As iminas constituem uma classe de compostos orgânicos que apresentam, em sua estrutura geral, uma ligação dupla entre carbono e nitrogênio. São obtidas a partir da condensação de uma amina primária com aldeído ou cetona (Esquema 1) (CAREY e SUNDBERG, 2007). O grupo R da imina pode ser um hidrogênio, um grupo alquila ou arila, neste último caso constituindo uma base de Schiff. Esse nome foi dado em homenagem a Hugo Schiff, que descobriu a condensação de aminas aromáticas com aldeídos em 1864 (SCHIFF, 1864). Os produtos da reação foram investigados e passaram a ser chamados de bases de Schiff.



Esquema 1. Síntese geral de uma imina.

Esses compostos apresentam a estrutura trigonal plana (Figura 1), podendo apresentar isomeria E/Z de forma análoga à ligação dupla dos alcenos. A estabilidade relativa desses estereoisômeros também está relacionada a questões estéricas e eletrônicas. A configuração *E* é a mais estável, devido a menor repulsão estérica entre os substituintes, o que dá maior estabilidade à estrutura (PLIEGO *et al.*, 1999; CLAYDEN, 2000).

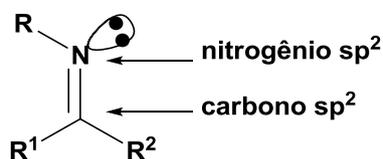


Figura 1. Estrutura de uma imina.

A estrutura de uma imina lembra em muito a estrutura de uma carbonila, apresentando uma reatividade muito semelhante (CLAYDEN *et al.*, 2000). A maior eletronegatividade do átomo de nitrogênio em relação ao carbono (C=N) confere à

ligação C-N um caráter polar, onde o átomo de carbono se encontra parcialmente deficiente de elétrons e o átomo de nitrogênio com carga parcial negativa. Portanto, o carbono das iminas comporta-se como eletrófilo e reage com espécies ricas em elétrons (COSTA *et al.*, 2003).

Os compostos com dois grupamentos imino são chamados de *bis*-iminas e merecem muito destaque no âmbito da química biológica e sintética. Na Figura 2 observa-se que os grupos iminos podem ser conectados por um espaçador e, dependendo dos reagentes utilizados na síntese, esse espaçador pode variar, gerando uma infinidade de compostos, justificando sua grande utilização em diferentes áreas.

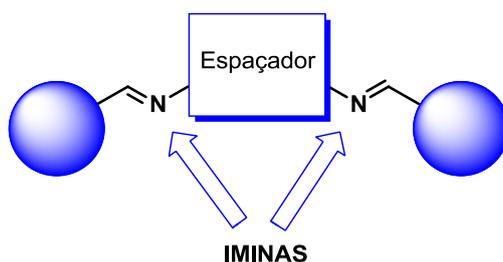


Figura 2. Estrutura geral de *bis*-iminas.

Na Figura 3 são representados alguns exemplos de iminas e *bis*-iminas sintetizadas por Liu, mostrando a grande diversidade de compostos que podem ser sintetizados de maneira bem simples e rápida. A diversidade pode aumentar ainda mais, quando há a formação de *bis*-iminas, pois diversos grupos podem ser acoplados a essa estrutura básica, a fim de se obterem variados compostos com potencial atividade biológica (LIU *et al.*, 2002).

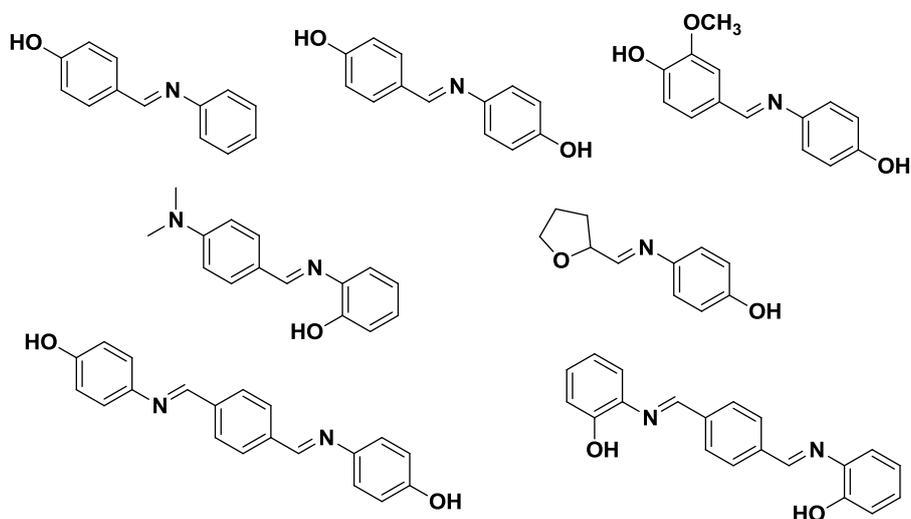
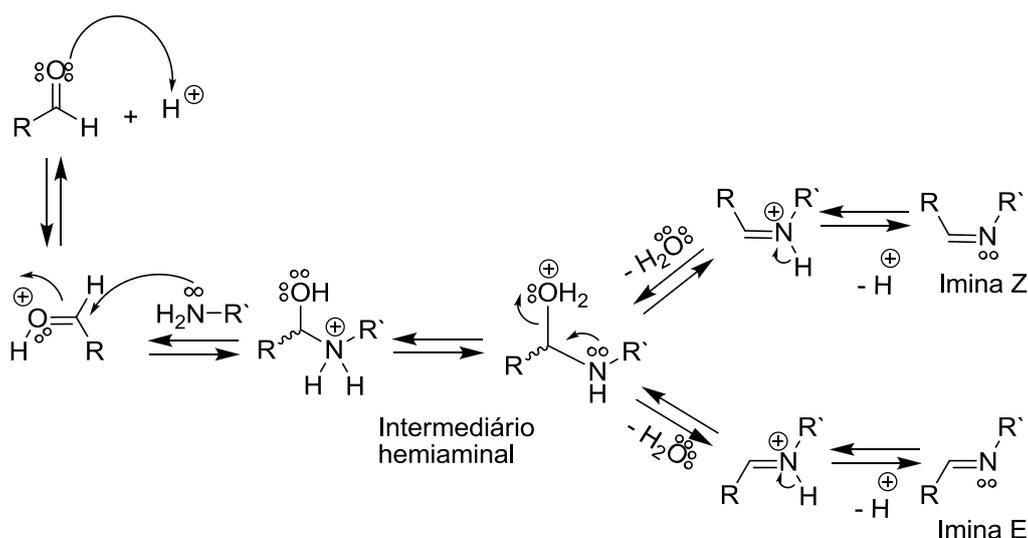


Figura 3. Estrutura química de algumas iminas (LIU *et al.*, 2002).

1.1.1 – MECANISMO DE FORMAÇÃO DE IMINAS

De maneira geral, o mecanismo de formação de uma imina começa com a adição nucleofílica da amina ao carbono do aldeído ou cetona, formando um hemiaminal como intermediário que, posteriormente, sofre eliminação de a molécula de água (Esquema 2). Como essa sequência reacional ocorre em regime de equilíbrio, a remoção de água é importante para que a imina seja formada com bom rendimento. Normalmente, essas reações ocorrem idealmente com o pH entre 4 e 6, pois com o pH <4 há protonação da amina impossibilitando a reação ou tornando-a muito lenta. Com o pH acima de 6, a concentração de prótons é muito baixa para ativar a carbonila e permitir a protonação da hidroxila na etapa de desidratação. As iminas são geralmente lábeis e sofrem facilmente hidrólise para seus reagentes iniciais. A velocidade de hidrólise das iminas depende do pH da solução, da basicidade da amina, da reatividade do aldeído e, principalmente, da

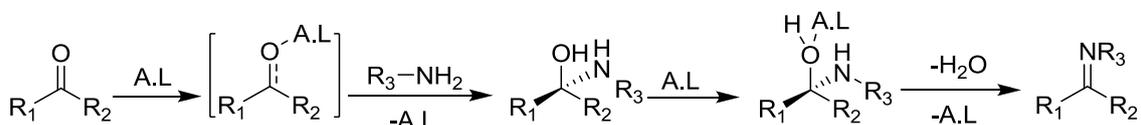


concentração de água (CAREY e SUNDBERG, 2007).

Esquema 2. Mecanismo proposto para a formação de imina catalisada por ácido.

As iminas podem ser sintetizadas também em meio neutro e em solventes apolares, desde que se utilize um sistema para remover a água formada durante a reação (TAGUCHI e WESTHEIMER, 1971). Com a retirada da água formada no sistema reacional, o equilíbrio se deslocará de forma a obter a imina de interesse (Esquema 2) (TAGUCHI e WESTHEIMER, 1971). Dentre as estratégias para a retirada de água da reação, encontra-se o uso de um sistema Dean-Stark (DEAN e STARK, 1920) ou de

agentes secantes como sulfato de sódio anidro e peneira molecular (FUNISS *et al.*, 1989; CAREY e SUNDBERG, 2007). Love e Look desenvolveram uma metodologia com intuito de remover a água formada no sistema utilizando solventes desidratantes, tais como *ortosilicato* de tetrametila ou *ortoformato* de (LOVE e REN, 1993; LOOK *et al.*, 1995). A reação pode ser catalisada por ácidos de Brønsted-Lowry e também por ácidos de Lewis (A.L) como ZnCl₂ (BILLMAN e TAI, 1958), TiCl₄ (WHITE e WEINGARTEN, 1967; WEINGARTEN *et al.*, 1967; MORETTI e TORRE, 1970; JENNIGS e LOVELY, 1988), MgSO₄-PPTS (BRANCHAUD 1983) e K-10 sob irradiação de microondas (VAAS *et al.*, 1999; VARMA *et al.*, 1997), Ti(OR)₄ (ARMSTRONG *et al.*, 1997) e CuSO₄ (LIU *et al.*, 1999). Nesses casos, a carbonila é ativada pelo ácido de Lewis e depois sofre o ataque da amina (Esquema 3).



Esquema 3. Mecanismo proposto para a formação de iminas catalisada por ácidos de Lewis (A.L) (ASIT *et al.*, 2004).

1.2 - APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

1.2.1-Fungos

Os compostos contendo grupo imino em sua estrutura têm chamado bastante atenção, uma vez que apresentam uma grande variedade de atividades biológicas, incluindo a atividade antifúngica (DA SILVA *et al.*, 2010).

Os fungos são abundantes em todo mundo e desempenham um papel essencial na decomposição da matéria orgânica, podendo ser utilizados ainda na alimentação humana, sendo consumidos diretamente como os cogumelos e trufas ou utilizados na produção de outros alimentos e bebidas, como pão, vinho e cerveja. (BONONI, 1998). Apesar da importância na alimentação humana, alguns podem ser patogênicos para plantas e animais, incluindo o homem.

Existem muitos casos de infecções causadas por fungos. Esses casos têm aumentado a cada dia, contribuindo para a morbidade e mortalidade de humanos. Pacientes portadores de leucemia, linfoma, *diabetes mellitus*, síndrome da imunodeficiência adquirida (do inglês AIDS) e pacientes transplantados apresentam

maior propensão de adquirirem infecções fúngicas (LIMA *et al.*, 2006). Dentre esses fungos patogênicos, destaca-se o gênero *Candida*, sendo mais de 17 espécies de identificadas como agentes etiológicos de infecções da corrente sanguínea (ICSs). Dentre as espécies de *Candida* ICSs, quatro espécies, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são causadoras de aproximadamente 95% das infecções (PFALLER e DIEKEMA, 2004).

Atualmente existem muitos fármacos para combater infecções fúngicas, dentre os quais se destacam os compostos com anéis azólicos (Figura 6, p.7). Compostos dessa classe apresentam uma considerável atividade contra as infecções fúngicas, porém a necessidade do uso contínuo tem causado o aumento da resistência dos patógenos frente a estes fármacos (ROGERS, 2006). Outros compostos muito usados no tratamento de doenças fúngicas são: terbinafina, flucitosina, fluconazol, caspofungina, anfotericina B e griseofulvina (Figura 4) (ANDERSON, 2005).

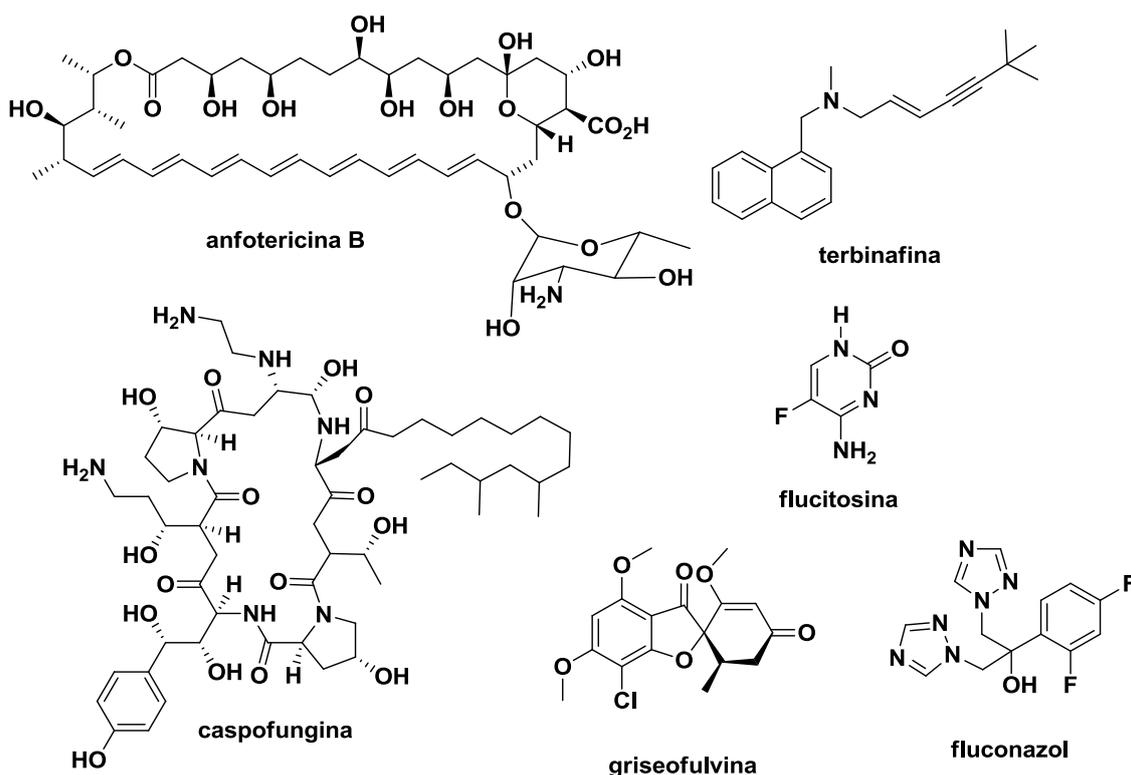


Figura 4. Estrutura química de alguns compostos utilizados no tratamento de doenças causadas por fungos.

Diante do limitado número de fármacos eficientes contra fungos resistentes, é evidente a necessidade da descoberta de novos compostos antifúngicos mais eficazes e, neste contexto, as iminas são importantes. Na literatura existem relatos de atividade

biológica de várias substâncias dessa classe contra fungos de interesse clínico como as apresentadas na Figura 5, (p.7) (ASHRAF *et al.*, 2011).

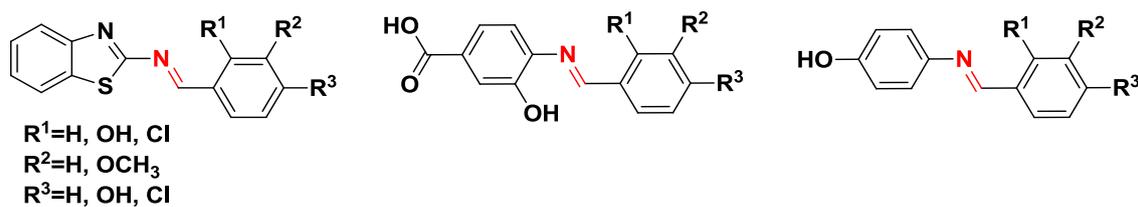


Figura 5. Estruturas químicas de algumas iminas com atividade antifúngica (ASHRAF *et al.*, 2011).

As iminas contendo o grupo 2,4-dicloro-5-fluorofenil (Figura 6) inibem o crescimento de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* (causam hipersensibilidade, doenças pulmonares e cerebrais), *Trichophyton mentagrophytes* (é causador da doença comumente chamada de pé de atleta) e *Penicillium marneffeii* (causa infecção na pele e trato respiratório do homem), apresentando valores de concentração inibitória mínima (CIM) entre 6,3 e 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para esses fungos (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

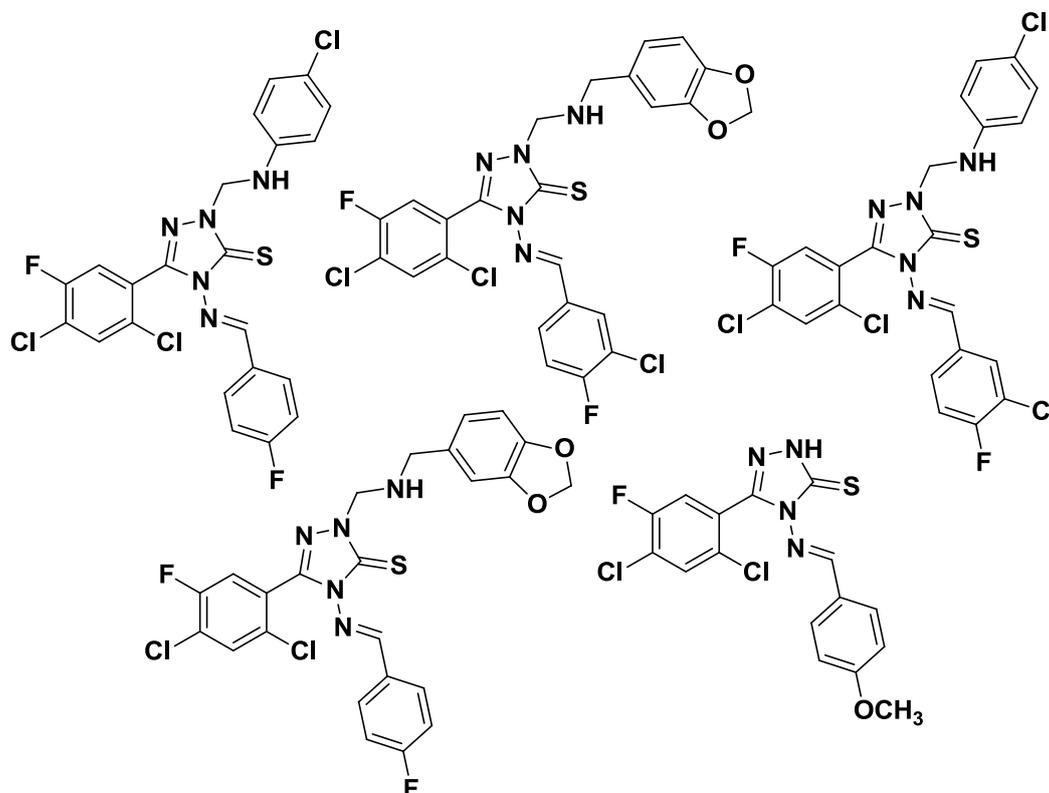


Figura 6. Estrutura de alguns compostos derivados do 2,4-dicloro-5-fluorofenil (KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

Iminas contendo o grupo piperonil (Figura 7) apresentam também atividade antifúngica, inibindo o crescimento de *Trichophyton rubrum* (CIM = 820 a 980 µM) e *Epidermophyton floccosum* (CIM = 200 a 930 µM) (DA SILVA *et al.*, 2011).

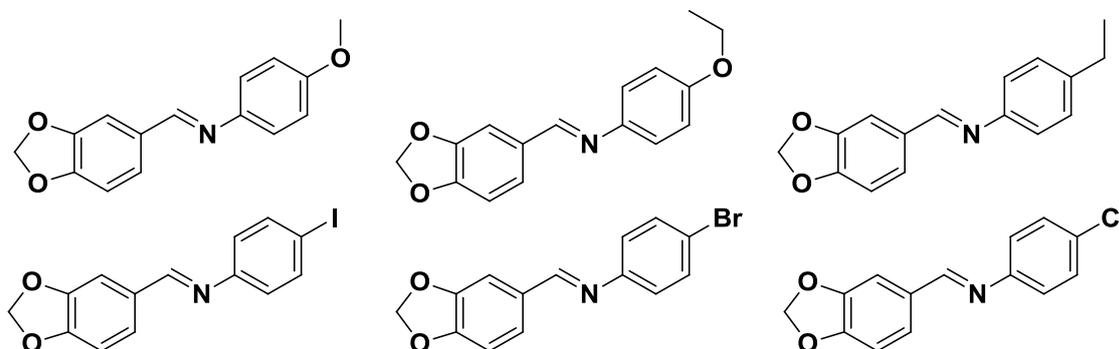


Figura 7. Estrutura de compostos derivados do piperonil com atividade antifúngica (DA SILVA *et al.*, 2011).

Portanto, as iminas constituem uma importante classe de substâncias com perfis funcionais biológicos, incluindo a atividade contra fungos patogênicos.

1.2.2 – Antioxidante

Antioxidantes são substâncias de grande interesse biológico por retardarem a oxidação de macromoléculas por espécies reativas de oxigênio (ERO) ou nitrogênio (ERN) (PIETTA, 2000; KRINSKY, 1994). Essas espécies são constantemente produzidas em organismos vivos através da cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria (FERNANDEZ-PANCHON *et al.*, 2008). Alguns exemplos de EROs são o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o oxigênio singlete (¹O₂^{*}), os radicais hidroxila (•OH), peroxila (ROO•) e alcoxila (RO•) e o ânion superóxido (•O₂⁻). Como exemplos de ERNs têm-se os radicais óxido nítrico (NO•), dióxido de nitrogênio (•NO₂) e o peroxinitrito (ONOO•) (RAJKAPOOR *et al.*, 2010).

A produção de radicais livres é controlada por enzimas do sistema antioxidante (ex.: superóxido dismutase e catalase) e, também, por substâncias provenientes de compostos sintéticos como 2-*terc*-butil-4-metoxifenol (BHA) e 2,6-di-*terc*-butil-4-metoxifenol (BHT) e naturais, provenientes da dieta alimentar, como o ácido ascórbico e o resveratrol (Figura 8, p.9) (EVANS *et al.*, 1996).

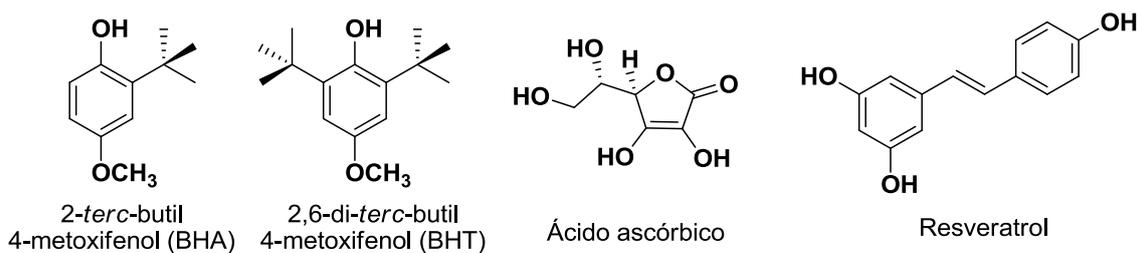
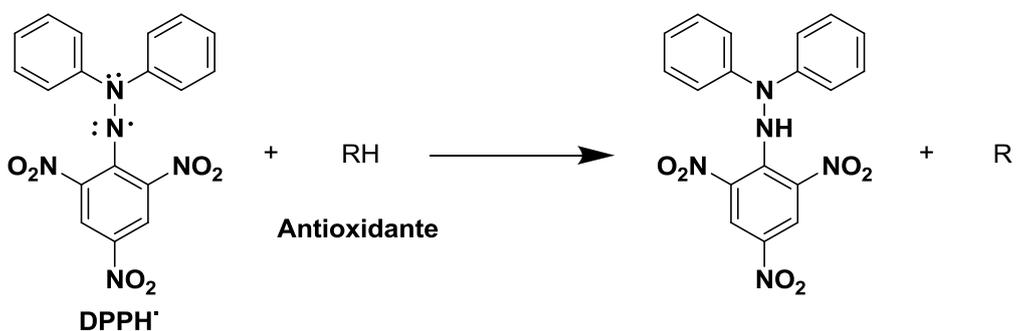


Figura 8. Alguns compostos com atividade antioxidante.

Dentre os compostos que apresentam atividade antioxidante percebe-se a ocorrência, em grande maioria, de hidroxilas fenólicas, que desempenham um papel importante no sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os radicais formados são relativamente estáveis, pela possibilidade de ocorrer ressonância no anel fenólico (HASLAM, 1996; SOARES, 2002; CHUN *et al.*, 2005)

Um dos métodos utilizados para determinação da capacidade antioxidante é o uso do radical DPPH[•] que, na presença de um antioxidante sofre redução, Esquema 4, mudando de cor e permitindo a determinação do grau de sequestro de radical, mediante leitura espectrofotométrica.



Esquema 4. Reação do radical DPPH[•] com um antioxidante.

Compostos pouco estudados e que podem apresentar bons resultados como antioxidantes são as iminas fenólicas. De fato, existem relatos na literatura do uso dessas iminas como possíveis antioxidantes. Zhao e Liu utilizaram alguns derivados de iminas e *bis*-iminas fenólicas para avaliar o dano oxidativo no DNA (ZHAO e LIU, 2009; CHENG *et al.*, 2010). Šeršeň realizou experimentos com 4,4'-*bis*(diidroxibenzililidenamino) difenilmetano e difeniléter (Figura 9, p.10), que são *bis*-iminas aromáticas, avaliando a influência na atividade antioxidante das hidroxilas ligadas em diferentes posições do anel aromático (ŠERŠEŇ *et al.*, 2009).

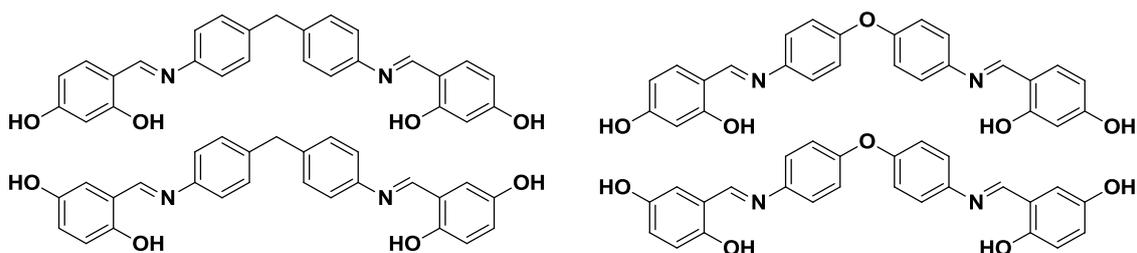


Figura 9. Estrutura química dos compostos avaliados como antioxidantes por ŠERŠEŇ e colaboradores 2009.

Em resumo, é importante a busca por novas substâncias que apresentem propriedades antioxidantes para utilização em alimentos e para fins de aumento da qualidade de vida de indivíduos (ŠERŠEŇ *et al.*, 2009). Dentre os compostos que podem apresentar resultados promissores, destacam-se os compostos com o grupamento imino, pois podem formar espécies radiculares estáveis, tornando-se excelentes antioxidantes.

1.2.3 – Câncer

Câncer ou tumor maligno é uma doença causada pelo processo de multiplicação rápido e descontrolado de células defeituosas, como consequência de falhas no mecanismo de reparação celular (BARAR, 2003). Essas falhas podem acontecer devido a predisposição genética, ação de micro-organismos (vírus ou bactéria) ou por fatores externos, tais como exposição prolongada à radiação ionizante ou substâncias químicas específicas. Esse processo de replicação de células anormais sem função biológica invade tecidos e órgãos saudáveis vizinhos, resultando em dor, falência do órgão ou tecido, seguidas por disseminação em outras partes do organismo, através do sistema circulatório (processo de metástase), levando ao colapso e à morte. Existem mais de 100 tipos de câncer clinicamente distintos, fora os inúmeros subtipos, e a maioria é nomeada de acordo com o órgão atingido ou tipo de célula onde se inicia, sendo agrupados também em categorias de acordo com o tipo de célula que os compõem. Dentro dessa última divisão há os carcinomas, sarcomas, linfomas e leucemias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

De acordo com a organização mundial de saúde, em 2005, de um total de 58 milhões de mortes ocorridas no mundo, o câncer foi responsável por 7,6 milhões, representando 13% de todas as mortes. Os principais tipos de câncer com maior

mortalidade foram: pulmão (1,3 milhão), estômago (cerca de um milhão), fígado (662 mil), cólon (655 mil) e mama (502 mil). Do total de óbitos por câncer ocorridos em 2005, mais de 70% ocorreram em países de média ou baixa renda (WORD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

De acordo com a organização mundial de saúde, estima-se ainda que, em 2020, o número de novos casos anuais seja da ordem de 15 milhões. Cerca de 60% destes novos casos ocorrerão em países em desenvolvimento. É conhecido também que pelo menos um terço dos novos casos de câncer que ocorrem anualmente no mundo poderia ser diagnosticado precocemente se houvesse um processo de conscientização a respeito da importância de exames preventivos.

1.2.3.1 - Terapia Anti-Câncer

O controle e tratamento dessa doença é uma tarefa difícil, principalmente pela grande diversidade de tipos e subtipos de câncer com características distintas, exigindo soluções individualizadas para cada tipo.

Atualmente existe um grande número de compostos utilizados em tratamento clínico para pacientes com câncer. A grande maioria é ativa contra um número limitado de tumores e vários desses tumores são resistentes frente a tais medicamentos. Esse quadro mostra a importância e a necessidade do desenvolvimento de novos compostos com atividade contra células de câncer (ALMEIDA, *et al.*, 2005).

Existem três tipos principais de tratamento para o câncer, normalmente utilizados em conjunto: cirurgia, radioterapia e quimioterapia (FOYE *et al.*, 1996). A quimioterapia aplicada ao tratamento do câncer é chamada de antineoplásica ou antitumoral. Os primeiros compostos utilizados com essa finalidade foram os agentes alquilantes antineoplásicos (RAJSKI e WILLIAMS, 1998; HOPKINS *et al.*, 1991). Em 1942, utilizou-se o gás mostarda, mecloretamina, com ótimos resultados de redução tumoral transitória em um paciente portador de linfoma. Este fato marcou o início da era moderna de quimioterapia do câncer. Os agentes alquilantes estão entre os antineoplásicos mais estudados (GILMAN e PHILLIPS, 1946; HOPKINS *et al.*, 1991) e usados na atualidade. Eles são capazes de formar ligações interfilamentares com o DNA (GILMAN e PHILLIPS, 1946). Dentre os compostos desta classe podem se destacar o clorambucil (Leukeran®), ciclofosfamida (Cytosan®), mecloretamina

(Mustargen®) e o melfalan (Alkeran®) (SALMON e KATZUNG, 1998; CHABNER e GILMAN,1995) (Figura 10).

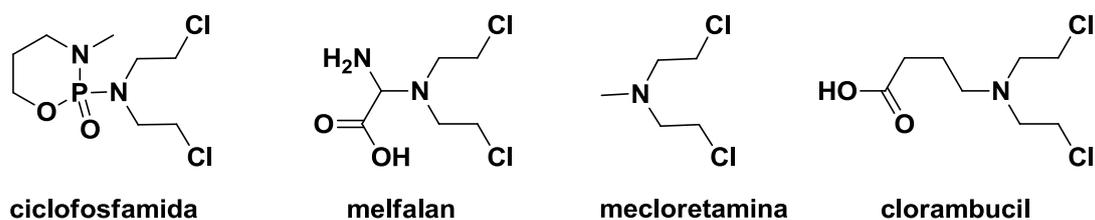


Figura 10. Estruturas químicas das mostardas nitrogenadas usadas no tratamento do câncer (quimioterápicos) (SALMON e KATZUNG, 1998; CHABNER e GILMAN, 1995).

Os produtos naturais são as principais fontes de agentes antineoplásicos importantes e eficientes usados clinicamente. Dentre alguns exemplos podem ser citados os alcalóides vegetais vimblastina, vincristina e taxol, este último conhecido comercialmente como Paclitaxel® (OLIVEIRA e ALVES, 2002); podofilotoxinas (ou epipodofilotoxinas), como a etoposida (VP-16) e a teniposida (VM-26), que é um derivado semissintético da etoposida (SALMON e KATZUNG, 1998; CHABNER e GILMAN, 1995), Figura 11.

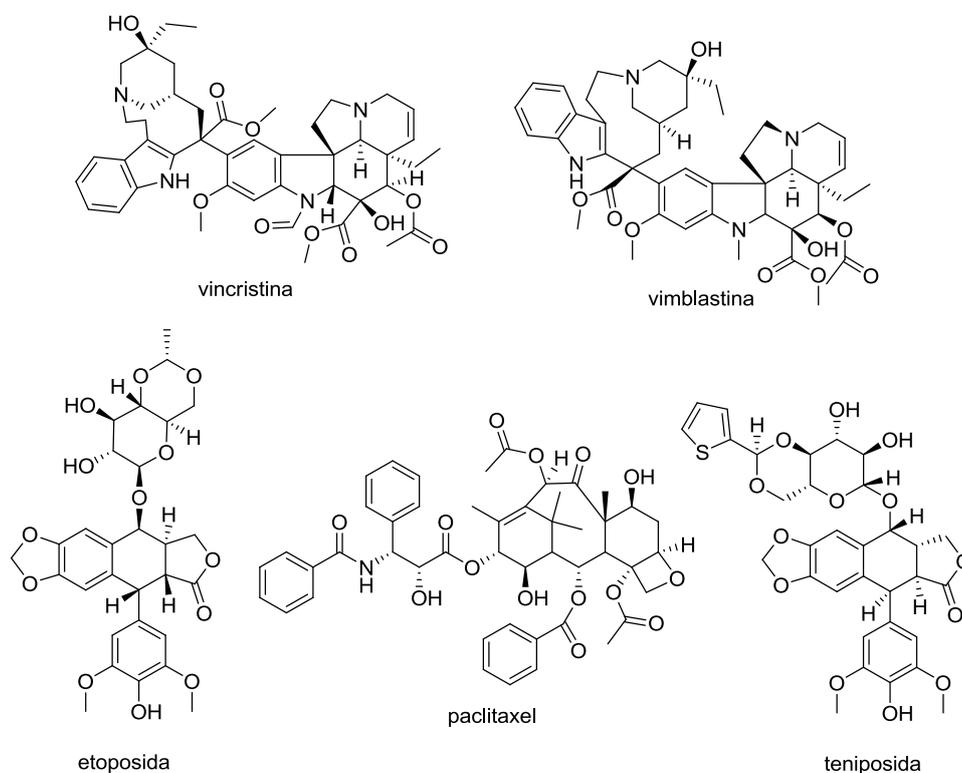


Figura 11. Estrutura química de quimioterápicos de fontes naturais.

Outra classe de compostos utilizada amplamente na quimioterapia é dos complexos metálicos de platina. O desenvolvimento desses compostos começou de forma casual, através da descoberta em 1960 que alguns complexos de platina inibiram a divisão celular de bactérias (ROSENBERG *et al.*, 1965). Experimentos posteriores revelaram que eles também inibiram a proliferação de células tumorais (ROSENBERG *et al.*, 1969; ROSENBERG e CAMP, 1970). Dentre esses compostos cabe ressaltar a cisplatina, a carboplatina e a oxaliplatina (Figura 12), todos amplamente utilizados em tratamentos clínicos, sendo os dois últimos mais seletivos e considerados de última geração (GELASCO e LIPPARD, 1998).

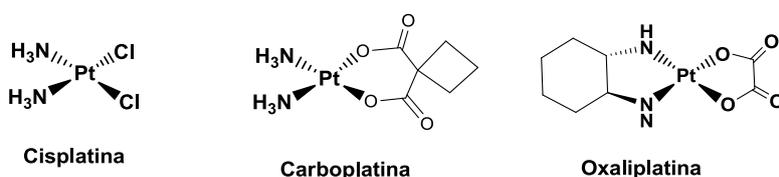


Figura 12. Complexos de platina utilizados como quimioterápicos.

Os quimioterápicos de platina são administrados intravenosamente e se difundem pelas células tumorais, onde sofrem hidrólise mediante perda do cloreto ou grupo carboxila, resultando no cátion platina. Essa espécie carregada positivamente coordena com os átomos de nitrogênio de algumas bases do DNA (adenina e guanina), formando complexos que distorcem a hélice do DNA e impedem sua duplicação (LOKICH e ANDERSON, 1998). A inabilidade da célula em reparar esse DNA “danificado” dispara o processo de apoptose, resultando na morte celular.

Existem muitos compostos utilizados no tratamento quimioterápico. No entanto, a maioria desses agentes atua de forma não específica, matando tanto células malignas quanto células normais (SALMON e KATZUNG, 1998; MURAD e KATZ, 1996). Portanto, há uma necessidade contínua em desenvolver novos compostos que sejam mais seletivos e menos tóxicos.

Existem estudos de atividade antitumoral utilizando iminas, que, na maioria das vezes, atuam como ligantes para metais. Um exemplo foi descrito por Ansari, que utilizou iminas para sintetizar vários complexos com manganês (Figura 13, p.14) e, então, avaliou a sua atividade antitumoral (ANSARI *et al.*, 2009).

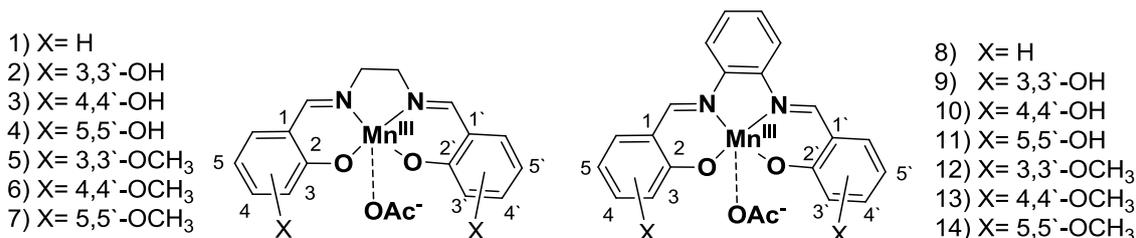
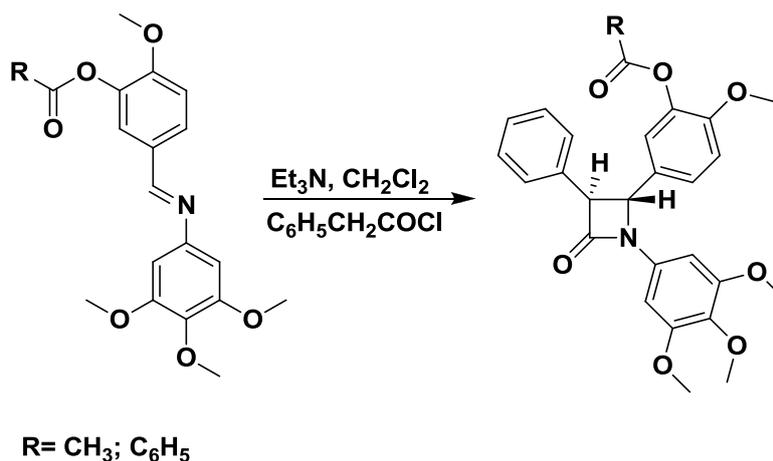


Figura 13. Complexos de manganês utilizados para induzir apoptose em células humanas (ANSARI *et al.*, 2009).

Esses complexos foram seletivos para induzir apoptose em células cancerosas de mama (MCF-7), apresentando valores de CI_{50} entre 11 a 40 μ M. Os resultados mostraram que os complexos são seletivos e comparáveis à cisplatina ($CI_{50}=18 \mu$ M), podendo então ser utilizados como novos agentes antitumorais (ANSARI *et al.*, 2009).

1.3 – Aplicações em síntese orgânica

As iminas compreendem uma das mais versáteis classes de substâncias orgânicas, podendo atuar como substratos em reduções, adições, condensações e ciclo adições, sendo também muito empregadas como intermediárias na síntese de compostos biologicamente ativos. As β -lactamas, por exemplo, que apresentam uma reconhecida atividade biológica (NIAMH *et al.*, 2013), podem ser obtidas a partir de iminas funcionalizadas, Esquema 5.



Esquema 5. Síntese de β -lactamas a partir de iminas (NIAMH *et al.*, 2013).

Na química de coordenação, as *bis*-iminas, em especial as bases de Schiff, destacam-se pela facilidade em complexar com vários metais. Esses compostos funcionalizados quando ligados a metais podem atuar como ligantes bi, tri e

tetradentados (KINGSHOTT *et al.*, 2002). Esses complexos metálicos são utilizados como catalisadores em diversas reações orgânicas, atuando na oxidação de compostos orgânicos (LOPEZ *et al.*, 2000 e GAMA *et al.*, 2002), hidroxilação (LIGTENBARG *et al.*, 1998), condensação aldólica (CHAPUIS e JACOBY, 2001; LIU *et al.*, 2002; HAYASHI, 1995), epoxidação (VOS *et al.*, 1995; STAR *et al.*, 2001; MORRIS *et al.*, 2001), reações de Diels–Alder (MAGESH *et al.*, 2004; KANO *et al.*, 2003), ciclopropanação (FONSECA *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2003), catalisar acoplamentos de Suzuki (HE *et al.*, 2011), dentre outras reações.

Enfim, essas e muitas outras aplicações do uso de iminas ou de complexos a base de iminas em atividades biológicas ou como catalisadores em reações orgânicas coloca essa classe em destaque no âmbito da química orgânica biológica e/ou sintética.

**PARTE II – SÍNTESE DE IMINAS, AMINAS E
COMPLEXOS DE PALÁDIO E DE PLATINA**

2. OBJETIVOS

- ❖ Sintetizar *bis*-iminas aromáticas funcionalizadas.
- ❖ Sintetizar *bis*-aminas a partir das *bis*-iminas correspondentes.
- ❖ Sintetizar complexos de platina e de paládio com as *bis*-iminas.

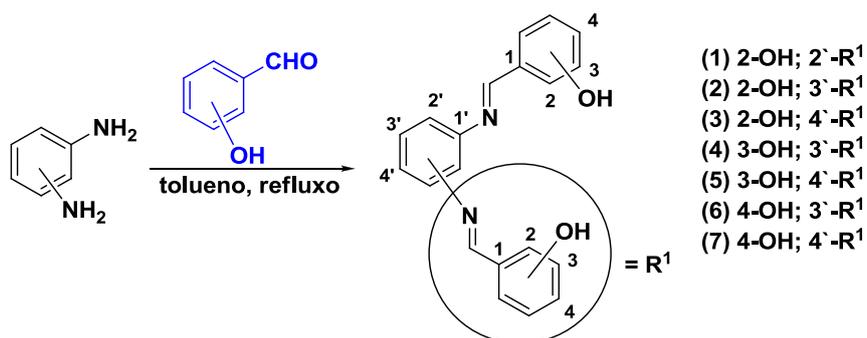
2.1. RESULTADOS

2.1.1. Obtenção e caracterização de *bis*-iminas aromáticas funcionalizadas

2.1.1.1. Primeira série de *Bis*-iminas

As metodologias para obtenção de iminas são amplamente exploradas nos mais diversos campos da Química. Por ser uma síntese relativamente simples, vários métodos têm sido descritos, e em geral, conduzem a produtos com bons rendimentos.

Neste trabalho, para a obtenção das *bis*-iminas aromáticas foi utilizado o método desenvolvido por Baker e Shulgin para a preparação de monoiminas (BAKER e SHULGIN, 1959). Assim, esse primeiro grupo de substâncias foi preparado pela condensação entre hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*), na presença de tolueno e sob refluxo, resultando nas *bis*-hidroxiiminas (Esquema 6).



Esquema 6. Esquema geral do primeiro grupo de *bis*-iminas hidroxiladas.

Devido à grande similaridade estrutural entre os compostos **1** a **7** sintetizados, serão discutidos nesse trabalho os dados espectroscópicos obtidos para uma *bis*-imina representativa deste grupo, a título de exemplificação. Os demais compostos foram caracterizados de maneira análoga. Os dados espectroscópicos para as demais *bis*-iminas são apresentados na parte experimental. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C encontram-se no Anexo (p.I).

Para exemplificar a caracterização, foi selecionado o composto *N,N'*-*bis*-(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**) (Figura 16, p.19), conhecido também como salofen. Para a síntese desse composto foram utilizados o tolueno como solvente e um sistema Dean-Stark (DEAN e STARK, 1920) para a remoção da água formada durante

o processo. Após 3,5 h de reação obteve-se o composto **1** com 92% de rendimento. Essa condição de reação foi adaptada de Baker e Shulgin, que utilizaram vários solventes para obtenção de uma série de monoiminas (BAKER e SHULGIN, 1959).

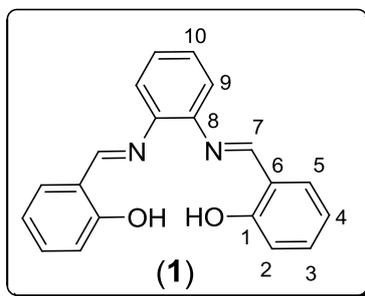


Figura 16. Estrutura do composto **1**.

Portanto, o espectro no infravermelho (Figura 17), mostra uma banda larga e pouco intensa em 3446 cm^{-1} , proveniente do estiramento da ligação O-H do anel aromático. O fato de a banda ser pouco intensa demonstra a ocorrência de possíveis ligações de hidrogênio intramoleculares entre a hidroxila e o nitrogênio da imina (HOSHINO *et al.*, 1988; BAKER e SHULGIN, 1959 e BARBOSA, 2007), representadas na Figura 18, p. 20. Outra banda que contribui para sua caracterização é a banda forte em 1614 cm^{-1} , correspondente ao estiramento de C=N.

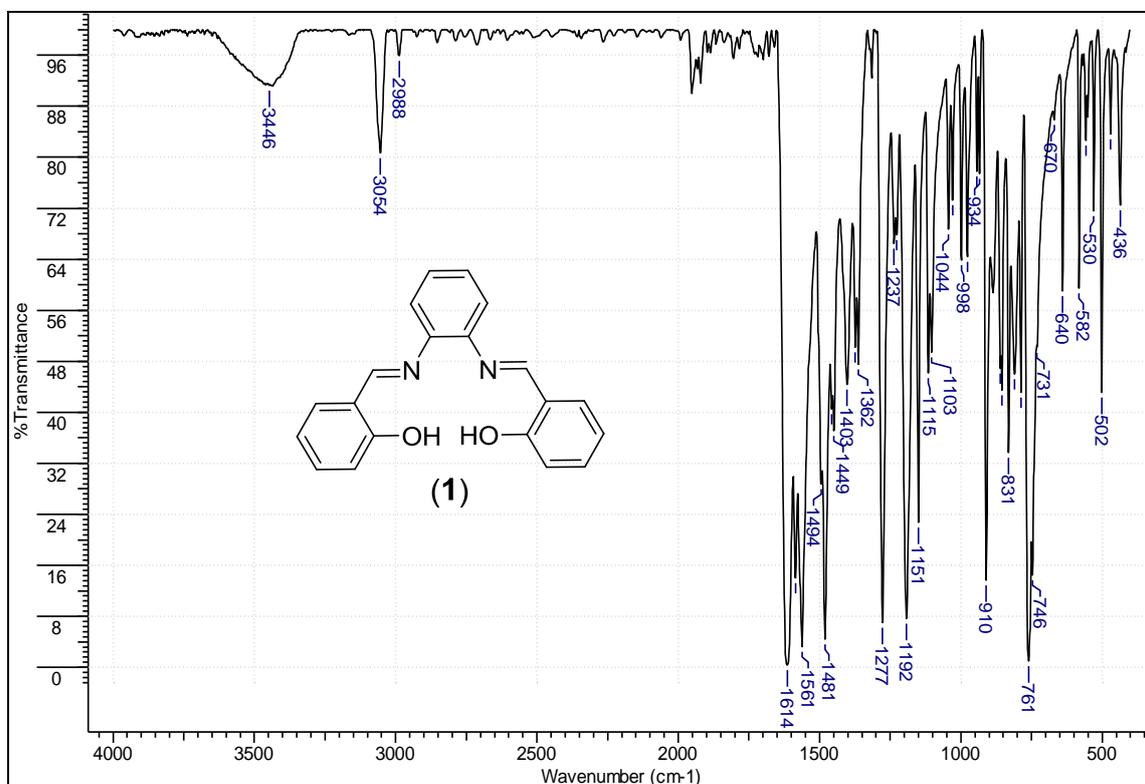


Figura 17. Espectro no infravermelho do composto **1** pastilhado com KBr.

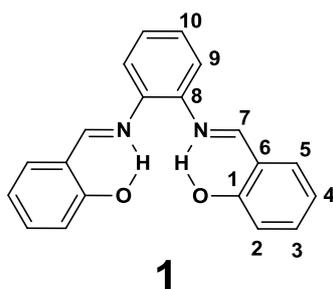


Figura 18. Ligações de hidrogênio intramoleculares entre as hidroxilas e os átomos de nitrogênio dos grupos iminos no composto **1**.

No espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do referido composto (Figura 19, p.21), observa-se a presença de um simpleto em δ 13,00, integrando para dois átomos de hidrogênio, referente aos hidrogênios das hidroxilas. Tal valor pode confirmar que estão em ligação de hidrogênio, uma vez que estão muito desblindado. Em δ 8,92 é observado um simpleto, correspondendo ao hidrogênio do grupamento $\text{HC}=\text{N}$ (H-7). Tal sinal mostrou-se característico para a maioria dos compostos sintetizados, apresentando-se na mesma região de seus espectros de RMN de ^1H . Observa-se também um duplete centrado em δ 7,66, integrando para dois átomos de hidrogênio e com constante de acoplamento escalar igual a 7,20 Hz, que corresponde aos átomos de hidrogênio H-5. Verifica-se ainda um multiplete na região entre δ 7,42 a 7,37, correspondendo a seis hidrogênios (H-3, H-9 e H-10). Finalmente, na região entre δ 7,00 e 6,93, há um sinal devido à sobreposição de um duplete e um triplete, referentes aos átomos de hidrogênio H-2 e H-4, respectivamente. Esses átomos de hidrogênio apresentam-se mais blindados devido ao pronunciado efeito doador de densidade eletrônica por ressonância do grupamento OH para suas posições *orto* e *para*. Experimentos de COSY foram realizados para determinar de forma inequívoca todos os sinais. Todos os dados são compatíveis com a literatura, Tabela 1, p.21 (HILLE *et al.*, 2009).

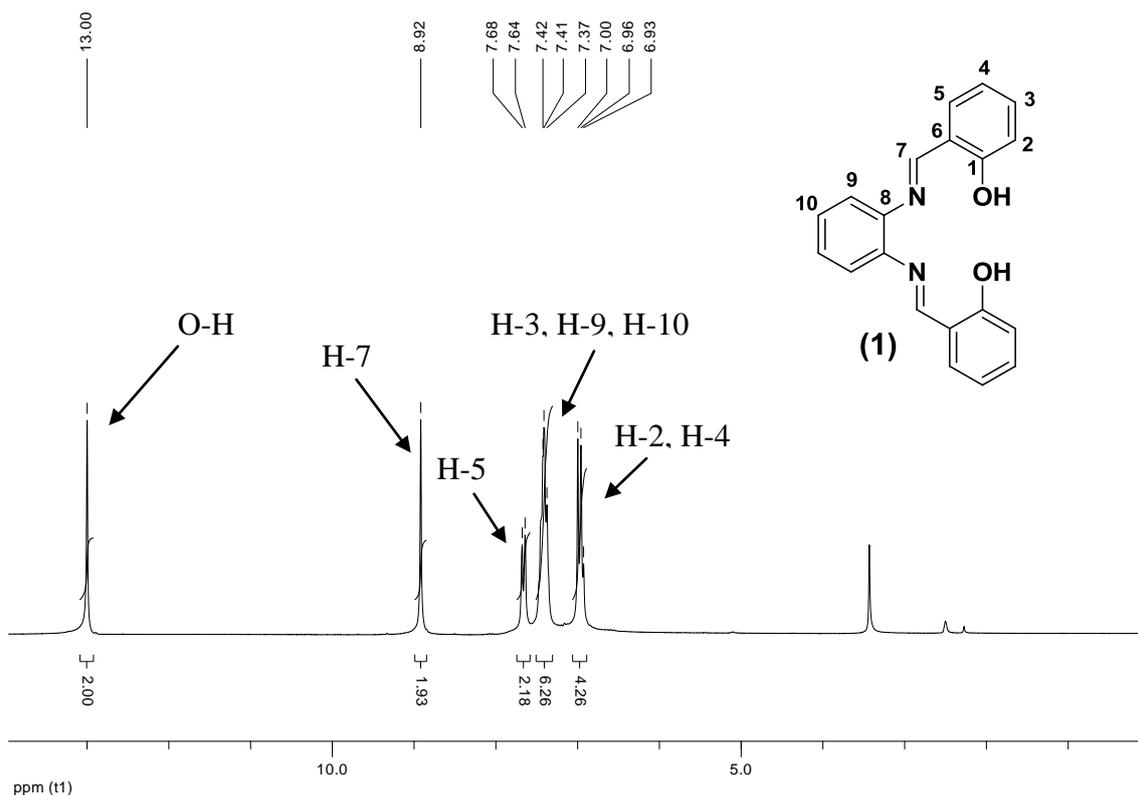


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno) benzeno-1,2-diimina (**1**).

Tabela 01. Comparação dos deslocamentos químicos da *bis*-imina **1** com dados da literatura

Compostos	Deslocamento químico (δ)				
	H-2/H-4	H-3/H-9/H-10	H-5	H-7	OH
<i>Bis</i>-imina (1)	6,93 - 7,00	7,37 - 7,42	7,66	8,92	13,00
<i>Bis</i>-imina (1) (Literatura)	6,96 - 7,00	7,40 - 7,48	7,66 - 7,68	8,94	12,94

O espectro de RMN de ^{13}C a 50 MHz do composto **1** (Figura 20, p.22) apresenta um total de dez sinais referentes aos vinte átomos de carbono da molécula. Tal fato se deve à simetria e, conseqüente, equivalência de diversos átomos de carbono, dos anéis aromáticos. Em δ 116,58 e 118,96, deslocamentos químicos dos núcleos mais blindados do espectro, são observados os sinais referentes a C-2 e C-4 que, assim como os respectivos hidrogênios H-2 e H-4, sofrem também grande influência do grupamento OH. O sinal em δ 119,37 refere-se ao carbono C-6, embora o valor seja bastante próximo ao de C-4, a sua atribuição inequívoca foi realizada a partir do espectro de

DEPT, onde o sinal de C-6 não foi observado. Os dois sinais com deslocamentos químicos em δ 119,60 e 127,68 referem-se a C-9/C-10. Em δ 132,38 e 133,31, são observados os sinais referentes a C-5/C-3, que, por estarem em posição *meta* em relação à hidroxila, se apresentaram como os mais desblindados. O sinal com deslocamento químico em δ 142,14 refere-se ao carbono C-8 do anel central. A confirmação desse sinal foi realizada comparando os espectros de ^{13}C e DEPT, uma vez que esse sinal não aparece no espectro de DEPT. Por fim, os sinais referentes aos carbonos C-1/C-7, aparecem em δ 160,32 e 163,89, e também puderam ser confirmados com o espectro de DEPT (Figura 20a). As demais iminas foram analisadas de forma análoga e se encontram na Tabela 3, p.34, juntamente com seus rendimentos.

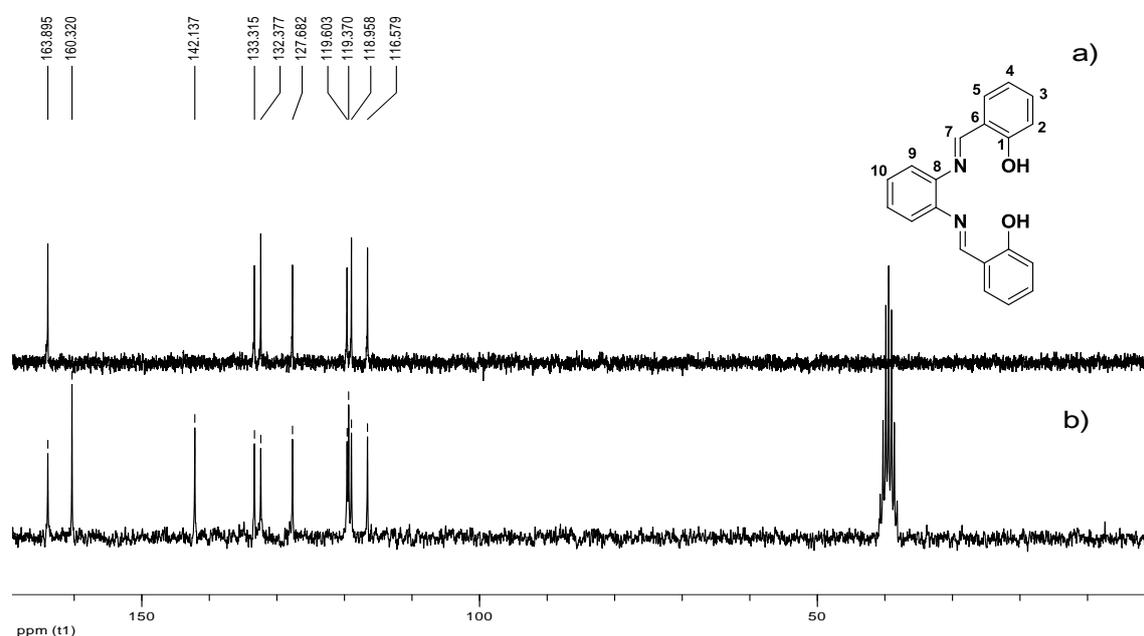


Figura 20. (a) subespectro DEPT 135 (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) (b) Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(2-hidroxi benzilideno) benzeno-1,2-diimina (**1**).

Foi realizado experimento de NOE (Nuclear Overhauser Effect) 1D com o objetivo de confirmar a geometria *E* dos compostos **1** e **7**. Para isso, irradiou-se o sinal referente ao hidrogênio da imina (H-7), obtendo o espectro da Figura 22, p.23. Verificam-se incrementos de NOE apenas nos átomos de hidrogênio H-5 e H-9 (Figura 22, p.23). Confirmando a proximidade espacial entre eles. Como todos os compostos apresentam o mesmo grupamento imino, esse experimento não foi realizado para todos. Os dados de NOE para o composto **7** encontram-se em anexo.

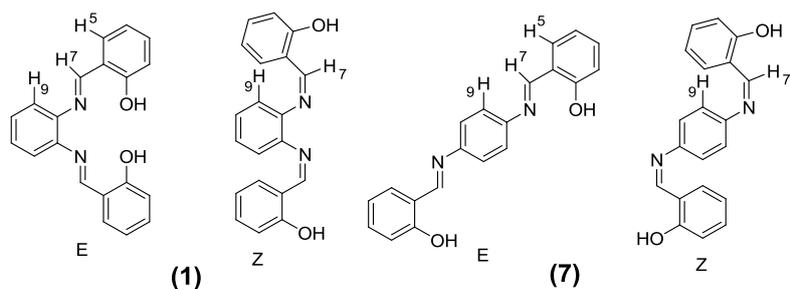


Figura 21. Estruturas químicas *E/Z* da *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**) e *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-diimina (**7**).

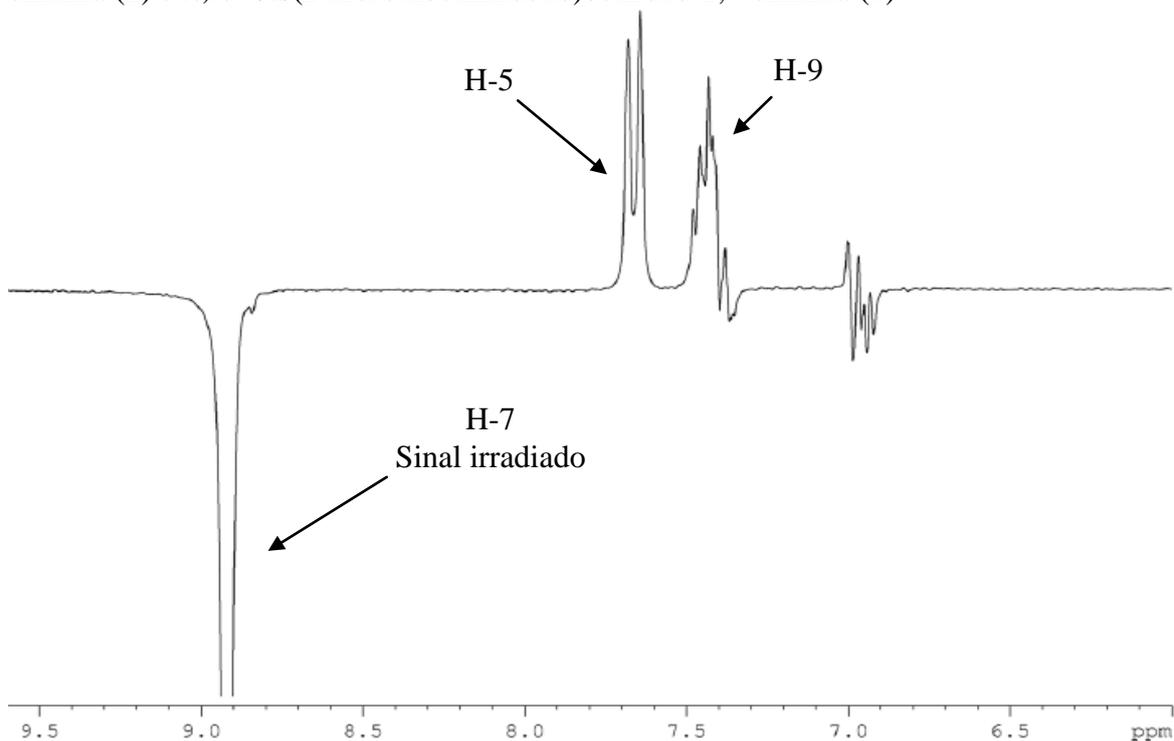
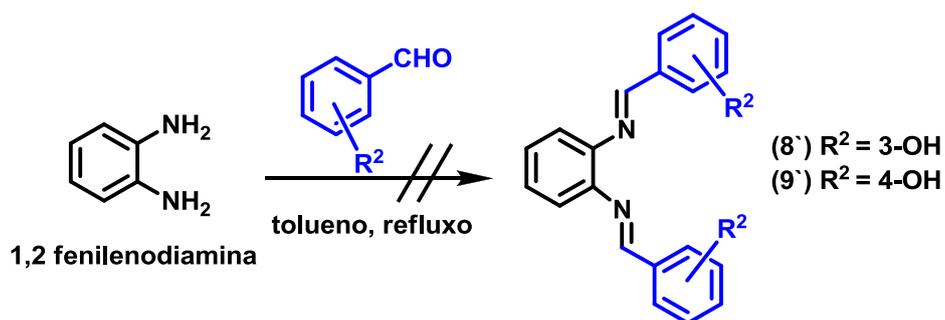


Figura 22. Espectro de NOE (Nuclear Overhauser Effect) 1D de *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno) benzeno-1,2-diimina (**1**).

O processo de obtenção das *bis*-iminas é simples, mas durante o processo de obtenção das *bis*-iminas hidroxiladas do primeiro grupo, Esquema 7, p.24, verificou-se que a síntese dos compostos *N,N'*-bis(3-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diimina (**8'**) *N,N'*-bis(4-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diimina (**9'**), derivados da 1,2-fenilendiamina, não ocorreu como planejado. O que se observou foi a formação dos compostos (**8**) e (**9**) (Tabela 3, p.34).



Esquema 7. Tentativa de obtenção dos compostos **8'** e **9'**.

As condições reacionais foram as mesmas utilizadas para a obtenção dos outros compostos. No entanto, após uma análise dos espectros de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT dos produtos, percebeu-se que as estruturas esperadas **8'** e **9'** não foram condizentes com os sinais obtidos. No espectro de RMN de ¹H (Figura 25, p.28) do composto obtido **9**, foi possível observar a presença de um simpleto com deslocamento químico em δ 5,41, integrando para dois átomos de hidrogênio. Esse sinal, típico de átomos de hidrogênio alifático, é incompatível com as estruturas dos compostos planejados. Também se verificou nesse espectro a presença de dois sinais de hidroxilas fenólicas com diferentes deslocamentos químicos e o desaparecimento do sinal dos átomos de hidrogênio das iminas, (observados para os compostos **1** a **7**). A integração na região de aromáticos indicou a presença de 12 átomos de hidrogênio. No espectro de RMN de ¹³C (Figura 26, p.29), foi observado um sinal com deslocamento químico de δ 47,00 que, pela análise do subespectro de ¹³C DEPT 135, verificou-se tratar de um carbono metilênico (CH₂), que também não foi compatível com a estrutura esperada. concluiu-se que os produtos obtidos diferiam dos que foram planejados. Portanto, foram necessários outras técnicas que auxiliassem a interpretação desses dados. Assim, foi utilizada espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) em modo positivo (Figura 23, p.25). Este experimento mostrou a presença de um íon de m/z 317, compatível com a massa molar acrescida de um hidrogênio dos produtos de interesse **8'** e **9'** [M + H]⁺. Isso mostrou que os compostos apresentam a mesma massa molecular dos compostos **8'** e **9'** e, portanto, **8** e **9** seriam isômeros.

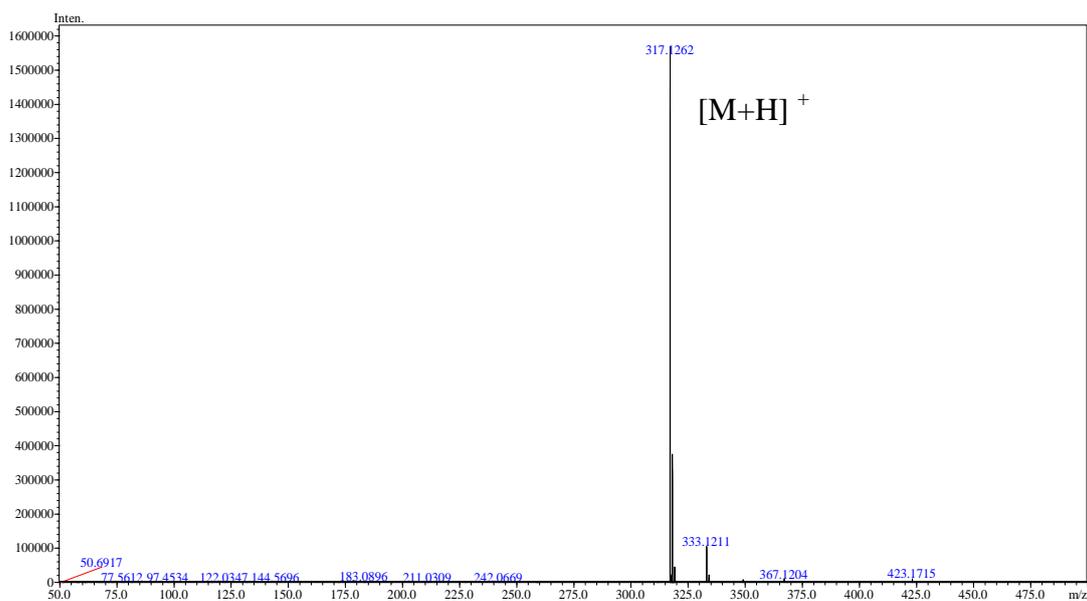


Figura 23. Espectro de massas (+)-ESI-MS do composto **9**.

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

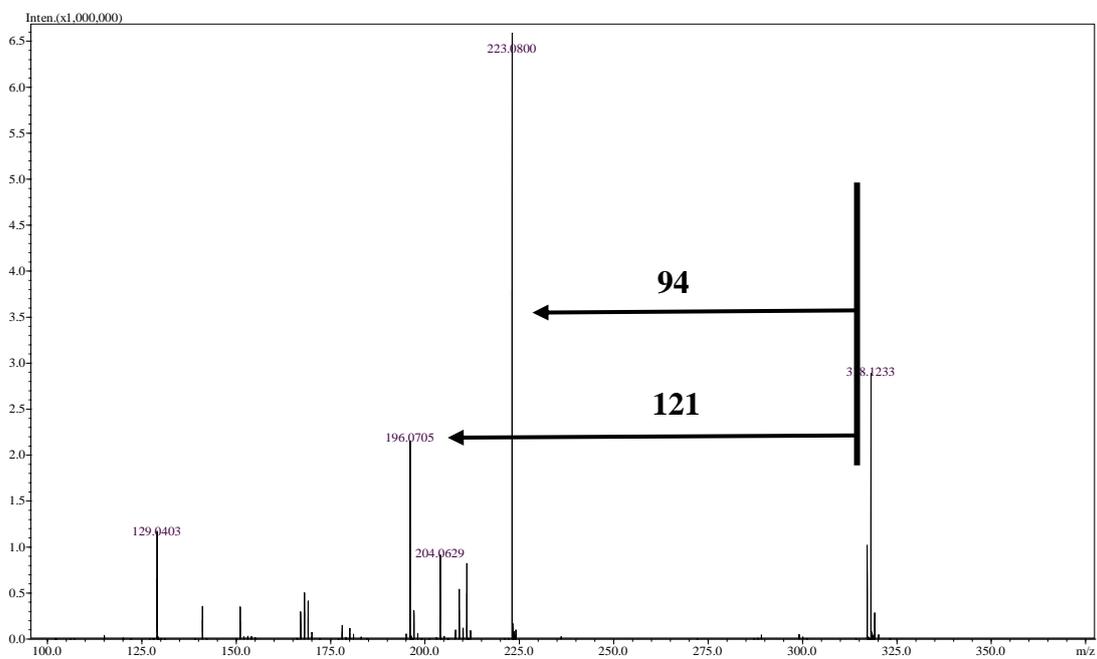
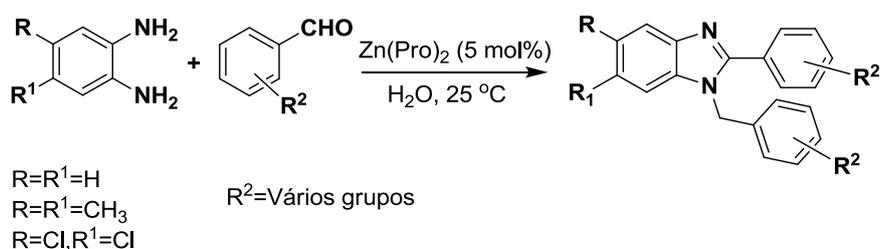


Figura 24. Espectro MS/MS do íon de m/z 317 do composto **9**.

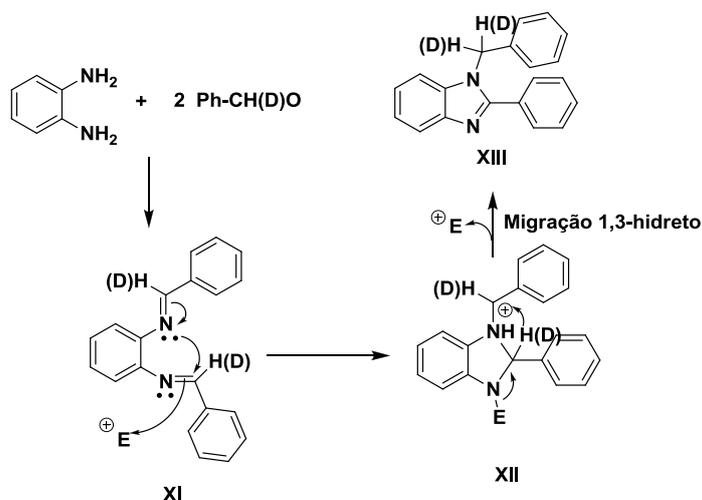
Mesmo com essas informações, não foi possível elucidar a estrutura do composto obtido. No entanto, as informações obtidas pela espectrometria de massas foram úteis para a análise da estrutura desses compostos. Após busca na literatura, encontraram-se precedentes para a reação entre *orto*-fenilenodiamina e vários aldeídos, utilizando água como solvente, sob catálise por um complexo de zinco (Esquema 8), levando à obtenção de benzoimidazóis (RAVI *et al.*, 2007).



Esquema 8. Síntese de benzoimidazóis (RAVI *et al.*, 2007).

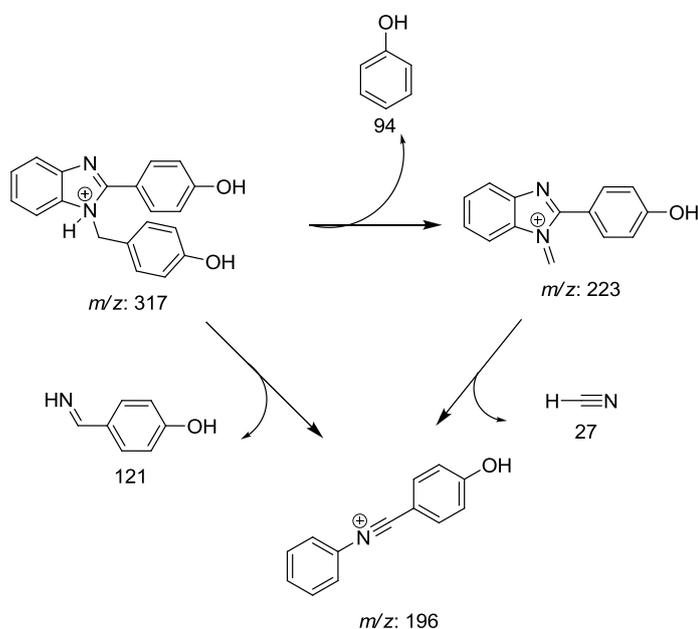
Wan e colaboradores observaram também a formação do anel benzoimidazólico, a partir da reação de *orto*-fenilenodiamina com benzaldeídos utilizando uma mistura de água e cloreto de trimetilsilano (TMSCl) (WAN *et al.*, 2009). No entanto quando são utilizados para a condensação os aldeídos *orto*-hidroxilados a ciclização não acontece. A provável explicação para que isso não aconteça, está na ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio da hidroxila com o nitrogênio do grupamento imino, (Figura 18, p.20) (HOSHINO *et al.*, 1988).

Wan e colaboradores elaboraram uma proposta de mecanismo, a partir da reação com benzaldeído deuterado e a *orto*-fenilenodiamina (Esquema 09). Essa síntese foi acompanhada por meio de experimentos de RMN (WAN *et al.*, 2009).



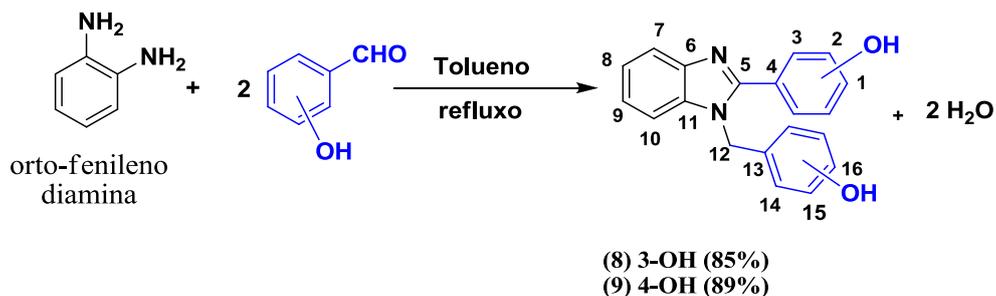
Esquema 09. Mecanismo de formação de benzoimidazóis proposto por Wan e colaboradores (WAN *et al.*, 2009).

Com esse experimento, verificou-se a formação do anel benzimidazólico e, pela posição dos átomos de deutério, fizeram uma proposta de mecanismo para essa reação. Primeiramente haveria uma reação entre o aldeído e a *orto*-fenilenodiamina, formando a *bis*-imina **XI** como intermediário, na presença de catálise eletrofílica (E^+). Em seguida, ocorre uma ciclização mediante ataque do nitrogênio de um grupo imino ao carbono do outro imino, levando à formação do intermediário **XII** que, na sequência sofre um rearranjo de hidreto, resultando no produto **XIII**. Baseado nos estudos de Ravi (2007) e Wan (2009), pode-se propor que a estrutura dos compostos obtidos na verdade eram de benzoimidazóis **8** e **9**, proposta que está de acordo com os dados de RMN. O experimento de (+)-ESI-MS revelou os íons de m/z 223 e 196, durante a análise de ms/ms, como resultado das perdas de 94 e 121 unidades de massa, respectivamente, Esquema 10.



Esquema 10. Proposta de fragmentação do íon de m/z 317.

Os compostos ciclizados *N,N'*-*bis*(3-hidroxifenil)benzoimidazol (**8**) e *N,N'*-*bis*(4-hidroxifenil)benzoimidazol (**9**) foram obtidos com 85% e 89% de rendimento respectivamente, Esquema 11, p.28.



Esquema 11. Obtenção dos compostos **8** e **9**.

Devido à grande similaridade estrutural entre esses dois compostos sintetizados, serão discutidos apenas os dados espectroscópicos do *N,N'*-Bis(4-hidroxifenil)benzimidazol (**9**).

No espectro de RMN de ^1H do composto a 200 MHz (Figura 25) foi possível, então, justificar todos os sinais presentes nos espectros do composto análogo ao benzimidazol. Em δ 9,97 e 9,43, foi possível observar a presença de dois simpletos largos, referentes aos dois átomos de hidrogênio das hidroxilas fenólicas, que apresentaram deslocamentos químicos diferentes, por não serem equivalentes. Na região entre δ 7,68 e 6,64 são detectados sinais múltiplos devidos aos 12 átomos de hidrogênio dos três anéis aromáticos. A complexidade destes sinais é devida ao entrelaçamento parcial dos sistemas AA'BB' dos dois anéis fenólicos e mais o sistema ABCD constituído pelos átomos de hidrogênio H-7 a H-10. Por fim, um sinal muito importante e característico desses compostos, um simpleto com deslocamento químico em δ 5,41 e com integração para dois átomos de hidrogênio são atribuídos a H-12.

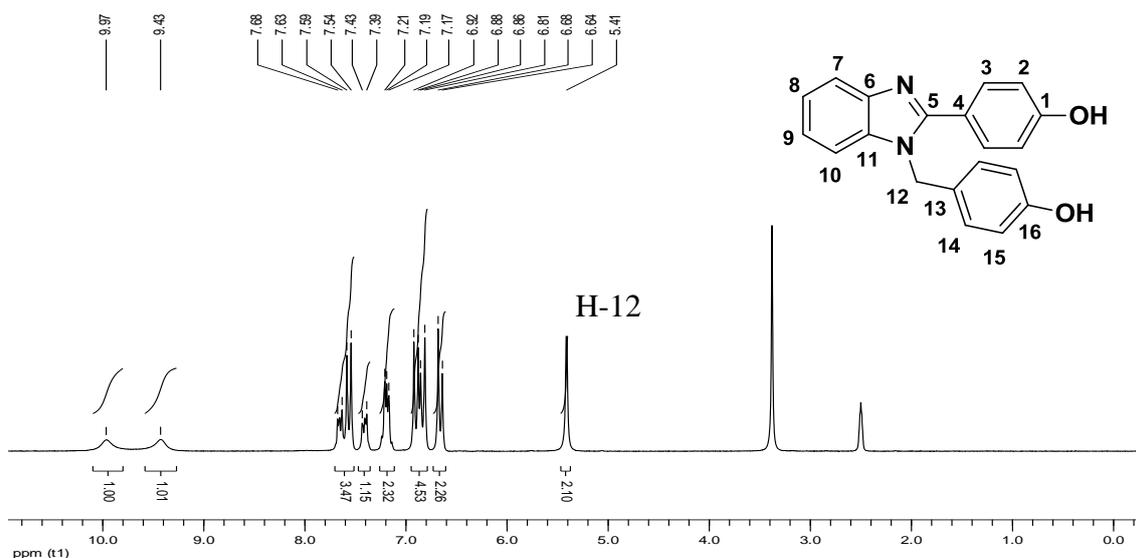


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-Bis(4-hidroxifenil)benzimidazol (**9**).

No espectro de RMN de ^{13}C (a 50 MHz) (Figura 26) observa-se a presença de dezesseis sinais. Um dos sinais com deslocamento químico em δ 47,00 pode ser explicado somente para a estrutura cíclica, uma vez que as *bis*-iminas acíclicas apresentaram apenas sinais com deslocamentos químicos maiores que δ 100,00 ppm, Esse sinal é referente ao carbono C-12. Em δ 110,88 e 115,41, deslocamentos químicos dos átomos de carbono aromáticos mais blindados do espectro, são observados os sinais referente a C-2 e C-15 que, assim como os respectivos átomos de hidrogênio H-2 e H-15, sofrem também forte influência do grupamento OH. Os sinais em δ 115,46 e 118,76 referem-se a C-7/C-10. O sinal do carbono C-13 em 120,74 foi determinado quando o espectro foi comparado com o espectro de DEPT (Figura 27, p.30), onde ele não aparece. Os dois sinais com deslocamentos químicos em 121,80 e 122,05 referem-se a C-8/C-9. Em δ 127,04, 127,42 e 130,53 ppm foram observados os sinais referentes a C-4, C-3 e C-14 que, por estarem com os deslocamentos bem próximos, foram distinguidos pelo espectro DEPT (Figura 27, p.30), no qual o sinal de C-4 não aparece, portanto o sinal em δ 127,04 refere-se ao C-4. Os sinais com deslocamento químico em δ 127,42 e 130,53 referem-se aos átomos de carbono C-3/C-14, que estão localizados em posição *meta* em relação à hidroxila. Os sinais em 135,77, 142,63 e 153,52 referem-se a C-6, C-11 e C-5, que fazem parte do anel benzimidazólico. Por fim, os átomos de carbono C-1 e C-16, que estão ligados às hidroxilas, sendo por isso os átomos de carbono mais desblindados, apresentam deslocamentos químicos em 156,60 e 158,77.

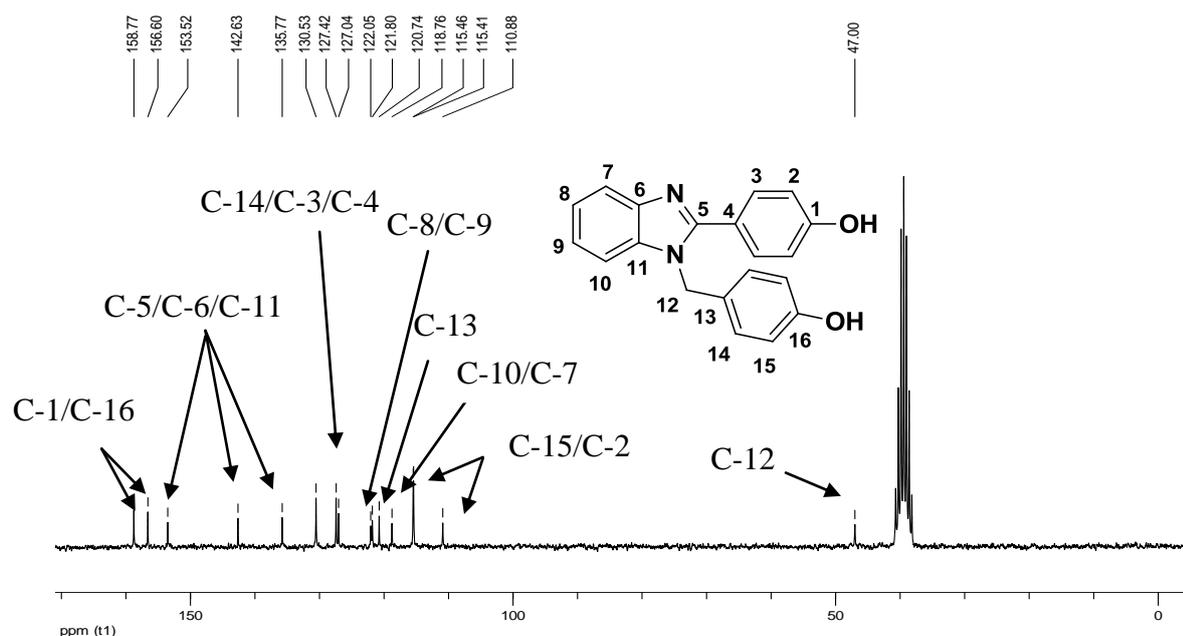


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)benzoimidazol (**9**).

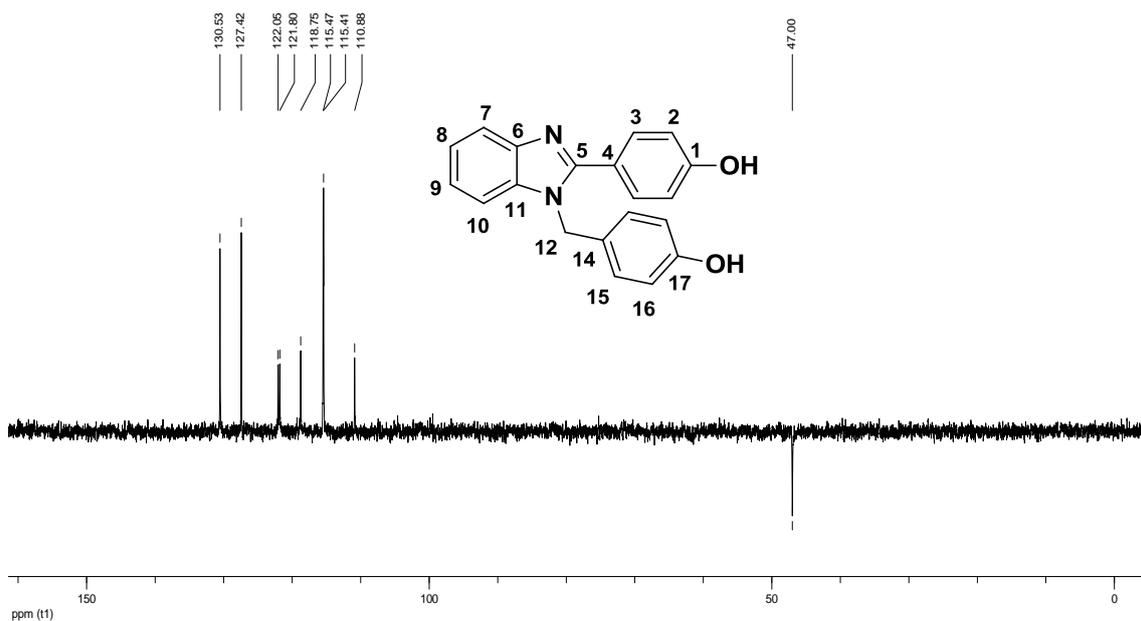
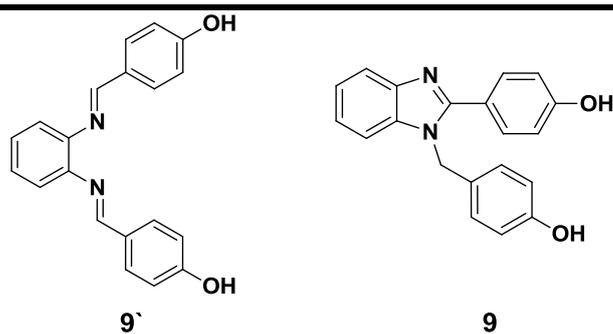


Figura 27. Subespectro de ¹³C DEPT 135 (50 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-Bis(4-hidroxifenil) benzimidazol (**9**).

Como o intuito era a obtenção do composto não ciclizado, foram então realizadas várias tentativas de síntese da *bis*-imina acíclica variando-se solvente, tempo de reação, temperatura e proporção de reagentes, (Tabela 2, p.31). No entanto apenas o composto ciclizado (**9**) foi obtido.

Tabela 2 – Tentativas de obtenção da *bis*-imina **9**^c



	Solvente	Tempo (h)	Condições	R1 ^a (mol)	R2 ^b (mol)	Rend. (%)	
						9 ^c	9
1	Tolueno	5	Refluxo, 7 mL	2	1	^d NO	70
2	Tolueno	24	Refluxo, 7 mL	3	1	^d NO	89
3	Etanol	8	Refluxo, 7 mL	2	1	^d NO	75
4	Etanol	24	Refluxo, 7 mL	3	1	^d NO	78
5	Etanol	60	Refluxo, 10 mL	2,2	1	^d NO	86
6	Etanol	96	Refluxo, 7 mL	3	1	^d NO	89
7	Etanol	8	T. a. ^c , 7 mL	3	1	^d NO	75
8	Etanol	0,5	Refluxo, 3 mL	2,2	1	^d NO	75
9	Etanol	0,5	Refluxo, 1 mL	2,2	1	^d NO	77
10	Metanol	3	Refluxo e em pH=5	3	1	^d NO	65
11	Metanol	3	0°C e em pH=5	3	1	^d NO	60
12	Diclorometano	24	T. a. ^c , 7 mL	3	1	^d NO	76
13	Diclorometano	0,7	T. a. ^c , 3 mL	2,2	1	^d NO	70
14	Diclorometano	0,7	T. a. ^c , 1 mL	2,2	1	^d NO	73

^aR 1 = 4-hidroxibenzaldeído; ^bR 2 = *orto*-fenilenodiamina; ^cT. a. = Temperatura ambiente;

*Condição; ^dNO = Não obtido

Para fins de comparação com os espectros de massas apresentados nas Figuras 23 e 24 (p.25) para o composto **9**, realizou-se a análise de ESI-MS do composto **7**, produto não ciclizado, Figura 28 e 29, p.32.

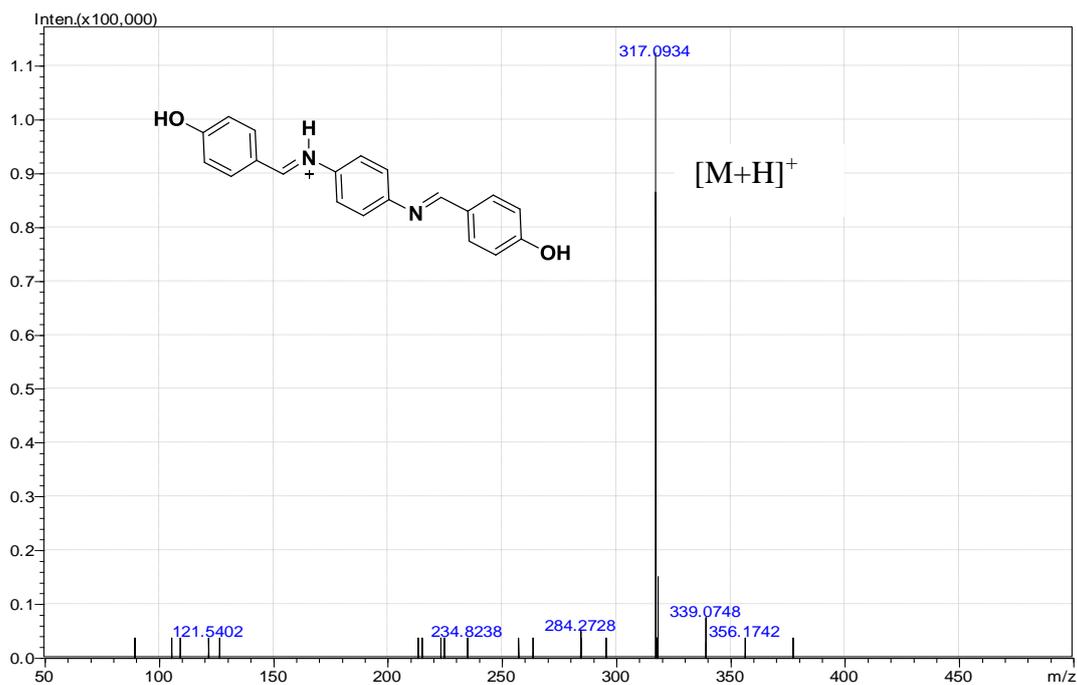


Figura 28. Espectro de massas (+)-ESI-MS do composto **7**.

O íon de m/z 317 foi submetido também ao experimento de MS/MS (Figura 29) mostrando um padrão de fragmentação totalmente diferente daquele da Figura 24 (p.25) e compatível com a estrutura do composto **7** (Esquema 12, p.33).

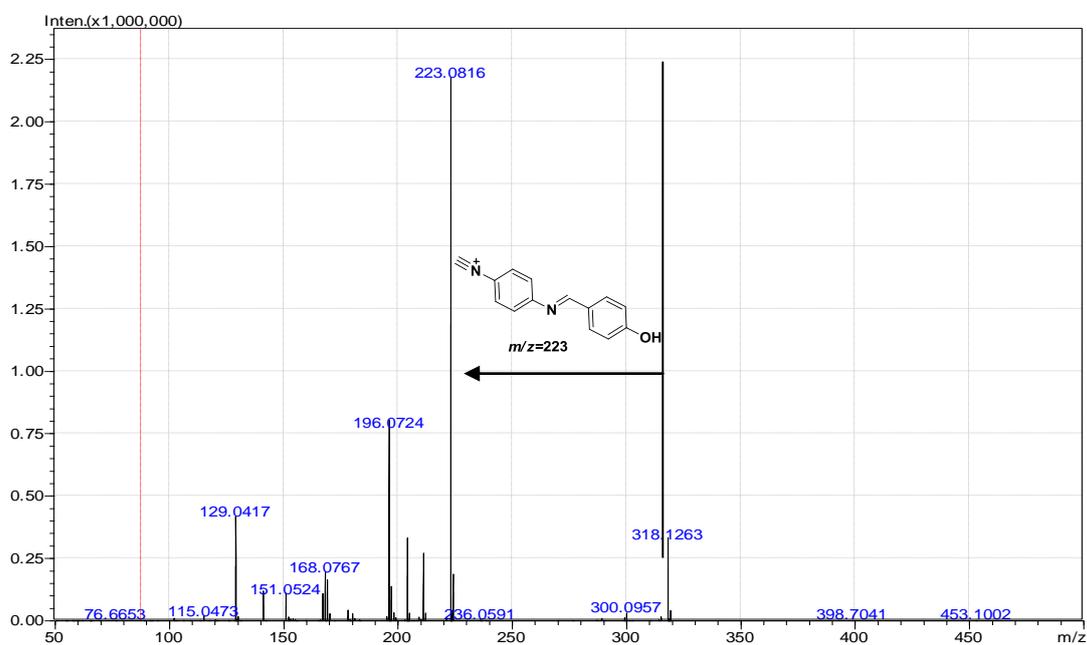
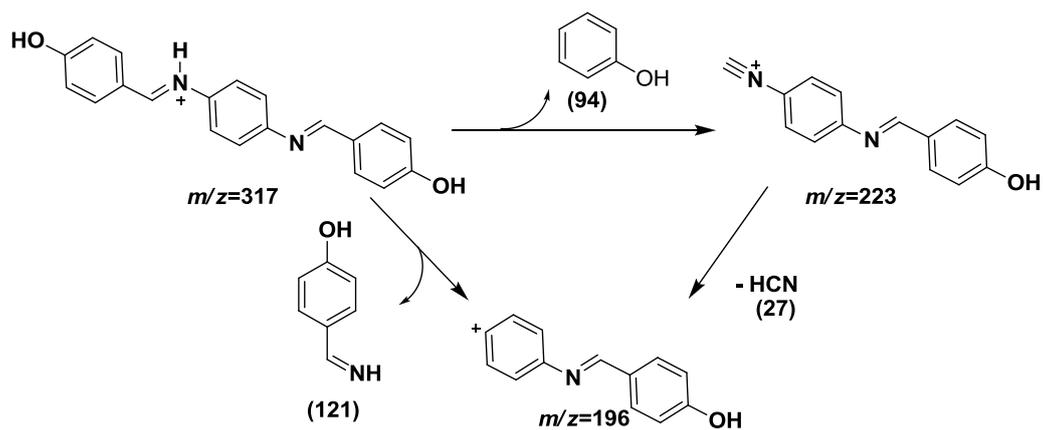


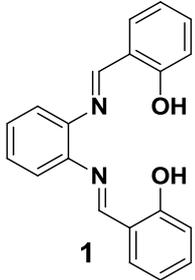
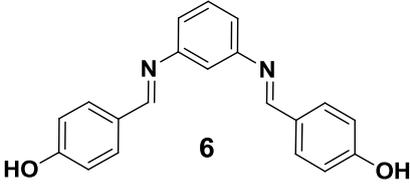
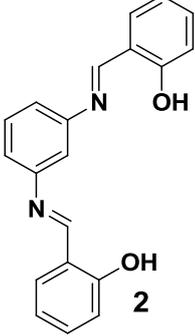
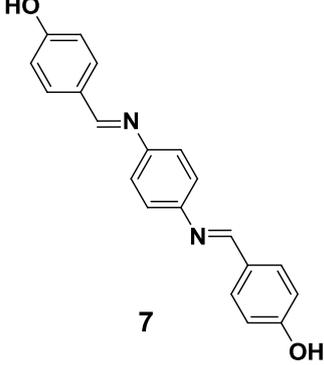
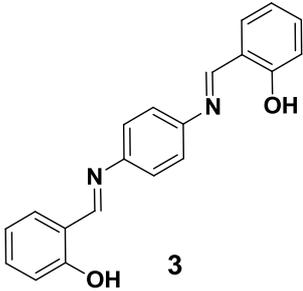
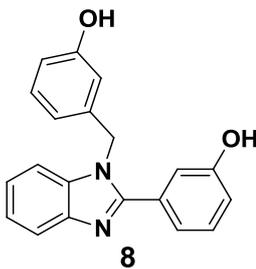
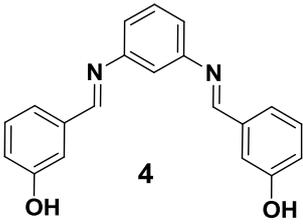
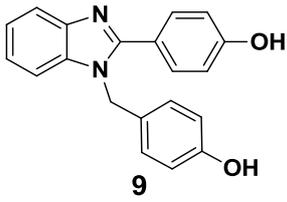
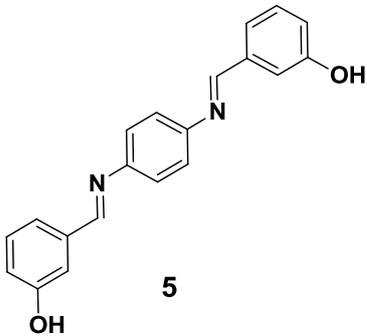
Figura 29. Espectro MS/MS do íon de m/z 317 do composto **7**.



Esquema 12. Proposta de fragmentação do íon de m/z 317 do composto 7.

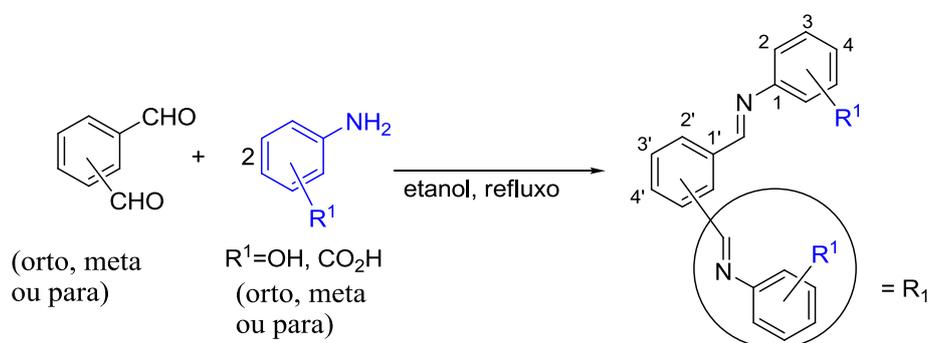
Portanto, ao final da primeira série, foram obtidos as *bis*-iminas 1 a 7 e dois derivados de benzimidázóis 8 e 9 (Tabela 3, p.34).

Tabela 3. Iminas (1-7) e benzoimidazóis (8 e 9) obtidos e seus rendimentos

<i>Estrutura</i>	<i>Rend. (%)</i>	<i>Estrutura</i>	<i>Rend. (%)</i>
	92		94
	81		95
	91		85
	95		89
	89		

2.1.1.2. Segunda série de *Bis*-iminas

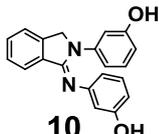
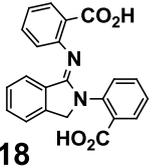
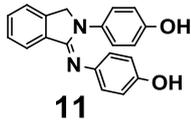
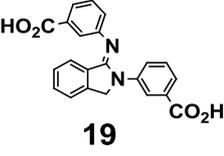
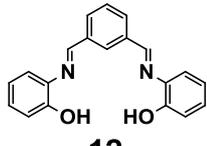
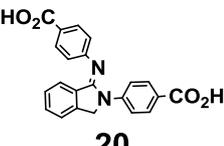
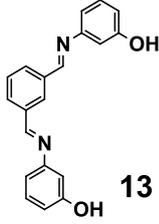
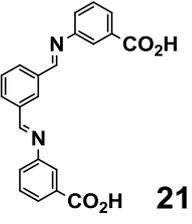
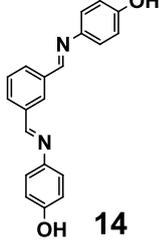
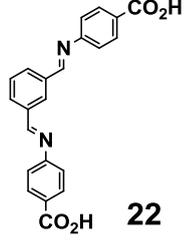
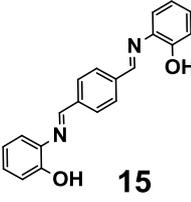
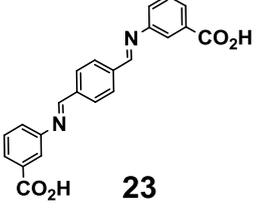
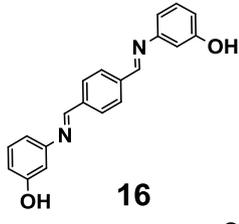
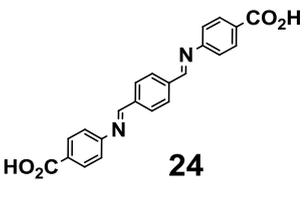
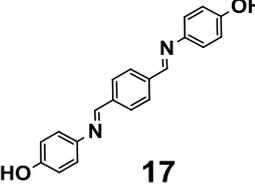
A síntese da segunda série de compostos descritos neste trabalho também corresponde a *bis*-iminas aromáticas. No entanto, tanto a posição do nitrogênio do grupamento imino quanto dos grupos ligados ao anel lateral foram variados. A segunda série foi sintetizada a partir da condensação dos dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) com aminofenóis e aminoácidos (*orto*, *meta* e *para*), Esquema 13. Para essa série utilizou-se etanol como solvente sob-refluxo. Também foi testado o tolueno como solvente para essas reações, mas quando foi utilizado o etanol, os rendimentos foram superiores em todas as reações.



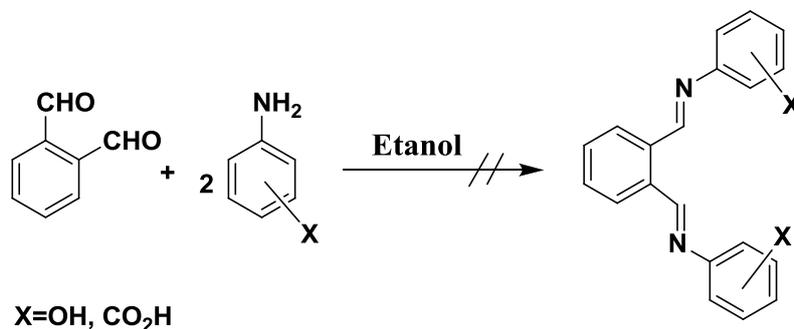
Esquema 13. Esquema geral dos compostos da segunda série de *bis*-iminas aromáticas.

Após purificação, todas as *bis*-iminas também foram caracterizadas por espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C , além de análise elementar, espectrometria de massas de alta resolução e comparação das temperaturas de fusão com aquelas descritas na literatura. Os compostos e os rendimentos obtidos estão apresentados na Tabela 4, p.36.

Tabela 4. Compostos (10-24) obtidos e seus rendimentos

Composto	(%)	Composto	(%)
 10	53	 18	72
 11	60	 19	53
 12	65	 20	98
 13	64	 21	90
 14	85	 22	71
 15	75	 23	73
 16	73	 24	78
 17	78		

Iniciou-se a síntese preparando os compostos derivados do *orto*-dialdeído com os aminofenóis (*orto*, *meta* e *para*), utilizando etanol como solvente durante 8 h de refluxo, Esquema 14.

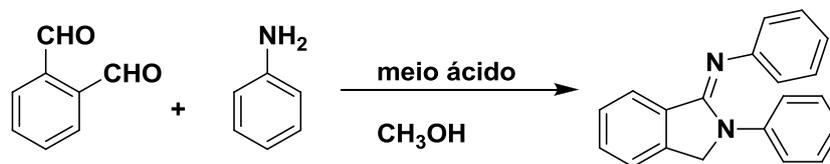


Esquema 14. Tentativa de obtenção de compostos derivados do *orto*-dialdeído.

No entanto, após análise de RMN de 1H dos compostos obtidos, foram observadas algumas inconsistências com a estrutura esperada para os compostos **10**, **11**, **18**, **19** e **20**. Nessas análises não foi observado o sinal para o hidrogênio do grupo imino e em δ 4,87 apareceu um simpleto, cujo deslocamento químico é incompatível com as *bis*-iminas planejadas.

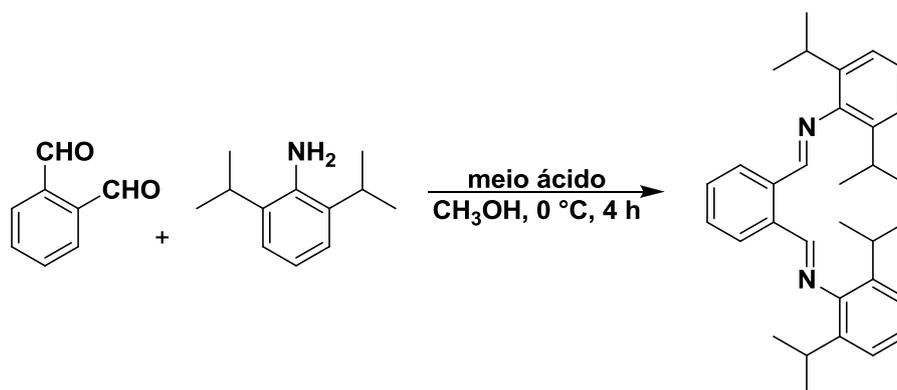
Considerando-se as experiências com a primeira série, onde algumas reações levaram a um produto de ciclização, cogitou-se que essas reações poderiam levar também a produtos análogos.

Chitanda também relata a formação desses produtos ciclizados é possível a partir da condensação de *orto*-dialdeídos aromáticos com anilina (CHITANDA *et al.*, 2008), Esquema 15.



Esquema 15. Síntese descrita por Chitanda e colaboradores (CHITANDA *et al.*, 2008).

De acordo com Chitanda, a obtenção dessas iminas sem a ciclização intramolecular ocorre quando os *orto*-dialdeídos reagem com aminas aromáticas que apresentam grupos volumosos em *orto*. De fato, a condensação de ftalaldeído com 2,6-diisopropilanilina leva à *bis*-imina sem nenhum produto de ciclização, Esquema 16, (p.38).



Esquema 16. Síntese descrita por Chitanda e colaboradores (CHITANDA *et al.*, 2008).

O produto da ciclização, apesar de não ter nenhum estudo de mecanismo, acredita-se que seja obtido por uma ciclização da *bis*-imina formada, seguida por migração de hidreto, a exemplo do mecanismo proposto para a formação dos benzoimidazóis apresentados na página 28 (WAN *et al.*, 2009).

Apesar do estudo de Chitanda e colaboradores, realizou-se um teste para a obtenção da *bis*-imina, usando tolueno sob refluxo, em vez de etanol, no entanto, sem resultado positivo.

Devido à grande similaridade estrutural entre os compostos ciclizados **10**, **11**, **18**, **19**, e **20**, serão discutidos os dados espectroscópicos apenas para o *N,N'*-*bis*(4-hidroxifenil)iminoisindolina (**11**, p.37), a título de exemplificação. Portanto, os sinais do espectro de RMN de ^1H a 200 MHz, (Figura 30, p.39) permitiram a atribuição dos dois simples, parcialmente superpostos em δ 9,27 e δ 9,06, aos átomos de hidrogênio das hidroxilas. Em δ 7,76 ($J = 8,60$ Hz) observa-se um duplete, com integração para dois átomos de hidrogênio atribuídos a H-3. Na região entre δ 7,53-7,41 observa-se um sinal mal resolvido aparentemente resultante da sobreposição de um duplete e um tripleto, com integração para dois átomos de hidrogênio, que se referem a H-7 e H-9. Em δ 7,11 nota-se a presença de um tripleto mal resolvido ($J = 6,90$ Hz), com integração para um hidrogênio, atribuído a H-8. Um multiplete na região entre δ 6,84-6,61, com integração para sete átomos de hidrogênio, foi atribuído a H-2, H-10, H-14 e H-15. Finalmente, um simpleto com deslocamento químico em δ 4,90 foi atribuído a H-12.

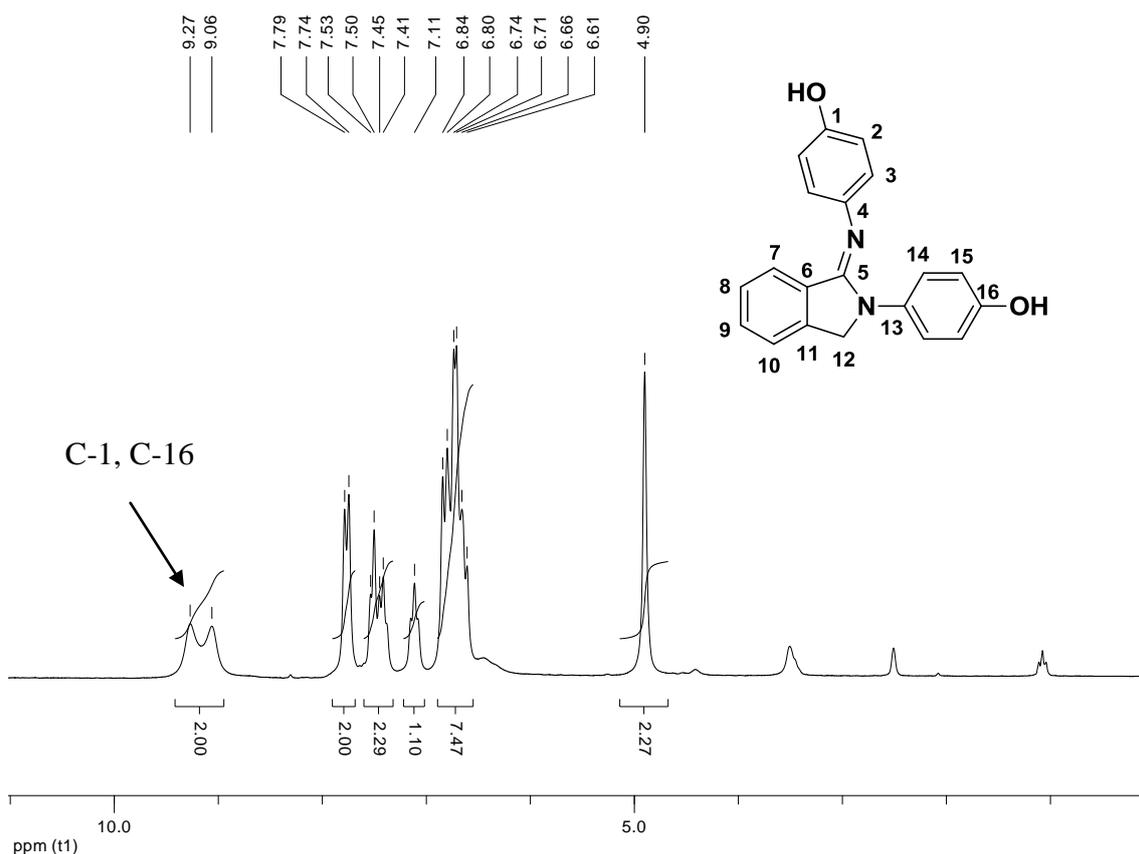


Figura 30. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**).

No espectro de RMN de ¹³C (a 50 MHz) (Figura 31, p.40) foi possível verificar a presença de dezesseis sinais, sendo um deles em δ 52,77, referente ao carbono metilênico (CH₂), confirmado com o auxílio do subespectro de ¹³C DEPT 135 (Figura 32, p.40). Os sinais em δ 114,98, 115,74, 121,54 e 122,28, deslocamentos químicos dos átomos de carbono aromáticos mais blindados do espectro, são referentes a C-14, C-15, C-2 e C-3 que sofrem grande influência dos N e OH vizinhos. Os sinais em δ 123,23, 125,27, 126,80 e 130,02 referem-se a C-8, C-7, C-9 e C-10. Os sinais em δ 130,77, 133,19, 140,89, 142,64 e 152,38 são referentes aos carbonos C-4, C-5, C-6, C-13 e C-11 que não têm hidrogênio, que foram confirmados quando comparados com o espectro de DEPT (Figura 32, p.40), onde não aparecem. Por fim, os dois últimos sinais são referentes aos átomos de carbono ligados diretamente às hidroxilas C-16/C-1, com deslocamentos químicos em δ 153,22 e 153,29.

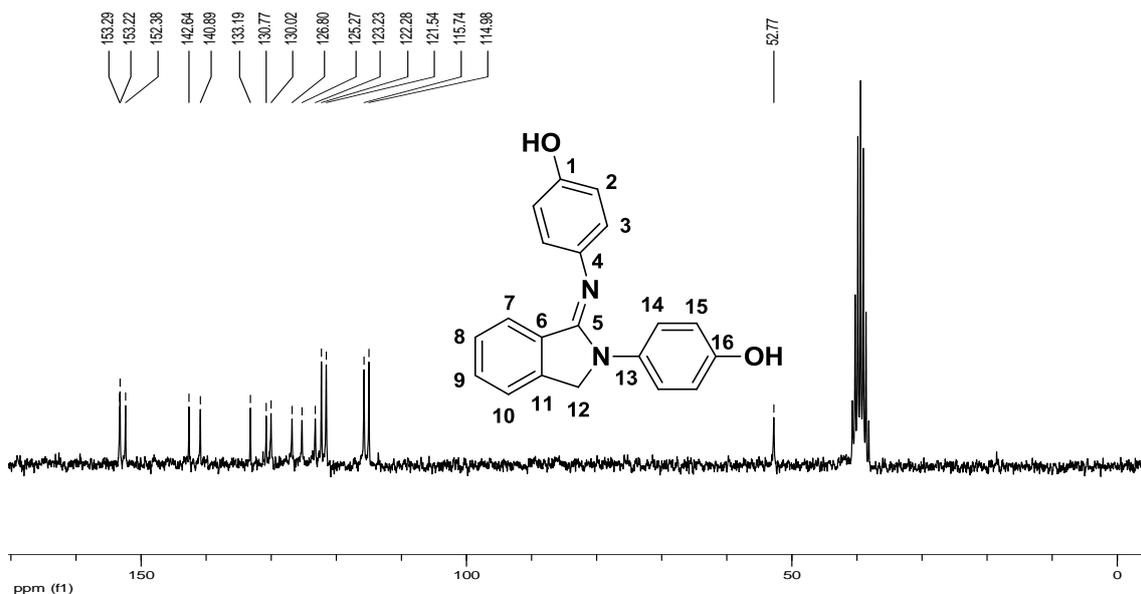


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**).

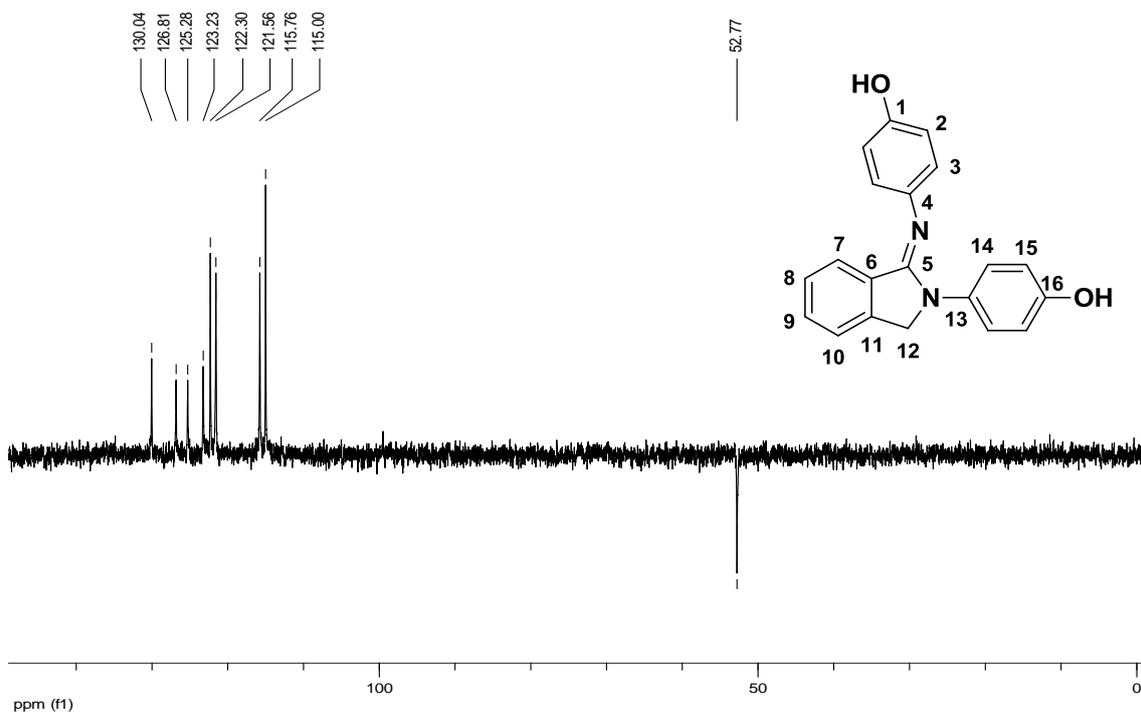


Figura 32. Espectro de DEPT 135 (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**).

Mesmo existindo fortes indícios da obtenção do *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**), foi utilizada a espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) em modo positivo (Figura 33, p.41) para confirmar a identificação do composto obtido. Este experimento mostrou a presença de um íon de m/z 317, $[\text{M} + \text{H}]^+$.

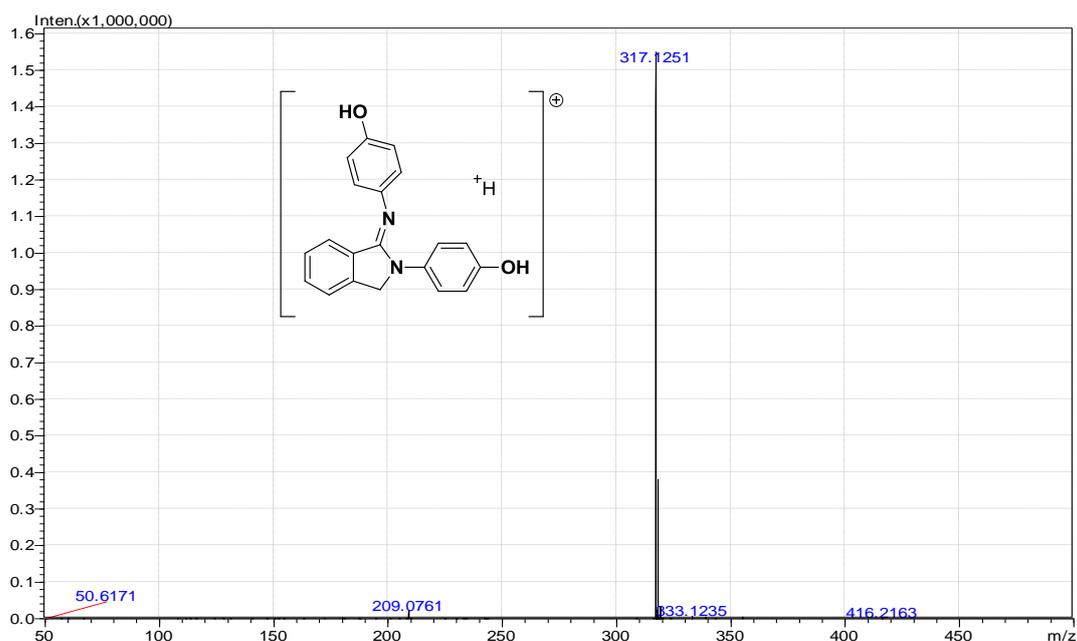


Figura 33. Espectro de (+)-ESI-MS do composto **11**.

A presença do íon m/z 317 não permite comprovar a formação do composto ciclizado, ou de estrutura aberta, pois são compostos que apresentam a mesma massa molecular. No entanto, quando o íon de m/z 317 foi selecionado e submetido à fragmentação, mediante colisão com um gás inerte (experimento de MS/MS), observou-se a formação majoritária do íon de m/z 209, como resultado de uma perda de aminofenol neutro (Figura 34). Esse perfil de fragmentação é compatível com a estrutura ciclizada, mas não com a estrutura aberta.

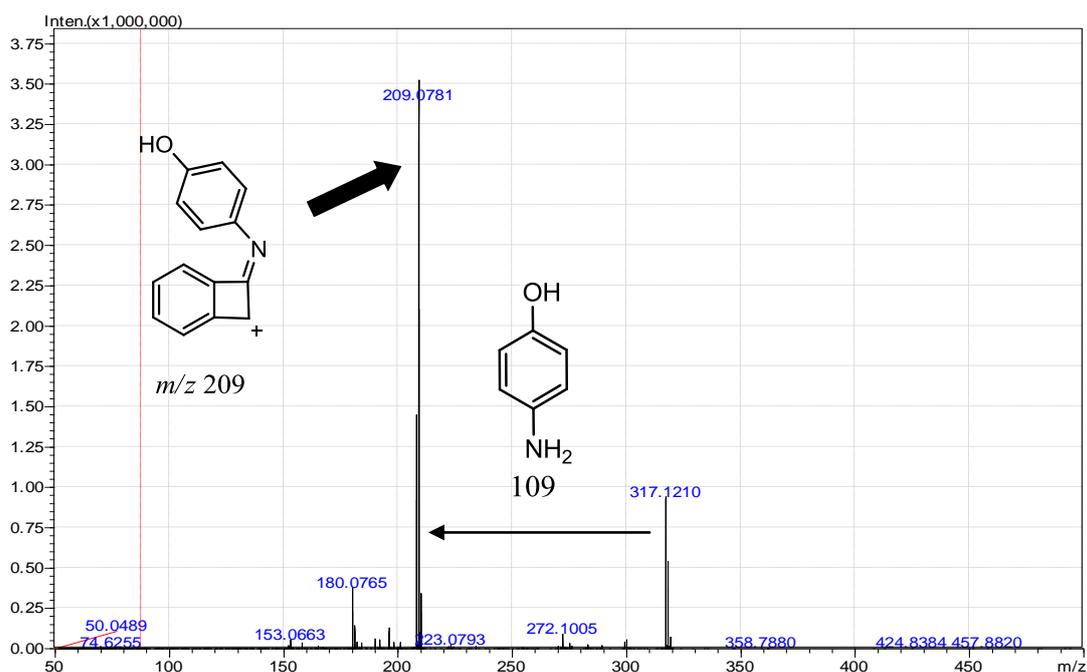


Figura 34. Espectro MS/MS do íon de m/z 317 do composto **11**.

Para fins de comparação dos resultados obtidos apresentados nas Figuras 33 e 34, p.41, realizou-se a análise de (+)-ESI-MS do composto **17** (Tabela 3, p.34), que não é ciclizado. Os resultados são apresentados no espectro abaixo (Figura 35).

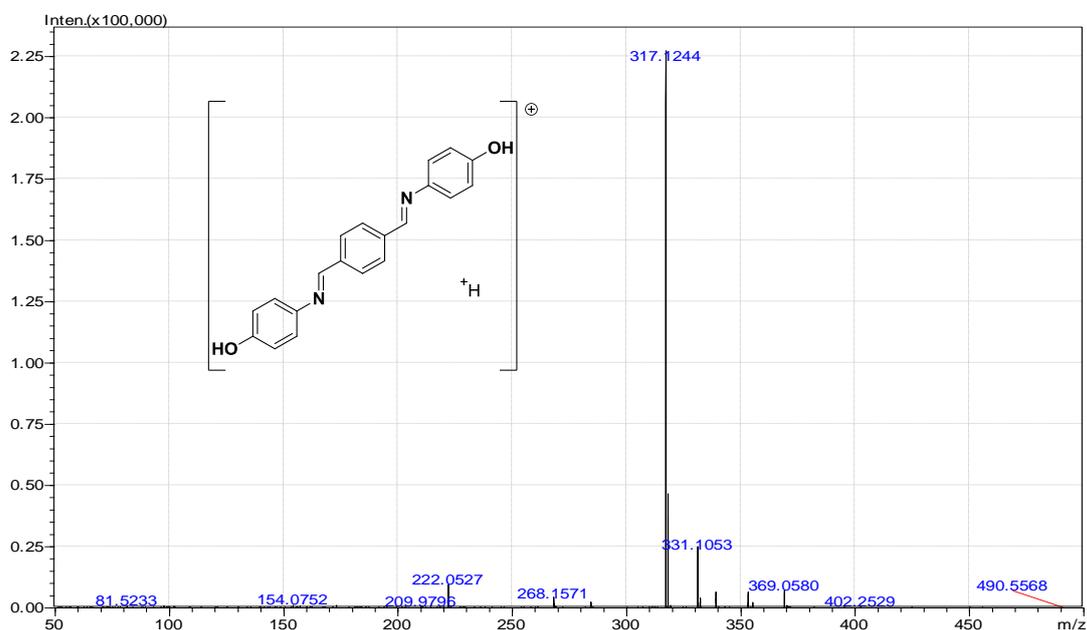
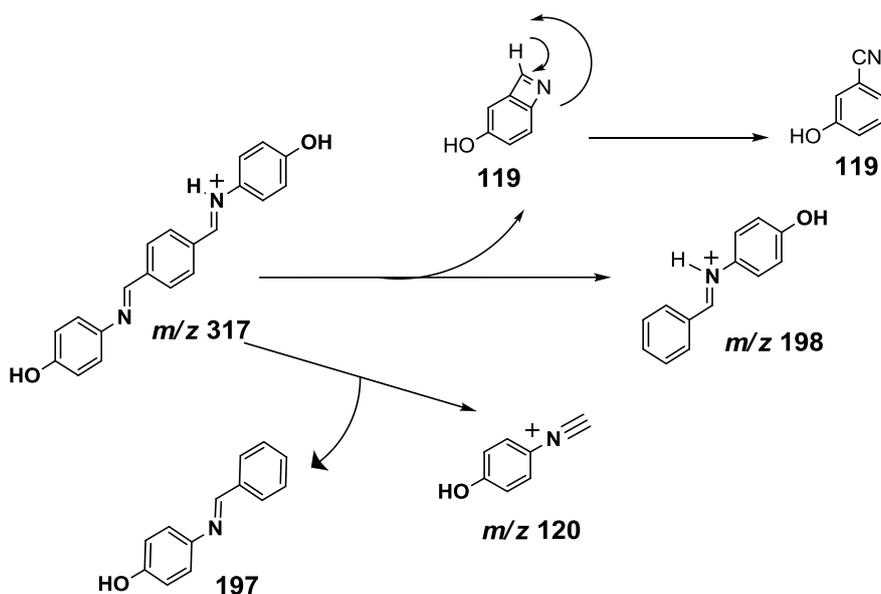


Figura 35. Espectro de massas (+)-ESI-MS do composto **17**.

Quando o íon m/z 317 foi submetido ao experimento de MS/MS (Figura 36, p.43), verificaram-se os fragmentos m/z 198 e 120, apresentando um padrão bem diferente da Figura 34, p.41, do composto ciclizado **11**, e compatível com a estrutura do composto **17**, Esquema 17. Novamente, a espectrometria de massas contribuiu na elucidação, sendo uma ferramenta poderosa na determinação de estruturas.



Esquema 17. Proposta de fragmentação do cátion m/z 317 do composto **17**.

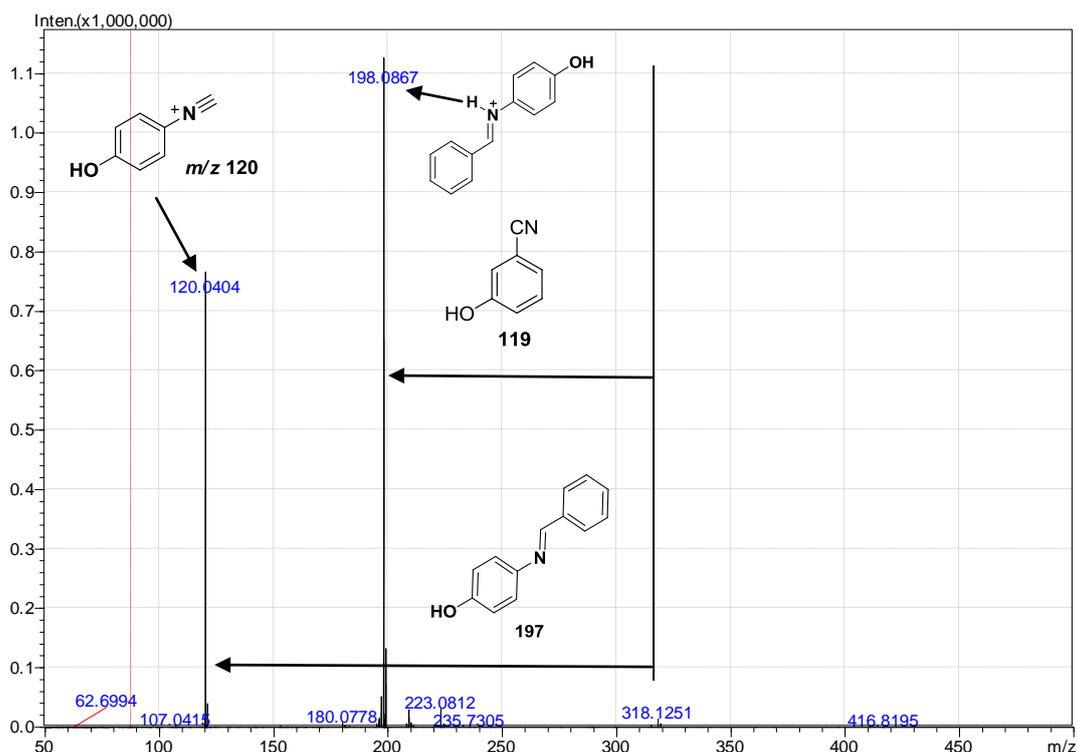
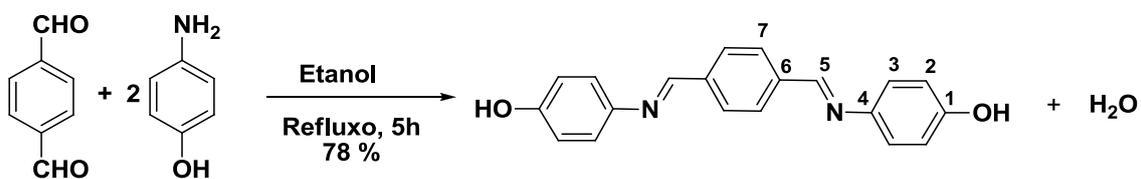


Figura 36. Espectro de MS/MS para o cátion m/z 317, do composto **17**.

Para a síntese dos compostos derivados dos dialdeídos *meta* e *para*, as bis-iminas planejadas foram sintetizadas sem maiores problemas. Portanto, como os compostos apresentam pequenas diferenças estruturais, utilizou-se o composto *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (**17**), Esquema 18, para ilustrar a caracterização de um composto da segunda série.

O composto **17** foi obtido com 78% de rendimento, a partir da reação entre o ftalaldeído e a *para*-hidroxianilina sob refluxo de etanol, após 5 h, Esquema 18.



Esquema 18. Reação de obtenção do composto **17**.

No espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (Figura 37, p.44) do composto **17** foram possíveis verificar vários sinais, começando por um simpleto característico para compostos com hidroxilas fenólicas com deslocamento químico em δ 9,59. Em δ 8,67 verifica-se a presença de um simpleto atribuído ao hidrogênio do grupo imino, que, neste caso, é o H-5, sinal comum em todas essas iminas. Em δ 7,99 nota-se um

simpleto, com integração para os quatro átomos de hidrogênio, referentes aos hidrogênios do anel central. Um duplete ($J = 8,40$ Hz) centrado em δ 7,26 e com integração para quatro hidrogênios, atribuído ao H-3. Por fim, em δ 6,83 observa-se outro duplete ($J = 8,40$ Hz), com integração para quatro hidrogênios, atribuído a H-2. Esse núcleo se encontra mais blindado, devido ao efeito doador de elétrons da hidroxila em *orto*.

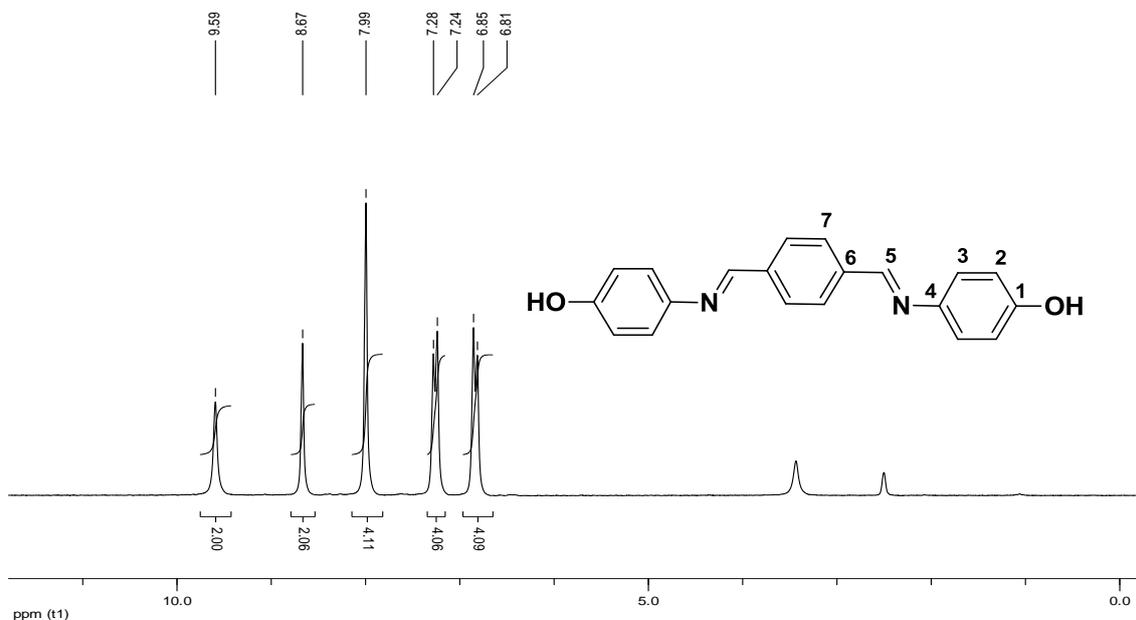


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno) teraftaldiimina (**17**).

No espectro de RMN de ^{13}C a 50 MHz (Figura 38, p.45) do composto **17** observa-se um total de sete sinais referentes aos vinte átomos de carbono da molécula. Tal fato deve-se à simetria molecular e conseqüente equivalência de diversos átomos de carbono dos anéis aromáticos. Em δ 115,72 é observado o sinal referente aos átomos de carbono C-2 que, assim como os átomos de hidrogênio H-2, sofrem também grande influência do grupamento OH vizinho. O sinal referente ao carbono C-3 apresenta-se em δ 122,65 ppm. Esse carbono está blindado devido à presença do átomo de nitrogênio em *orto*. Em δ 128,49 é observado o sinal referente à C-7, que se apresentam como os mais desblindados dentre os átomos de carbono aromáticos hidrogenados. Outros dois sinais, com deslocamentos químicos observados em δ 138,32 e 142,31, foram atribuídos à C-6 e C-4. Por fim, os sinais referentes à C-5 e C-1 são registrados em δ 156,22 e 156,55. Embora os átomos de carbono C-5 e C-1 apresentem deslocamentos químicos bem próximos, a atribuição dos mesmos foi facilmente realizada por meio da análise do

subespectro DEPT 135, uma vez que C-5 é hidrogenado e C-1 é um carbono não hidrogenado, ligado diretamente à hidroxila.

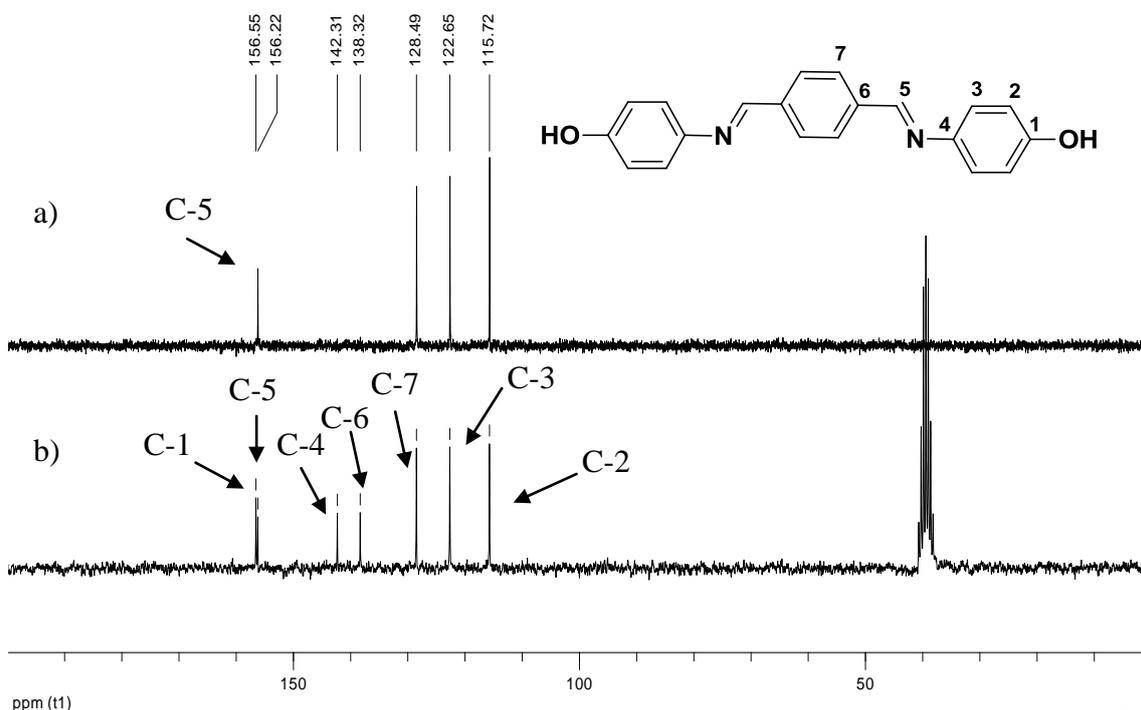


Figura 38. (a) Subespectro DEPT (50 MHz; DMSO-*d*₆) (b) Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno) teraftaldiimina (17).

2.1.2 – Obtenção e caracterização de *bis*-aminas aromáticas funcionalizadas

As bases de Schiff são compostos frequentemente utilizados na síntese de fármacos e como ligantes a metais (KUMAR *et. al.*, 2009). Pelo fato das iminas serem susceptíveis a hidrólise na presença de água, sua redução para a respectiva amina, é uma escolha desejável. Apesar de existirem na literatura química várias metodologias de redução de iminas para aminas, as reações são lentas e pouco reprodutíveis, como é o caso daquela envolvendo boroidreto de sódio (NaBH₄) (AZIZI *et al.*, 2008). Portanto, a busca de novas metodologias que tornem as reduções de iminas mais eficientes, é importante. Uma alternativa interessante é o uso de ativadores para auxiliar essas reduções (CHO *et. al.*, 2005). Uma metodologia que utiliza uma mistura de cloreto de cério(III) (CeCl₃) como aditivo e boroidreto de sódio (NaBH₄) foi utilizada por Luche para reduzir seletivamente cetonas α,β -insaturada para alcoóis alílicos (Esquema 19, p.46) (KÜRTI e CZAKÓ, 2005).

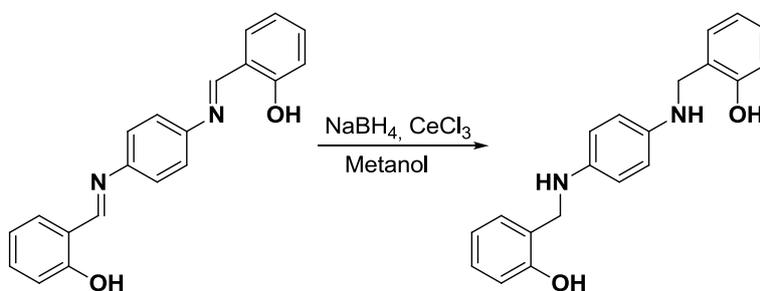


Esquema 19. Uso de cloreto de cério (CeCl_3) como aditivo na redução de cetonas α, β -insaturada (KÜRTI e CZAKÓ, 2005).

Com o objetivo de ativar a reatividade do grupo imino para a redução com NaBH_4 , como acontece para o grupo carbonila na metodologia de Luche, o cloreto de cério foi avaliado na redução das *bis*-iminas para *bis*-aminas com NaBH_4 .

Primeiramente iniciaram-se os estudos de redução utilizando apenas boroidreto de sódio (1,2 equivalente) e metanol como solvente, por se tratar de um solvente comumente empregado em redução e pelo fato das *bis*-iminas estudadas serem solúveis ou parcialmente solúveis nesse solvente. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Rendimento obtido nas reações utilizando o cloreto de cério(III)



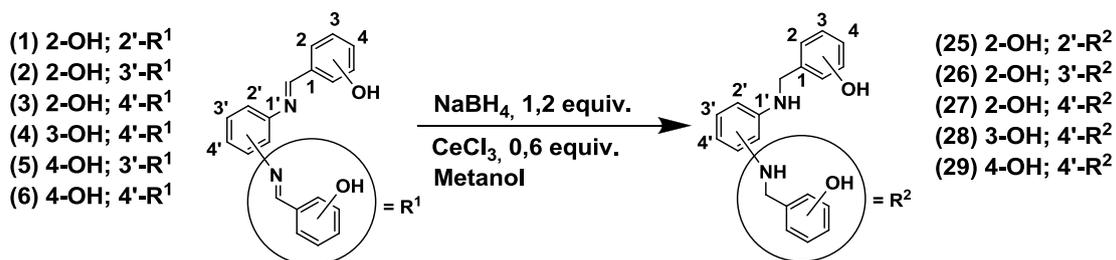
NaBH_4 (Equivalente)	CeCl_3 (Equivalente)	Tempo (min)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Rendimento (%)
1,2	---	75*	0	90
1,2	1,2	4	0	96
1,2	1,2	4	t.a	98
1,2	0,6	4	t.a	99
1,2	0,3	10	t.a	95

*Após 30 min foram adicionados mais 0,12 equivalente de NaBH_4 .

A redução utilizando apenas o boroidreto de sódio foi realizada durante 75 min,. A reação foi realizada a 0 °C e sem a presença do cloreto de cério(III), fornecendo 90% de rendimento do produto esperado (Tabela 5, p.46). Apesar do excelente rendimento para a *bis*-imina **3**, a reação não funcionava para as outras *bis*-iminas ou o rendimento era muito ruim. Portanto, utilizando o cloreto de cério(III) como ativador para auxiliar na redução, optou-se por uma concentração inicial de 1,2 equivalente deste aditivo. Essa reação foi realizada também a 0 °C, observando-se um aumento no rendimento da reação, sendo o produto desejado obtido com 96% de rendimento e com diminuição significativa no tempo de reação, de 75 min para apenas 4 min (Tabela 5, p.46). Esses resultados indicam que há influência significativa da adição do aditivo na reação. Após a variação da temperatura de 0°C para t.a, o rendimento da reação igual a 98% praticamente não modificou. Portanto, a modificação foi favorável, uma vez que não há mais a necessidade de manter a temperatura baixa. Por outro lado, o uso de uma menor quantidade (0,6 equivalente) de cloreto de cério(III) permitiu também a obtenção do produto desejado, após 4 min de reação, sem prejuízo do rendimento (Tabela 5, p.46). Esse resultado implica uma redução significativa da quantidade de cloreto de cério(III) na reação. No entanto, quando reduziu a quantidade de cloreto de cério(III) para 0,3 equivalente, houve um aumento no tempo reacional e uma redução no rendimento.

Portanto, os resultados obtidos permitiram estabelecer as condições experimentais mais adequadas para a realização das reduções. São elas: utilização de 0,6 equivalente de cloreto de cério(III), tempo de 4 min em metanol a temperatura ambiente. Uma vez escolhida a condição reacional, esta foi, então, empregada na redução das outras *bis*-iminas, Tabela 6 e Tabela 7, p.48.

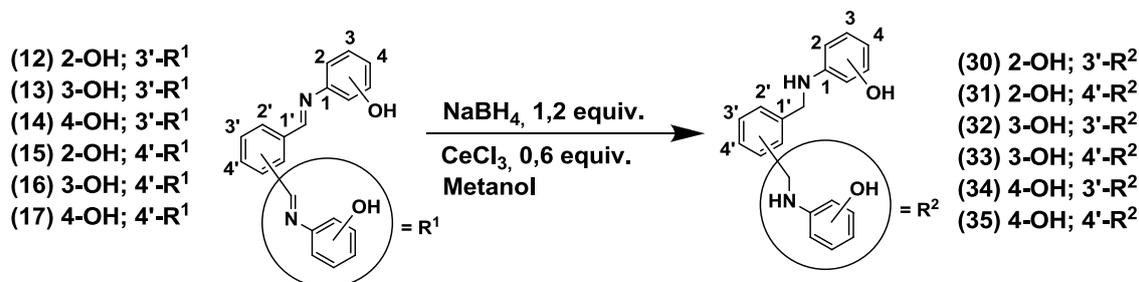
Tabela 6: Dados da obtenção das *bis*-aminas **25-29** sintetizadas empregando cloreto de cério (III) como aditivo



Composto	Tempo (min)	Rendimento (%)
25	4	95
26	4	98
27	4	99
28	4	97
29	5	98

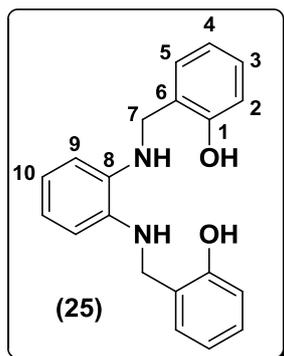
Ao analisar os rendimentos obtidos para os compostos **25-35** (Tabela 6 e Tabela 7) empregando-se a melhor condição alcançada, verificou-se que todos os rendimento foram acima de 84%.

Tabela 7: Dados da obtenção das *bis*-aminas **30-35** sintetizadas empregando cloreto de cério (III) como aditivo



Composto	Tempo (min)	Rendimento (%)
30	5	97
31	4	84
32	5	94
33	4	93
34	4	92
35	4	94

Todos os compostos obtidos por meio da redução foram devidamente caracterizados por medidas de temperatura de fusão, espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C e espectrometria de massas. Uma vez que os compostos apresentam grande similaridade estrutural, nesse trabalho será discutida em detalhes a caracterização do composto **25**. A caracterização dos demais produtos foi realizada de modo semelhante e os dados espectroscópicos encontram-se na parte experimental.



O composto **25** (Tabela 6, p.48) foi obtido como um sólido branco e apresentou temperatura de fusão de 163,2 °C. O espectro na região do IV (Figura 39, p.50) revelou uma banda larga e pouco intensa em 3390 cm^{-1} , proveniente do estiramento da ligação O-H do anel fenólico. O fato de a banda ser pouco intensa indica a ocorrência de possíveis ligações de hidrogênio intramoleculares entre a hidroxila e o nitrogênio da amina, devido à proximidade desses dois grupos. O mesmo não acontece para os compostos que apresentam hidroxilas em posição *meta* ou *para* (HOSHINO *et al.*, 1988; BAKER e SHULGIN, 1959 e BARBOSA, 2007). Em 3290 cm^{-1} observa-se uma banda fina característica do estiramento da ligação N-H. As bandas entre 3038 a 3000 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos das ligações C-H de carbonos sp^2 . As bandas em torno de 2924 e 2854 cm^{-1} são referentes aos estiramentos de C-H de carbono sp^3 . As bandas intensas em 1602 , 1490 e 1456 cm^{-1} correspondem aos estiramentos da ligação C=C do anel aromático (BARBOSA, 2007). Observa-se ainda em 1238 cm^{-1} uma banda intensa característica do estiramento da ligação C-O do fenol.

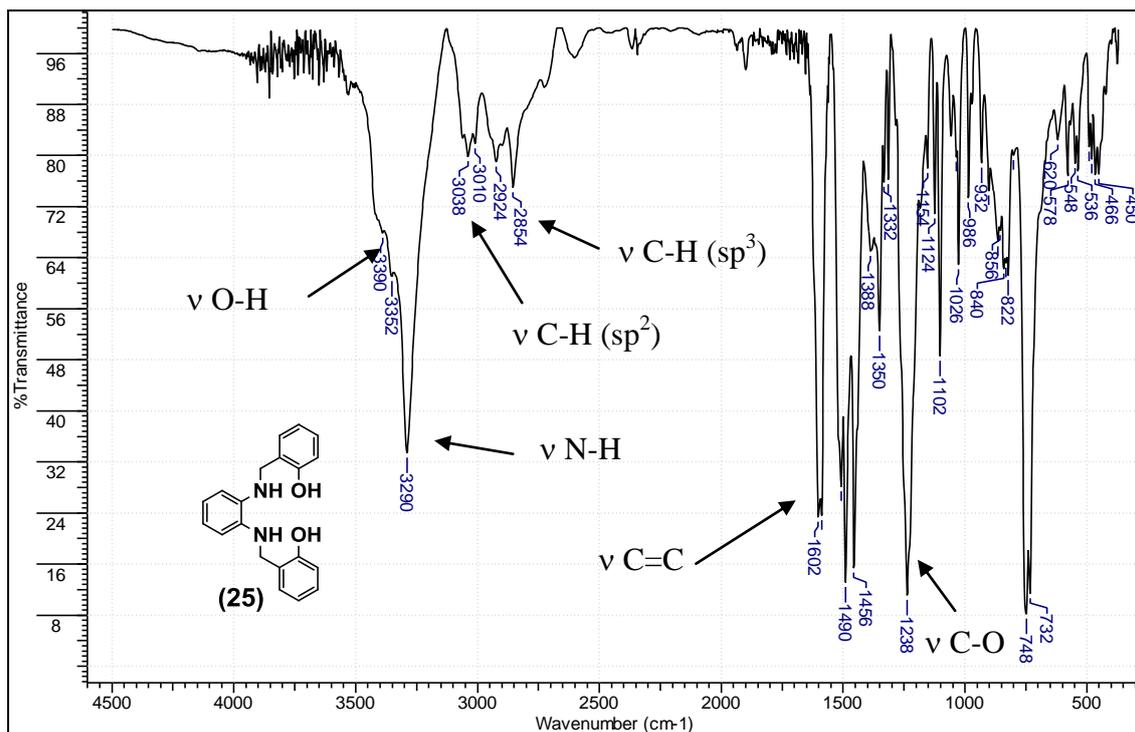


Figura 39. Espectro no IV do composto **25** pastilhado em KBr.

O espectro de RMN de ^1H obtido para o composto **25** (Figura 40, p. 51) apresenta um simpleto em δ 4,25, com integração para quatro átomos de hidrogênio, correspondente a CH_2 . Em δ 5,08 observa-se a presença de um sinal largo, integrado para dois átomos de hidrogênio, sendo atribuído a NH. Um multipletto integrado para quatro átomos de hidrogênio entre δ 6,44–6,45 foi atribuído aos hidrogênios aromáticos do anel central, H-9 e H-10. Dois sinais foram observados em δ 6,73 e 6,85, sendo um tripleto e um dupletto, totalizando quatro hidrogênios, com constante de acoplamento escalar de 7,60 e 8,00 Hz, respectivamente. O primeiro foi atribuído aos átomos de hidrogênio H-4 e o segundo a H-2. Esses átomos de hidrogênio apresentam-se mais blindados, devido à influência do grupo OH, nas posições *orto* e *para*. Outros dois sinais com integração de dois átomos de hidrogênio cada, referem-se a um tripleto e um dupletto com deslocamentos químicos em δ 7,06 e 7,22, respectivamente. Esses sinais são dos átomos de hidrogênio H-3 e H-5, com constante de acoplamento 7,60 e 7,60 Hz. Esses hidrogênios são os mais desblindados, no que se refere a átomos de hidrogênio aromáticos, por estarem em *meta* em relação ao grupo OH. Por fim, um sinal largo com integração para dois hidrogênios, com deslocamento químico em δ 9,76, refere-se aos hidrogênios das hidroxilas (OH).

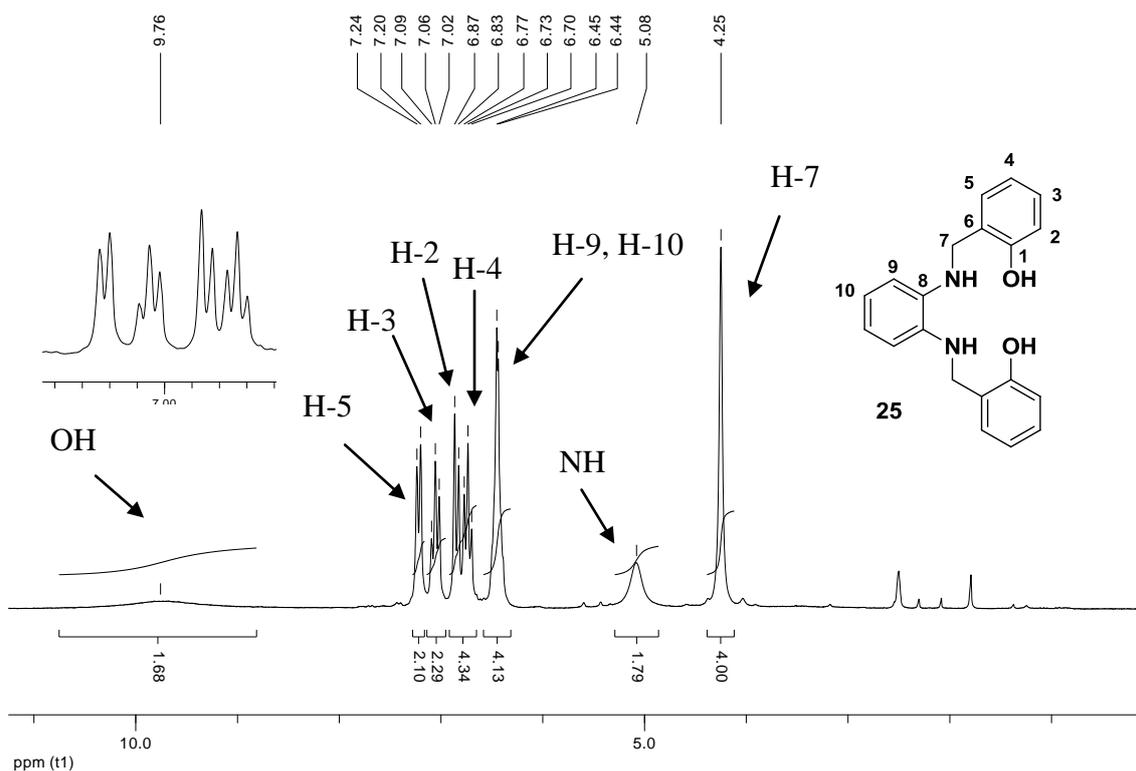


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de composto **25**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 41, p. 52) mostra dez sinais e no subspectro DEPT 135 observam-se sete sinais. O sinal do carbono metilênico C-7 foi observado em $\delta 42,20$ apresentando-se em fase negativa no subspectro DEPT 135 (Figura 41a, p.52). Os sinais verificados em $\delta 109,95/114,85$ correspondem a C-9/C-10. O espectro apresenta mais dois sinais em $\delta 117,20/118,62$, sendo relativos aos átomos de carbono C-4/C-2. O sinal em $\delta 125,65$ corresponde ao carbono não hidrogenado C-6, ligado ao carbono metilênico C-7. Os átomos de carbono C-3 e C-5 apresentam-se mais desblindados, com deslocamento químico em $\delta 127,42/128,39$. Essa maior desblindagem é proporcionada pela posição relativa desses carbonos à hidroxila em *meta*. Por fim, os carbonos C-8/C-1 com deslocamento químico em $\delta 136,14/155,19$, referem-se aos átomos de carbono ligados aos heteroátomos nitrogênio e oxigênio. Como o oxigênio é o átomo mais eletronegativo, este torna o carbono C-1 ligado a ele torna-se mais desblindado.

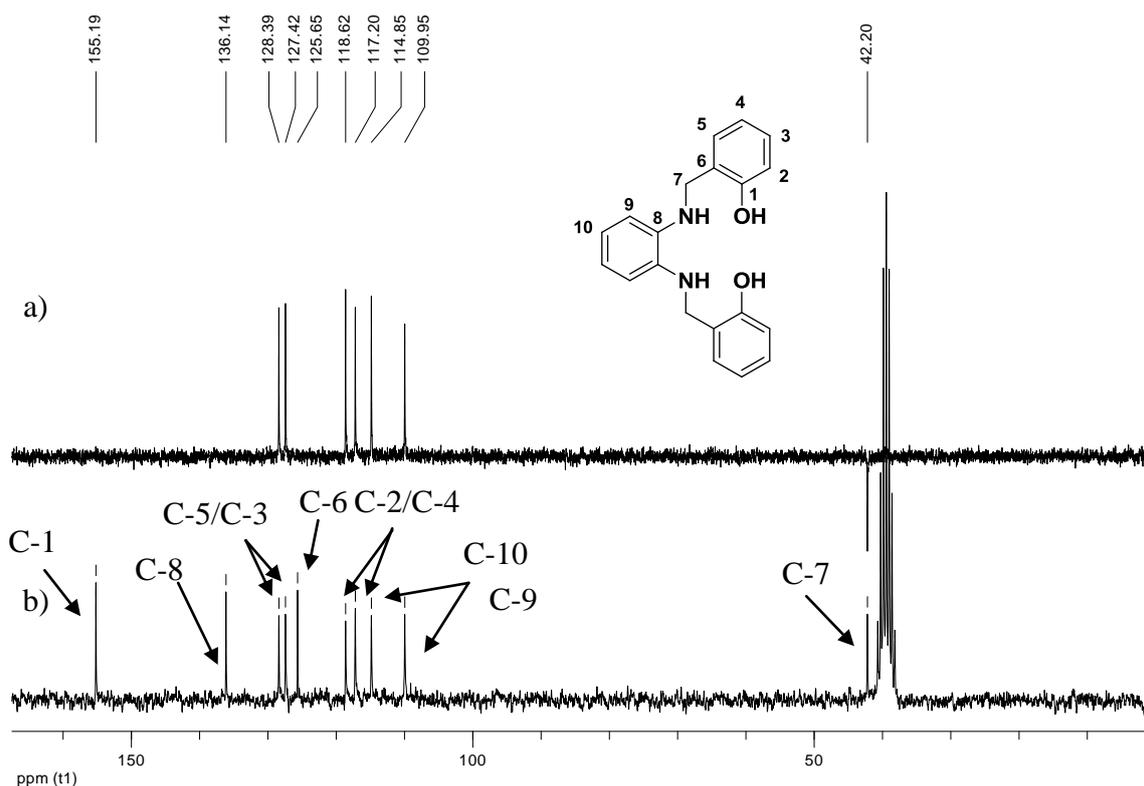


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C (b) e subspectro DEPT 135 (a), (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) para o composto **25**.

Em resumo, os dados de caracterização obtidos para o composto **25** e para todos os outros compostos reduzidos estão de acordo com as estruturas propostas.

2.1.3 - Síntese e caracterização de complexos de platina e de paládio

A síntese dos complexos metálicos de paládio e de platina foi realizada a partir de *bis*-iminas e *bis*-aminas sintetizadas na primeira parte, Figura 42. Os compostos escolhidos foram aqueles que possuem estereoquímica adequada para se coordenarem a metais.

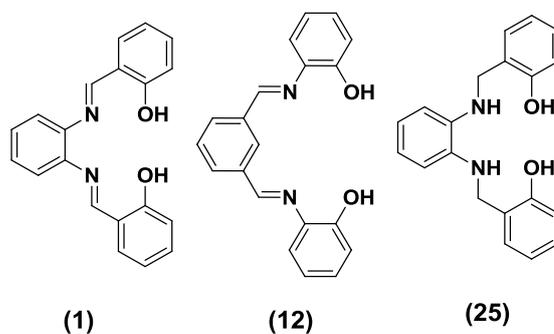
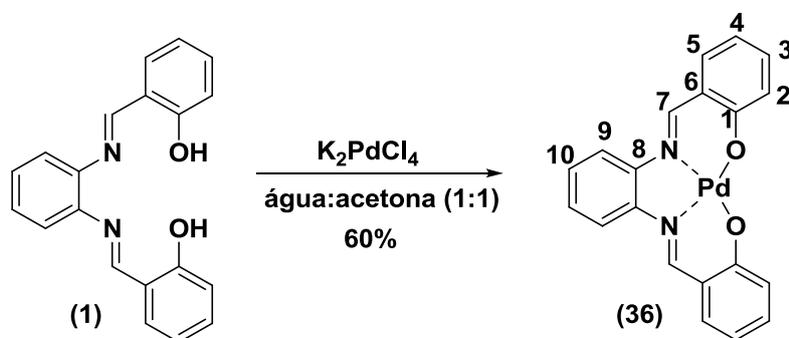


Figura 42. Estrutura química dos compostos utilizados para obtenção dos complexos.

As metodologias utilizadas para a síntese dos complexos foram adaptadas da literatura (HE *et al.*, 2011). O ponto de partida foi a síntese dos complexos de paládio do composto **1**, conhecido como salofen, um ligante tetradentado que forma complexos muito estáveis com íons metálicos (HILLE e GUST, 2010), resultando no complexo **36**, Esquema 20. A utilização inicial desse ligante deve-se ao fato do mesmo ter sido amplamente utilizado na preparação de vários complexos metálicos para aplicações diversas incluindo atividade biológica em células tumorais (HILLE e GUST, 2010). O complexo **36** obtido neste trabalho ligante (**1**) com paládio é inédito. Para caracterização dos complexos foram utilizadas as técnicas de RMN, UV e massas de alta resolução. Para nenhum dos complexos sintetizados foi possível obter monocristal, impossibilitando a análise dos mesmos por difração de Raios-X.



Esquema 20. Síntese do complexo metálico **36** a partir da *bis*-imina **1**.

Para comprovar a obtenção do complexo **36**, seu espectro de RMN de 1H foi comparado ao espectro de RMN de 1H do *N,N'*-*bis*(2-hidroxibenzilideno) benzeno-1,2-diimina (**1**), utilizado como ligante (Figura 43, p.54). Foi possível verificar que o sinal em $\delta 13,05$ referente ao hidrogênio da hidroxila do ligante **1** (Figura 43a, p.54) não aparece no espectro do complexo **36** (Figura 43b, p.54). Também é possível observar um aumento do deslocamento químico do sinal referente ao hidrogênio do grupo imino H-7 e os sinais dos átomos de hidrogênio do sistema aromático do complexo ficaram mais separados (Figura 43b, p.54) quando comparados com os correspondentes no espectro do ligante (Figura 43a, p.54). Os sinais dos átomos de hidrogênio H-2 e H-4 não aparecem superpostos no espectro do complexo, indicando que o H-4 foi blindado e o H-2 sofreu uma pequena desblindagem. Não foi possível obter o espectro de RMN de ^{13}C para o complexo, uma vez que a sua solubilidade é muito baixa.

Portanto, o desaparecimento do sinal referente ao sinal do hidrogênio da hidroxila e a grande variação dos sinais dos hidrogênios que provavelmente estejam próximos do paládio, indicam que o metal deve estar inserido na estrutura.

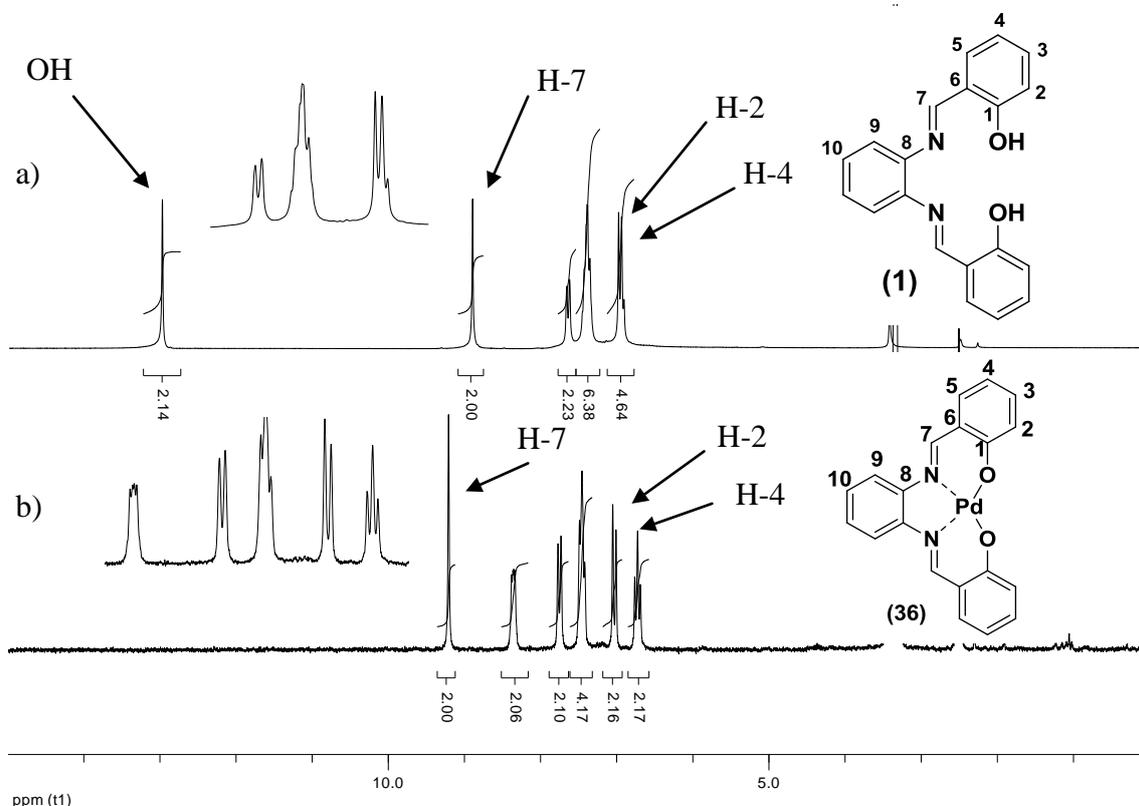


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**) (a) e o espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do complexo **36** (b).

Com a técnica de (+)-ESI-MS foi possível confirmar a razão massa/carga do complexo **36** (421,0233), considerando o isótopo de paládio 106 (Figura 44, p.55). Esse resultado confirmou a presença de apenas um átomo de paládio no complexo, excluindo a possibilidade de formação de um complexo contendo dois ligantes para um paládio, ou dois átomos de paládio para um ligante.

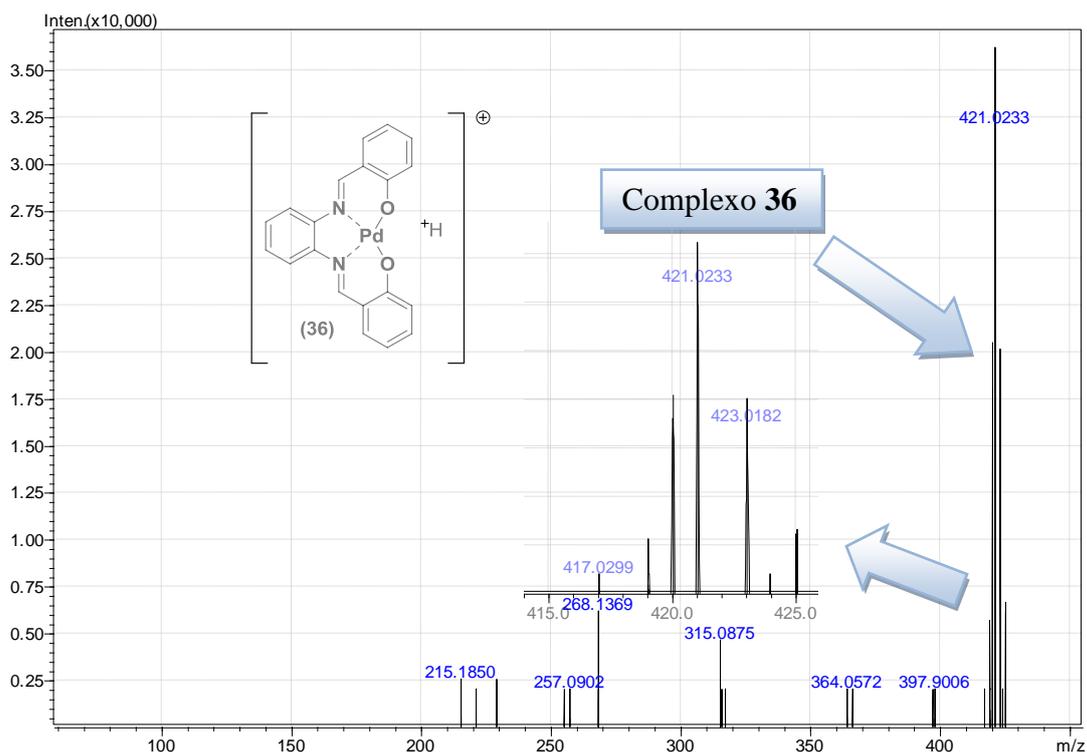


Figura 44. Espectro de (+)-ESI-MS do complexo **36**.

No espectro no ultravioleta foi possível visualizar a diferença entre o complexo **36** e o ligante **1**, Figura 45, p.56, verificando-se duas bandas de absorção do ligante, uma em torno de 209 e a outra em 338 nm. A banda de absorção em 209 nm pode ser atribuída à transição $\pi-\pi^*$ dos anéis benzênicos do ligante enquanto a banda em 338 nm é normalmente atribuída à transição $n-\pi^*$ dos elétrons não ligantes presentes no nitrogênio do grupo imino (MOHAMED *et al.*, 2006). Com a formação do complexo, foi possível verificar uma grande diferença entre os espectros, pois a banda de absorção em 338 nm desapareceu, podendo indicar que os pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da imina podem estar coordenados com o paládio.

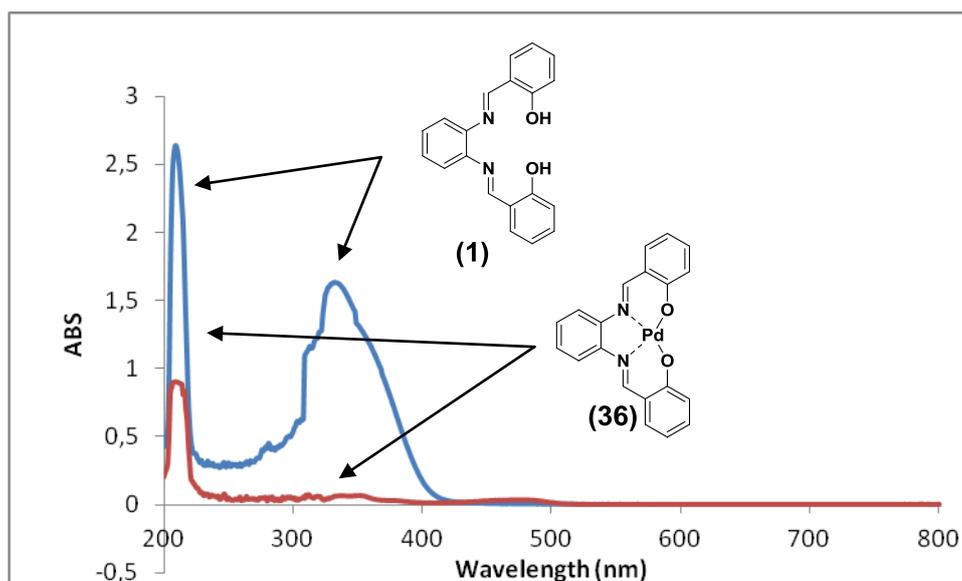
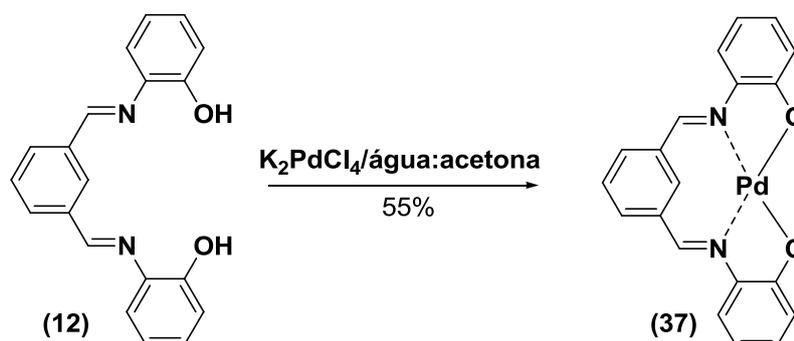


Figura 45. Espectro de ultravioleta (UV) do ligante **1** e do complexo **36**.

Após a síntese do complexo **36**, realizou-se também a síntese para a obtenção do complexo **37**, sendo utilizada a mesma metodologia da síntese do complexo **36**, Esquema 21.



Esquema 21. Preparação do complexo metálico **37** a partir das *bis*-imina **12**.

Para caracterização do complexo **37** tentou-se a técnica de RMN, mas devido à baixíssima solubilidade não foi possível obter um espectro com qualidade suficiente para poder atribuir seus sinais. No entanto, utilizou-se (+)-ESI-MS para tentar obter alguma informação que fosse pertinente (Figura 46, p.57). O material obtido, mesmo pouco solúvel em vários solventes, foi submetido à essa análise utilizando metanol como solvente. O espectro apresenta vários sinais em torno de m/z 421,0049, evidenciando a presença de um paládio em sua estrutura, uma vez que esse metal apresenta vários isótopos.

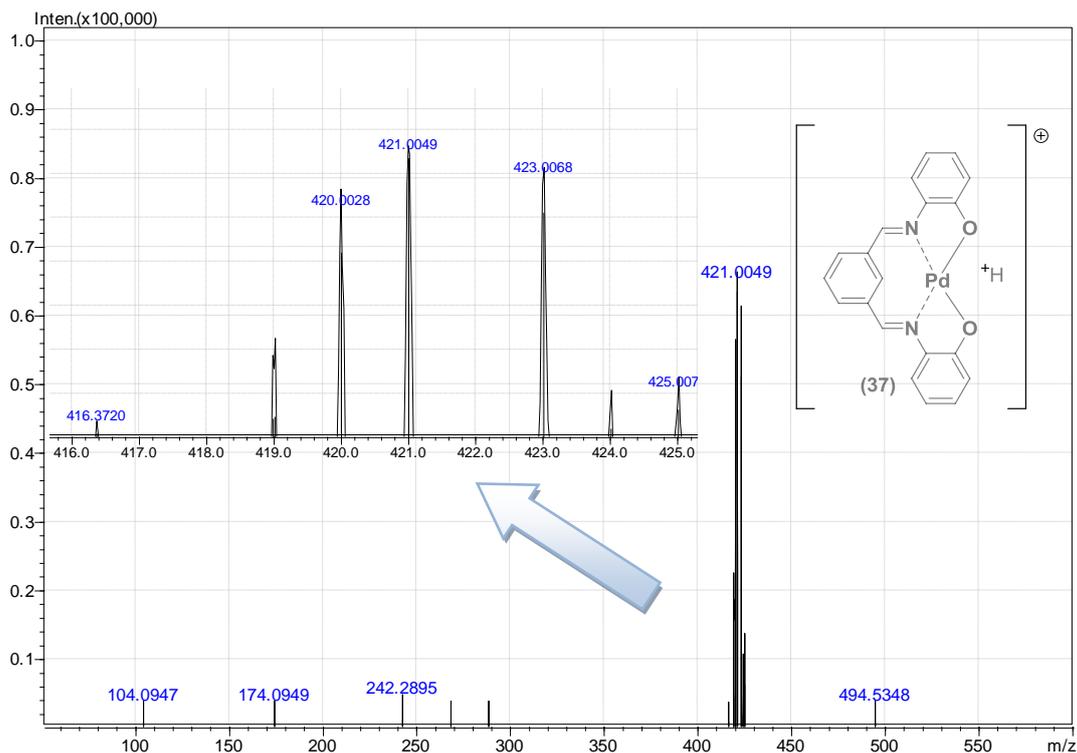


Figura 46. Espectro de (+)-ESI-MS do complexo **37**.

Para o complexo **37** foi obtido o espectro no ultravioleta (UV) (Figura 47, p.58) e quando comparado com o espectro do ligante (**12**) foi possível observar que na região de aproximadamente 220 a 400 nm, houve uma absorção no ligante (**12**) que não foi observado para o complexo (**37**). A diferença entre os dois espectros indica que o metal deve estar realmente ligado à estrutura.

No espectro no ultravioleta do complexo **37**, quando comparado com o ligante **12**, foi possível verificar duas bandas de absorção para o ligante, uma em torno de 209 e a outra em 338 nm. A banda de absorção em 209 nm é atribuída à transição $\pi-\pi^*$ dos anéis benzênicos do ligante e em 350 nm normalmente atribuída à transição $n-\pi^*$ dos elétrons não ligantes presentes no nitrogênio do grupo imino (MOHAMED *et al.*, 2006). O espectro do complexo **37** não apresenta absorção em torno de 350 nm, o que se explica, uma vez que, agora os pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da imina podem estar coordenados com o paládio. Esse resultado foi similar ao obtido para o complexo **36**.

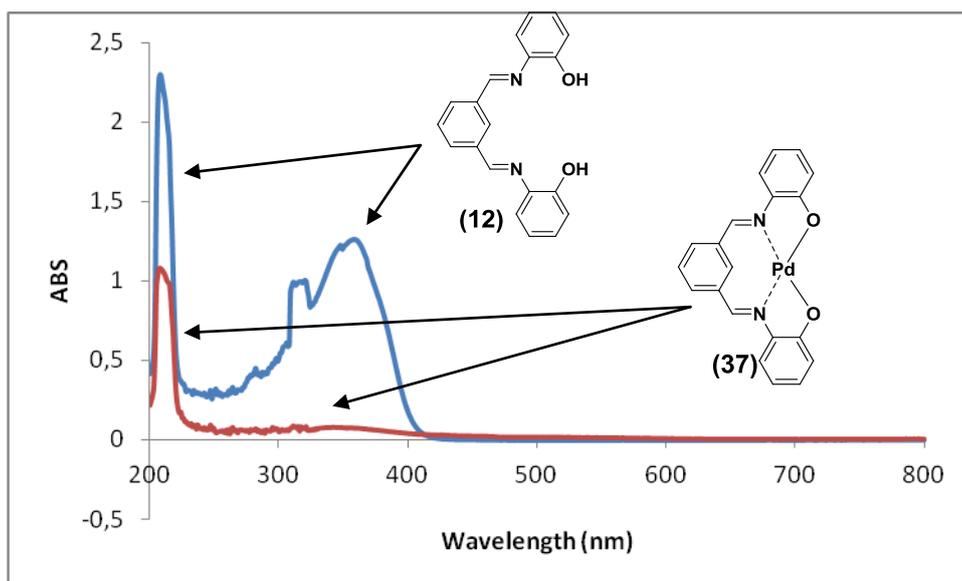
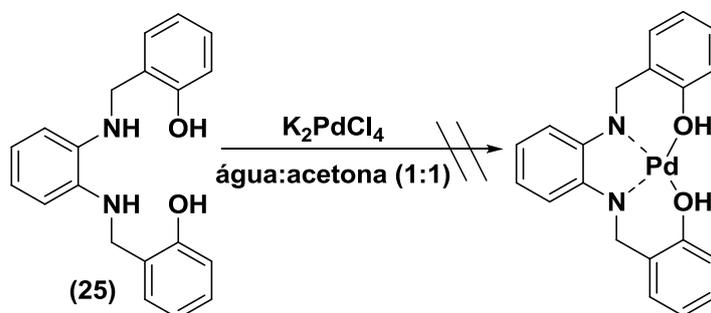


Figura 47. Espectro de ultravioleta (UV) do ligante **12** e do complexo **37**.

Apesar do espectro de RMN do complexo não ter sido obtido, os espectros de massas e ultravioleta do ligante e do complexo apresentaram grandes diferenças, as quais indicaram que em **37** o metal está coordenado ligante **12**.

O ligante **25** foi utilizado em uma tentativa de obtenção de um terceiro complexo, Esquema 22. No entanto, para este composto a metodologia de formação do complexo aplicada anteriormente não funcionou. Então, foram realizadas várias tentativas de síntese, modificando-se o modo de adição dos reagentes, a quantidade de solvente, a proporção entre os reagentes, a temperatura e a desgaseificação do solvente, mas todas sem sucesso. Essas modificações não foram realizadas todas ao mesmo tempo e não surtiram efeito, pois nenhum complexo foi isolado. Portanto, partiu-se para obtenção de outros complexos, utilizando platina.



Esquema 22. Tentativa de obtenção de complexo de paládio utilizando o ligante **25**.

Para essa parte do trabalho, o objetivo foi a síntese de três complexos de platina, utilizando os ligantes **1**, **12** e **25**, Figura 48, p.59. Inicialmente utilizou-se a metodologia

aplicada anteriormente para síntese dos complexos **36** e **37**. No entanto, ao final das reações há formação de um precipitado escuro e insolúvel que não foi caracterizado.

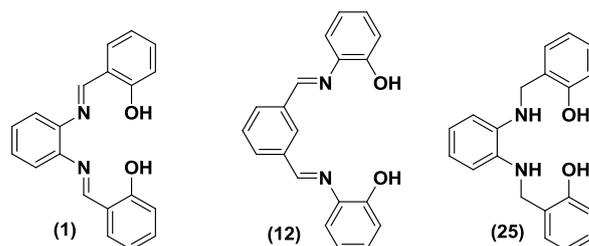
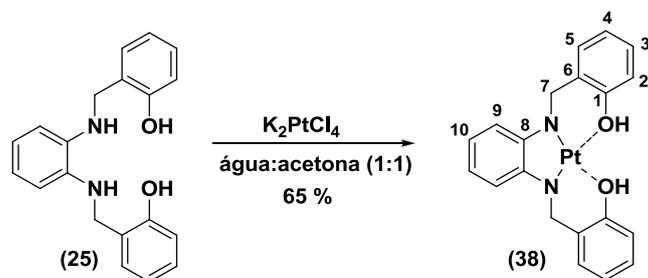


Figura 48. Ligantes utilizados nas tentativas de preparação de complexos de platina.

Após várias tentativas utilizando a metodologia citada, partiu-se para modificações e adaptações da metodologia. Assim, foram realizadas modificações como: o modo de adição dos reagentes, a quantidade de solvente, a proporção entre os reagentes, a temperatura e a degaseificação do solvente. Essas modificações não foram realizadas ao mesmo tempo. No entanto, nenhuma das tentativas surtiu efeito para as reações com os ligantes **1** e **12**, mas com o ligante **25**, foi possível sintetizar o complexo **38**.

Através da modificação do modo de adição dos reagentes. Quando adicionado ao meio de reação o tetracloroplatinato de potássio (K_2PtCl_4) solúvel em água, há formação de um precipitado de mesma cor do material de partida. Esse material foi isolado e submetido a análises de RMN e mostrou tratar-se do ligante que precipitou logo após da adição de água. Tentou-se então inverter a ordem de adição, mas também não se teve sucesso. Entretanto, quando o tetracloroplatinato de potássio (K_2PtCl_4) foi solubilizado primeiramente em uma mistura 1:1 de água e acetona, percebeu-se que o sal do metal foi completamente solubilizado. Em seguida, o ligante **25** foi adicionado lentamente a essa mistura reagente, solubilizando-se completamente e, após 5 min de reação, foi possível verificar a formação de um precipitado de cor branca bem diferente dos materiais de partida. Após 1 h de reação, o material formado foi isolado por filtração, obtendo-se o complexo com 65% de rendimento, Esquema 23, (p.60).



Esquema 23. Síntese do complexo metálico **38** a partir da *bis*-amina **25**.

O espectro de RMN de ^1H do complexo **38** (Figura 49b) foi comparado com o espectro de RMN de ^1H da *N,N'*-*bis*(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diamina (**25**) (Figura 49a). O sinal referente ao NH que aparece no espectro da *N,N'*-*bis*(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diamina (**25**) (Figura 49a), desaparece no espectro do complexo (Figura 49b). Os sinais referentes aos átomos de hidrogênio H-9 e H-10, sobrepostos no espectro do ligante (Figura 49), se separam e apresentam perfil bem diferente no espectro do complexo (Figura 49b). O hidrogênio H-9 sofre maior blindagem. Por fim, o sinal da hidroxila, no espectro do complexo **38** mostra-se fino e intenso, diferente do espectro do ligante. Isso pode ter acontecido, porque sinais de hidrogênio ligados a oxigênio que fazem ligações de hidrogênio intermolecular no ligante normalmente são largos (Figura 49a). O mesmo não foi visto no espectro do complexo (Figura 49b).

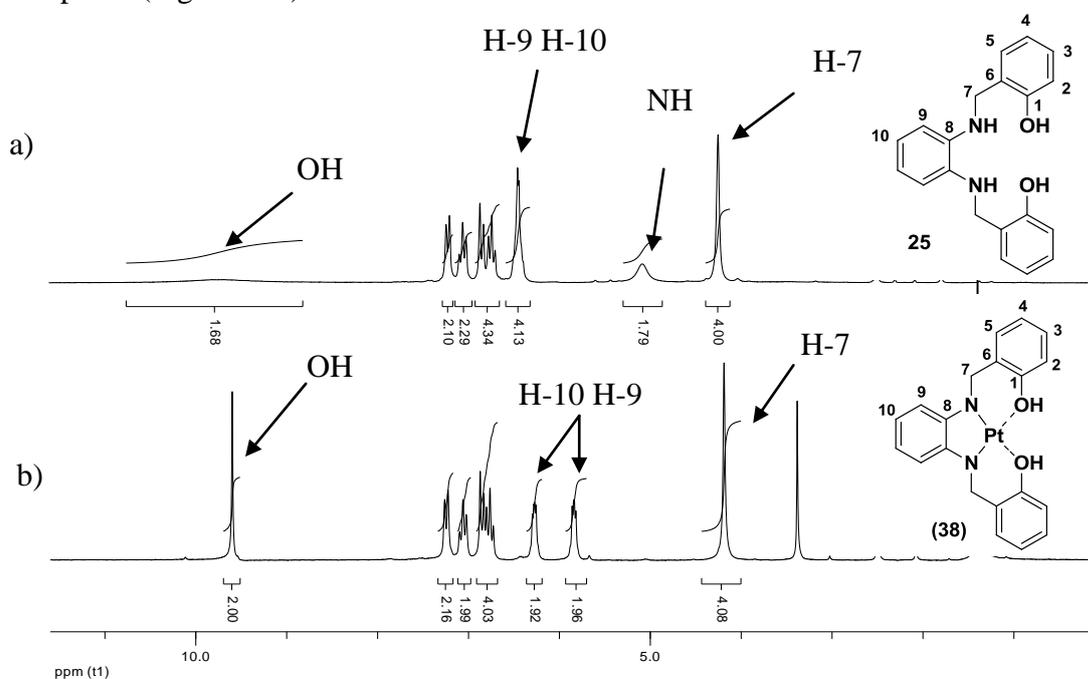


Figura 49. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da *N,N'*-*bis*(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,2-diamina (**25**) (a), espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do complexo **38** (b).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 50a) do complexo quando comparado com o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 50b) da *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina (**25**) foi possível verificar que os átomos de carbono C-8 e C-9 foram os que sofreram as maiores variações nos seus deslocamentos químicos. O sinal do carbono C-9 variou de δ 109,95 para 103,50, sendo blindado pelo efeito do metal e o carbono C-8, ligado ao nitrogênio, sofre uma desblindagem, variando de 136,14 para 140,29.

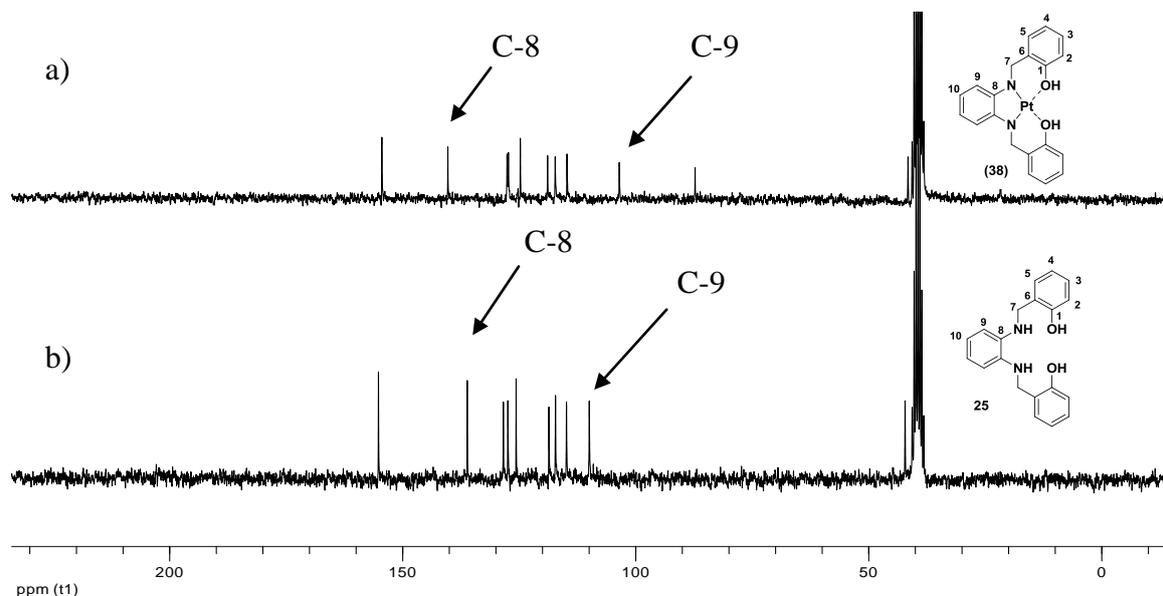


Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) do espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) do complexo **38** (a) e da *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno 1,2-diamina (**25**) (b).

**PARTE III – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA CONTRA FUNGOS PATOGÊNICOS
DE INTERESSE CLÍNICO E CONTRA CÉLULAS
DE CÂNCER**

3.1 ATIVIDADE CONTRA FUNGOS

3.1.1 OBJETIVOS

Em virtude da necessidade crescente por novos agentes antifúngicos e da promissora atividade de iminas frente a esses micro-organismos, essa parte do trabalho teve por objetivos:

- ❖ Avaliar a atividade antifúngica de *bis*-iminas hidroxiladas e carboxiladas e *bis*-aminas hidroxiladas contra fungos de interesse clínico;
- ❖ Correlacionar as atividades observadas ao padrão de substituição dos anéis aromáticos e aos diferentes grupos funcionais.

3.1.2. RESULTADOS

A avaliação da sensibilidade dos fungos aos compostos **1** a **35** foi realizada segundo o método de microdiluição em caldo proposto pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para as leveduras foi realizada segundo o documento M27-A3 do CLSI.

Os micro-organismos utilizados para os testes antifúngicos são da *American Type Culture Collection* (ATCC):

- *Candida albicans* – ATCC 18804;
- *Candida krusei* – ATCC 20298;
- *Candida parapsilosis* – ATCC 22019;
- *Candida tropicalis* – ATCC 00750;
- *Candida glabrata* – ATCC 32608;
- *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608;
- *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957.

Micro-organismos isolados clinicamente (IC):

- *Candida dubliniensis* – CBS 7987.

Todos os micro-organismos pertencem à Coleção de Micro-organismos do Laboratório de Micologia/Departamento de Microbiologia da UFMG.

Os resultados foram divididos por grupos de compostos e estão dispostos em tabelas com o objetivo de avaliar a influência de diferentes regioisômeros e grupos funcionais na atividade antifúngica. Para alguns compostos, a sua atividade não foi determinada (*ND*), devido à precipitação dos compostos no meio de cultura.

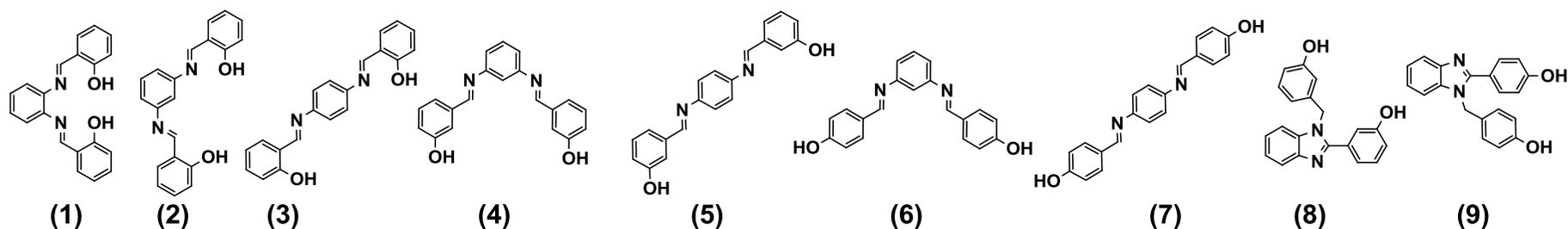
Na Tabela 8, p.65, são apresentados os resultados das *bis*-iminas hidroxiladas **1** a **7** e dos benzoimidazóis **8** e **9**.

Tabela 8 - Atividade antifúngica (CIM) dos compostos contra fungos patogênicos de relevância clínica das bis-iminas hidroxiladas 1-9

Micro-organismo	Compostos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	D	AMB	FLC	
<i>C. albicans</i>	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	0,5	1
<i>C. krusei</i>	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	ND	0,25	1
<i>C. parapsilosis</i>	64	64	>256	>256	64	>256	>256	>256	>256	>256	>256	0,5	1
<i>C. tropicalis</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>256	1	32	
<i>C. glabrata</i>	8	16	>256	>256	>256	>256	>256	16	>256	ND	0,5	1	
<i>C. dubliniensis</i>	32	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	ND	ND	
<i>C. neoformans</i>	4	8	>256	>256	16	>256	>256	8	>256	>256	>256	2	
<i>C. gattii</i>	32	32	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	ND	ND	

CIM: Concentração Inibitória Mínima em que 100% de todos os isolados foram susceptíveis ao agente de interesse em µg/mL;

ND: Não foi determinado; **D:** Dimetilsulfóxido (solvente utilizado); **AMB:** Anfotericina B (fármaco clínico); **FLC:** Fluconazol (fármaco clínico).



Os compostos de **1** a **9**, de forma geral, apresentaram baixa atividade frente aos micro-organismos estudados. As *bis*-iminas hidroxiladas **1**, **2** e **5** e o benzoimidazol **8** foram as mais promissoras. A *bis*-imina hidroxilada **1** mostrou-se ativa frente a *Candida glabrata* – ATCC 32608 (8 µg/mL), *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608 (4 µg/mL), *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 (32 µg/mL), *C. parapsilosis* (64 µg/mL) e um micro-organismo isolado clinicamente (IC) *Candida dubliniensis* – CBS 7987 (32 µg/mL). Vale destacar, que para a espécie de fungo *Cryptococcus neoformans* ATCC 32608, a *bis*-imina hidroxilada **1** apresentou valores de CIM mais próximo ao fluconazol (2 µg/mL), antifúngico comercial.

A *bis*-imina hidroxilada **2** foi ativa para as espécies *Candida glabrata* – ATCC 32608 (16 µg/mL), *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608 (8 µg/mL) *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 (32 µg/mL) e *parapsilosis* (64 µg/mL). A *bis*-imina hidroxilada **5** apresentou atividade apenas para espécie os fungos *Cryptococcus neoformans* ATCC 32608 e *C. parapsilosis*. O derivado de benzoimidazol (**8**) foi ativo para os fungos *Candida glabrata* – ATCC 32608 e *Cryptococcus neoformans* ATCC 32608. Dentre todas as espécies de fungos testadas, a mais sensível frente a esses compostos foi a *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608, sendo sensível aos compostos **1**, **2**, **5** e **8**.

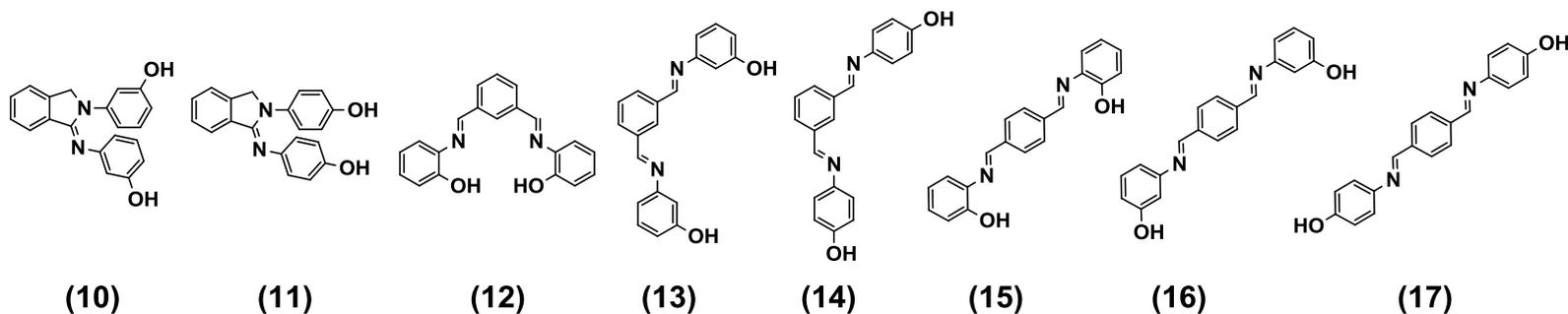
A Tabela 9 (p.67) apresenta os resultados de dois derivados de iminoisindolinas **10** e **11** e das *bis*-iminas hidroxiladas de **12** a **17**.

Tabela 9 - Atividade antifúngica (CIM) dos compostos contra fungos patogênicos de relevância clínica das *bis*-iminas hidroxiladas **10-17**

Micro-organismo	Compostos										
	10	11	12	13	14	15	16	17	D	AMB	FLC
<i>C. albicans</i>	>256	>256	256	>256	128	128	256	128	>256	0,5	1
<i>C. krusei</i>	>256	>256	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	1
<i>C. parapsilosis</i>	ND	ND	128	256	64	64	128	64	>256	0,5	1
<i>C. tropicalis</i>	>256	>256	64	>256	64	64	>256	64	>256	1	32
<i>C. glabrata</i>	>256	>256	256	>256	128	256	>256	128	ND	0,5	1
<i>C. dubliniensis</i>	>256	>256	128	256	128	128	256	128	>256	ND	ND
<i>C. neoformans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>256	>256	2
<i>C. gattii</i>	>256	256	8	64	64	8	64	32	>256	ND	ND

CIM: Concentração Inibitória Mínima em que 100% de todos os isolados foram susceptíveis ao agente de interesse em µg/mL;

ND: Não foi determinado; **D:** Dimetilsulfóxido (solvente utilizado); **AMB:** Anfotericina B (fármaco clínico); **FLC:** Fluconazol (fármaco clínico).



De modo geral, os compostos **10 a 17**, (Tabela 9, p.67) quando comparados com os compostos **1 a 9**, (Tabela 8, p.65) apresentaram atividade para mais fungos. Uma justificativa para a maior atividade foi a mudança na posição do grupamento imino.

Os compostos **12 a 17** foram os que apresentaram, de alguma forma, atividade antifúngica. Dentro dessa classe destacam-se os compostos **12, 15 e 17**, apresentando os menores valores de CIM 8, 8 e 32 µg/mL respectivamente, para o fungo *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 (Tabela 9, p.67).

A espécie de fungo *Candida parapsilosis* – ATCC 22019 foi também sensível aos compostos **12 a 17**, apresentando valores de CIM que variaram de 64 a 256 µg/mL.

Dentre os fungos avaliados, o *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 foi o mais sensível frente aos compostos.

Ao serem analisadas, as estruturas dos compostos que se apresentaram mais ativos (as *bis*-iminas **12, 15, e 17** para o fungo *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957) podem ser feitas as seguintes inferências:

- A posição da hidroxila mostra-se essencial para a atividade antifúngica dos compostos. Os compostos que em suas estruturas a apresentam na posição *orto* ou *para* ao grupamento imino mostraram-se mais ativos frente à maioria dos fungos testados, quando comparado aos outros compostos;
- Quando são comparados os compostos **1 a 9** com **10 a 17**, a posição relativa do grupamento imino foi importante para a atividade antifúngica uma vez que a diferença da posição do nitrogênio da imina forneceu melhores resultados para os compostos **10-17**.

A Tabela 10 (p.70) mostra os resultados antifúngicos dos compostos carboxilados **18-24** empregados nos ensaios. Dentre os compostos avaliados, três (**18, 19 e 20**) são oriundos de ciclização intramolecular mencionadas anteriormente. Esses compostos não apresentaram satisfatórios resultados frente a atividade antifúngica.

No entanto, os compostos **22, 23 e 24**, diferente dos compostos ciclizados, apresentaram os melhores resultados para essa classe. Todos os fungos foram sensíveis na presença desses compostos (Tabela 10, p.70), com exceção dos fungos *Candida*

krusei – ATCC 20298 e a *Candida glabrata* – ATCC 32608, que não foram determinados, pois o composto precipitou no meio de cultura.

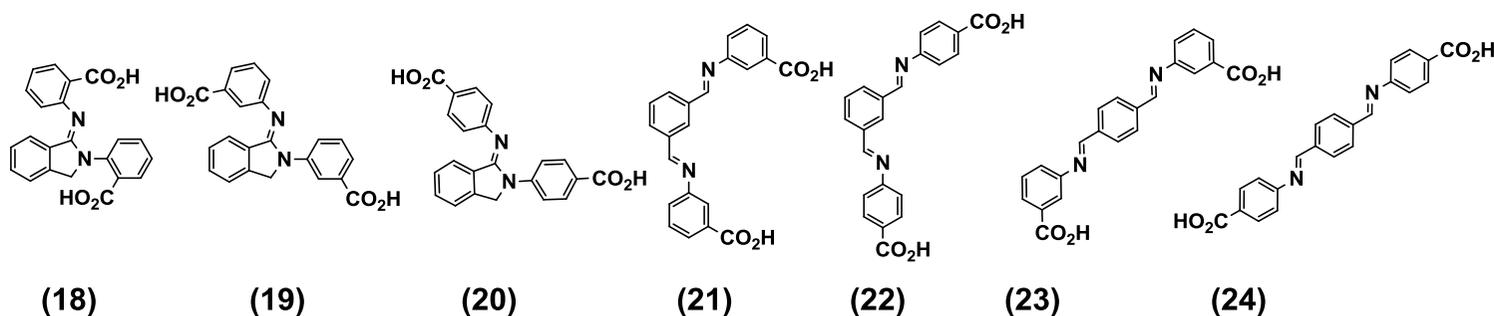
Analisando as estruturas dos compostos carboxilados e fazendo uma comparação entre as estruturas, percebe-se que, nos compostos **23** e **24** os dois grupamentos imino estão em *para*, variando apenas a posição da carboxila. Esses resultados indicam que apesar de terem sido analisados apenas dois compostos, os resultados sugerem uma importância da posição relativa dos grupos carboxilas para a atividade.

Tabela 10 - Atividade antifúngica (CIM) dos compostos contra fungos patogênicos de relevância clínica das *bis*-iminas carboxiladas **18-24**

Micro-organismo	Compostos									
	18	19	20	21	22	23	24	D	AMB	FLC
<i>C. albicans</i>	>256	>256	>256	>256	256	256	256	>256	0,5	1
<i>C. krusei</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	1
<i>C. parapsilosis</i>	>256	>256	>256	256	128	128	128	>256	0,5	1
<i>C. tropicalis</i>	>256	>256	>256	>256	256	256	256	>256	1	32
<i>C. glabrata</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,5	1
<i>C. dubliniensis</i>	>256	>256	>256	>256	256	256	128	>256	ND	ND
<i>C. neoformans</i>	>256	>256	256	256	128	128	128	>256	>256	2
<i>C. gattii</i>	>256	>256	>256	128	64	64	64	>256	ND	ND

CIM: Concentração Inibitória Mínima em que 100% de todos os isolados foram susceptíveis ao agente de interesse em µg/mL;

ND: Não foi determinado; **D:** Dimetilsulfóxido (solvente utilizado); **AMB:** Anfotericina B (fármaco clínico); **FLC:** Fluconazol (fármaco clínico).



Os compostos **25** a **29** são *bis*-aminas e foram obtidos a partir da redução do grupamento imino dos compostos **1** a **9**. Suas atividades antifúngicas foram avaliadas e os resultados encontram-se na Tabela 11, p.72.

Os compostos **25** e **26** apresentaram os menores valores de CIM, com exceção de dois micro-organismos. Os fungos *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 e um micro-organismo isolado clinicamente (IC) *Candida dubliniensis* – CBS 7987 foram os mais sensíveis a esses dois compostos, tendo valores de CIM variando entre 32 a 256 µg/mL. No entanto o composto **25** foi mais ativo que **26**, apresentando valor de CIM 32 µg/mL para o fungo *C. gattii*.

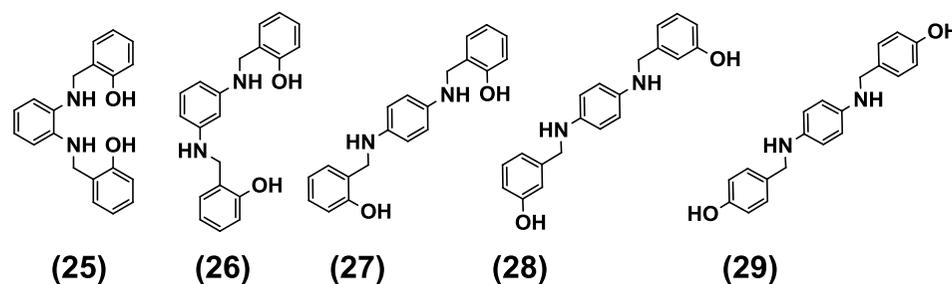
Esses resultados são especialmente interessantes quando analisadas as estruturas desses dois compostos com os menores valores de CIM, uma vez que ambos apresentam a hidroxila localizada em posição *orto* ao grupo metilenoamino, mas diferem na posição relativa dos dois grupos amino. O composto **26**, uma *meta bis*-amina, apresentou ainda uma alta atividade, mas inferior à do composto **25** (*orto, bis*-amina). No entanto, quando a *bis*-amina é *para*, obtém-se o composto **29**, que, praticamente, não teve atividade antifúngica. De acordo com esses dados é possível verificar que a atividade é influenciada pela posição do grupamento amino desses compostos.

Tabela 11 - Atividade antifúngica (CIM) dos compostos contra fungos patogênicos de relevância clínica das *bis*-aminas **25-29**

Micro-organismo	Compostos							
	25	26	27	28	29	D	AMB	FLC
<i>C. albicans</i>	128	128	>256	>256	>256	>256	0,5	1
<i>C. krusei</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	1
<i>C. parapsilosis</i>	128	256	>256	>256	>256	>256	0,5	1
<i>C. tropicalis</i>	128	256	128	>256	256	>256	1	32
<i>C. glabrata</i>	256	256	128	ND	>256	ND	0,5	1
<i>C. dubliniensis</i>	64	64	>256	>256	>256	>256	ND	ND
<i>C. neoformans</i>	ND	ND	ND	>256	ND	>256	>256	2
<i>C. gattii</i>	32	64	128	>256	256	>256	ND	ND

CIM: Concentração Inibitória Mínima em que 100% de todos os isolados foram susceptíveis ao agente de interesse em $\mu\text{g.mL}^{-1}$;

ND: Não foi determinado; **D:** Dimetilsulfóxido (solvente utilizado); **AMB:** Anfotericina B (fármaco clínico); **FLC:** Fluconazol (fármaco clínico).



Os resultados da atividade antifúngica dos compostos **30** a **35** estão mostrados na Tabela 12, p.74, e, de forma geral, essas *bis*-aminas apresentaram alguma atividade frente aos micro-organismos estudados.

Os compostos **30**, **34** e **35** foram os que apresentaram os melhores resultados. Com exceção dos fungos *C. Krusei* e *C. neoformans*, todos os outros foram, de alguma forma, sensíveis a esses compostos. Os compostos **30** e **35** foram ativos frente aos fungos *C. tropicalis* e *C. gattii*, apresentando valores de CIM iguais a 64 e 32 µg/mL respectivamente.

O composto **34** destacou-se pela atividade antifúngica para *C. tropicalis* e *C. gattii*, com valores de CIM iguais a 64 µg/mL e os valores de CIM para o composto **35** foram melhores contra os fungos *C. parapsilosis* (64 µg/mL), *C. tropicalis* (64 µg/mL) e *C. gattii* (32 µg/mL).

C. parapsilosis, *C. tropicalis* e *C. gattii* foram as mais sensíveis para os três compostos (**30**, **34** e **35**).

Ao serem analisadas as estruturas dos compostos que se apresentaram mais ativos podem ser feitas algumas colocações:

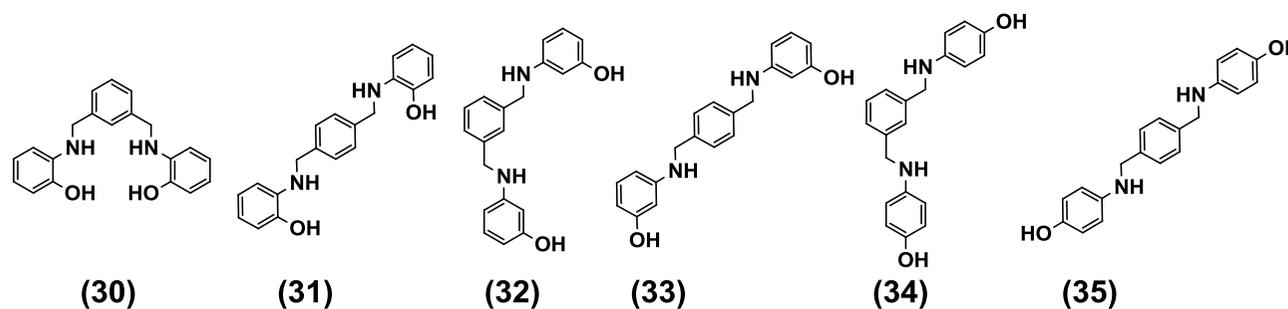
- A presença de substituintes hidroxilas em *orto* ou *para* ao grupo amino mostrasse essencial para a atividade antifúngica dos compostos. As *bis*-aminas com hidroxilas em *meta* mostraram-se inativas frente a todas as espécies, mesmo na maior concentração testada;
- Os compostos testados apresentam os grupamentos amino sempre em *meta* ou *para*. Portanto, o que mais influenciou na atividade foi a variação da posição da hidroxila;
- Quando se faz uma comparação entre todos os compostos testados, fica evidente que as *bis*-aminas **25** a **35** apresentaram um espectro de ação amplo, seguidas pelas *bis*-iminas **10** a **17** e dos carboxilados **18** a **24**. As *bis*-iminas **1** a **9** foram as que apresentaram menores espectros de ação. Esses resultados podem ser utilizados para o planejamento de novos compostos com potencial atividade antifúngica.

Tabela 12. Atividade antifúngica (CIM) dos compostos contra fungos patogênicos de relevância clínica das *bis*-aminas **30-35**

Micro-organismo	Compostos								
	30	31	32	33	34	35	D	AMB	FLC
<i>C. albicans</i>	256	256	>256	>256	128	128	>256	0,5	1
<i>C. krusei</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,25	1
<i>C. parapsilosis</i>	128	256	>256	>256	128	64	>256	0,5	1
<i>C. tropicalis</i>	64	256	>256	>256	64	64	>256	1	32
<i>C. glabrata</i>	256	256	>256	>256	128	256	ND	0,5	1
<i>C. dubliniensis</i>	128	256	256	>256	128	128	>256	ND	ND
<i>C. neoformans</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>256	>256	2
<i>C. gattii</i>	32	256	256	>256	64	32	>256	ND	ND

CIM: Concentração Inibitória Mínima em que 100% de todos os isolados foram susceptíveis ao agente de interesse em $\mu\text{g.mL}^{-1}$;

ND: Não foi determinado; **D:** Dimetilsulfóxido (solvente utilizado); **AMB:** Anfotericina B (fármaco clínico); **FLC:** Fluconazol (fármaco clínico).



3. 2. ATIVIDADE CONTRA CÉLULAS DE CÂNCER

3.2.1. OBJETIVOS

Em virtude da necessidade em desenvolver novos agentes quimioterápicos e explorar o potencial biológico de *bis*-iminas, essa parte do trabalho tem os seguintes objetivos:

- Avaliar a atividade antiproliferativa de *bis*-iminas contra nove linhagens de células de tumores humanos;

- Correlacionar a estrutura dos compostos testados às atividades observadas.

3.2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da atividade antiproliferativa, foi realizada com 17 compostos (Figura 52), contra nove linhagens de células cancerígenas: U251 (glioma, SNC), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células), PC-3 (próstata), OVCAR-3 (ovário), HT-29 (cólon) e K562 (leucemia).

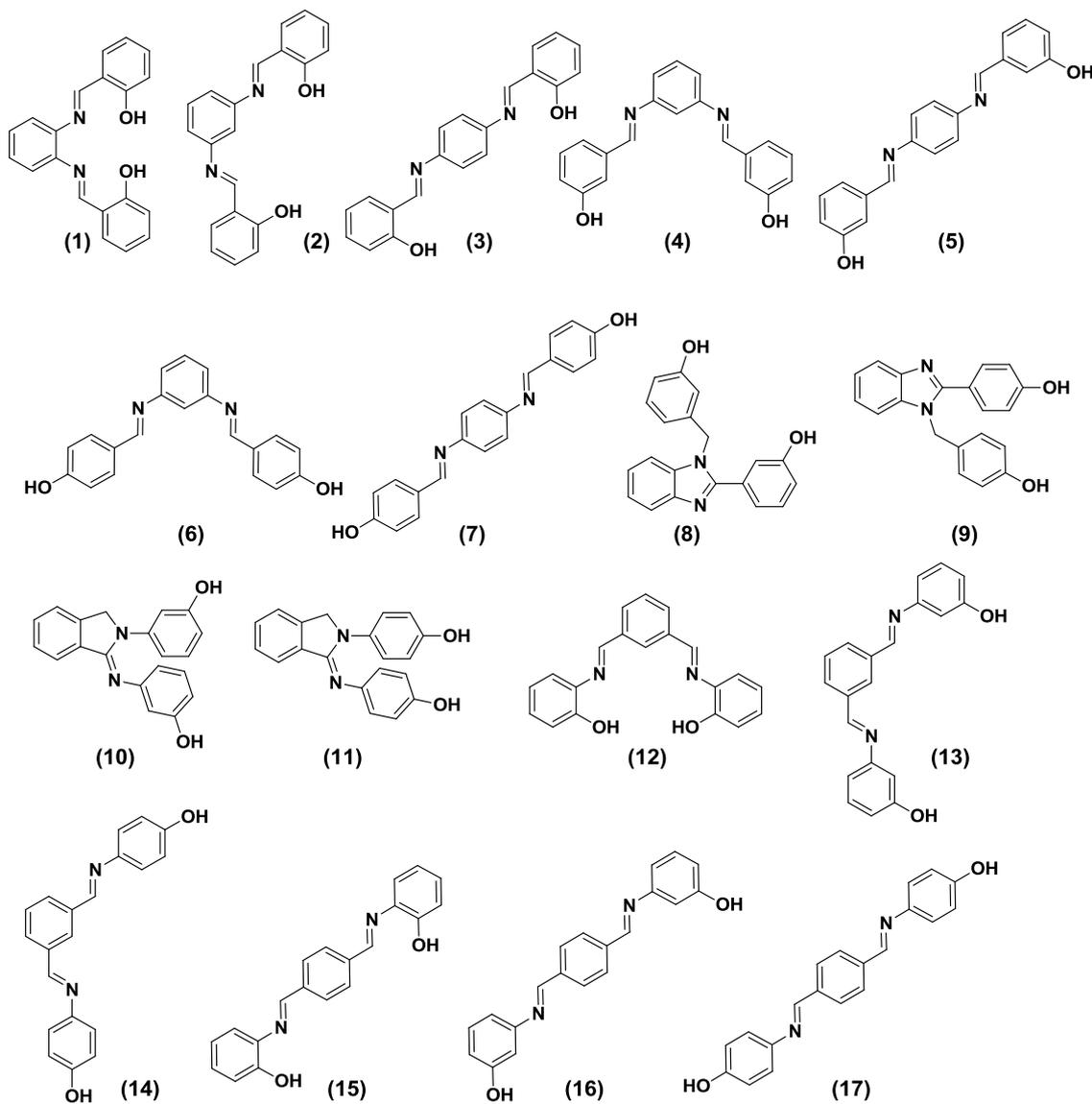


Figura 52. Compostos testados, nesse trabalho, com relação à atividade antiproliferativa.

Todos os testes foram realizados pelo grupo de pesquisa do Dr. João Ernesto de Carvalho, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP.

Os testes de proliferação celular foram determinados por meio da quantificação do conteúdo protéico das amostras através de um teste com sulforrodamina B (MONKS *et al.*, 1991), usando a doxorubicina (DOX) como controle positivo. Em cada avaliação foram realizadas medidas espectrofotométricas no tempo zero (T_0 ; início da incubação) e 48 h após a incubação tanto das células-controle (C; não-tratadas) quanto as expostas aos compostos-teste (T), em concentrações na faixa de 0 a 250 $\mu\text{g/mL}$. A proliferação celular foi determinada empregando-se a equação $100 \times [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

Os resultados referentes à atividade antiproliferativa dos compostos foram apresentados na forma de curvas de concentração *versus* porcentagem de crescimento celular. Valores positivos referem-se à atividade citostática, ou seja, o composto inibe o crescimento celular sem afetar o número inicial de células. Esse efeito é observado quando $C > T \geq T_0$. Os valores negativos referem-se ao efeito citotóxico, ou seja, o composto, além de inibir por completo o crescimento celular, causa uma redução no número inicial de células. Esse comportamento pode ser verificado quando $T < T_0$. Esses valores são utilizados para comparar a eficiência dos compostos testados e evidenciar a seletividade. O gráfico da Figura 53 ilustra esses dois efeitos.

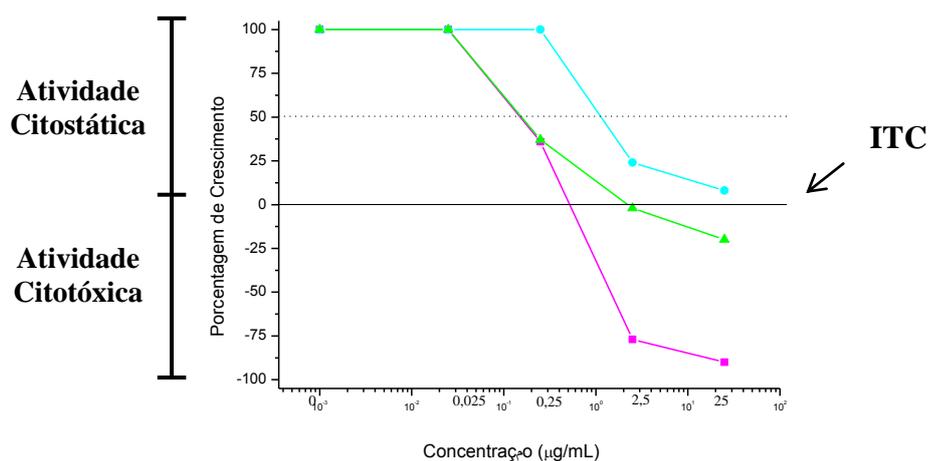


Figura 53. Exemplo de gráfico para a interpretação das curvas de porcentagem de crescimento *versus* concentração.

Os gráficos mostrados nas Figuras 55 a 72 (p.82 a 84) indicam a porcentagem de crescimento celular após incubação de diferentes células cancerígenas durante 48 h, em

função da concentração dos compostos **1** a **17** testados. Para comparação, o gráfico do efeito da variação da concentração da DOX, no crescimento das diferentes células cancerígenas estudadas é apresentado na Figura 72 (p.84).

Quando se verificam os gráficos nas Figuras 55 a 72 (p.82 a 84), na concentração de 2,5 µg/mL, os compostos **1**, **2**, **3**, **7**, **12**, **14**, **15** e **17** apresentaram o efeito citotóxico para várias linhagens de células tumorais. Na concentração de 0,25 µg/mL, os compostos **1**, **3**, **14** e **15** já apresentaram o efeito citotóxico para muitas linhagens estudadas, sendo os melhores resultados encontrados nessa parte do trabalho.

Esse comportamento pode ser atribuído à posição da hidroxila, sendo que para três desses compostos está localizada em posição *orto*, Figura 54. Esse resultado mostra a importância da variação da posição dos grupamentos na estrutura, uma vez que todos os compostos apresentam os mesmos grupos.

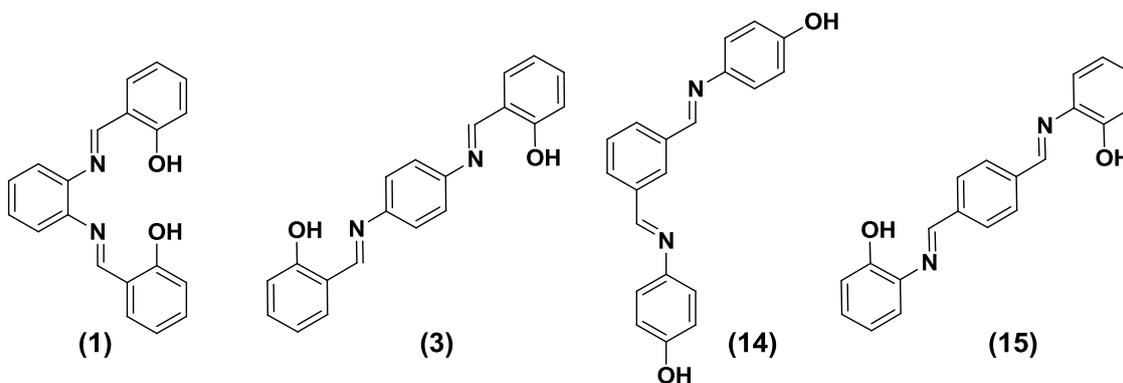


Figura 54. Compostos que apresentaram efeito citotóxico a 0,25 µg/mL.

A Tabela 13, (p.81) mostra os valores de concentração dos compostos testados necessária para inibir 100% do crescimento de células tumorais. Analisando os valores dessa Tabela verifica-se que os três primeiros compostos **1**, **2** e **3** forneceram resultados interessantes. O composto **1** apresenta valor da concentração de inibição total do crescimento igual 0,61 µg/mL contra a célula NCI-ADR/RES (ovário resistente), sendo mais ativo que o controle positivo doxorrubicina (DOX = 2,26 µg/mL).

O composto **2** foi mais ativo contra linhagens de células MCF-7 (mama), U251 (glioma, SNC), OVCAR-3 (ovário), apresentando valores da concentração de inibição total iguais a 1,35, 0,82 e 1,77 µg/mL, respectivamente, embora menos ativo relativamente à DOX. O composto **3** foi o menos ativo dos três, mas, foi seletivo para as linhagens de OVCAR-3 (ovário), U251 (glioma, SNC), UACC-62, (melanoma) com

valores iguais a 4,02, <0,25 e <0,25 µg/mL, respectivamente (Tabela 13, p.81), mas também menos ativo em relação à DOX. Os compostos **4** e **5** foram ativos frente a linhagem UACC-62 (melanoma), apresentando valores de concentração iguais a 15,09 e 1,25 µg/mL, respectivamente. Vale ressaltar que o composto **5** foi cerca de dez vezes mais eficiente que o composto **4**, para essa linhagem, o que pode indicar a importância da posição relativa do grupo imino.

Os compostos **6** e **7** apresentam as hidroxilas nas posições *para* em relação ao grupamento imino (Figura 52, p.76) e a linhagem mais sensível ao composto **6** foi UACC-62 (melanoma) necessitando de uma concentração igual a 3,0 µg/mL para a inibição. Enquanto o composto **7** necessita de 9,48 µg/mL para U251 (glioma, SNC).

Os compostos **8** e **9** foram ativos para a linhagem de célula UACC-62 (melanoma) com concentração de inibição total do crescimento iguais a 0,66 e 1,02 µg/mL, respectivamente.

Os compostos de **10** a **17**, que possuem a posição grupamento imino diferente daquela dos compostos de **1** a **9**, foram avaliados também (Figura 52, p.76). Inicialmente, quando avaliada a atividade dos compostos **10** e **11**, a linhagem mais sensível foi a NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), apresentando valores das concentrações de inibição total iguais a 7,33 e 6,67 µg/mL respectivamente.

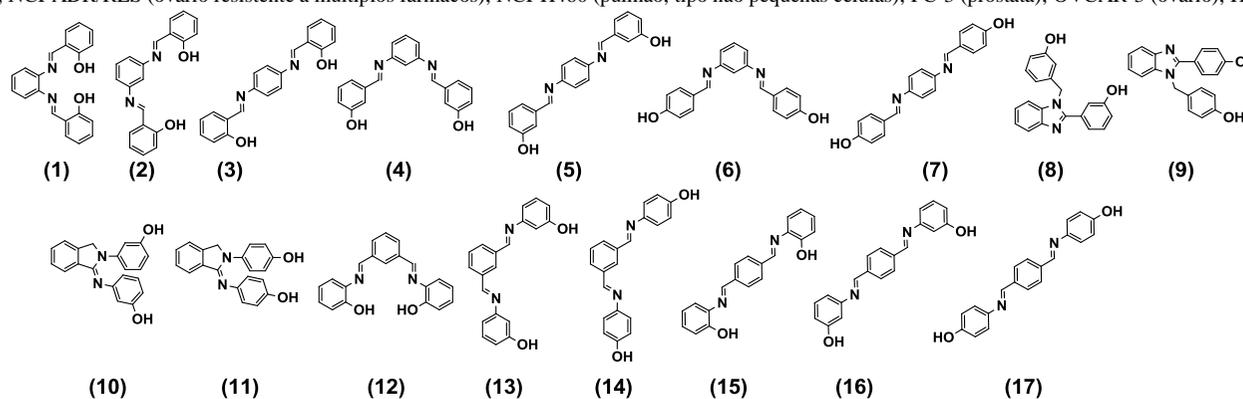
Para a avaliação dos compostos **12**, **13** e **14** (Figura 52, p.76), observa-se pelos dados da Tabela 13 (p.81) que, o composto **14** foi o mais ativo frente às linhagens UACC-62 (melanoma) (<0,25 µg/mL), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos) (3,26 µg/mL), MCF-7 (mama) (2,34 µg/mL), PC-3 (próstata) (3,97 µg/mL), OVCAR-3 (ovário) (4,01 µg/mL) e K562 (leucemia) (5,14 µg/mL). Entre esses compostos existe uma semelhança estrutural, ou seja, os grupamentos imino estão em *meta*, embora a hidroxila esteja variando entre *orto*, *meta* e *para* em relação a esse grupamento. Apesar do composto **14** ser o mais ativo dentre esses três compostos, o composto **12** foi mais seletivo para a linhagem UACC-62 (melanoma) (5,26 µg/mL). Quando os compostos **15**, **16** e **17** foram comparados, o mais promissor é o composto **17**, pois as linhagens U251 (glioma, SNC) (2,94 µg/mL), UACC-62 (melanoma) (<0,25 µg/mL), MCF-7 (mama) (3,29 µg/mL), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos) (8,18 µg/mL), PC-3 (próstata) (6,18 µg/mL), K562 (leucemia) (3,66 µg/mL) foram sensíveis a esse composto. No entanto, o composto **16** não apresentou atividade significativa para nenhuma linhagem, sendo o menos ativo dentre os três compostos. O

composto **15** apresenta atividade contra linhagens de UACC-62 (melanoma) (0,25 $\mu\text{g/mL}$) e K562 (leucemia) (0,94 $\mu\text{g/mL}$), estando na mesma ordem de grandeza apresentada pelo controle positivo doxorrubicina (DOX; 0,15 $\mu\text{g/mL}$) (Tabela 13, p 81).

Tabela 13. Valores de concentração para a Inibição Total do Crescimento (*ITC*)

	U251	UACC-62	MCF-7	NCI-ADR/RES	NCI-H460	PC-3	OVCAR-3	HT-29	K562
DOX	0,12	<0,025	0,25	2,26	1,17	0,40	0,28	3,04	0,15
1	<0,25	<0,25	2,10	0,61	22,08	0,83	22,46	>250	11,64
2	0,82	4,63	1,35	3,90	43,87	2,39	1,77	48,50	74,77
3	<0,25	<0,25	13,64	175,09	>250	28,96	4,02	>250	>250
4	>250	15,09	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
5	203,87	1,25	42,29	13,89	177,42	139,00	80,41	>250	19,85
6	23,62	3,00	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
7	9,48	34,29	43,70	>250	219,71	119,63	25,64	>250	17,61
8	14,80	0,66	7,58	11,47	11,51	11,09	6,95	26,19	8,28
9	>250	1,02	42,72	16,74	>250	>250	>250	>250	69,03
10	29,98	63,34	13,00	7,33	68,30	22,95	250	15,42	33,27
11	58,61	52,46	14,46	6,67	>250	13,11	14,50	>250	18,91
12	>250	5,26	>250	>250	>250	>250	>250	>250	218,17
13	229,11	>250	80,20	79,48	>250	>250	250	>250	60,34
14	12,37	<0,25	2,34	3,26	30,40	3,97	4,01	46,94	5,14
15	18,54	<0,25	19,08	34,97	39,11	7,24	35,53	82,74	0,94
16	>250	64,65	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
17	2,94	<0,25	3,29	8,18	24,76	6,18	24,12	35,15	3,66

ITC: *Total Growth Inhibition* – concentração necessária para inibir 100% de crescimento (linha cheia do gráfico); Calculada por regressão não linear, tipo sigmoidal, em software Origin 7.5. U251 (glioma, SNC); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-3 (próstata); OVCAR-3 (ovário); HT-29 (cólon); K562 (leucemia).



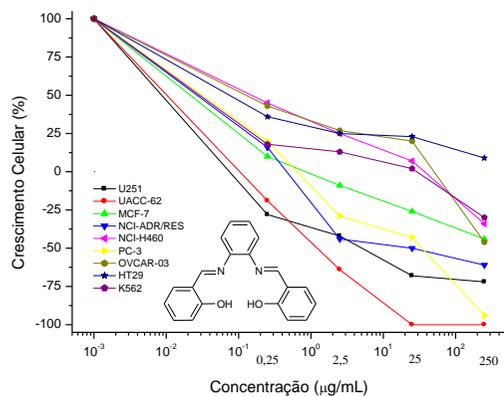


Figura 55. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 1.

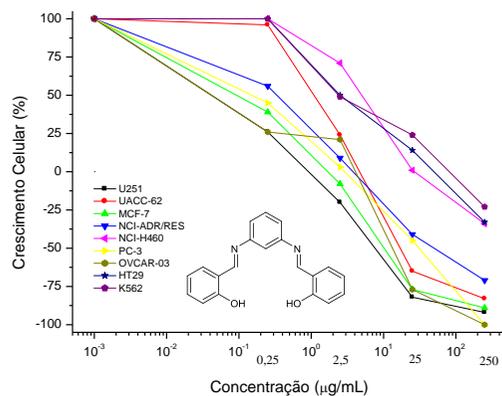


Figura 56. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 2.

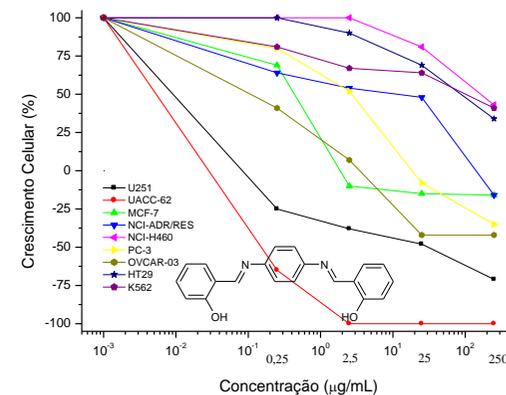


Figura 57. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 3.

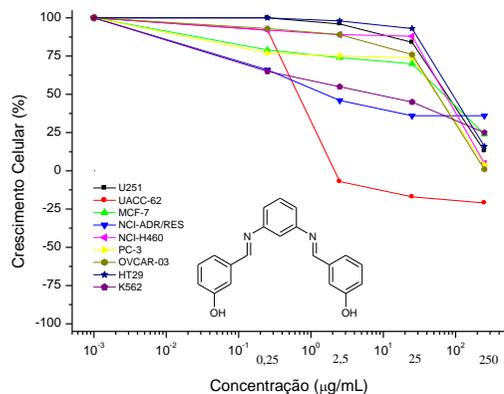


Figura 58. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 4.

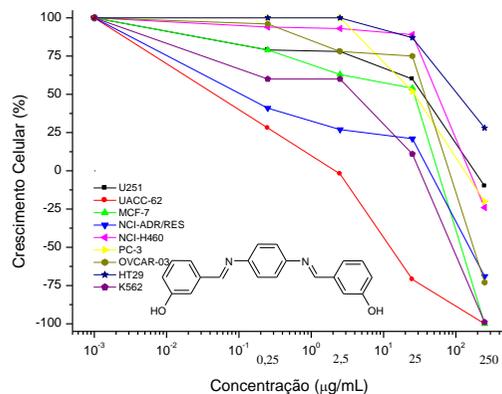


Figura 59. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração composto 5.

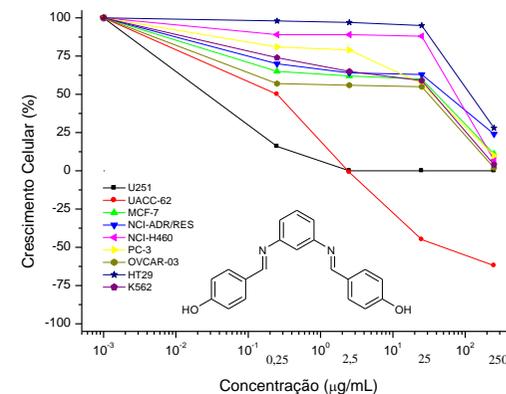


Figura 60. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 6.

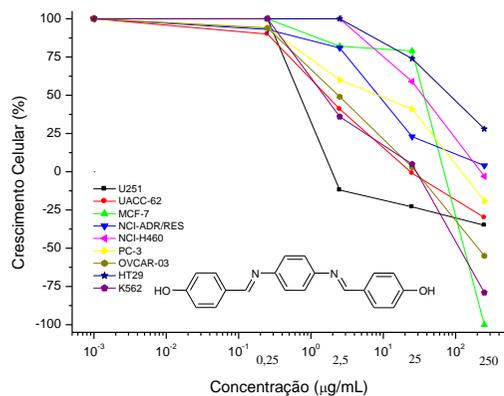


Figura 61. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 7.

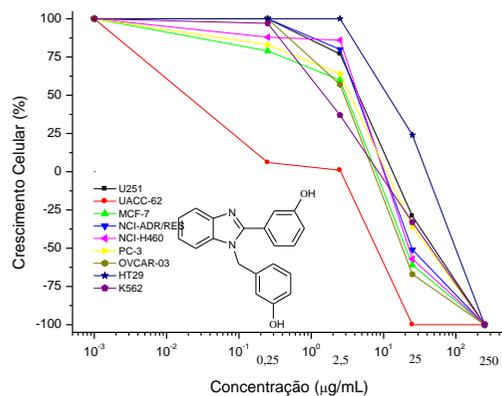


Figura 62. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 8.

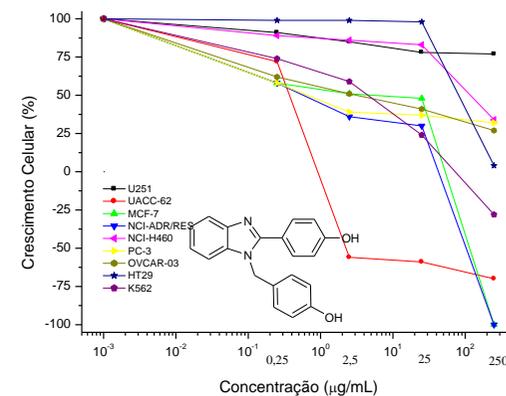


Figura 63. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 9.

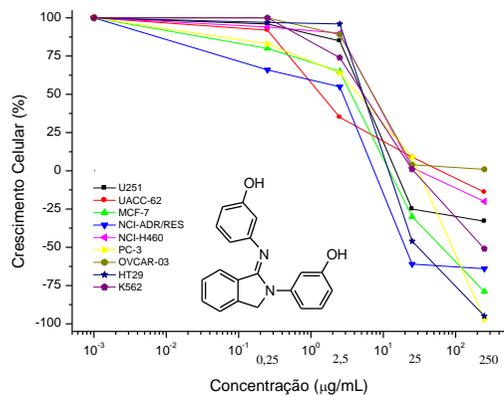


Figura 64. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 10.

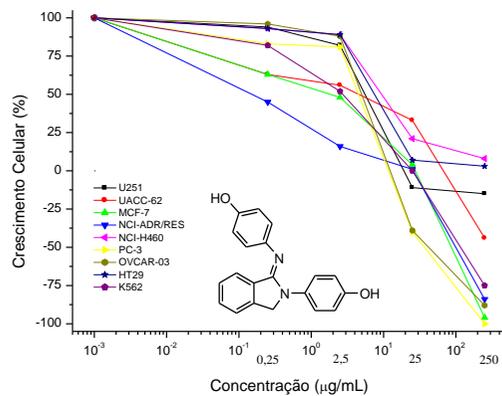


Figura 65. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 11.

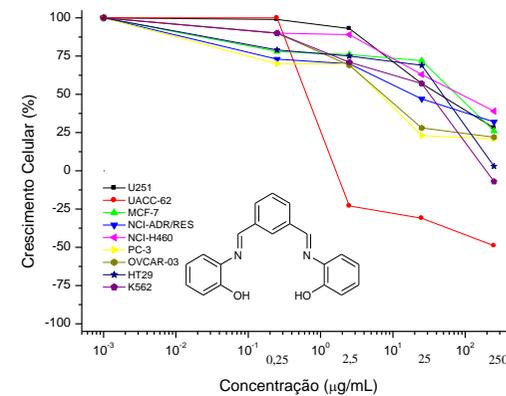


Figura 66. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 12.

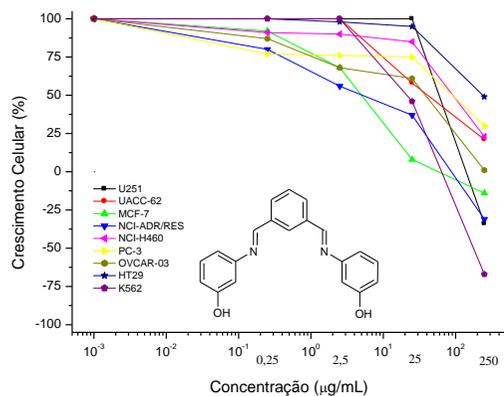


Figura 67. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 13.

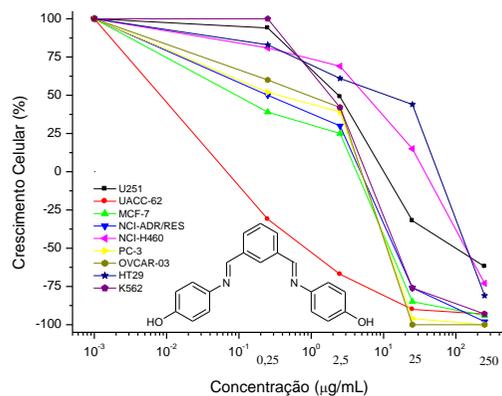


Figura 68. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 14.

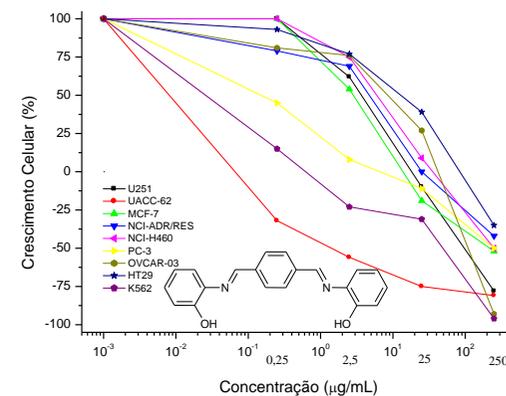


Figura 69. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 15.

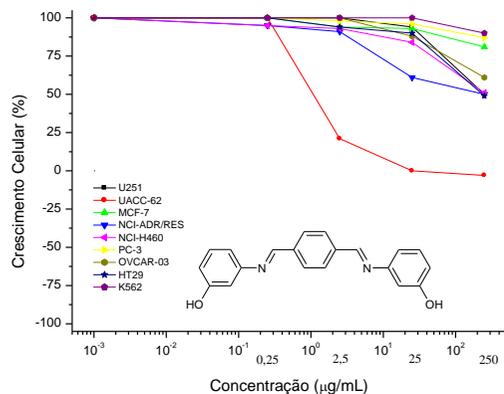


Figura 70. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 16.

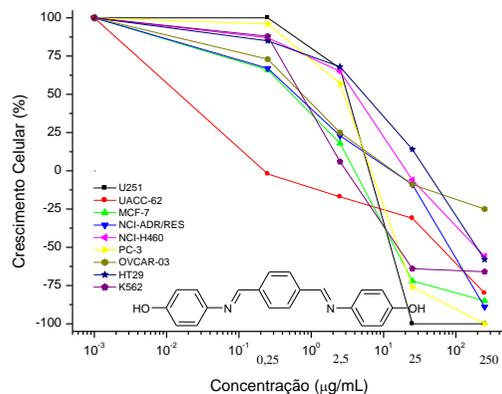


Figura 71. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do composto 17.

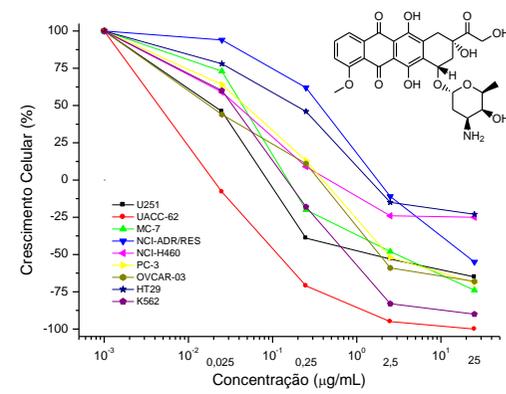


Figura 72. Curvas de porcentagem de crescimento versus concentração do controle positivo Doxorubicina.

**PARTE IV – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE
SEQUESTRADORA DE RADICAIS**

4.1. OBJETIVOS

Avaliar o potencial dos compostos sintetizados nesse trabalho, frente a atividade antioxidante:

- ❖ Avaliar a atividade antioxidante de *bis*-iminas hidroxiladas, carboxiladas e *bis*-aminas hidroxiladas, utilizando os métodos DPPH e o radical superóxido;
- ❖ Correlacionar a estrutura dos compostos testados às atividades observadas;

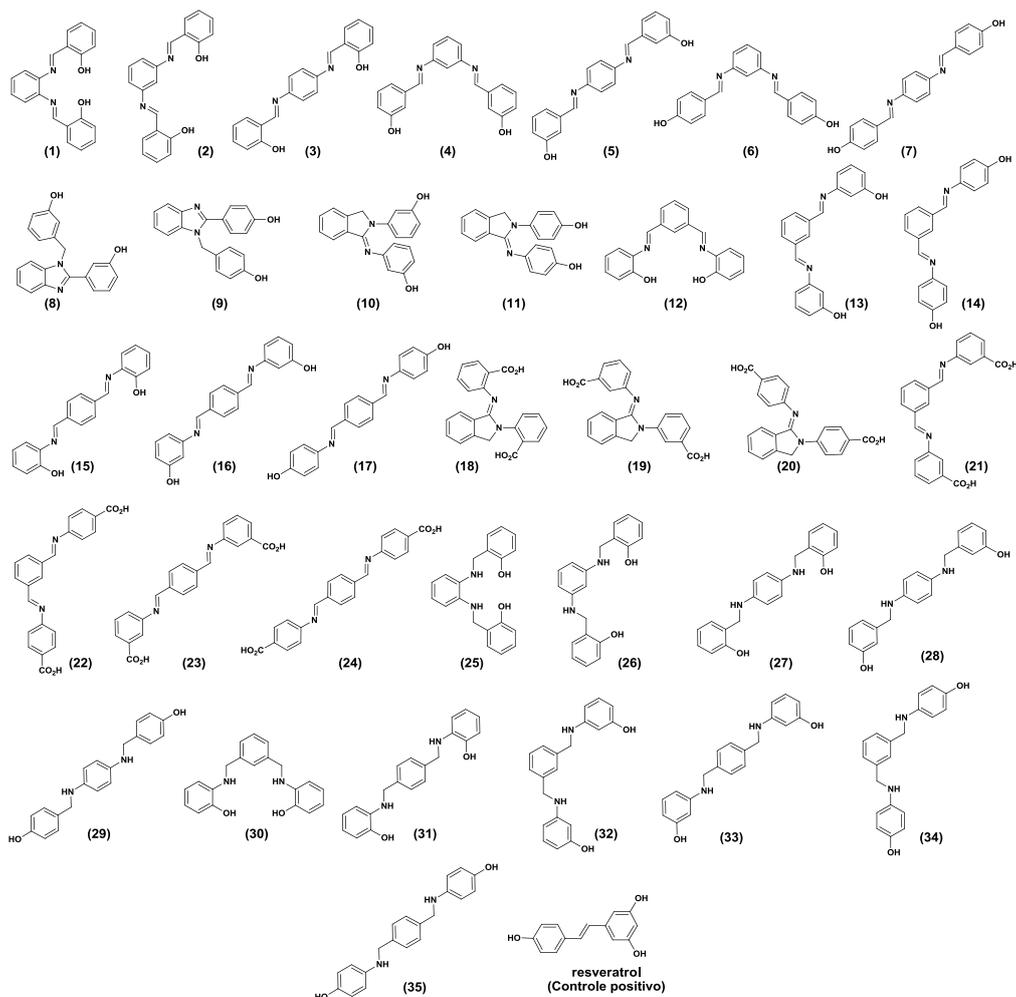


Figura 73. Compostos submetidos ao teste de atividade antioxidante.

O percentual de sequestro de radicais DPPH[•] para os compostos **1** a **35** é apresentado na Figura 74.

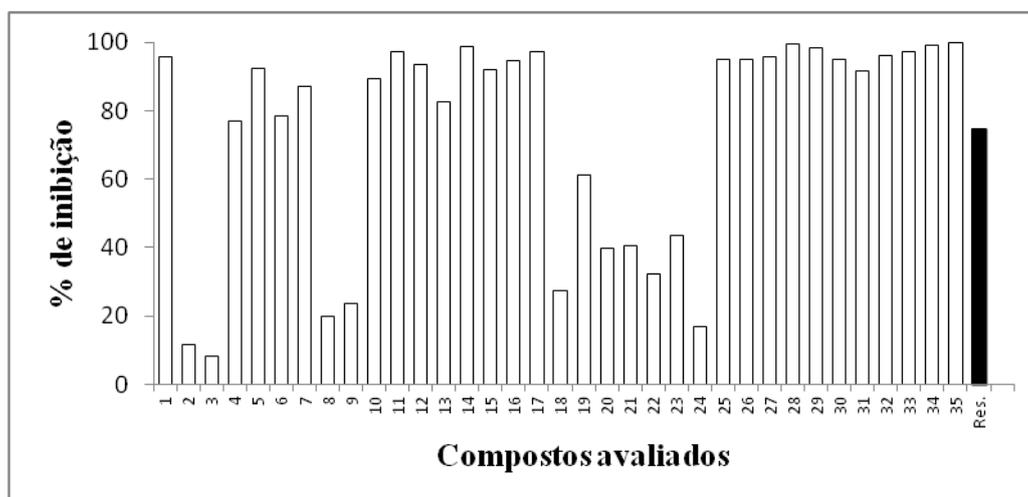


Figura 74. Avaliação dos compostos **1** a **35**, na concentração de 160 μM , frente ao sequestro de radicais DPPH[•] a 100 μM . O resveratrol foi utilizado como controle positivo.

A Figura 74, (p.88) apresenta os compostos **1, 4-7, 10-17, 19, 25-35** como os melhores candidatos para estudos detalhados sobre o sequestro de radicais DPPH[•], uma vez que esses compostos apresentaram percentuais de captura de radicais livres maiores que os exibidos pelo controle positivo resveratrol (75%), exceção para o composto 19 (61%). Os resultados para os compostos **2 e 3** não são significativos, uma vez que eles foram pouco solúveis na concentração avaliada.

Geralmente, os compostos utilizados como antioxidantes apresentam hidroxilas fenólicas em suas estruturas. Pela análise da Figura 76, p.92 verifica-se que quando os compostos carboxilados **19 a 24** foram avaliados, apenas o composto **19** apresenta atividade antioxidante próxima ao controle positivo. Isso indica que, quando o grupo hidroxila é substituído pela carboxila, a atividade antioxidante diminui. Os demais compostos são hidroxilados e variam entre iminas (**1-17**) e aminas (**25-35**), com hidroxilas em posições diferentes. Notavelmente, os compostos hidroxilados foram mais potentes que o controle positivo e, dentre esses, destacam-se as *bis*-aminas **25 a 35**. Os benzoimidazóis **8 e 9** apresentam atividades antioxidantes inferiores ao resveratrol, enquanto que as iminoisindolinas **10 e 11** foram superiores ao controle positivo.

Os experimentos variando a concentração (10, 20, 40, 80 e 160 µM) dos compostos mais promissores foram conduzidos com o objetivo de determinar a capacidade de sequestrar 50% de radicais DPPH (CS₅₀) (Tabela 14, p.90). Os gráficos com esses resultados estão nos anexos (p.LXXIV a LXXVII).

A partir dos gráficos, variando-se a concentração dos compostos (Anexo, p.LXXIV a LXXVII), foi possível determinar a concentração de cada composto necessária para capturar 50% de radicais DPPH[•], cujo valor é apresentado na Tabela 14, p.90. À exceção do composto **1**, todos os compostos que foram selecionados no processo de triagem apresentaram valores de CS₅₀ inferiores ao exibido para o controle positivo (resveratrol). Além disso, dez compostos apresentaram valores de CS₅₀ baixos, sendo a aproximadamente de 20 a 30 vezes menores do que o controle positivo. Tais resultados indicam que esses compostos apresentam um grande potencial no sequestro de radicais livres.

Tabela 14. Concentração dos compostos necessária para capturar 50% (CS₅₀) de radicais DPPH'

COMPOSTO	*CS ₅₀ (µM)	COMPOSTO	*CS ₅₀ (µM)
1	56,7	19	5,4
4	14,0	25	3,0
5	8,6	26	1,1
6	27,8	27	1,1
7	14,4	28	4,6
10	8,1	29	8,6
11	1,8	30	2,1
12	1,7	31	1,7
13	11,7	32	1,0
14	3,8	33	20,1
15	1,9	34	1,7
16	13,8	35	1,4
17	3,9	Resveratrol	34,4

*Os valores foram obtidos a partir de experimentos realizados com DPPH a 100 µM.

Os resultados da Tabela 14 indicam que a estrutura interfere muito na atividade sequestradora de radicais livres, pois compostos com os mesmos grupos funcionais apresentam atividades completamente diferentes. Com exceção do composto **11**, uma iminoisindolina, os compostos **12** e **15** apresentaram CS₅₀ aproximadamente 20 vezes menores que o controle positivo (resveratrol). Esse resultado mostrou que é importante a posição da hidroxila para a atividade sequestradora de radicais livres, pois os melhores resultados foram obtidos quando a hidroxila encontra-se em *orto* ou em *para*.

Na Tabela 14, destacam-se também os compostos **26**, **27**, **29**, **30**, **31**, **32**, **34** e **35**, que são *bis*-aminas obtidas a partir das reduções das *bis*-iminas. Após a redução foi possível verificar que, enquanto as *bis*-iminas apresentam pouca ou nenhuma atividade antioxidante, as respectivas *bis*-aminas tornam-se ativas. Como exemplo, o composto **26** apresenta alta atividade como antioxidante. No entanto, a correspondente *bis*-imina **2** apresenta atividade bem inferior (Anexo, p.LXXIV a LXXV). Portanto, a simples variação de um grupo funcional em outro propicia uma maior na atividade, pois, dentre doze *bis*-aminas testadas, sete apresentaram valores de CS₅₀ inferiores a 2,1 µM.

Dentre as *bis*-aminas que apresentaram os melhores resultados foi possível verificar uma relação entre estrutura-atividade, uma vez que a maioria delas apresenta a hidroxila localizada em *orto* (**26**, **27**, **30** e **31**) ou em *para* (**29**, **34** e **35**) Figura 73, (p.88), exceto o composto **32**, que apresenta a hidroxila em posição *meta*. O mesmo aconteceu com as *bis*-iminas, sendo observados os melhores resultados quando a hidroxila encontra-se em posições *orto* ou *para*.

4.1.3. Atividade sequestradora de radicais ânions superóxidos

Essa parte do trabalho visa avaliar a capacidade sequestradora de radicais ânions superóxidos (O_2^-) dos compostos **1** a **35**. Para a produção de radicais ânions superóxidos (O_2^-), utilizou-se uma mistura de EDTA, L-metionina, NBT e Riboflavina, em etanol na presença de luz durante 30 min. Junto a essa mistura de reação, utilizaram-se os compostos de **1** a **35** (Figura 73, p.88) para avaliar a capacidade em capturar os radicais ânions superóxido formados durante esse processo.

Inicialmente foi realizada uma triagem, testando os compostos de interesse na maior concentração ($160 \mu M$), Figura 75. Vários compostos foram eficientes na inibição de radicais superóxidos. No entanto, os compostos **11** e **20** ajudaram na produção de radicais superóxidos. Os resultados para os compostos **1** e **3** não são significativos, uma vez que eles foram pouco solúveis.

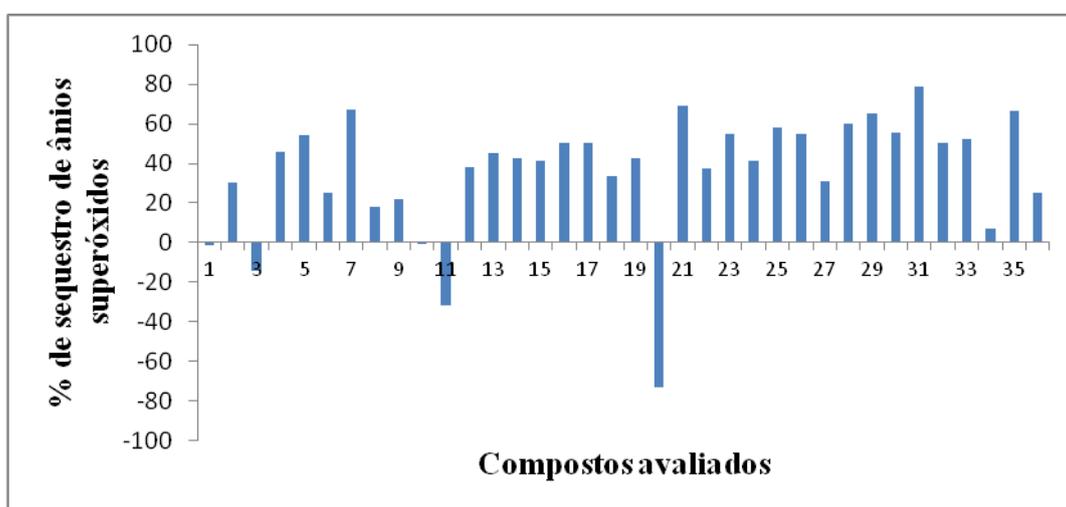


Figura 75. Triagem dos compostos **1** a **35**, (à $160 \mu M$) quanto ao sequestro de radicais superóxido (resveratrol empregado como controle positivo).

Os compostos que apresentaram valores de inibição acima de 50 % (Figura 75, p.91) foram selecionados para a avaliação em diferentes concentrações (10, 20, 40, 160 e 320 μM), Figura 76.

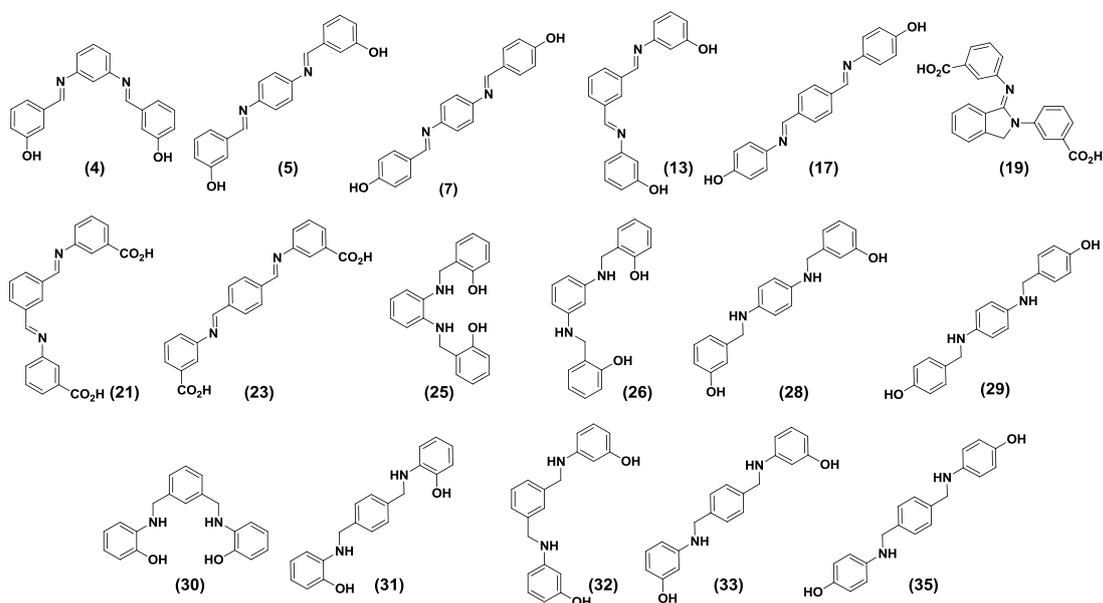


Figura 76. Estrutura química dos compostos que se mostraram mais ativos depois da triagem em capturar radicais ânions superóxidos a 160 μM .

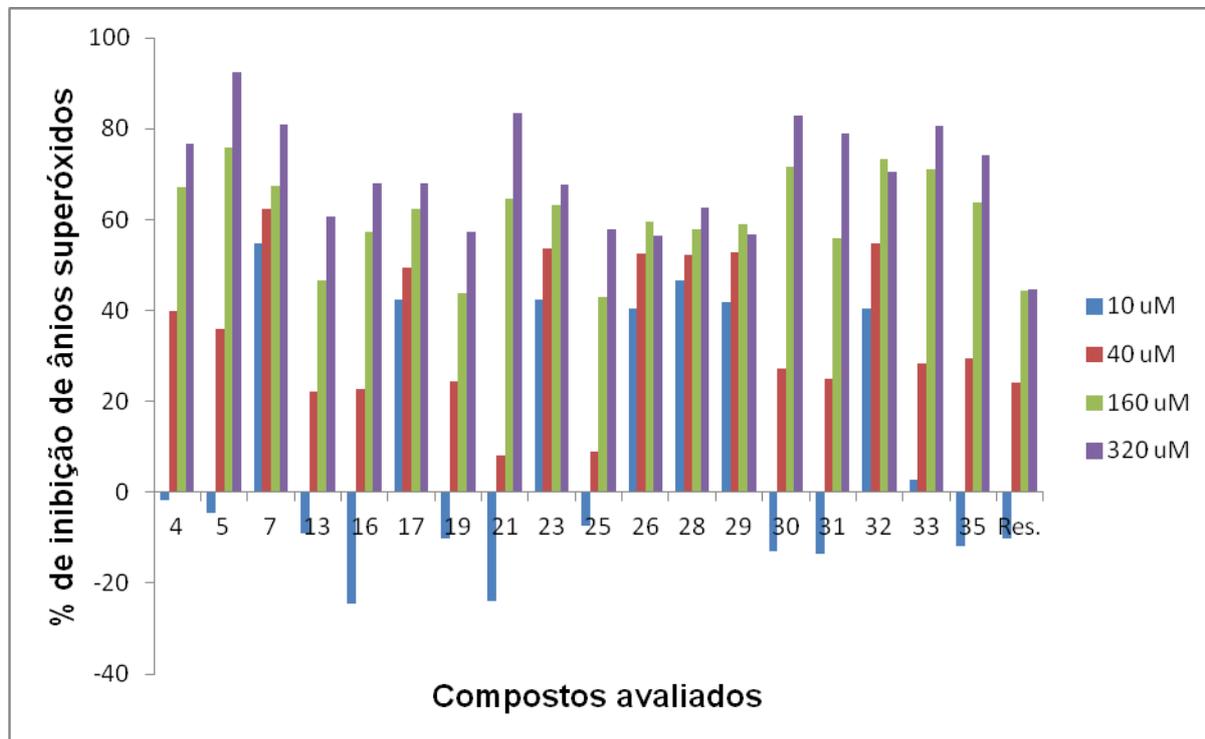


Figura 77. Resultados da atividade antioxidante de vários compostos em diferentes concentrações.

Analisando de forma geral a atividade antioxidante (Figura 77, p.92), os compostos foram geralmente mais ativos que o resveratrol (controle positivo) nas diferentes concentrações avaliadas e, em alguns casos, a atividade foi até duas vezes maiores que a do controle.

A menor concentração avaliada foi de 10 μM e muitos compostos nessa concentração foram incapazes de inibir a produção do ânion superóxido, causando, ao contrário, um aumento desses radicais. No entanto, os compostos **17**, **23**, **26**, **28**, **29**, **32** e **33** apresentaram inibição da produção do ânion superóxido muito superior ao controle positivo, que, nessa concentração não inibiu a produção de radicais livres. Notavelmente, todos os compostos nas concentrações de 40, 80, 160 e 320 μM foram mais ativos que o controle (Anexo, p.LXXIV a LXXV). Com a avaliação desses compostos em várias concentrações, foi possível calcular o CS_{50} para todos (Tabela 15).

Tabela 15. Concentração dos compostos necessária para capturar 50% (CS_{50}) dos radicais superóxidos

COMPOSTO	* CS_{50} (μM)	COMPOSTO	* CS_{50} (μM)
4	82,2	26	33,4
5	62,3	28	21,3
13	99,6	29	31,6
16	132,3	30	100,3
17	45,5	31	138,6
19	237,5	32	29,6
21	126,8	33	73,3
23	29,5	35	73,4
25	120,9	Resveratrol	691,3

*Os valores foram obtidos a partir de experimentos realizados com DPPH a 100 μM .

O controle positivo apresentou uma concentração para capturar 50% dos radicais superóxidos igual a 691,3 μM (CS_{50}), valor muito alto em relação aos dos compostos avaliados. Portanto, todos os compostos foram bem mais ativos que o resveratrol e alguns como **23** (29,5 μM), **26** (33,4 μM), **28** (21,3 μM), **29** (31,6 μM) e **32** (29,6 μM) apresentaram concentrações com valores tão baixos, que chegaram a aproximadamente 20 a 30 vezes menores que o do controle positivo. Tais resultados indicam o grande potencial desses compostos no sequestro do radical ânion superóxido.

PARTE V - PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais e métodos

5.1.1. Instrumentação e Condições

5.1.1.1. Espectroscopia no infravermelho

As análises dos espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram realizadas em aparelho Shimadzu IR-408 (Departamento de Química, UFMG) e os compostos foram pastilhados com KBr, utilizando prensa hidráulica. As atribuições das bandas no infravermelho foram auxiliadas com dados da literatura (BARBOSA, 2007) e (SILVERSTEIN *et al.*, 2000).

5.1.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os experimentos unidimensionais e bidimensionais de RMN foram realizados nos equipamentos BRUKER AVANCE DRX/400, operando a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para o ^{13}C e DPX/200, operando a 200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C . Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano ou, em alguns casos, o sinal residual do próprio solvente deuterado. Os deslocamentos químicos foram apresentados em δ e as multiplicidades (nos espectros de RMN de ^1H) foram apresentadas de maneira abreviada, segundo recomendações da AUREMN (Associação de Usuários de Ressonância Magnética Nuclear). d - duplete; m - multiplete; s - simpleto; sl - simpleto largo; t - triplete. Todos os espectros unidimensionais de RMN foram adquiridos a $25,0 \pm 0,1$ °C.

As amostras foram analisadas em tubos de ressonância de 5 mm de diâmetro. Para a CCD (Cromatografia em camada delgada) foi utilizada sílica gel 60 F₂₅₄ MERCK em folha de alumínio. As purificações por cromatografia em coluna (CC) foram feitas utilizando sílica gel 0,060-0,200 mm (ACROS ORGANICS). 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 e permanganato de potássio.

5.1.1.3. Espectrometria de massas de alta de resolução LCMS-IT-TOF

As análises de ESI-MS foram realizadas em modo positivo em espectrômetro de massas Shimadzu LCMS-IT-TOF. As condições experimentais foram: temperatura do bloco

200°C; temperatura de dessolvatação 200 °C; detector de voltagem 1,63 kV e voltagem da interface (+) 4,5 KV e (-) -3,5 KV, sem o uso de ácidos ou de bases para a ionização. Todos os compostos foram solubilizados em metanol e um volume de 5 µL foi injetado no equipamento. Essas soluções foram injetadas na interface de *electrospray* com uma vazão de 0,2 mL/min de uma mistura de metanol:água (1:1), utilizando a bomba do HPLC. Os espectros de massas foram adquiridos em um intervalo de m/z 50-1000.

5.2 – Procedimentos de síntese

5.2.1 Preparação das *bis*-iminas hidroxiladas aromáticas 1-9.

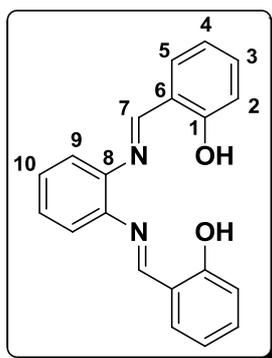
Metodo geral

Os compostos de **1** a **9** foram obtidos por meio da condensação dos hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com as fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*) utilizando tolueno como solvente. Para síntese empregou-se uma metodologia adaptada da literatura para a preparação de mono-iminas aromáticas (BAKER e SHULGIN, 1959), usando um sistema Dean-Stark (DEAN e STARK, 1920) para a remoção de água formada durante a reação.

Foram utilizados a diamina (0,5 mmol, 54,0 mg) e hidroxialdeído (1,0 mmol; 124 mg) na razão molar de 1:2, respectivamente, usando o tolueno a temperatura de refluxo. O tempo das reações variou de 4 a 36 h. As reações foram acompanhadas por CCD e, após o término da reação a solução, foi resfriada e evaporada em evaporador rotatório. A mistura final da reação foi filtrada a pressão reduzida e lavada com o solvente da reação. Todos os produtos formados foram caracterizados por infravermelho (IV), RMN (1D e 2D), CHN e ESI/MS.

Tabela 16. Parâmetros para obtenção dos compostos de **1** a **9**

Compostos sintetizados	Tempo de reação (h)	Rendimento (%)
1	3,5	92
2	7,5	81
3	8,5	91
4	24	95
5	5	89
6	24	94
7	5,5	95
8	3,5	85
9	5	89

***N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiimina (1)**

T_f: 164-166°C

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3446, 3054, 2988, 1614, 1561, 1494, 1481, 1449, 1277, 1192, 1151, 910, 831, 761, 746, 640, 582 e 502.

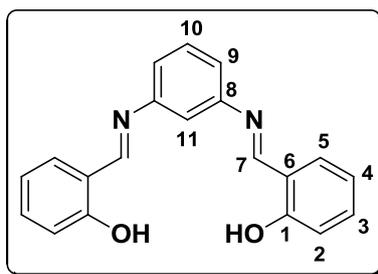
RMN de ¹H (200 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 13,00 (s, 2H, OH), 8,92 (s, 2H, H-7), 7,66 (d, 2H, H-5, *J* = 7,20) 7,42-7,37 (m, 6H, H-3, H-9, H-10), 7,00-6,93 (m, 4H, H-2 e H-4).

RMN de ¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 163,89 (C-7), 160,32 (C-1), 142,14 (C-8), 133,31, 132,38 (C-3, C-5), 127,68, 119,60 (C-10, C-9), 119,37 (C-6), 118,96 e 116,58 (C-2, C-4).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,83; H, 5,03; N, 8,64.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1251.

N,N'-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiimina (2)



T_f: 108-110°C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3435, 3051, 2990, 1621, 1592, 1567, 1498, 1459, 1410, 1360, 1282, 1195, 1152, 1135, 951, 898, 819, 763, 755, 688, 485.

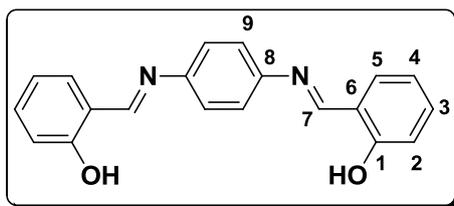
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm), *J* (Hz): 13,08 (s, 2H, OH), 8,61 (s, 2H, H-7), 7,42 (t, 1H, H-10, *J* = 7,60), 7,38-7,35 (m, 4H, H-3, H-5), 7,16 (s, H-11), 7,14-7,13 (m, 2H, H-9), 7,02 (d, 2H, H-2, *J* = 8,00), 6,93 (t, 2H, H-4, *J* = 7,60).

RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃), δ (ppm): 162,94 (C-7), 160,89 (C-1), 149,15 (C-8), 133,17, 132,30 (C-3, C-5), 129,98 (C-10), 119,36, 118,94 (C-9, C-2), 118,80 (C-6), 117,00 (C-4), 113,83 (C-11).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,74; H, 5,27; N, 8,90.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,0934.

N,N'-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiimina (3)



T_f: 208-210°C;

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3436, 3053, 2999, 1611, 1571, 1492, 1282, 1189, 1161, 907, 833, 761, 750, 734, 618, 526.

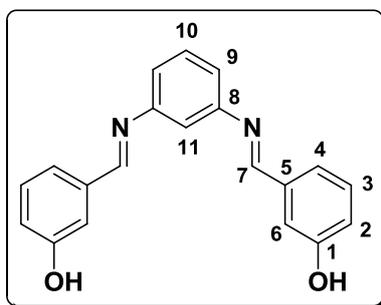
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm), *J* (Hz): 13,19 (s, 2H, OH), 8,67 (s, 2H, H-7), 7,44-7,37 (m, 8H, H-3, H-5 e H-9), 7,04 (d, 2H, H-2, *J* = 8,00), 6,96 (t, 2H, H-4, *J* = 7,60).

RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃), δ (ppm): 162,36 (C-7), 161,14 (C-1), 147,13 (C-8), 133,32, 132,34 (C-3, C-5), 122,27 (C-9), 119,18, 117,30 (C-2, C-4).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,26; H, 4,70; N, 9,21.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1261.

N,N'-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiimina (4)



T_f: 159-160°C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3418, 3066, 3026, 1674, 1624, 1586, 1474, 1456, 1270, 1242, 1156, 1140, 948, 898, 884, 784, 698, 684.

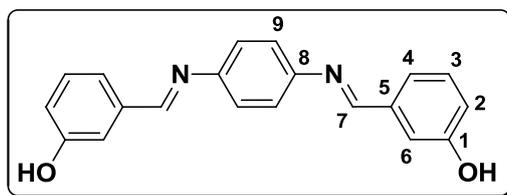
RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 9,75 (s, 2H, OH), 8,60 (s, 2H, H-7), 7,44-7,28 (m, 7H, H-2, H-3, H-9 e H-10), 7,15-7,12 (m, 3H, H-6 e H-11), 6,97 (d, 2H, H-4, *J* = 7,40).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 161,10 (C-7), 157,70 (C-1), 152,40 (C-8), 137,34 (C-5), 130,24, 129,83 (C-10, C-3), 120,42, 118,87 (C-9, C-6), 114,64, 114,32 (C-2, C-4), 112,90 (C-11).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,99; H, 4,79; N, 8,29.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1295.

N,N'-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiimina (5)



T_f: decomposição 230°C

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3434, 3400, 3048, 2910, 1622, 1594, 1456, 1388, 1276, 1208, 1118, 996, 856, 782, 682.

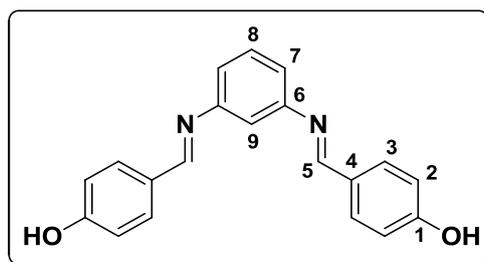
RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 9,77 (s, 2H, OH), 8,60 (s, 2H, H-7), 7,46-7,36 (m, 10H, H-2, H-3, H-6 e H-9), 7,01-6,98 (m, 2H, H-4).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 159,94 (C-7), 157,66 (C-1), 149,21 (C-8), 137,44 (C-5), 129,82 (C-3), 121,97 (C-9), 120,35, 118,72, 114,20 (C-2, C-4, C-6).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,52; H, 4,79; N, 8,29.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1263.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiimina (6)**



T_f: decomposição a 230 °C

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3444, 3076, 3060, 1602, 1572, 1516, 1446, 1288, 1238, 1156, 952, 836, 774.

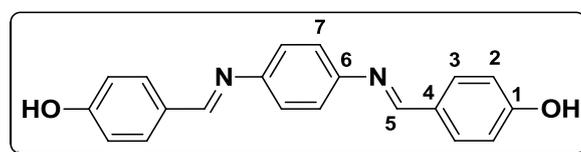
RMN de ^1H (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), *J* (Hz): 10,17 (s, 2H, OH), 8,52 (s, 2H, H-5), 7,80 (bs, 4H, H-3), 7,37 (s, 1H, H-9) 7,05-6,93 (m, 7H, H-2, H-7 e H-8).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 160,69 (C-1), 160,19 (C-5), 152,89 (C-6), 130,73, 129,67 (C-3, C-8), 127,48 (C-4), 118,22, 115,68 (C-7, C-9), 112,75 (C-2).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,72; H, 4,18; N, 9,05.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1263.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiimina (7)**



T_f: decomposição 260°C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3434, 3048, 3024, 1622, 1594, 1456, 1276, 1208, 1172, 870, 856, 782, 856, 682.

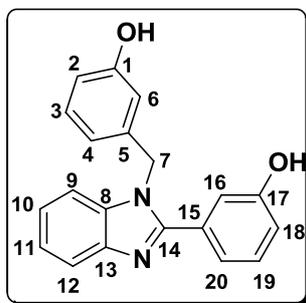
RMN de ^1H (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), *J* (Hz): 10,17 (s, 2H, OH), 8,50 (s, 2H, H-5), 7,78 (d, 4H, H-3, *J* = 8,40), 7,26 (s, 4H, H-7), 6,90 (d, 4H, H-2, *J* = 8,40).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 160,53 (C-1), 159,05 (C-5), 149,23 (C-6), 130,57 (C-3), 127,56 (C-4), 121,73 (C-7), 115,62 (C-2).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,72; H, 4,18, N, 9,05.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,0934.

***N,N'*-bis(3-hidroxifenil)benzoimidazol (8)**



T_f: 256-258 °C

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3431, 3105, 3063, 2927, 1635, 1590, 1519, 1459, 1383, 1243, 1235, 998, 882, 795, 745, 678 e 620.

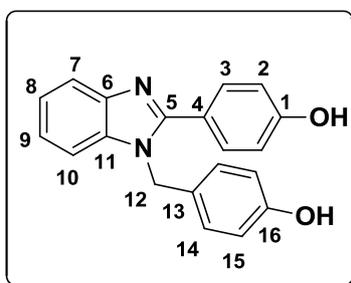
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm), *J* (Hz): 9,71 (s, 2H, OH), 7,75-7,73 (m, 1H, H-12) 7,36-6,66 (m, 7H, H-2, H-5, H-6, H-10, H-11, H-16, H-18, H-19 e H-20), 6,54-6,53 (m, 1H, H-9), 6,45-6,43 (m, 2H H-4), 5,50 (s, 2H, H-7).

RMN de ¹³C (100 MHz; CDCl₃), δ (ppm): 157,73, 157,55 (C-1, C-17), 153,30 (C-14), 142,56 (C-8), 138,33, 135,84 (C-13, C-5) 131,17 (C-15), 129,84 (C-10 e C-11), 122,62, 122,19, 119,47, 119,17, 116,94, 116,59, 116,00, 114,45, 112,66, 111,09 (C-2, C-3, C-4, C-6, C-9, C-12, C-16, C-18, C-19, C-20), 47,42 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,38; H, 4,10; N, 8,59.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1262.

***N,N'*-bis(4-hidroxifenil)benzoimidazol (9)**



T_f: 199-201°C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3436, 3028, 2924, 2880, 1638, 1612, 1516, 1462, 1444, 1266, 1252, 1246, 1172, 1104, 990, 840, 746, 542, 520.

RMN de ^1H (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,97 (s, 1H, OH), 9,43 (s, 1H, OH), 7,68-6,64 (m, 12H, H-10, H-3, H-7, H-8, H-9, H-14, H-2, H-15), 5,41 (s, 2H, H-5).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 158,77, 156,60 (C-1, C-16), 153,52, 142,63, 135,77 (C-5, C-6, C-11), 130,53, 127,42 (C-3, C-14), 127,04 (C-4), 122,05, 121,80 (C-9, C-8), 120,74 (C-13), 118,76, 115,46 (C-10, C-7), 115,41, 110,88 (C-2, C-15), 47,00 (C-12).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,63; H, 4,36; N, 8,84.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1262.

5.2.2. Preparação das *bis*-iminas hidroxiladas aromáticas 10-17.

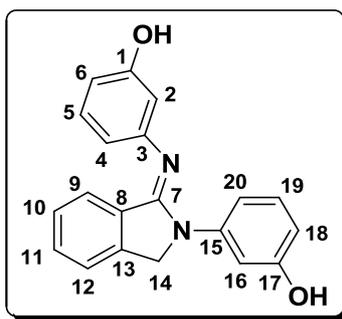
Método geral

Os compostos de **10** a **17** foram preparados pela condensação do respectivo dialdeído (0,5 mmol, 67.0 mg) com o correspondente amino fenol (1,0 mmol, 109 mg) em etanol sob refluxo na razão molar de 1:2 respectivamente. Primeiro foi solubilizado o amino fenol e em seguida foi adicionado lentamente o dialdeído correspondente. O tempo de reação variou de 4 a 24 horas, sendo essa acompanhada por CCD. Após esse período, a solução da reação foi filtrada a vácuo e lavada com o solvente da reação.

Tabela 17. Parâmetros para obtenção dos compostos de **10** a **17**

Compostos sintetizados	Tempo de reação (hora)	Rendimento (%)
10	5	53
11	5	60
12	5	65
13	7	64
14	8	85
15	5	75
16	5	73
17	5	78

N,N'-bis(3-hidroxifenil)iminoisoindolina (10)



$T_f = 218-220$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3426, 3080, 3054, 1630, 1586, 1490, 1454, 1384, 1218, 1128, 946, 864, 776, 694.

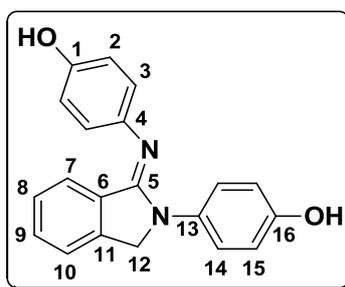
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,42 (sl, 1H, OH); 9,33 (sl, 1H, OH), 7,76-7,13 (m, 7H, H-5, H-6, H-9, H-10, H-11, H-12 e H-19); 6,73-6,33 (m, 5H, H-2, H-4, H-16, H-18 e H-20), 4,97 (s, 2H, H-14).

RMN de ^{13}C : (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 158,20, 157,48 (C-1, C-17), 152,40, 151,74 (C-7, C-5), 142,35, 140,72 (C-15, C-13), 130,56, 130,46, 129,86, 129,19, 126,95, 125,47, 123,33, (C-3, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-19), 111,41, 110,12, 109,88, 109,29, 107,43, 107,06 (C-2, C-4, C-6, C-16, C-18, C-20), 52,49 (C-14).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 74,67; H, 4,80; N, 8,53.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1250.

N,N'-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (11)



$T_f = 222-224$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3388, 3316, 3058, 3026, 1620, 1580, 1512, 1452, 1384, 1248, 1202, 1164, 1132, 1110, 1102, 1066, 828, 730, 704, 528.

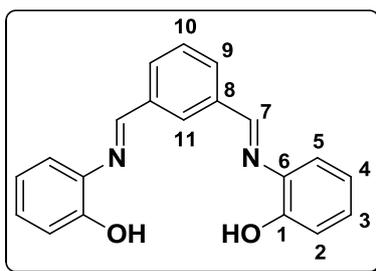
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,27 (s, 1H, OH), 9,04 (s, 1H, OH), 7,76 (d, 2H, H-3, $J = 8,60$), 7,53-7,41 (m, 2H, H-7 e H-9), 7,11 (t, 1H, H-8, $J = 6,90$), 6,84-6,61 (m, 7H, H-2, H-10, H-14 e H-15), 4,90 (s, 2H, H-12).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 153,29, 153,22 (C-1, C-16), 152,38, 142,64, 140,89, 133,19, 130,77 (C-4, C-5, C-6, C-11, C-13), 130,02, 126,80, 125,27, 123,23 (C-7, C-8, C-9, C-10), 122,28, 121,54, 115,74, 114,98 (C-3, C-2, C-15, C-14), 52,77 (C-12).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 73,49; H, 4,71; N, 8,50.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1251.

***N,N'*-bis(2-hidroxi-benzo)isofaldiimina (12)**



T_f = 151,0-151,7 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3430, 3350, 3044, 3024, 1626, 1586, 1438, 1372, 1250, 1244, 1174, 1152, 836, 802, 762, 738, 684, 636, 608, 474, 410.

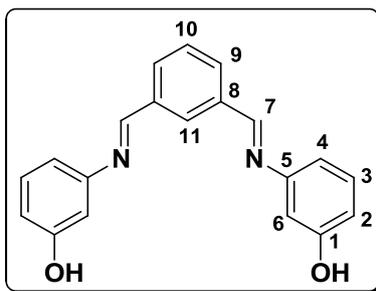
RMN de ^1H (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), *J* (Hz): 9,10 (s, 2H, OH), 8,81 (s, 2H, H-7), 8,66 (s, 1H, H-11), 8,18 (d, 2H, H-5, *J* = 7,40), 7,65 (t, 1H, H-10, *J* = 7,60), 7,26 (d, 2H, H-9, *J* = 7,60), 7,11 (t, 2H, H-3, *J* = 7,60), 6,94 (d, 2H, H-2, *J* = 7,60), 6,86 (t, 2H, H-4, *J* = 7,40).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 158,66 (C-7), 151,30 (C-1), 137,64 (C-6), 136,81 (C-8), 131,39 (C-3), 129,09 (C-11 e C-10), 127,68 (C-9), 119,59, 119,21 (C-2, C-5), 116,12 (C-4).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,79; H, 4,13; N, 9,17.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1251.

***N,N'*-bis(3-hidroxi-benzo)isofaldiimina (13)**



T_f = 202,3-204,2 °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3412, 3062, 3022, 1602, 1586, 1452, 1436, 1276, 1236, 1144, 958, 850, 768, 686, 538.

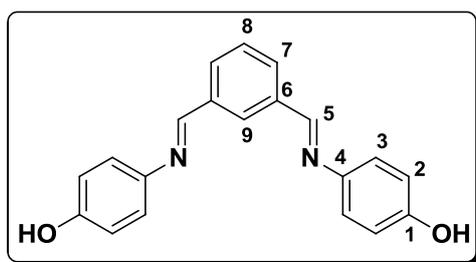
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,56 (s, 2H, OH), 8,67 (s, 2H, H-7), 8,48 (s, 1H, H-11), 8,06 (d, 2H, H-9, $J = 7,60$), 7,66 (t, 1H, H-10, $J = 7,60$), 7,21 (t, 2H, H-3, $J = 7,60$), 6,75-6,69 (m, 6H, H-2, H-4 e H-6).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 159,67 (C-7), 158,03 (C-1), 152,48 (C-5), 136,47 (C-8), 131,45 (C-3), 129,84, 129,27, 128,00 (C-9, C-10, C-11), 113,17 (C-4), 111,62 (C-2), 107,87 (C-6).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,23; H, 5,31; N, 8,23.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1236.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaldiimina (14)**



$T_f = 202,3-204,2$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3398, 3328, 3060, 3028, 2860, 1620, 1582, 1504, 1452, 1444, 1242, 1214, 1158, 974, 834, 692, 644, 544, 492.

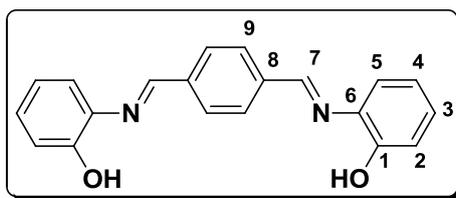
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,56 (s, 2H, OH), 8,70 (s, 2H, H-7), 8,44 (s, 1H, H-9), 7,98 (d, 2H, H-7, $J = 7,60$), 7,60 (t, 1H, H-8, $J = 7,60$), 7,26 (d, 4H, H-3, $J = 8,80$), 6,83 (d, 4H, H-2, $J = 8,80$).

RMN de ^{13}C : (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 156,51 (C-7), 156,43 (C-1), 142,30 (C-4), 136,88 (C-6), 130,55, 129,13 (C-7, C-9), 127,31 (C-8), 122,58 (C-3), 115,69 (C-2).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 76,05; H, 4,32; N, 9,10.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1244.

N,N'-bis(2-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (15)



$T_f = 202,3-204,2$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3428, 3366, 3072, 3044, 1622, 1588, 1484, 1380, 1288, 1242, 1150, 924, 844, 776, 732, 596, 516.

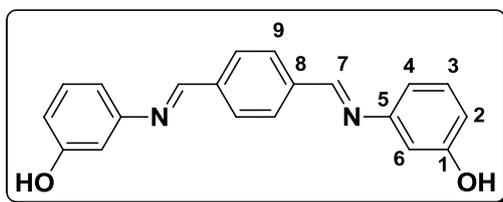
RMN de ^1H (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,10 (s, 2H, OH), 8,80 (s, 2H, H-7), 8,17 (s, 4H, H-9), 7,27 (d, 2H, H-5, $J = 7,40$), 7,12 (t, 2H, H-3, $J = 7,40$), 6,93 (d, 2H, H-2, $J = 7,40$), 6,86 (t, 2H, H-4, $J = 7,40$).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 158,38 (C-7), 151,35 (C-1), 138,51, 137,52 (C-6, C-8), 128,97 (C-9), 127,69 (C-3), 119,42, 119,03 (C-4, C-5), 116,06 (C-2).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,26; H, 4,70; N, 9,21.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1245.

N,N'-bis(3-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (16)



$T_f = 239-241$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3430, 3420, 3054, 3016, 1600, 1582, 1452, 1418, 1276, 1240, 1150, 958, 854, 772, 680, 604, 510.

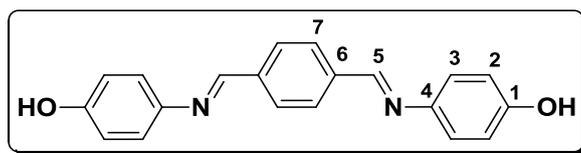
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,60 (s, 2H, OH), 8,64 (s, 2H, H-7), 8,05 (s, 4H, H-9), 7,22 (t, 2H, H-3, $J = 7,60$), 6,75-6,72 (m, 6H, H-2, H-4 e H-6).

RMN de ^{13}C : (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 159,54 (C-7), 158,07 (C-1), 152,50 (C-5), 138,33 (C-8), 129,92 (C-3), 128,95 (C-9), 113,39, 111,74 (C-4, C-2), 107,96 (C-6).

Análise elementar para (C₂₀H₁₆N₂O₂): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 75,98; H, 4,24; N, 9,10.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1243.

N,N'-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (17)



$T_f = 228,5-229,6$ °C.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3422, 3392, 3062, 3026, 2872, 1620, 1596, 1508, 1498, 1446, 1356, 1246, 1194, 1100, 840, 826, 818, 768, 558, 550, 524, 464.

RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 9,59 (s, 2H, OH), 8,67 (s, 2H, H-5), 7,99 (s, 4H, H-7), 7,26 (d, 2H, H-3, $J = 8,40$), 6,83 (d, 2H, H-2, $J = 8,40$).

RMN de ^{13}C : (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 156,55 (C-1), 156,22 (C-5), 142,31 (C-4), 138,32 (C-6), 128,49 (C-7), 122,65 (C-3), 115,72 (C-2).

Análise elementar para ($\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$): calculado: C, 75,93; H, 5,10; N, 8,86; encontrado: C, 70,23; H, 4,01; N, 8,65.

(+)-ESI/MS: calculado 317,1212, encontrado 317,1244.

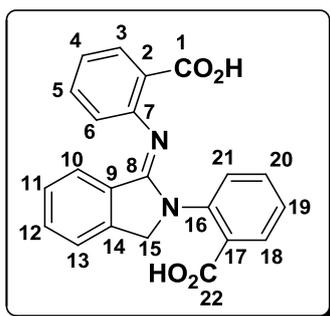
5.2.3. Preparação das *bis*-iminas carboxiladas 18-24.

Os compostos de **18** a **24** foram preparados pela condensação do respectivo dialdeído (0,5 mmol, 67,0 mg) com o aminoácido correspondente (1,0 mmol, 137,14 mg) em etanol sob refluxo na razão molar de 1:2 respectivamente. As reações foram monitoradas utilizando CCD, e variaram de 5 a 8 horas. Em seguida a solução final foi filtrada a vácuo e lavada com o solvente da reação.

Tabela 18. Parâmetros para obtenção dos compostos de **18** a **24**

Compostos sintetizados	Tempo de reação (hora)	Rendimento (%)
18	5	72
19	5	53
20	5	98
21	5	90
22	8	71
23	5	73
24	5	78

N,N'-bis(2-carboxi-fenil)iminoisoindolina (18)



$T_f = 220,1^\circ\text{C}$.

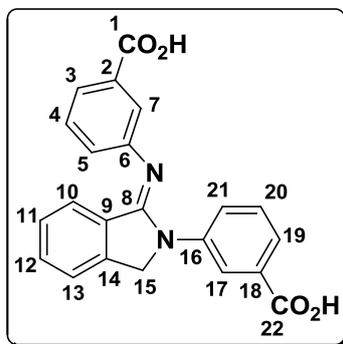
IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3250-2608, 3060, 3028, 1674, 1604, 1588, 1528, 1450, 1304, 1238, 754.

RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 11,70 (s, 2H, COOH-1 e COOH-22), 8,54-8,51 (m, 1H, H-3), 7,96-7,51 (m, 10H, H-4, H-5, H-6, H-10, H-11, H-12, H-13, H-18, H-19 e H-20), 7,12 (sl, 1H, H-21), 5,03 (s, 2H, H-15).

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 70,62; H, 3,69; N, 7,23.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1060.

N,N'-bis(3-carboxifenil)iminoisoindolina (19)



$T_f = 263,8 - 264,8^\circ\text{C}$.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3436-2534, 3074, 3044, 2986, 2912, 2862, 1686, 1638, 1578, 1452, 1382, 1304, 1202, 1148, 1108, 948, 754, 724, 686, 654.

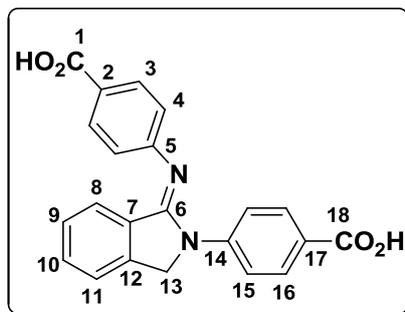
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 12,99 (sl, 2H, COOH-1, COOH-22), 8,64 (s, 1H, H-3), 8,29 (sl, 1H, H-7), 7,71-7,48 (m, 7H, H-4, H-5, H-10, H-11, H-13, H-19 e H-20), 7,19-7,11 (m, 2H, H-17 e H-12), 6,56 (sl, 1H, H-21), 5,11 (s, 2H, H-15).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 167,33 (C-1, C-22), 153,13 (C-8), 150,32 (C-6 e C-16), 141,24, 141,00 (C-2, C-18), 131,78, 131,19, 130,85, 130,16, 129,46, 128,81, 127,22, 125,29, 125,03, 123,62, 123,96, 123,15, 122,70, 120,51 (C-14, C-9, C-20, C-4, C-13, C-12, C-10, C-5, C-11, C-3, C-7, C-21, C-17, C-19), 52,61 (C-15).

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 72,81; H, 3,45; N, 8,14.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1055.

***N,N'*-bis(4-carboxi-fenil)iminoisindolina (20)**



T_f = 303,9 - 305,1 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3438-2544, 3108, 2974, 2860, 1674, 1594, 1516, 1420, 1382, 1304, 1292, 1178, 1140, 1104, 1064, 860, 852, 778, 768, 728, 548.

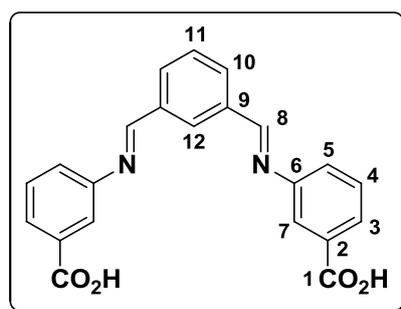
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 12,68 (s, 2H, COOH-1 e COOH-18), 8,14 (d, 2H, H-3, *J* = 8,40 Hz), 7,96 (d, 2H, H-16, *J* = 8,40), 7,94 (d, 2H, H-15, *J* = 8,40 Hz), 7,60 (d, 1H, H-8, *J* = 7,60), 7,49 (t, 1H, H-9, *J* = 7,60), 7,16 (t, 1H, H-10, *J* = 7,40), 7,02 (d, 2H, H-4, *J* = 8,40), 6,63 (d, 1H, H-11, *J* = 7,40), 5,08 (s, 2H, H-13).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 167,28 (C-1, C-18), 166,98, 154,29 (C-5, C-6), 152,44 (C-14), 144,69 (C-12), 140,82 (C-7), 131,16, 130,92, 130,12, 127,36, 125,19, 124,51, 123,58 (C-2, C-3, C-8, C-9, C-10, C-11, C-16, C-17), 120,54, 118,63 (C-4, C-15), 52,62 (C-13).

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 70,92; H, 4,71; N, 8,50.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1098.

***N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)isofaldiimina (21)**



T_f = 268,9 - 270,2 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3478-2542, 3062, 2974, 1674, 1592, 1578, 1424, 1316, 1288, 1168, 1146, 956, 850, 774, 700, 688, 530.

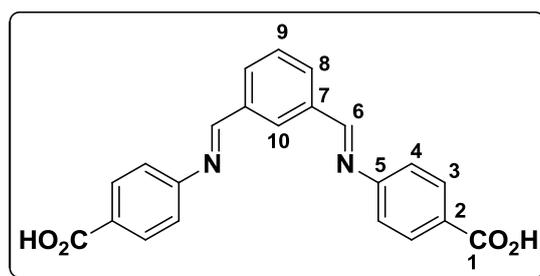
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 12,08 (s, 2H, COOH-1), 8,77 (s, 2H, H-8), 8,57 (s, 1H, H-12), 8,11 (d, 2H, H-10, *J* = 7,60), 7,85 (sl, 4H, H-3 e H-7), 7,67 (t, 1H, H-11, *J* = 7,60), 6,56 (sl, 4H, H-4 e H-5).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 167,04 (C-1), 161,21 (C-8), 151,31 (C-6), 136,35 (C-2), 131,94, 131,31, 129,50, 129,35, 128,46 (C-4, C-9, C-10, C-11, C-12), 126,90, 125,67 (C-3, C-5), 121,49 (C-7).

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 70,91; H, 3,92; N, 8,23.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1058.

***N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)isofaldiimina (22)**



T_f = 329,1 - 330,2 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3468, 3446-2544, 3062, 2976, 2866, 2828, 1684, 1582, 1424, 1316, 1288, 1168, 956, 850, 774, 688, 552.

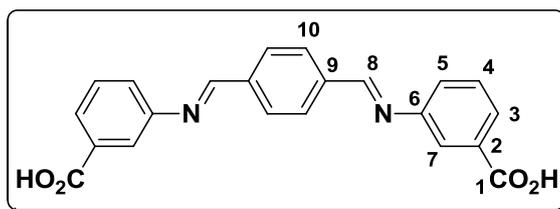
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 12,76 (s, 2H, COOH-1), 8,72 (s, 2H, H-6), 8,54 (s, 1H, H-10), 8,10 (d, 2H, H-8, *J* = 7,60), 8,00 (d, 4H, H-3, *J* = 8,40), 7,68 (t, 1H, H-9, *J* = 8,40), 7,35 (d, 4H, H-4, *J* = 8,40).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 166,94 (C-1), 161,70 (C-6), 155,05 (C-5), 136,22 (C-2), 132,19, 130,58, 129,43, 128,63, 128,12 (C-3, C-7, C-8, C-9, C-10), 121,02 (C-4).

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 71,06; H, 3,63; N, 7,87.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1044.

***N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)teraftaldiimina (23)**



$T_f = 321,1 - 323,2^\circ\text{C}$.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3428-2566, 3084, 2986, 1692, 1576, 1450, 1420, 1300, 1194, 924, 758.

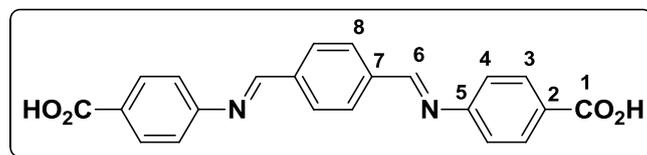
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 12,53 (s, 2H, COOH-1), 8,74 (s, 2H, H-8), 8,09 (s, 4H, H-10), 7,84 (sl, 4H, H-3 e H-7), 7,55 (sl, 4H, H-4 e H-5).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 167,08 (C-1), 161,06 (C-8), 151,29 (C-6), 138,37 (C-2), 131,97 (C-9), 129,52, 129,17 (C-3, C-4, C-5, C-7, C-10), 127,07, 125,75, 121,54.

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 71,03; H, 3,85; N, 8,06.

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1055.

***N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)teraftaldiimina (24)**



$T_f =$ acima de 350°C .

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3384-2542, 3062, 2976, 2878, 2810, 1682, 1592, 1420, 1294, 1168, 860, 774, 546.

RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 12,75 (s, 2H, COOH-1), 8,73 (s, 2H, H-6), 8,11 (s, 4H, H-8), 8,00 (d, 4H, H-3, $J = 8,4$), 7,37 (d, 4H, H-4, $J = 8,40$).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 166,90 (C-1), 161,68 (C-6), 155,00 (C-5), 138,32 (C-2), 130,54, 129,27, 128,21 (C-7, C-8, C-3), 121,05 (C-4),.

Análise elementar para (C₂₂H₁₆N₂O₄): calculado: C, 70,96; H, 4,33; N, 7,52; encontrado: C, 70,62; H, 3,69; N, 7,23

(-)-ESI/MS: calculado 371,1032, encontrado 371,1037.

5.2.4. Preparação das *bis*-aminas hidroxiladas aromáticas 25-35.

Método geral

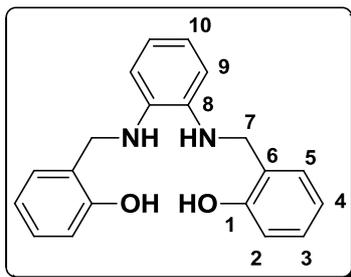
As *bis*-aminas hidroxiladas de **25** a **35** foram sintetizadas por meio da redução das respectivas *bis*-iminas hidroxiladas (0,32 mmol, 100 mg). Para a síntese das *bis*-aminas, foram utilizados boroidreto de sódio (24 mg, 0,635 mmol), cloreto de cério(III) (78 mg, 0,320 mmol) e 8 mL de metanol à temperatura ambiente.

As reações ficaram por períodos que variaram de 4 a 30 minutos e após o término de cada reação, o solvente foi evaporado. Em seguida 10 mL de água foram adicionados e a solução foi transferida para um funil de separação. Ao funil de separação 10 mL de acetato de etila foram adicionados com intuito de extrair o composto de interesse. O processo de extração foi repetido mais três vezes. Os materiais isolados foram purificados utilizando cromatografia em coluna (CC) e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório.

Tabela 19. Parâmetros para obtenção dos compostos de **25** a **35**

Compostos sintetizados	Tempo de reação (minuto)	Rendimento (%)
25	4	95
26	4	98
27	4	99
28	4	97
29	4	98
30	5	97
31	4	84
32	5	94
33	4	93
34	4	92
35	4	94

***N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-fenilenodiamina (25)**



$T_f = 163,2 - 164,3^\circ\text{C}$

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3390, 3352, 3290, 3038, 3038, 3010, 2924, 2854, 1602, 1490, 1456, 1350, 1238, 1102, 1026, 840, 822, 748, 732, 620, 578, 548, 546, 466, 450.

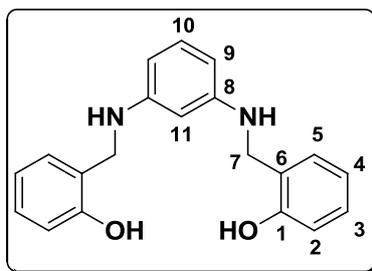
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 9,76 (sl, 2H, OH), 7,22 (d, 2H, H-5, $J = 7,60$), 7,06 (t, 2H, H-3, $J = 7,60$), 6,85 (d, 2H, H-2, $J = 8,00$), 6,73 (t, 2H, H-4, $J = 7,60$), 6,45-6,44 (m, 4H, H-10 e H-9), 5,08 (s, 2H, NH), 4,25 (s, 4H, H-7).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 155,19 (C-1), 136,14 (C-8), 128,39, 127,42 (C-3, C-5); 125,65 (C-6), 118,62, 117,20 (C-2, C-4), 114,85, 109,95 (C-9, C-10), 42,20 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 80,44; H, 4,16 ; N, 10,34.

(+)-ESI/MS: calculado 321,1603, encontrado 321,1291.

***N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-fenilenodiamina (26)**



$T_f = 115,1 - 117,0^\circ\text{C}$.

IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3406, 3270, 3062, 3032, 2972, 2910, 2848, 1608, 1504, 1456, 1260, 1246, 1206, 794, 756, 692.

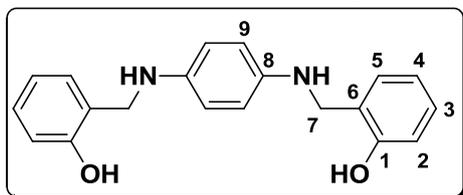
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 9,48 (sl, 2H, OH), 7,16 (d, 2H, H-5, $J = 7,00$), 7,03 (t, 2H, H-3, $J = 7,40$), 6,80 (d, 2H, H-2, $J = 7,80$), 6,71 (t, 2H, H-4, $J = 7,40$), 5,90 (s, 1H, H-11), 5,82 (d, 2H, H-9, $J = 8,00$), 5,59 (s, 2H, NH), 4,11 (s, 4H, H-7).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 154,95 (C-1), 149,61 (C-8), 129,06, 128,20, 127,24, 126,16 (C-3, C-5, C-6, C-10), 118,59, 114,72 (C-2, C-4), 101,31 (C-9), 96,46 (C-11), 41,60 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 79,54; H,4,20; N, 9,44.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1448.

***N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina (27)**



T_f = 170,2 - 171,8°C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3448, 3254, 3066, 3036, 2968, 2934, 2850, 1594, 1508, 1456, 1256, 1230, 1060, 820, 750, 716.

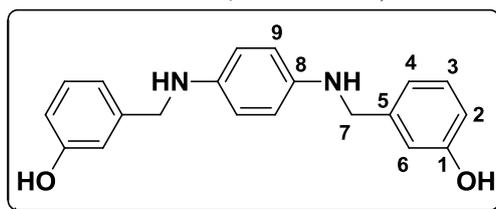
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,54 (s, 2H, OH), 7,18 (d, 2H, H-5, *J* = 7,20), 7,02 (t, 2H, H-3, *J* = 7,00), 6,78 (d, 2H, H-2, *J* = 8,80), 6,67 (t, 2H, H-4, *J* = 7,20), 6,43 (s, 4H, H-9), 5,22 (sl, 2H, NH), 4,09 (s, 4H, H-7).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 155,05 (C-1), 140,24 (C-8), 128,32, 127,28 (C-3, C-5), 126,30 (C-6), 118,69 (C-9), 114,74, 113,97 (C-2, C-4), 42,95 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 77,24; H,4,66; N, 9,64.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1550.

***N,N'*-bis(3-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina (28)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

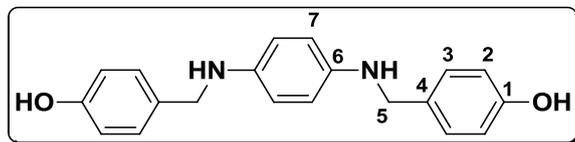
IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3430, 3272, 3036, 2950, 2838, 1598, 1512, 1450, 1254, 1230, 1170, 1058, 878, 824, 744, 690, 526.

RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,27 (s, 2H, OH), 7,07 (t, 2H, H-3 *J* = 5,40), 6,76-6,74 (m, 4H, H-4 e H-6), 6,59 (d, 2H, H-2, *J* = 5,40), 6,38 (s, 4H, H-9), 5,33 (s, 2H, NH), 4,05 (s, 4H, H-7).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 157,29 (C-1) 142,53 (C-8), 140,08 (C-5), 129,06 (C-3), 117,79, 113,93, 113,67, 113,33 (C-2, C-4, C-6, C-9), 47,63 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 72,24; H, 5,01; N, 8,35.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-fenilenodiamina (29)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3392, 3332, 3056, 3012, 2946, 2884, 1610, 1516, 1448, 1238, 1200, 1032, 826, 670, 588.

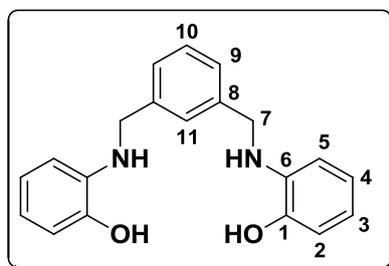
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,23 (s, 2H, OH), 7,12 (d, 4H, H-2, *J* = 5,4), 6,68 (d, 4H, H-2, *J* = 5,40), 6,40 (s, 4H, H-7), 5,15 (sl, 2H, NH), 4,00 (s, 4H, H-5).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 155,92 (C-1), 140,18 (C-6), 130,80 (C-4), 128,49 (C-3), 114,86, 113,77 (C-2, C-7), 47,35 (C-5).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 77,83; H, 7,08; N, 8,35.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1542.

***N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiamina (30)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3362, 3332, 3061, 3042, 3007, 2962, 2921, 2861, 1594, 1509, 1435, 1349, 1241, 1111, 751, 656.

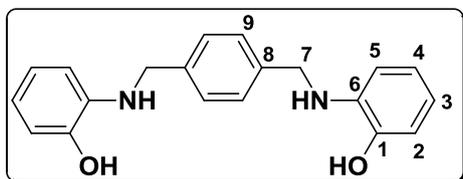
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,28 (s, 2H, OH), 7,37 (s, 1H, H-11), 7,22-7,21 (m, 3H, H-9 e H-10), 6,68 (d, 2H, H-5, *J* = 7,40), 6,54 (t, 2H, H-3, *J* = 7,40), 6,40 (m, 4H, H-2 e H-4), 5,21 (sl, 2H, NH), 4,28 (s, 4H, H-7).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 144,01 (C-1), 140,57, 137,19 (C-6, C-8), 128,25, 125,88, 125,37 (C-9, C-10, C-11), 119,54 (C-4), 115,78, 113,34, 110,05 (C-2, C-3, C-5), 46,76 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 78,76; H, 5,41; N, 8,95

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1596.

***N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)teraftaldiamina (31)**



T_f= 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3401, 3338, 3056, 3032, 2918, 2878, 2841, 1624, 1588, 1499, 1432, 1348, 1273, 1118, 1162, 994, 822, 765, 686, 625, 590.

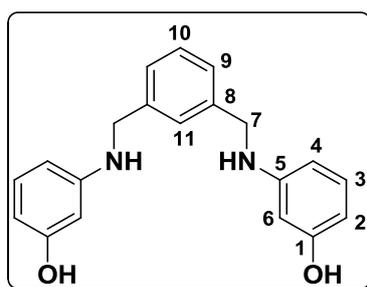
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,27 (s, 2H, OH), 7,29 (s, 4H, H-9), 6,77 (d, 2H, H-2, *J* = 7,40), 6,56 (t, 2H, H-4, *J* = 7,00), 6,40-6,35 (m, 4H, H-3 e H-5), 5,20 (sl, 2H, NH), 4,28 (s, 4H, H-7).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 144,02 (C-1), 138,79, 137,12 (C-6, C-8), 127,01 (C-9), 119,52, 115,74, 113,34, 110,04 (C-2, C-4, C-3, C-5), 46,32 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 78,03; H, 7,06; N, 9,85.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1087.

***N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaltaldiamina (32)**



T_f= 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3375, 3325, 3100, 3048, 2940, 2900, 2854, 1596, 1509, 1437, 1353, 1276, 1233, 1199, 1113, 990, 798, 747, 742, 676, 670, 487.

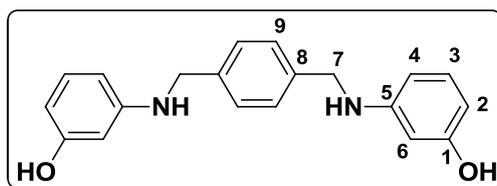
RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 8,89 (s, 2H, OH), 7,29-7,28 (m, 4H, H-9, H-10 e H-11), 6,81 (t, 2H, H-3, *J* = 7,20), 6,07-5,94 (m, 8H, NH, H-2, H-4, H-6), 4,16 (sl, 4H, H-7).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 158,02 (C-1), 149,98 (C-5), 138,67 (C-8), 129,36, 127,01, 126,44 (C-3, C-10, C-11), 103,92, 103,23, 99,31, 98,14 (C-2, C-4, C-6, C-9), 46,23 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 76,83; H, 6,31; N, 8,95

(+)-ESI/MS: calculado = 321,1603, encontrado 321,1598.

***N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)teraftaldiamina (33)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3566, 3392, 2924, 2866, 1654, 1618, 1522, 1420, 1217, 1111, 1063, 1044, 824.

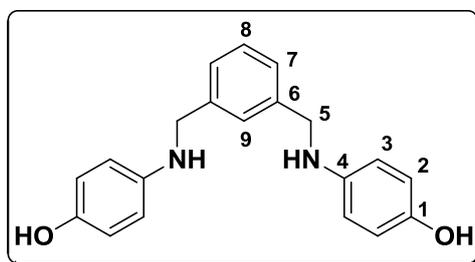
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) *J* (Hz): 8,91 (s, 2H, OH), 7,29 (s, 4H, H-9), 6,82 (sl, 2H, H-3), 6,01 (t, 8H, NH, H-2, H-4, H-6), 4,19 (s, 4H, H-7).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 158,04 (C-1), 149,99 (C-5), 138,69 (C-8) 129,39 (C-3), 127,03 (C-9), 103,96, 103,28, 99,19 (C-2, C-4, C-6), 46,27 (C-7).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 76,67; H, 5,11; N, 8,65

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1603.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaltaldiamina (34)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3424, 3386, 3318, 3049, 3023, 2957, 2926, 2867, 1600, 1514, 1467, 1243, 1216, 1112, 1038, 835, 820, 703.

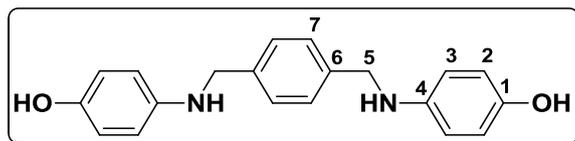
RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) *J* (Hz): 8,41 (s, 2H, OH), 7,35 (s, 1H, H-11), 7,21 (sl, 3H, H-8 e H-9), 6,54-6,41 (m, 4H, H-2 e H-3), 5,52 (sl, 2H, NH), 4,14 (s, 4H, H-5).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 148,24 (C-1), 141,61, 140,64 (C-4, C-6), 128,03, 126,26, 125,50 (C-7, C-8, C-9), 115,40, 113,54 (C-2, C-3), 47,76 (C-5).

Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 78,03; H, 5,71; N, 9,05.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1599.

***N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiamina (35)**



T_f = 228,5-229,6 °C.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3420, 3375, 3291, 3028, 2961, 2925, 2871, 1599, 1517, 1490, 1246, 1230, 835, 821, 703.

RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) *J* (Hz): 8,43 (s, 2H, OH), 7,29 (s, 4H, H-7), 6,56-6,44 (m, 8H, H-2 e H-3), 5,73 (s, 2H, NH), 4,14 (s, 4H, H-5).

RMN de ^{13}C (50 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm): 148,41 (C-1), 141,20, 138,71 (C-4, C-6), 127,19 (C-7), 115,54, 113,78 (C-2, C-3), 47,49 (C-5).

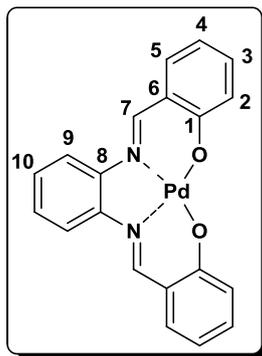
Análise elementar para (C₂₀H₂₀N₂O₂): calculado: C, 74,98; H, 6,29; N, 8,74; encontrado: C, 79,93; H, 7,51; N, 9,98.

(+)-ESI/MS: calculado= 321,1603, encontrado 321,1046.

5.2.5. Preparação dos complexos metálicos 36-38

O complexo **36** foi preparado utilizando metodologias adaptadas da literatura (HE *et al.*, 2011). Para a síntese do complexo foram utilizados o composto *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**) (100 mg, 0,316 mmol) e tetracloropaladato de potássio (K₂PdCl₄) (103 mg, 0,316 mmol). Inicialmente adicionou-se a *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**) em um balão de 25 mL e, em seguida, foram adicionados 2 mL de acetona. Após a total solubilização do composto, foi adicionado tetracloropaladato de potássio (K₂PdCl₄) solubilizado em 2 mL de água. Após 10 min de agitação foi possível visualizar a formação de um precipitado de cor laranja intensa. A reação foi mantida por 1 h à temperatura ambiente e o precipitado foi isolado por filtração e lavado com a mistura de solvente utilizado na reação, sendo obtido o produto com 60% de rendimento.

Complexo (36)

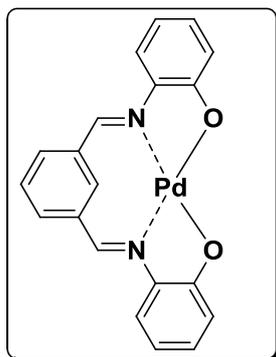


IV (KBr, cm^{-1}) $\bar{\nu}$: 3018, 3082, 3010, 1608, 1518, 1438, 1376, 1336, 1180, 1152, 1132, 932, 566, 460.

RMN de ^1H : (200 MHz; DMSO- d_6), δ (ppm) J (Hz): 9,21 (s, 2H, H-7), 8,38-8,34 (m, 2H, H-10), 7,49-7,42 (m, 4H, H-3, H-9), 7,03 (d, 2H, $J = 8,80$, H-2), 6,72 (t, 2H, $J = 8,00$, H-4).

(+)-ESI/MS: calculado= 421,0168, encontrado 421,0233.

Complexo (37)

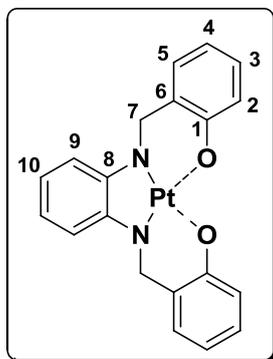


O complexo **37** foi preparado a partir da *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiiimina (**12**) (100 mg, 0,316 mmol) e tetracloropaladato de potássio (K_2PdCl_4) (103 mg, 0,316 mmol). Em um balão de 25 mL foi adicionada a *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiiimina (**12**) e, em seguida foram adicionados 2 mL de acetona. Após a total solubilização do composto, foi adicionado tetracloropaladato de potássio (K_2PdCl_4) solubilizado em 2 mL de água. Após 15 min de reação foi possível visualizar a formação de um precipitado de cor vermelha bem intensa. A agitação foi mantida por 1 h à temperatura ambiente e o precipitado foi isolado por filtração e lavado com a mistura de solvente utilizado na reação, sendo obtido o produto com 55% de rendimento.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3056, 3014, 1696, 1586, 1522, 1466, 1306, 1276, 1256, 1148, 828, 744, 546, 530, 486.

(+)-ESI/MS: calculado= 421,0168, encontrado 421,0049.

Complexo (38)



O complexo **38** foi preparado utilizando metodologias adaptadas da literatura (HE *et al.*, 2011). Para a síntese do complexo foi utilizado composto *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina (**1**) (100 mg, 0,321 mmol), tetracloroplatinato de potássio (K₂PtCl₄) (100 mg, 0,241 mmol). Inicialmente adicionou-se tetracloroplatinato de potássio (K₂PtCl₄) em um balão de 25 mL contendo uma mistura de 2 mL de acetona e 2 mL de água. Em seguida adicionou-se lentamente *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina (**25**). Após 5 min de reação foi possível visualizar a formação de um precipitado de cor branca. A agitação foi mantida por 1 h à temperatura ambiente. O precipitado foi isolado por filtração e lavado com a mistura de solvente utilizado na reação, sendo obtido o produto com 65% de rendimento.

IV (KBr, cm⁻¹) $\bar{\nu}$: 3447, 3421, 3032, 3015, 2978, 2970, 2897, 2854, 1601, 1587, 1486, 1368, 1291, 1256, 1240, 1191, 1150, 1101, 1032, 901, 824, 770, 750, 579, 454.

RMN de ¹H: (200 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm) *J* (Hz): 9,60 (s, 2H, OH), 7,24 (d, 2H, *J* = 7,40, H-2), 7,06 (t, 2H, *J* = 7,20, H-4), 6,85 (d, 2H, *J* = 8,00, H-5), 6,73 (t, 2H, *J* = 7,20, H-3).

RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆), δ (ppm): 154,45 (C-1), 140,29 (C-8), 127,59, 127,29, 124,74 (C-3, C-5, C-6), 118,88, 117,25, 114,72 (C-2, C-4, C-10), 103,50 (C-9), 41,56 (C-7).

5.3. Testes biológicos

5.3.1. Avaliação da Atividade Antiproliferativa

A avaliação da atividade antiproliferativa foi realizada na Universidade Federal de Campinas (UNICAMP), pelo grupo do prof. Dr. João Ernesto de Carvalho (CPQBA). As linhagens de células de câncer humano utilizadas foram U251 (glioma, SNC), UACC-62 (melanoma), MCF-7 (mama), NCI-ADR/RES (ovário resistente a múltiplos fármacos), NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células), PC-3 (próstata), OVCAR-3 (ovário), HT-29 (cólon) e K562 (leucemia). As células foram cultivadas em 5 mL de RPMI, suplementados com soro fetal bovino 5% e gentamicina 50 µg/mL. Depois, foram expostas a várias concentrações das *bis*-iminas sintetizadas (0,25-250 µg/mL) em DMSO (0,1% v/v) a 37°C e CO₂ a 5%, por 48 h. Em seguida, uma solução 50% v/v de ácido tricloroacético foi adicionada e as placas foram incubadas a 4 °C, por 30 min, lavadas e secadas. A proliferação celular foi determinada pela quantificação espectrofotométrica do conteúdo de proteína celular usando teste com sulforodamina B (MONKS *et al.*, 1991). Doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. Foram feitas três medidas, sendo uma no tempo zero (T₀), no começo da incubação, e outras duas 48 h depois, uma para as células não tratadas (C) e outra para aquelas contendo a substância a ser testada (T). A proliferação celular foi determinada de acordo com a equação $100 \times [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

O efeito citostático é observado quando $C > T \geq T_0$, enquanto o efeito citotóxico ocorre quando $T < T_0$.

Valores de *ITC* (*Total Growth Inhibition*): concentração necessária para inibir 100% de crescimento foi calculada por regressão não linear, tipo sigmoideal, em software Origin 7.5.

5.3.2. Avaliação da Atividade Antifúngica

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo (M27-A2 do NCCLS, 2002), sendo utilizados os fungos da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans* – ATCC 18804, *Candida krusei* – ATCC 20298, *Candida parapsilosis* – ATCC 20019, *Candida tropicalis* – ATCC 00750, *Candida glabrata* – ATCC 32608, *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608, *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 e um micro-organismo isolado clinicamente (IC) *Candida dubliniensis* – CBS

7987. Todos os micro-organismos são pertencentes à Coleção de Micro-organismos do Laboratório de Micologia/Departamento de Microbiologia da UFMG.

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

Antes de ser colocado o inóculo nas microplacas, foram realizadas seis diluições em RPMI 1640 das substâncias teste, entre as concentrações 4, 8, 16, 32, 64 e 128 µg/mL. Destas amostras diluídas, foram adicionadas 100 µL de cada concentração em um poço, sendo que todos os testes foram feitos em duplicata. Após a adição de 100 µL do inóculo junto às amostras, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 h para a realização da leitura, sendo esta realizada visualmente. Foram também acrescentadas à microplaca: um controle de esterilidade, tendo sido adicionado ao poço 200 µL de RPMI 1640, e um controle de crescimento.

5.3.3. Avaliação da Atividade Sequestradora de Radicais DPPH[•] e ânions superóxido

A avaliação da atividade sequestradora de radicais DPPH[•] e de ânions superóxidos foi realizada no Laboratório de Bioquímica de Plantas do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG em colaboração com a professora Luzia Valentina Modolo.

Método DPPH[•]

Inicialmente preparou-se uma solução etanólica de DPPH[•] na concentração de 200 µM e solução etanólica dos compostos em diferentes concentrações (20-320 µM). O Resveratrol foi empregado como controle positivo nos testes.

Prepararam-se vários sistemas de reação misturando-se alíquotas de 50 µL de solução de DPPH[•] (200 µM) com alíquotas de 50 µL da solução dos compostos avaliados em

diferentes concentrações. Os compostos foram incubados na presença da solução de DPPH (100 µM) por 30 min, sob agitação, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Posteriormente, as porcentagens de sequestro dos compostos foram calculadas nas diferentes concentrações por medidas espectrofotométricas a 517 nm, empregando-se a seguinte equação:

$$\text{Porcentagem de Sequestro} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c = absorvância do controle (solução de DPPH)

A_s = absorvância da amostra (solução DPPH na presença da substância testada)

Os valores de CS_{50} (concentração da substância em teste que sequestra 50% do radical DPPH*) foram determinados por regressão linear utilizando o programa Origin 7.5.

Ânions Superóxido

A produção de radicais ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$) foi realizada utilizando uma mistura de EDTA (100 µM), L-metionina (13,3 µM), NBT (200 µM), Riboflavina (40 µM), em etanol na presença de luz durante 30 min. Para avaliar a capacidade dos compostos, essa mistura foi mantida em uma caixa fechada na presença de uma luz artificial por 30 min. Em seguida foram realizadas medidas espectrofotométricas em 525 nm. Para todas as reações foi utilizada uma segunda placa com a mesma mistura reacional e na presença dos compostos testes, mas essa placa foi recoberta com papel alumínio para não ficar exposta à luz e ser utilizada como branco da reação. Quando se faz a subtração das placas, pode-se determinar o percentual da capacidade dos compostos em capturar radicais superóxidos. Os compostos foram solubilizados em metanol 92% e dimetilsulfóxido 8%. A concentração da solução estoque foi de 1600 µM (= 1,6 mM) e a concentração dos compostos variou entre 10 a 320 µM.

As porcentagens de sequestro dos compostos nas diferentes concentrações foram calculadas empregando-se a seguinte equação:

$$\text{Porcentagem de Sequestro} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \right) - 100$$

A_c = absorvância do controle (no escuro)

A_s = absorvância da amostra (solução exposta a luz)

Os valores de CS_{50} (concentração da substância em teste que sequestra 50% do radical ânion superóxido) foram determinados por regressão linear utilizando o programa Origin 7.5.

PARTE VI - CONCLUSÃO GERAL

Obtenção e caracterização de *bis*-iminas, *bis*-aminas e complexos metálicos.

A metodologia adotada permitiu a obtenção de trinta e oito compostos, sendo quinze inéditos (**18**, **19**, **20**, **22**, **28**, **29**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34**, **35**, **36**, **37** e **38**), com rendimentos variando entre 53 a 99%, a partir da condensação entre: hidroxibenzaldeídos (*orto*, *meta* e *para*) com fenilenodiaminas (*orto*, *meta* e *para*), dialdeídos aromáticos (*orto*, *meta* e *para*) com aminofenóis (*orto*, *meta* e *para*) e com ácidos aminobenzóicos (*orto*, *meta* e *para*).

Dentre os compostos sintetizados, doze são *bis*-aminas hidroxiladas obtidas a partir de *bis*-iminas hidroxiladas utilizando cloreto de cério como aditivo para melhorar o rendimento das reduções. Algumas das condensações resultaram em produtos de ciclização, fornecendo alguns derivados de benzoimidazol (**8** e **9**) e alguns derivados de iminoisindolinas (**10**, **11**, **18**, **19** e **20**). Além disso, foram obtidos três complexos, sendo dois com paládio (**36** e **37**) e um com platina (**38**).

Atividade contra fungos patogênicos de interesse clínico

Os testes com os compostos de **1** a **35** para a atividade contra fungos patogênicos de interesse clínico foram realizados com as espécies de fungos da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans* – ATCC 18804, *Candida krusei* – ATCC 20298, *Candida parapsilosis* – ATCC 20019, *Candida tropicalis* – ATCC 00750, *Candida glabrata* – ATCC 32608, *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608, *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 e *Candida dubliniensis* – CBS 7987. A espécie de fungo *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608 foi sensível aos compostos **1** (4 µg/mL), **2** (8 µg/mL) **5** (16 µg/mL) e **8** (8 µg/mL), respectivamente, apresentando valores de CIM próximos ao do fluconazol (2 µg/mL), antifúngico comercial.

Considerando os compostos **10** a **17**, o fungo *Cryptococcus gattii* – ATCC 28957 foi a espécie mais sensível para os compostos **11** (256 µg/mL), **12** (8 µg/mL), **13** (64 µg/mL), **14** (64 µg/mL), **15** (8 µg/mL), **16** (64 µg/mL) e **17** (32 µg/mL).

Os compostos **18** a **24** apresentaram baixa atividade, mas todos os fungos foram de alguma forma sensíveis aos compostos testados, com exceção dos fungos *Candida krusei* – ATCC 20298 e *candida glabrata* – ATCC 32608.

Por fim, as *bis*-aminas **25** a **35** foram também ativas como fungicidas, destacando-se os compostos **25**, **26**, **30**, **31**, **34** e **35**, ativos para todos os fungos testados, exceto para os fungos *Candida krusei* – ATCC 20298 e *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608.

De forma geral, as *bis*-aminas (**25-35**) apresentaram os melhores resultados, seguidas das *bis*-iminas (**10-17**), dos carboxilados (**18-24**) e, por fim, das *bis*-iminas (**1-9**).

A atividade antifúngica totalizou 259 ensaios, realizados em duplicata, sendo que 62,5 % dos compostos apresentaram alguma atividade de inibição de fungos e apenas 37,5 % dos compostos não apresentaram atividade na faixa de concentração testada. Os resultados mostram uma grande influência da posição relativa dos grupos ligados aos anéis aromáticos na atividade apresentada, pois compostos com os mesmos grupos funcionais apresentaram diferentes resultados, dependentes da posição relativa entre estes na estrutura molecular.

Atividade contra células de câncer

Dezessete iminas aromáticas hidroxiladas foram testadas contra nove linhagens de células tumorais humanas. Todos os compostos apresentaram efeito citostático quando empregados a concentrações menores que 25 µg/mL e, quando empregados à concentração de 250 µg/mL, apresentaram efeito citotóxico para várias linhagens testadas. Dentre todas as linhagens, a mais sensível aos compostos sintetizados foi UACC-62 (melanoma). O composto **1** apresentou excelente resultado contra uma linhagem resistente NCI-ADR/RES (ovário resistente a vários fármacos), mostrando ser seletivo e mais ativo que o controle positivo (DOX). Esse resultado mostra a importância da posição da hidroxila e das iminas na modulação da atividade antiproliferativa. Os benzoimidazóis **8** e **9** apresentaram bons resultados contra linhagem UACC-62 (melanoma), sendo promissores para mais estudos. Muitos compostos apresentaram maior espectro de ação, atuando eficientemente a uma concentração de 10 µg/mL, alguns chegando a concentrações tão baixas quanto a 1,0 µg/mL. Esses resultados mostram a importância de estudar essa classe de compostos.

Atividade antioxidante

Na atividade sequestradora de radicais DPPH, os compostos **1**, **4-7**, **10-17**, **19** e **25-35** foram os melhores candidatos a antioxidantes, uma vez que a maioria desses compostos apresentou percentuais de captura de radicais livres maiores que os exibidos pelo controle

positivo resveratrol (75%). Dentre os compostos carboxilados **19** a **24**, apenas o composto **19** (69%) apresentou atividade antioxidante próxima ao controle positivo. Isso mostra que essa classe de compostos dificilmente tem potencial para ser empregada eficientemente como antioxidantes.

Na atividade sequestradora de ânions superóxidos, todos os compostos selecionados no processo de triagem apresentaram valores de CS_{50} inferiores ao exibido para o controle positivo (resveratrol). Além disso, dez compostos apresentaram valores de CS_{50} muito baixos, aproximadamente 20 a 30 vezes menores que o do controle positivo. Tais resultados indicam que esses compostos apresentam um grande potencial no sequestro de radicais livres. Quando os 35 compostos foram avaliados na capacidade em capturar radicais ânions superóxidos, foi realizado um processo de triagem em uma concentração máxima de 320 μM . Dentre esses compostos, dezesseis foram eficientes na inibição de radicais ânions superóxidos. No entanto os compostos **3**, **11** e **20** ajudaram na produção de radicais superóxidos, mas de forma geral a atividade antioxidante de todos os compostos foi maior que a do resveratrol (controle positivo), em quase todas as concentrações avaliadas, em alguns casos a atividade foi até duas vezes maior. Quando avaliados os valores de CS_{50} para sequestrar ânions superóxidos, verificou-se que o resveratrol apresentou um valor de 691,3 μM , muito alto em relação aos compostos **17** (45,5), **23** (29,5), **26** (33,4), **28** (21,4), **29** (31,6) e **32** (26,6). Estes valores foram tão baixos, que chegaram a aproximadamente 20 a 30 vezes menores do que o controle positivo. Tais resultados indicam o grande potencial desses compostos no sequestro do radical ânion superóxido e, como são compostos de fácil obtenção, constituem uma importante classe a ser mais explorada.

PARTE VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, V. L., LEITÃO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C. A., DONNICI, C. L., LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova*. 28, (2005), 118.

ANDERSON, J. B. Evolution of antifungal-drug resistance: mechanisms and pathogen fitness. *Nature Review. (Microbiology)*. 3, (2005), 547.

ANSARI, K. I.; KASIRI, S.; GRANT, J. D.; MANDAL, S. S. Apoptosis and anti-tumour activities of manganese(III)-salen and -salphen complexes. *Dalton Trans.* 40, (2009), 8525.

ARMSTRONG, J. D.; WOLFE, C. N.; KELLER, J. L.; LYNCH, J.; BHUPATHY, M.; VOLANTE, R. P. A novel synthesis of disubstituted ureas using titanium(IV) isopropoxide and sodium borohydride. *Tetrahedron Letters*. 36, (1997), 1531.

ASHRAF, M. A.; MAHMOOD, K.; WAJID, A. Synthesis, Characterization and Biological Activity of Schiff Bases. *2011 International Conference on Chemistry and Chemical Process*. 10, (2011), 1.

ASIT, K. C, BHAGAT, S.; RUDRAWAR, S. Magnesium perchlorate as an efficient catalyst for the synthesis of imines and phenylhydrazones. *Tetrahedron Letters*. 45, (2004), 7641.

AZIZI, N.; AKBARI, E.; AMIRI, ALIREZA, K.; SAIDI, M. R. Synthesis, spectroscopic characterization, thermal studies, catalytic epoxidation and biological activity of chromium and molybdenum hexacarbonyl bound to a novel N₂O₂ Schiff base. *Tetrahedron Letters*. 49, (2008), 6682.

BAKER, A. W.; SHULGIN, A. T. Intramolecular Hydrogen Bonding. 11. The Determination of Hsmmett Sigma Constants by Intramolecular Hydrogen Bonding in Schiff's Bases *Journal American Chemical Society*. 81, (1959), 1523.

BARAR F. S. K. *Essential of Pharmacotherapeutics*. (2003), 467.

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

BILLMAN, J. H.; TAI, K. M. Reduction of Schiff Bases. II. Benzhydrylamines and Structurally Related Compounds. *Journal Organic. Chemistry*. 23, (1958), 535.

BONONI, V.L.R. Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. *São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente*. (1998), 184.

BRANCHAUD, B. P. Studies on the preparation and reactions of tritylsulfenimines. *Journal Organic Chemistry*. 48, (1983), 3531.

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

CHABNER, B. A.; GILMAN, A. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. ED. Mc Graw Hill: Rio de Janeiro, (1995), 903.

CHAPUIS, C.; JACOBY, D. Catalysis in the preparation of fragrances and flavours. *Applied Catalysis A: General*. 221, (2001), 93.

CHENG, L. X.; TANG, J. J.; LUO, H.; JIN X. L.; DAÍ, F.; YANG, J.; QIAN, Y. P.; LI, X. Z.; ZHOU, B. Antioxidant and antiproliferative activities of hydroxyl-substituted Schiff bases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 20, (2010), 2417.

CHITANDA, J. M.; PROKOPCHUK, D. E.; QUAIL, J. W.; FOLEY, S. R. From Pyrroles to Isoindolines: Synthesis of a γ -Diimine Ligand for Applications in Palladium coordination Chemistry and Catalysis. *Organometallics*. 27, (2008), 2337.

CHO, B. T.; KANG, S. K. Direct and indirect reductive amination of aldehydes and ketones with solid acid-activated sodium borohydride under solvent-free conditions. *Tetrahedron*. 61, (2005), 5725.

CHUN, S. S.; VATEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*. 40, (2005), 809.

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

COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; BASCONCELLOS, M. *Substâncias carboniladas e derivados*, Porto Alegre: Bookman, (2003), 47.

DA SILVA, C. M., DA SILVA, D., MODOLO, L. V., ALVES, R. B., RESENDE, M. A., MARTINS, C. V. B., DE FÁTIMA, A. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*. 2, (2011), 1.

DEAN, E. W.; STARK, D. D. A Convenient Method for the Determination of Water in Petroleum and Other Organic Emulsions. *Industrial and Engineering Chemistry*. 12, (1920), 486.

EVANS, C. R.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20, (1996), 933.

FERNANDEZ-PANCHON, M. S.; VILLANO, D. TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA, M. C. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48, (2008), 649.

FONSECA, M. H.; EIBLER, E.; ZABEL, M.; KONIG, B. Synthesis, structure and catalytic activity of new chiral nitrogen-containing ligands. *Inorganica Chimica Acta*. 352, (2003) 136.

FOYE, W. O.; LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A. *Principles of Medicinal Chemistry*. ED. Williams & Wilkins: Baltimore, (1996), 822.

FUNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G; TATCHELL, A. R *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. (1989), 5ª Edição, 601.

GAMA, A. L.Z.; LOPEZ, G. F.; AGUIRRE, M.; HAKE, R. P.; WALSH, P. J. S. Steric effects in the design of chiral Schiff base–titanium complexes: new catalysts for asymmetric trimethylsilylcyanation of aldehydes. *Tetrahedron: Asymmetry*. 13, (2002), 149.

GELASCO, A.; LIPPARD, S. J. NMR solution structure of a DNA dodecamer duplex containing a *cis*-diammineplatinum(II) d(GpG) intrastrand cross-link, the major adduct of the anticancer drug cisplatin. *Biochemistry*. 37, (1998), 9230.

GILMAN, A.; PHILLIPS, F. S. The Biological Actions and Therapeutic Applications of the B-Chloroethyl Amines and Sulfides. *Science*. 103, (1946), 409.

GÜLÇİN, I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11, (2010), 210.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products*. 59, (1996), 205.

HAYASHI, H. J. Pyridoxal Enzymes: Mechanistic Diversity and Uniformity. *Biochemistry*. 118, (1995) 463.

HE, Y.; CAI, C. Polymer-supported macrocyclic Schiff base palladium complex: An efficient and reusable catalyst for Suzuki cross-coupling reaction under ambient condition. *Catalysis Communications*. 12, (2011), 678.

HILLE, A.; GUST, R. Influence of methoxy groups on the antiproliferative effects of [FeIII(salophene-OMe)Cl] complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 45, (2010) 5486.

HILLE, A.; OTT, I.; KITANOVIC, A.; KITANOVIC, I.; ALBORZINIA, H.; LEDERER, E.; WOLFL, S.; METZLER-NOLTE, N.; SCHAFER, S.; SHELDRIK, W. S.; BISCHOF, C.; SCHATZSCHNEIDER, U.; GUST, R. [*N,N'*-Bis(salicylidene)-1,2-phenylenediamine]metal complexes with cell death promoting properties. *Journal Biological Inorganic Chemistry*. 14, (2009), 711.

HOPKINS, P. B.; MILLARD, J. T.; WOO, J.; WEIDNER, M. F.; KIRCHNER, J. J.; SIGURDSSON, S. T.; RAUCHER, S. Sequence preferences of DNA interstrand cross-linking agents: Importance of minimal DNA structural reorganization in the cross-linking reactions of mechlorethamine, cisplatin and mitomycin C. *Tetrahedron*. 47, (1991), 2475.

HOSHINO, N.; INABE, T.; MITANI, T.; MARUYAMA, Y. Structure and Optical Properties of a Thermochromic Schiff Base. Thermally Induced Intramolecular Proton Transfer in the *N,N'*-Bis(salicylidene)-*p*-phenylenediamine Crystals. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 61, (1988), 4207.

JENNIGS, W. B.; LOVELY, C. J. An efficient method for the preparation of N-phosphinoyl and N-sulphonyl imines directly from aromatic aldehydes. *Tetrahedron Letters*. 29, (1988), 3725.

KANO, S.; NAKANO H.; KOJIMA, M.; BABA, N.; NAKAJIMA, K. An effect of the ionic radii of lanthanide(III) ions on the structure and catalytic properties of chiral Schiff base-lanthanide(III) complexes. *Inorganic Chimica Acta*. 349, (2003) 6.

KARTHIKEYAN, M. S.; PRASAD, D. J.; POOJARY, B.; BHAT, K. S.; HOLLA, B. S.; KUMARI, N. S. Synthesis and biological activity of Schiff and Mannich bases bearing 2,4-dichloro-5-fluorophenyl moiety. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 14, (2006), 7482.

KINGSHOTT, P.; THISSEN, H.; GRIESSER, H.J. Effects of cloud-point grafting, chain length, and density of PEG layers on competitive adsorption of ocular proteins. *Biomaterials*. 23, (2002), 2043.

KRINSKY, N.I. The Biological properties of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*. 66, (1994), 1003.

KUMAR, S.; DHAR, D. N.; SAXENA, P. N. "Applications of metal complexes of Schiff bases-a review". *Journal Scientific Industrial Reseach*. 68, (2009), 181.

KURTI, L.; CZAKÓ, B. *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*. (2005).

LIGTENBARG, A. G. J.; BEUKEN, E. K.; MEETSMA, A.; VELDMAN, N.; SMEETS, W. J. J.; SPEK, A. L.; FERINGA, B. L. New mono- and di-nuclear complexes of Pd^{II}, Pt^{II} and Ni^{II} of PNNP ligands with a 2,2'-biaryl bridging unit. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. (1998), 263.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacologia*. 16, (2006), 197.

LIU, G.; COGAN, D. A.; OWENS, T. D.; TANG, T. P.; ELLMAN, J. A. Synthesis of Enantiomerically Pure *N-tert*-Butanesulfinyl Imines (*tert*-Butanesulfinimines) by the Direct Condensation of *tert*-Butanesulfinamide with Aldehydes and Ketones. *Journal Organic Chemistry*. 64, (1999), 1278.

LIU, L.; ROZENMAN, M.; BRESLOW, R. Stereoselectivity in reactions of amino acids catalyzed by pyridoxal derivatives carrying rigidly-Attached chirally-Mounted basic groups transamination, racemization, decarboxylation, retro-Aldol reaction, and aldol condensation. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 10, (2002) 3973.

LOKICH, J.; ANDERSON, N. Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the literature. *Annals of Oncology*. 9, (1998), 13.

LOOK, G. C.; MURPHY M. M.; CAMPBELL D. A.; GALLOP M. A. Trimethylorthoformate: A mild and effective dehydrating reagent for solution and solid phase imine formation. *Tetrahedron Letters*. 36, (1995), 2937.

LOPEZ, Z. F.; HAKE M. P.; SOMANATHAN, R.; WALSH, P. Enantioselective Addition of Trimethylsilylcyanide to Aldehydes Catalyzed by Ti(IV) Complexes Derived from cis-1-Amino-2-Indanol: A Reactivity/Enantioselectivity Study. *Journal of Organometallic Chemistry*. 19, (2000), 2153.

LOVE, B. E; REN, J. Synthesis of sterically hindered imines. *Journal Organic Chemistry*. 58, (1993), 5556.

MAGESH, C.J.; MAKESH, S.V.; PERUMAL, P.T. Highly diastereoselective inverse electron demand (IED) Diels–Alder reaction mediated by chiral salen–AlCl complex: the first, target-oriented synthesis of pyranoquinolines as potential antibacterial agents. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 14, (2004), 2035.

MOHAMED, G. G.; OMAR, M. M.; HINDY, A. M. Mixed ligand complexes of bis(phenylimine) Schiff base ligands incorporating pyridinium moiety Synthesis, characterization and antibacterial activity. *Turkish Journal of Chemistry*. 30, (2006), 361.

MONKS, A.; SCUDIERO, D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER, R.; PAULL, K.; VISTICA, D.; HOSE, C.; LANGLEY, J.; CRONISE, P.; WOLFF, A. V.; GOODRICH, M. G.; CAMPBELL, H.; MAYO, J.; BOYD, M. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. *Journal of the National Cancer Institute*. 83, (1991), 757.

MORETTI, I.; TORRE,G. A Convenient Method for the Preparation of N-Alkyl Benzophenone Imines. *Synthesis*. 47, (1970), 141.

MORRIS, G.A.; NGUYEN, S.T.; HUPP, J.T. Enhanced activity of enantioselective (salen)Mn(III) epoxidation catalysts through supramolecular complexation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 174, (2001), 15.

MURAD, A. M.; KATZ, A. *Oncologia Bases Clínicas do Tratamento*. Guanabara; Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. (1996), 41.

NIAMH, M. O.; LISA M. G.; NIALL, O. K.; SHU, W.; TADHG, S. C.; DANIELA M. Z.; MARY J. M. Synthesis and biochemical activities of antiproliferative amino acid and phosphate derivatives of microtubule-disrupting β -lactam combretastatins. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 62, (2013), 705.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. *Química Nova*. 25, (2002), 976.

PARKIN, D. M.; BRAY, F. I.; DEVESA, S. S. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *European Journal of Cancer*. 37, (2001), 66.

PIETTA, P.G. Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63, (2000), 1035.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* *Journal of Clinical Microbiology*. 42, (2004), 4419.

- PLIEGO, J. R.; ALCÂNTRA, A. F. C.; VELOSO, D. P.; ALMEIDA, W. B. Theoretical and Experimental Investigation of the Formation of *E* and *Z*-Aldimines from the Reaction of Methylamine with Acetaldehyde. *Journal Brazil Chemistry Society*. 10, (1999), 381.
- RAJKAPOOR, B.; BURKAN, Z. E.; SENTHILKUMAR, R. Oxidants and human diseases: Role of antioxidant medicinal plants - A review. *Pharmacologyonline*. 1, (2010), 1117.
- RAJSKI, S. R.; WILLIAMS, R. M. DNA Cross-Linking Agents as Antitumor Drugs. *Chemical Reviews*. 98, (1998), 2723.
- RAVI, V.; RAMU, E.; VIJAY, K.; RAO, A. S. Zn-Proline Catalyzed Selective Synthesis of 1,2-Disubstituted Benzimidazoles in Water. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 55, (2007), 1254.
- ROGERS, T. R. Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact? *International Journal of Antimicrobial Agents*. 27, (2006), 7.
- ROSENBERG, B.; CAMP, V. L. The Successful Regression of Large Solid Sarcoma 180 Tumors by Platinum Compounds. *Cancer Research*. 30, (1970), 1799.
- ROSENBERG, B.; CAMP, V. L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature*. 205, (1965), 698.
- ROSENBERG, B.; CAMP, V. L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, H.V. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature*. 222, (1969), 385.
- SALMON, S. E.; KATZUNG, B. G. *Farmacología Básica & Clínica*. ed.; Guanabara Koogan S. A.: Rio de Janeiro, (1998), 629.
- SCHIFF, H. Mitteilungen aus dem universitatlaboratorium in Pisa: Eineneue reihe organischer basen. *Justus Liebigs Ann Chemistry*. 131, (1864), 118.
- ŠERŠEŇ, F.; WALKO, M.; LOOS, D. Antioxidative effect of some hydroxy substituted aromatic bisimines. *General Physiology and Biophysics*. 28, (2009), 210.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. (2000), 6ª Edição.
- SOARES, S. E.; Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*. 15, (2002), 71.
- STAR, A.; GOLDBERG, I.; FUCHS, B. Diazadioxadecalin and salen podands and macrocycles within dynamic combinatorial virtual libraries: structure, prototropy, complexation and enantioselective catalysis. *Journal Organic Chemistry*. 630, (2001), 67.
- TAGUCHI, K.; WESTHEIMER, F. H. Catalysis by molecular sieves in the preparation of ketimines and enamines. *Journal Organic Chemistry*. 36, (1971), 1570.
- VAAS, R. S.; DUDA´S, J.; VARMA, R. S. Solvent-free synthesis of *N*-sulfonylimines using microwave irradiation. *Tetrahedron Letters*. 40, (1999), 4951.

VARMA, R. S.; DAHIYA, R.; KUMAR, S. Clay catalyzed synthesis of imines and enamines under solvent-free conditions using microwave irradiation. *Tetrahedron Letters*. 38, (1997), 2039.

VOS, D.E.; GERRITS, K. P. P.; VANOPPEN, D. L.; JACOBS, P. A. Catalytic and physico-chemical properties of new schiff base complexes in zeolites. *Supramolecular Chemistry*. 6, (1995) 49.

WAN, J.; GAN, S.; WU, J.; PAN, Y. Water mediated chemoselective synthesis of 1,2-disubstituted benzimidazoles using *o*-phenylenediamine and the extended synthesis of quinoxalines. *Green Chemistry*. 11, (2009), 1633.

WANG, H.; SUN, W.; XIA, C. An easily recoverable and efficient catalyst for heterogeneous cyclopropanation of olefins. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 206, (2003) 199.

WEINGARTEN, H.; CHUPP, J. P.; WHITE, W. A. Ketimine syntheses. Use of titanium tetrachloride in a new procedure for their preparation. *Journal Organic Chemistry*. 32, (1967), 3246.

WHITE, W. A.; WEINGARTEN, H. A versatile new enamine synthesis. *Journal Organic Chemistry*. 32, (1967), 213.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer. Fact sheet N°297. February 2006.

ZHAO, F.; LIU, Z. Q. The protective effect of hydroxyl-substituted Schiff bases on the radical-induced oxidation of DNA. *Journal of Physical Organic Chemistry*. 22, (2009), 791.

PARTE VIII - ANEXOS

6.1 – Composto 1.

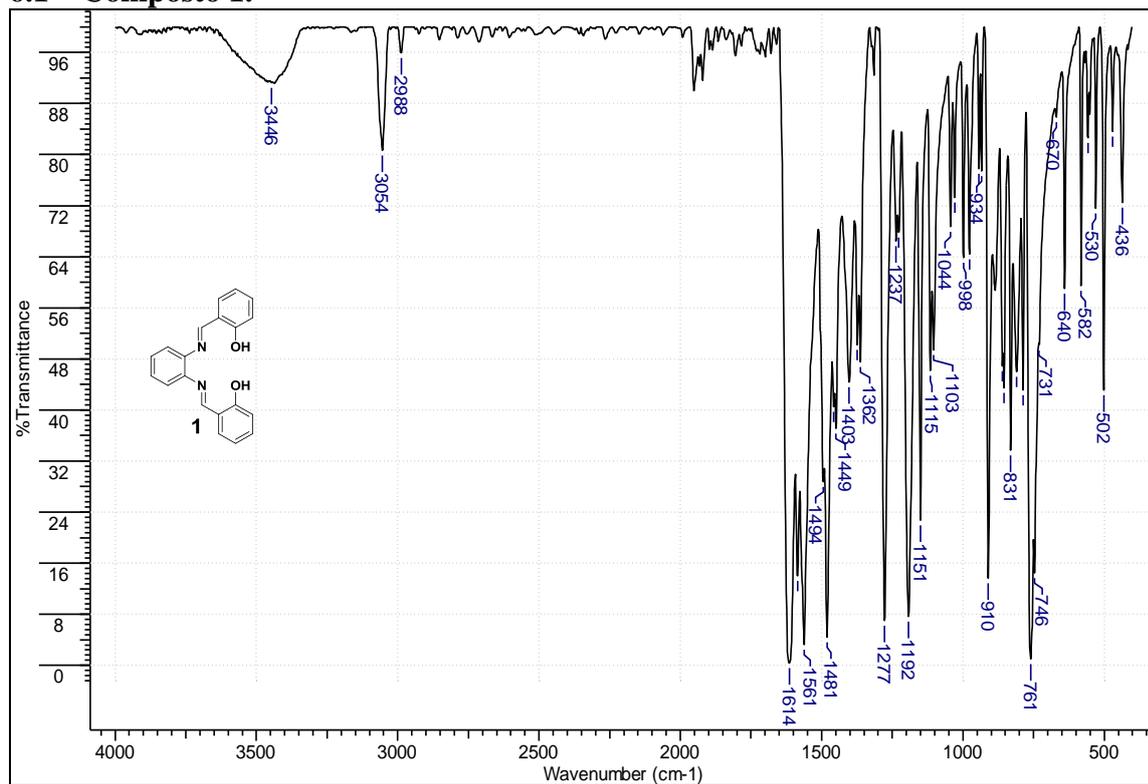


Figura 1. Espectro no infravermelho do composto **1** pastilhado com KBr.

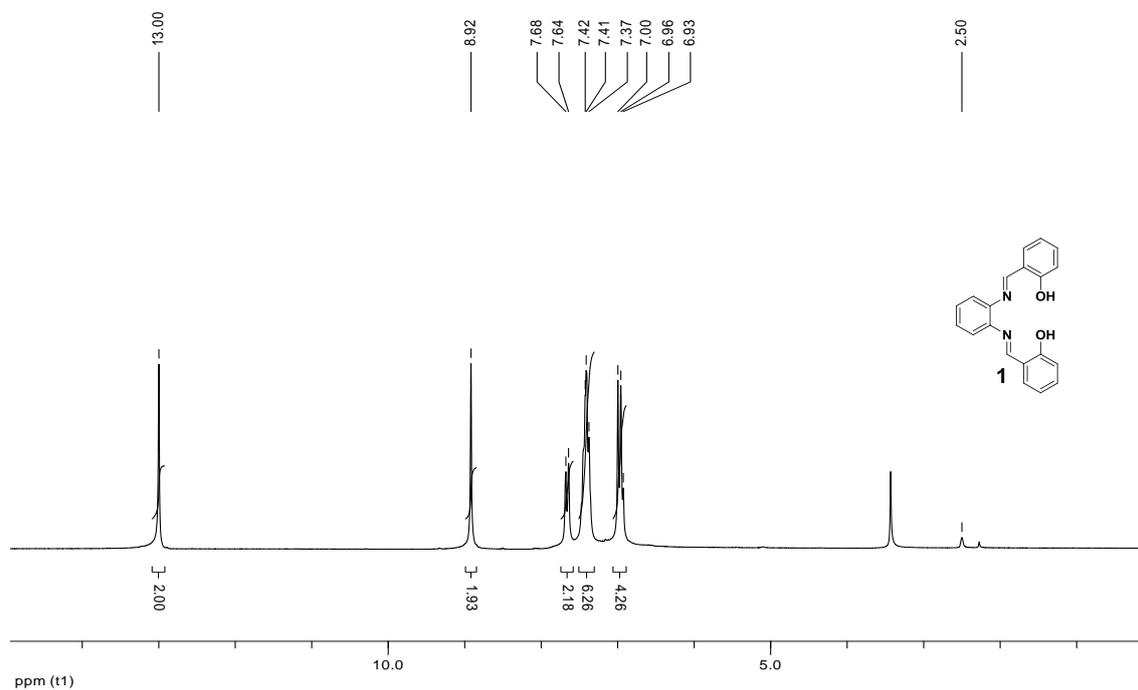


Figura 2. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-d₆) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diamina (**1**).

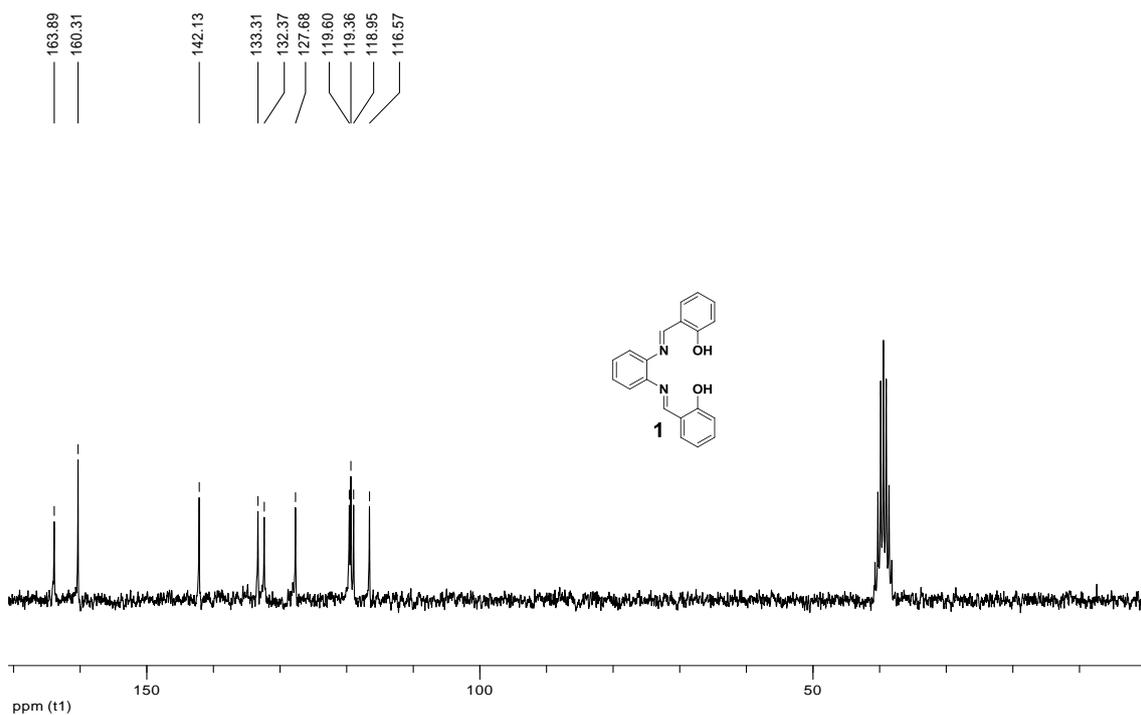


Figura 3. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(2-hidroxi benzilideno)benzeno-1,2-diamina (**1**).

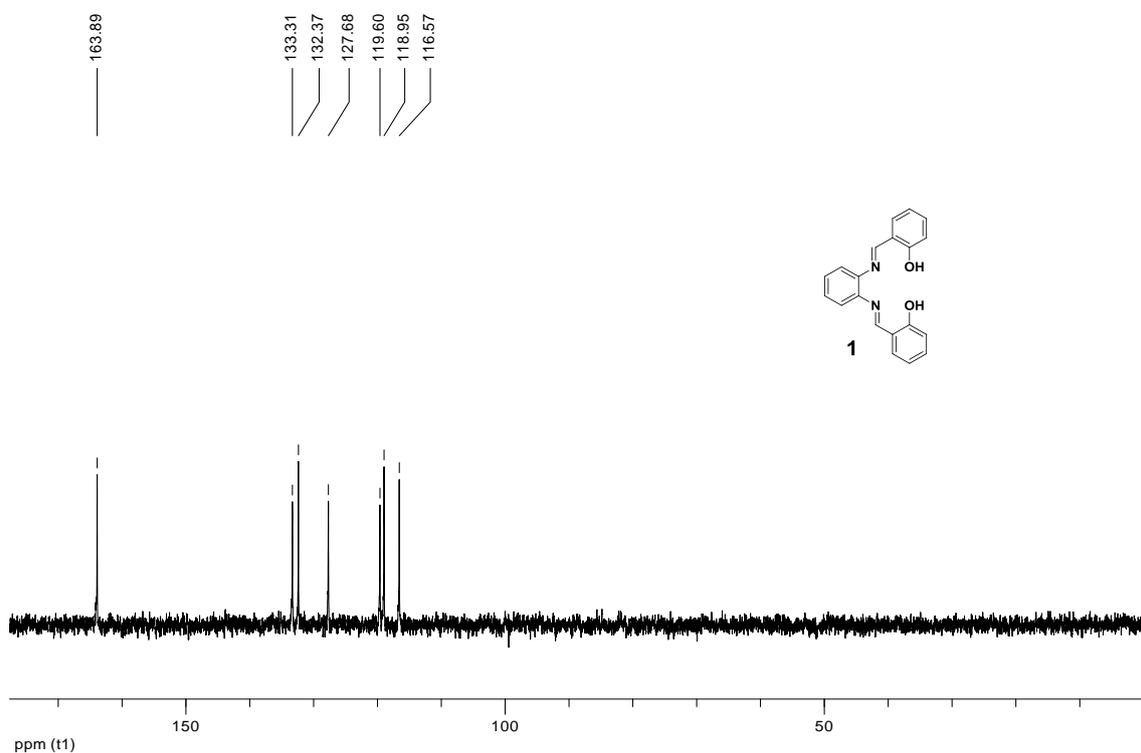


Figura 4. Subespectro de ^{13}C DEPT 135 (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(2-hidroxi benzilideno)benzeno-1,2-diamina (**1**).

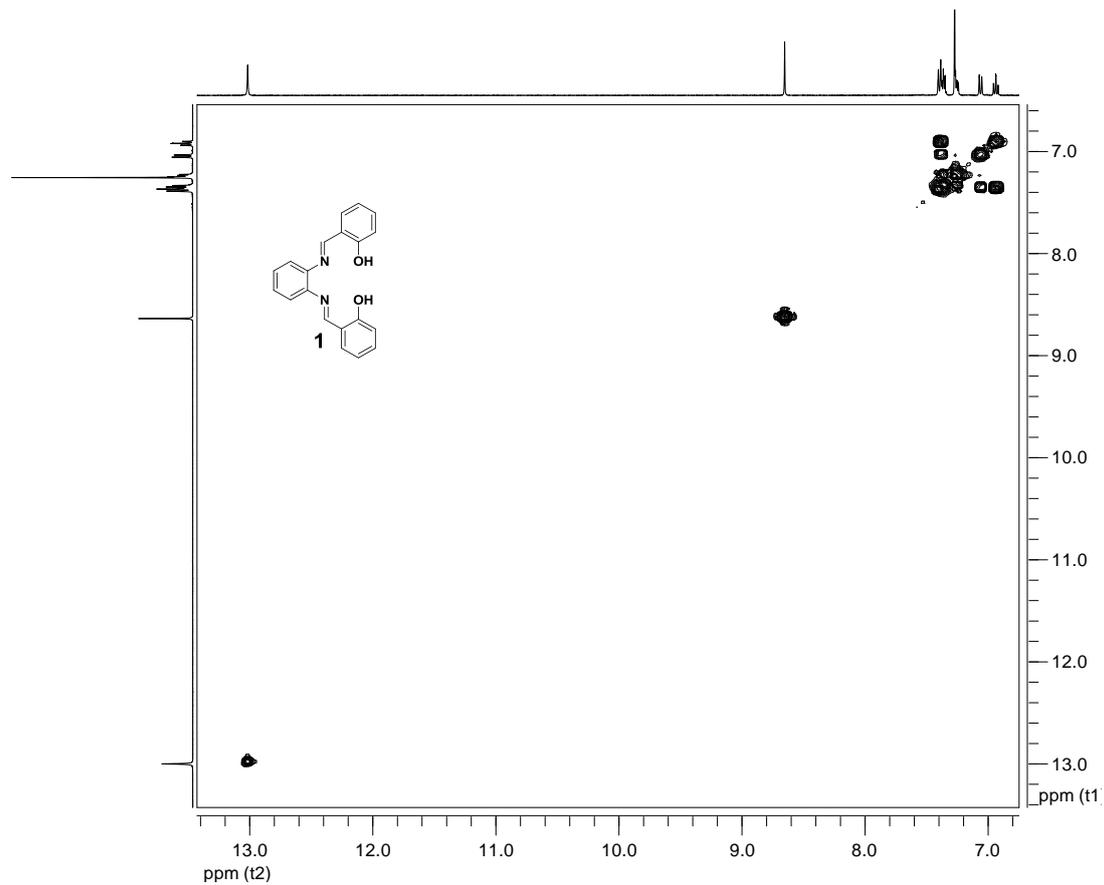


Figura 5. Mapa de contornos COSY de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**).

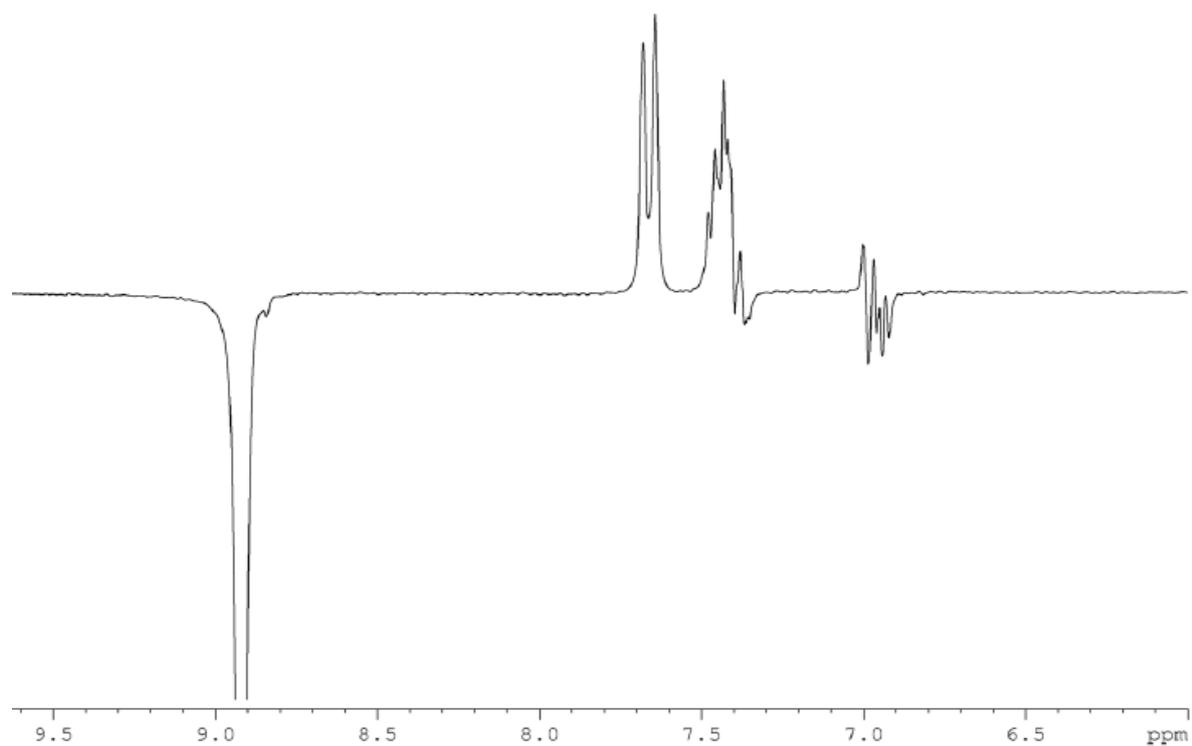


Figura 6. Espectro de NOE (Nuclear Overhauser Effect) 1D de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,2-diimina (**1**).

6.2 – Composto 2.

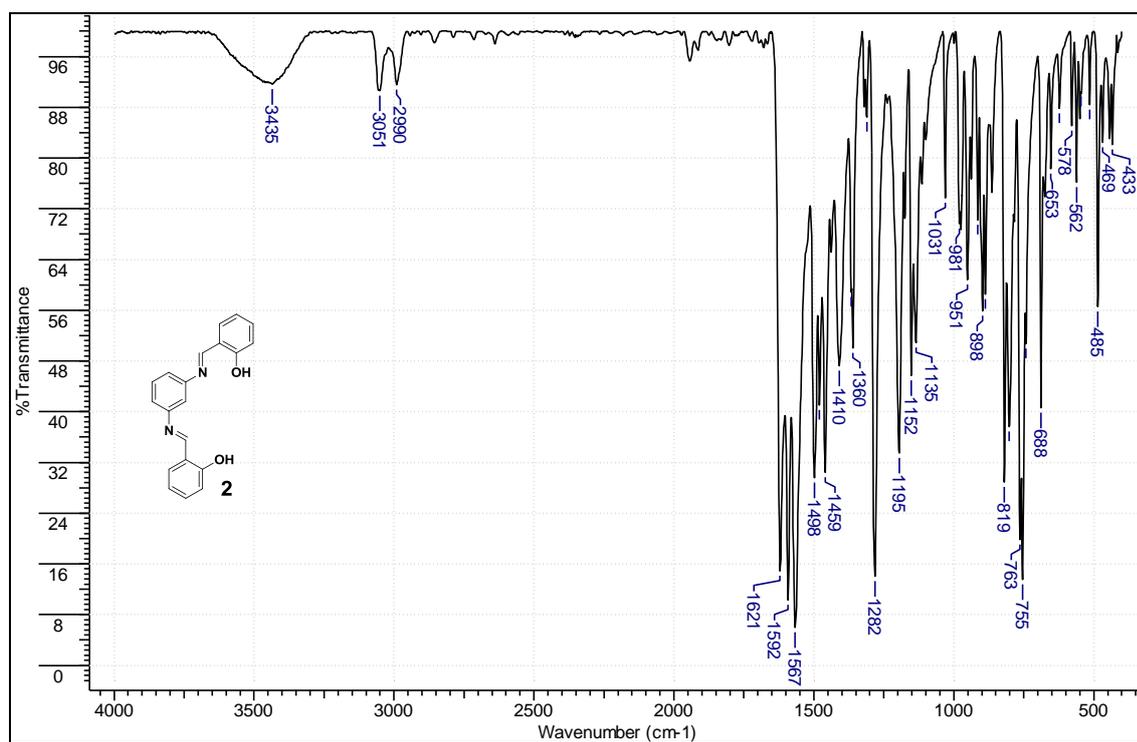


Figura 7. Espectro no infravermelho do composto **2** pastilhado em KBr.

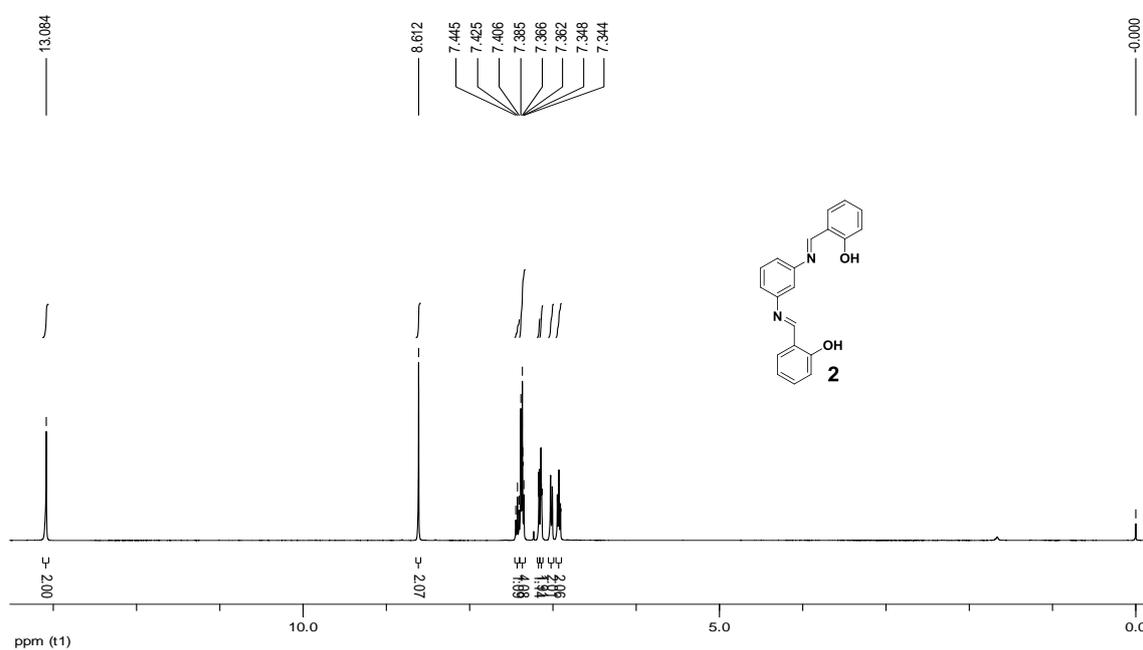


Figura 8. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz; CDCl₃) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**2**).

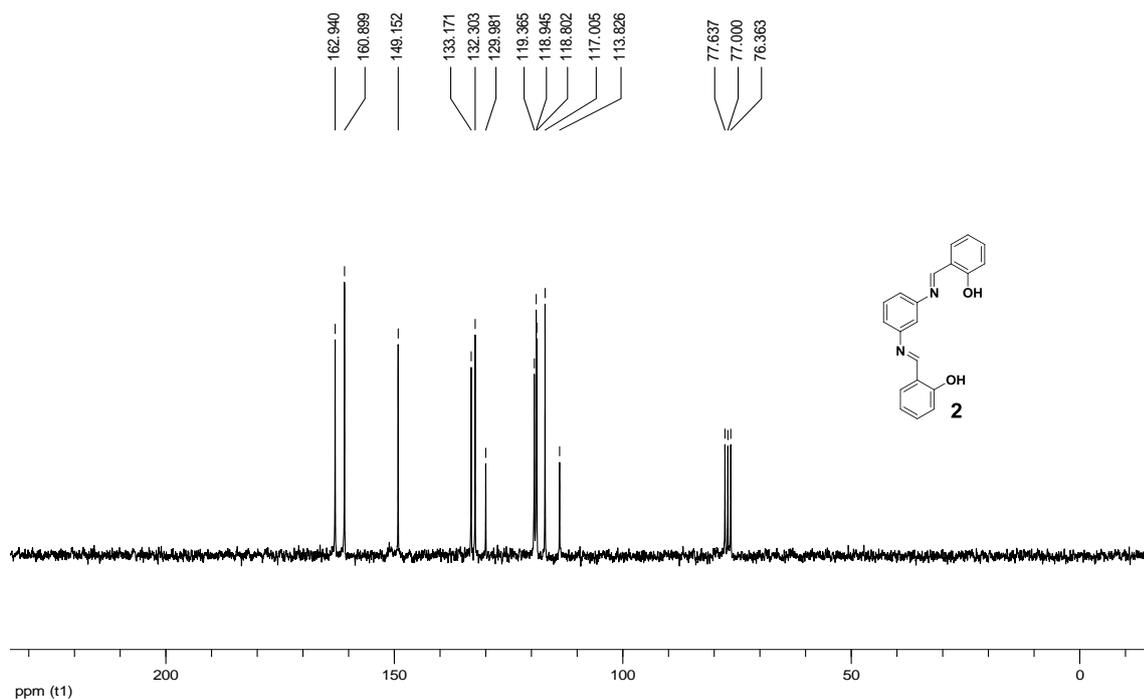


Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) de *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,3-diimina (**2**).

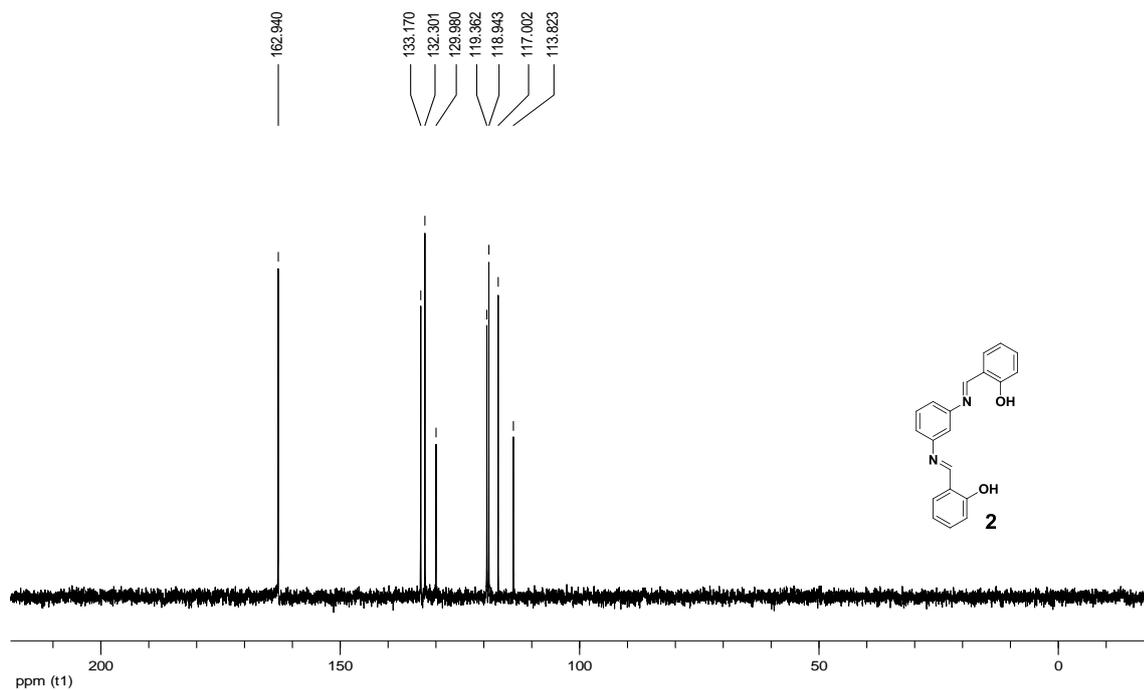


Figura 10. Subespectro DEPT 135 (100 MHz; CDCl_3) de *N,N'*-bis(2-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,3-diimina (**2**).

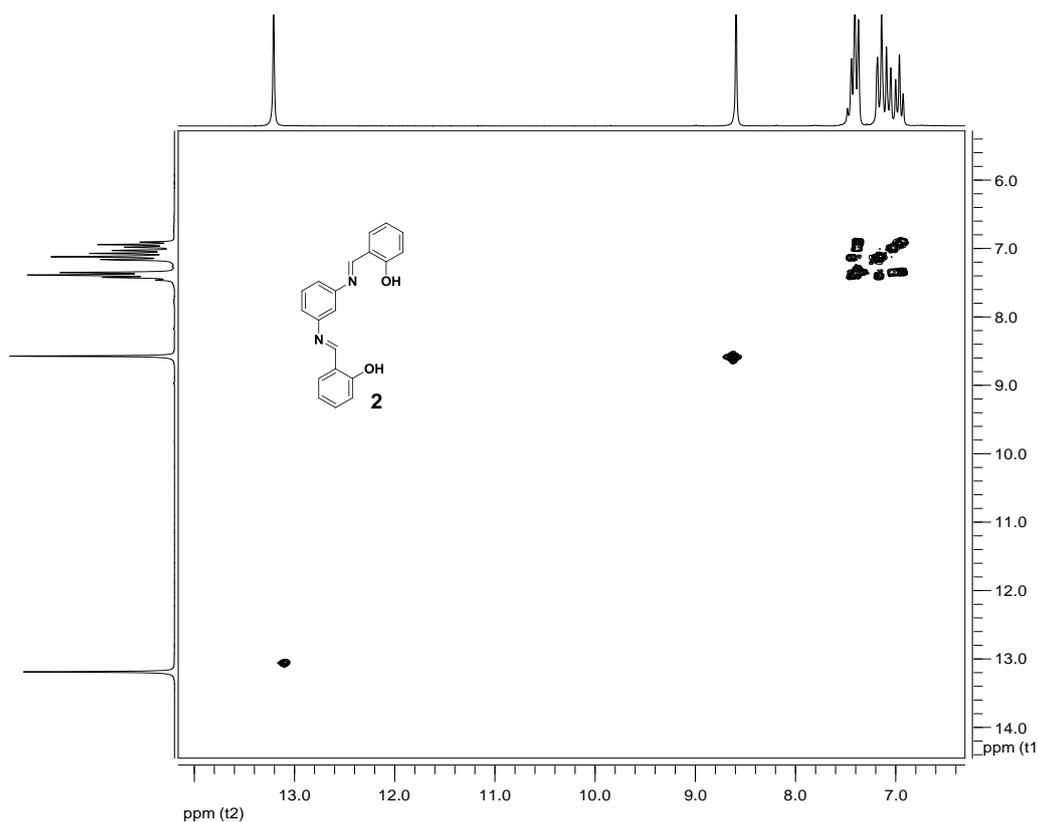


Figura 11. Mapa de contornos COSY de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (1).

6.3 – Composto 3.

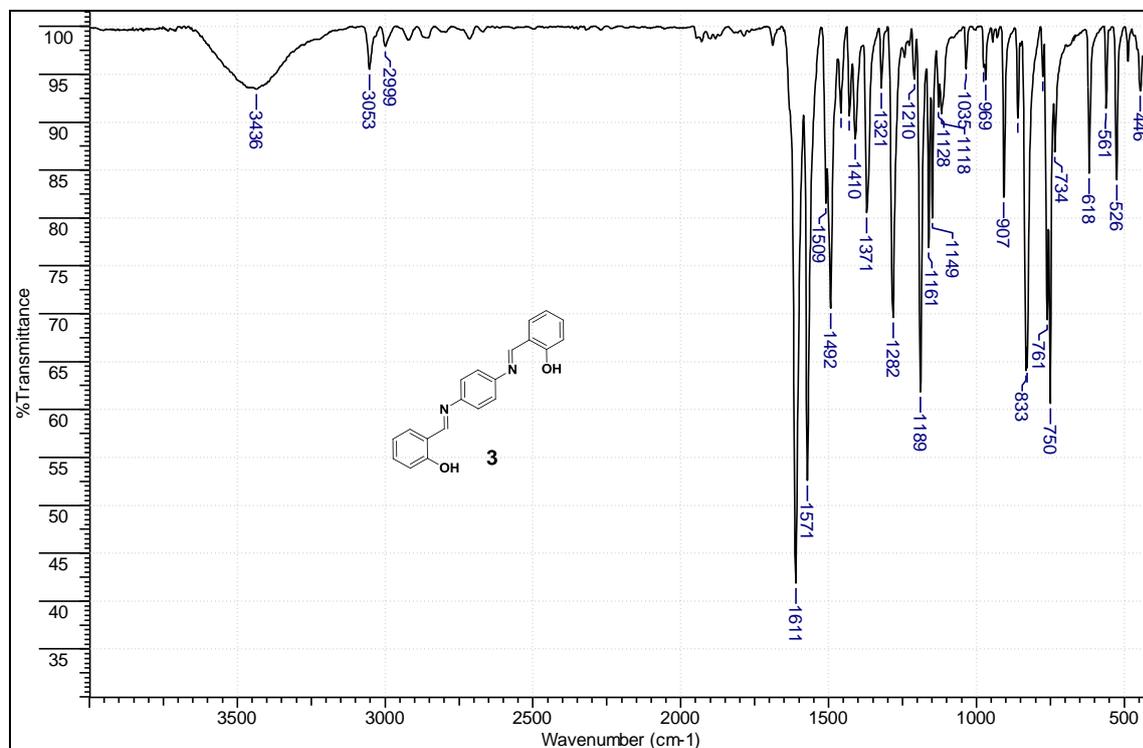


Figura 12. Espectro no infravermelho do composto 3 pastilhado em KBr.

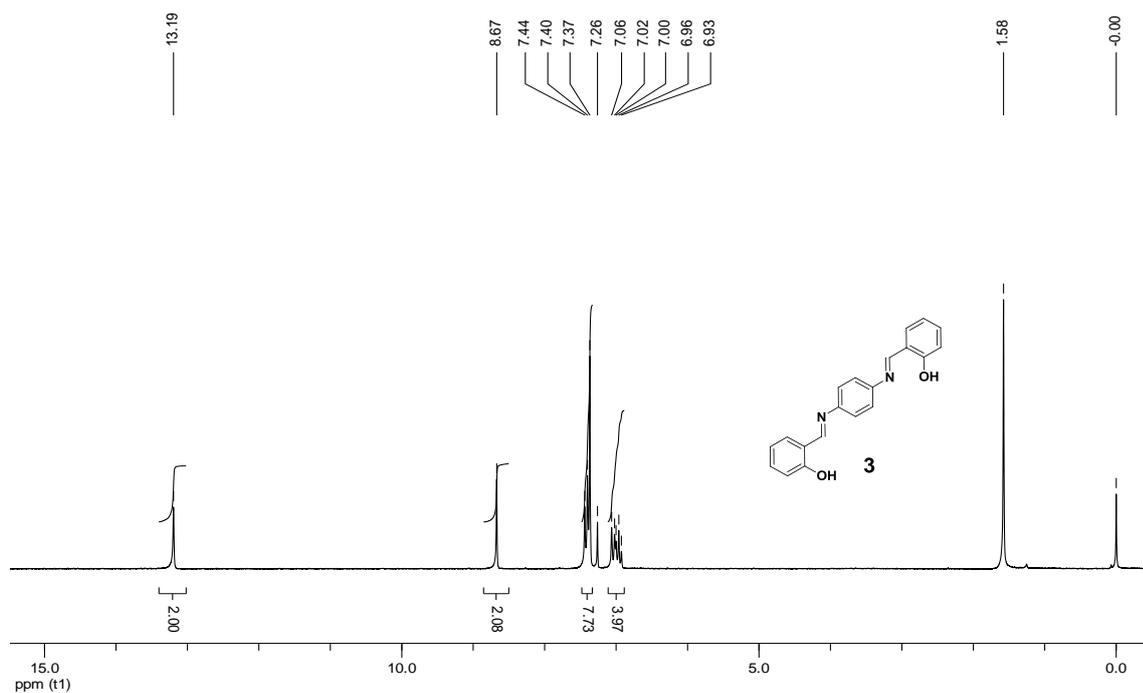


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; CDCl_3) de *N,N'*-bis(2-hidrobenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**3**).

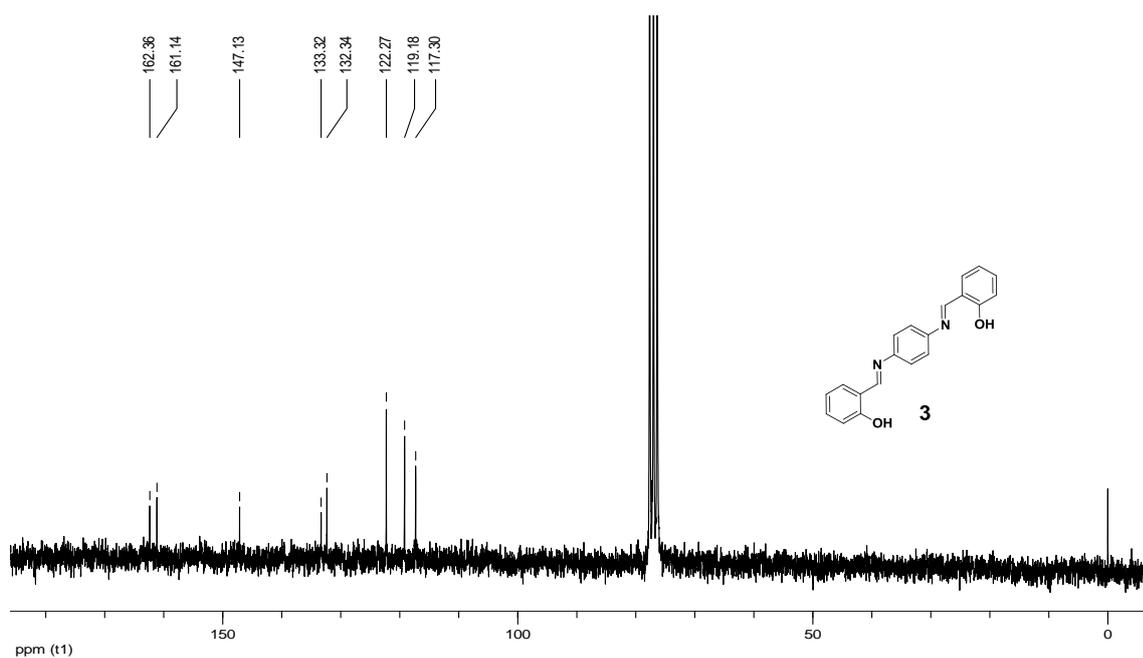


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz; CDCl_3) de *N,N'*-bis(2-hidrobenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**3**).

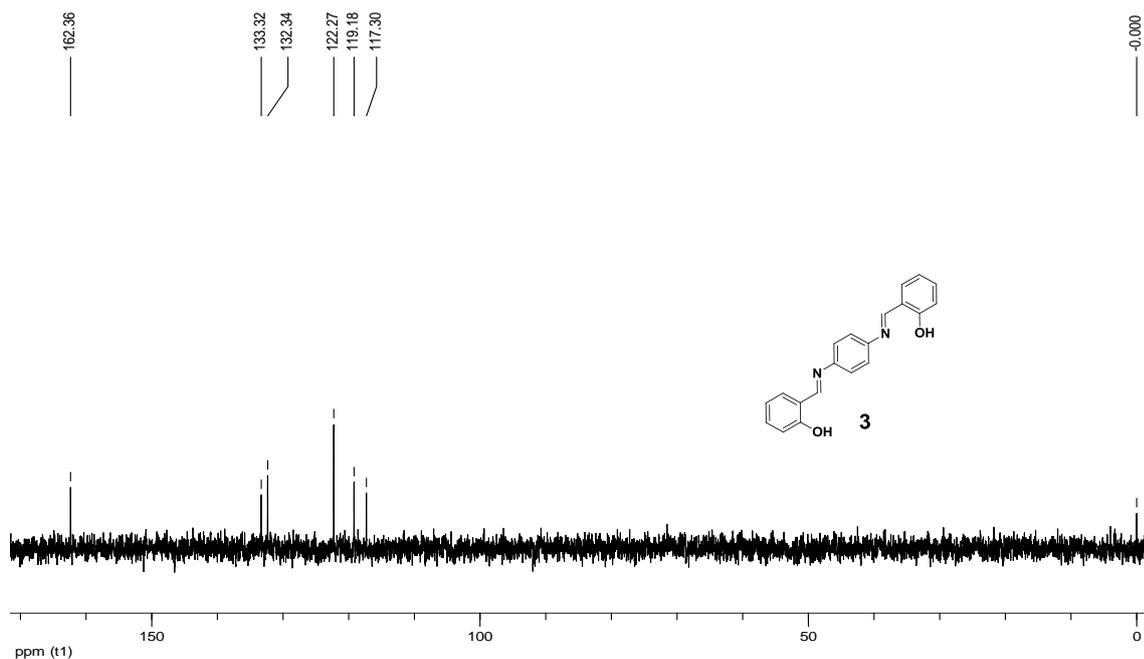


Figura 15. Subespectro DEPT 135 (100 MHz; CDCl_3) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**3**).

6.4 – Composto 4.

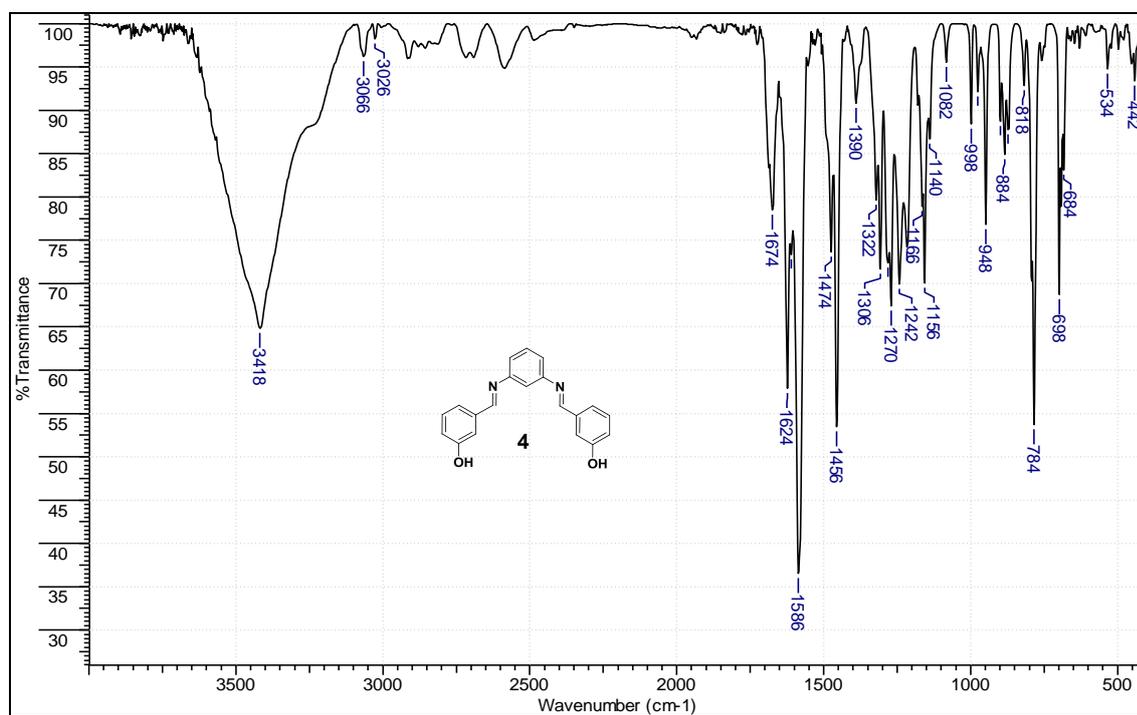


Figura 16. Espectro no infravermelho do composto **4** pastilhado em KBr.

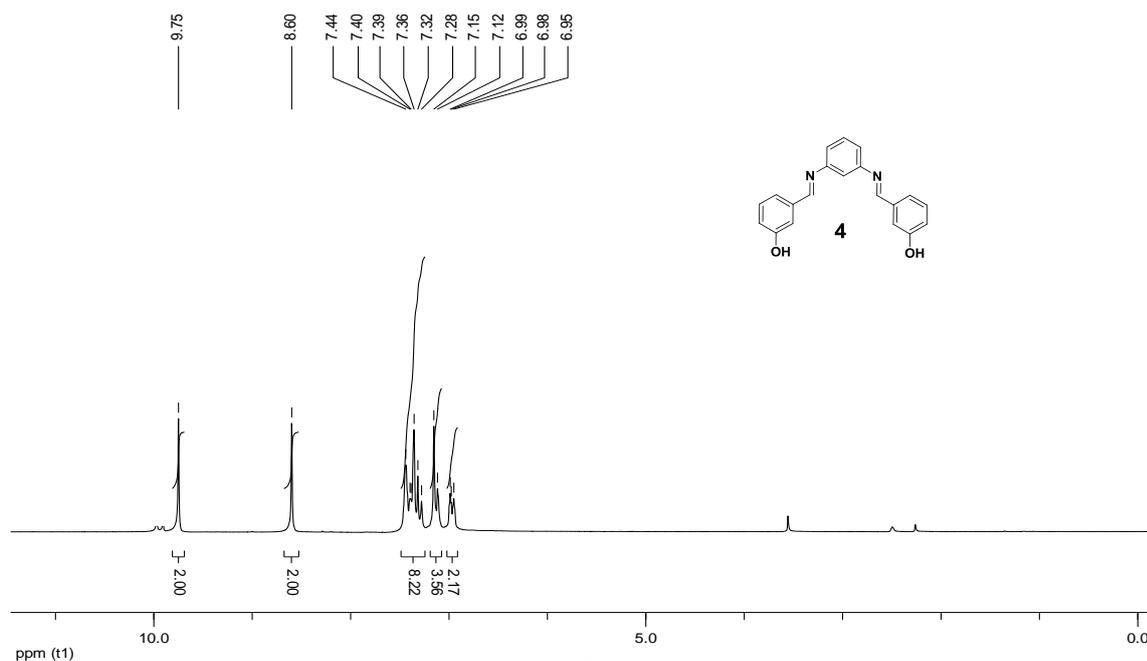


Figura 17. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**4**).

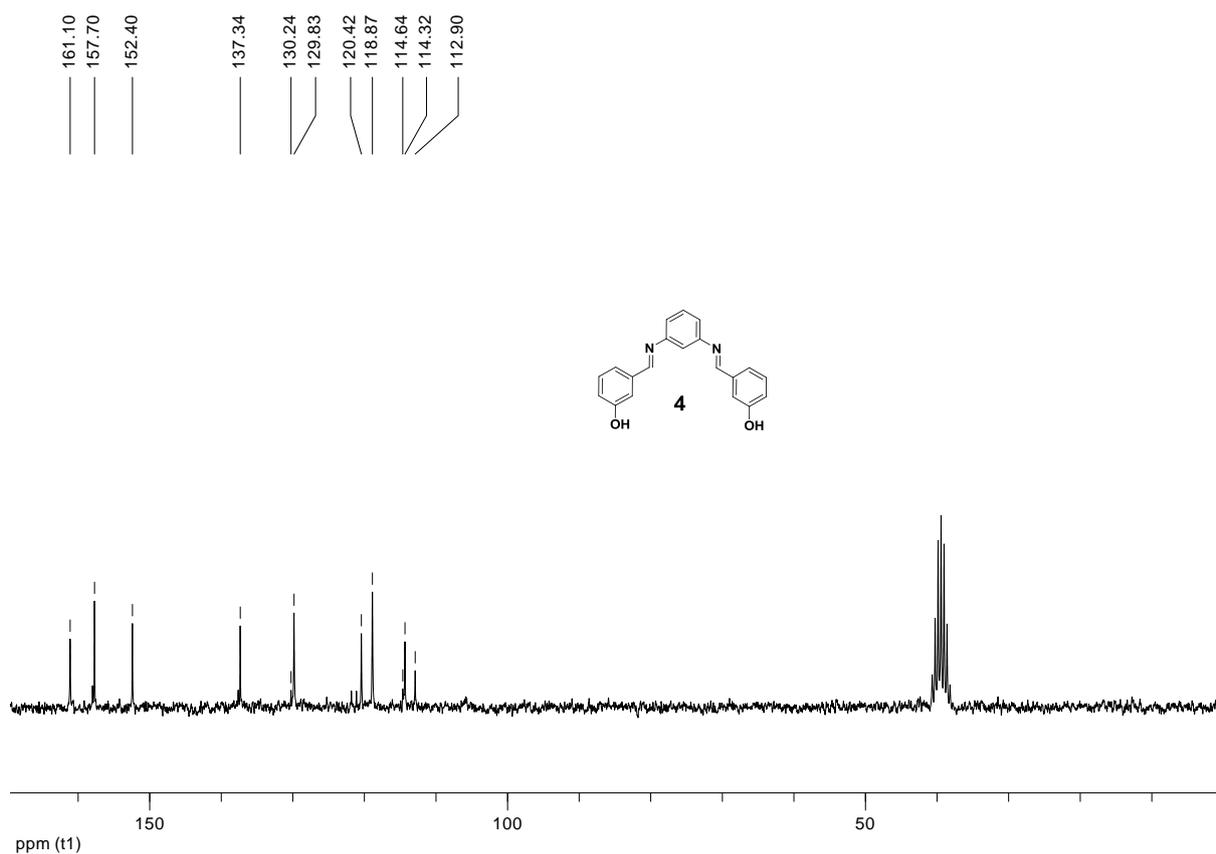


Figura 18. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**4**).

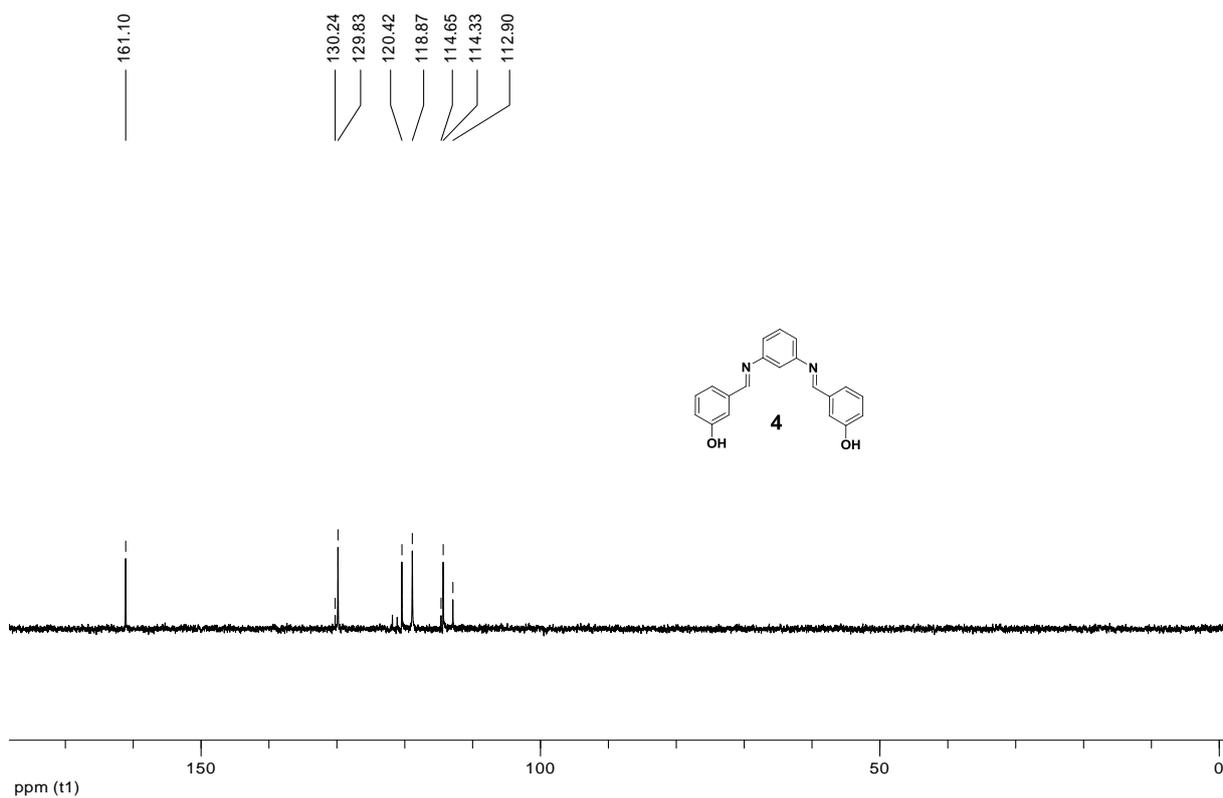


Figura 19. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (4).

6.5 – Composto 5.

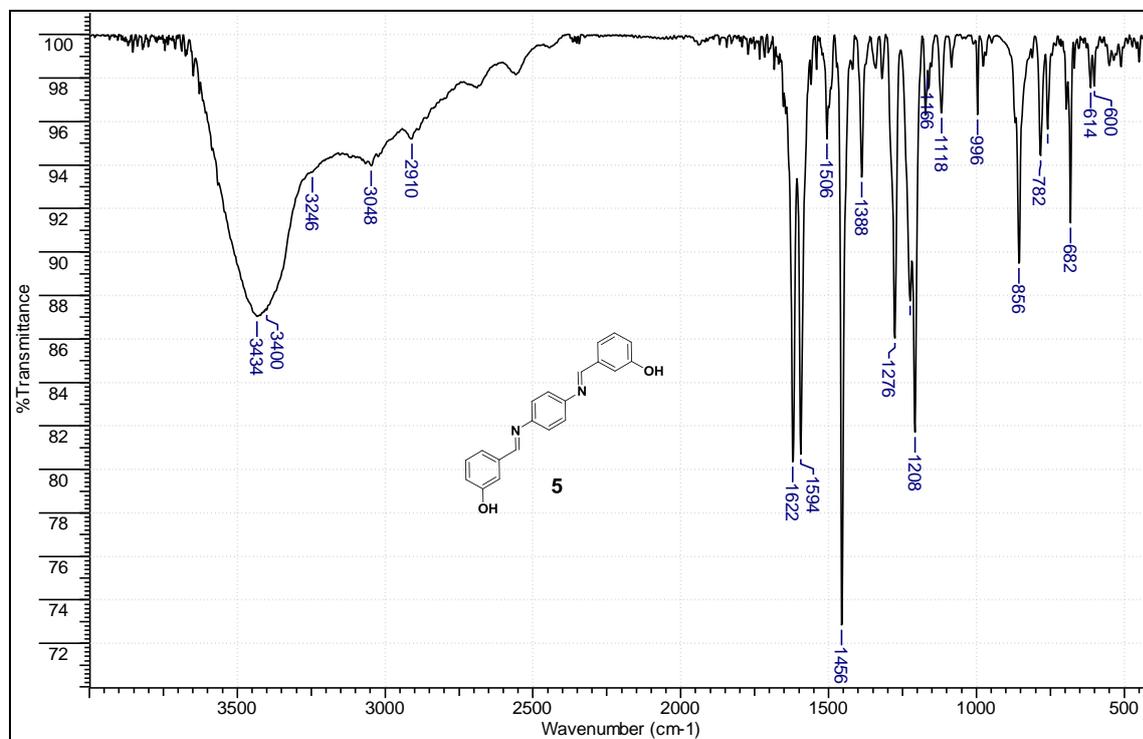


Figura 20. Espectro no infravermelho do composto 5 pastilhado em KBr.

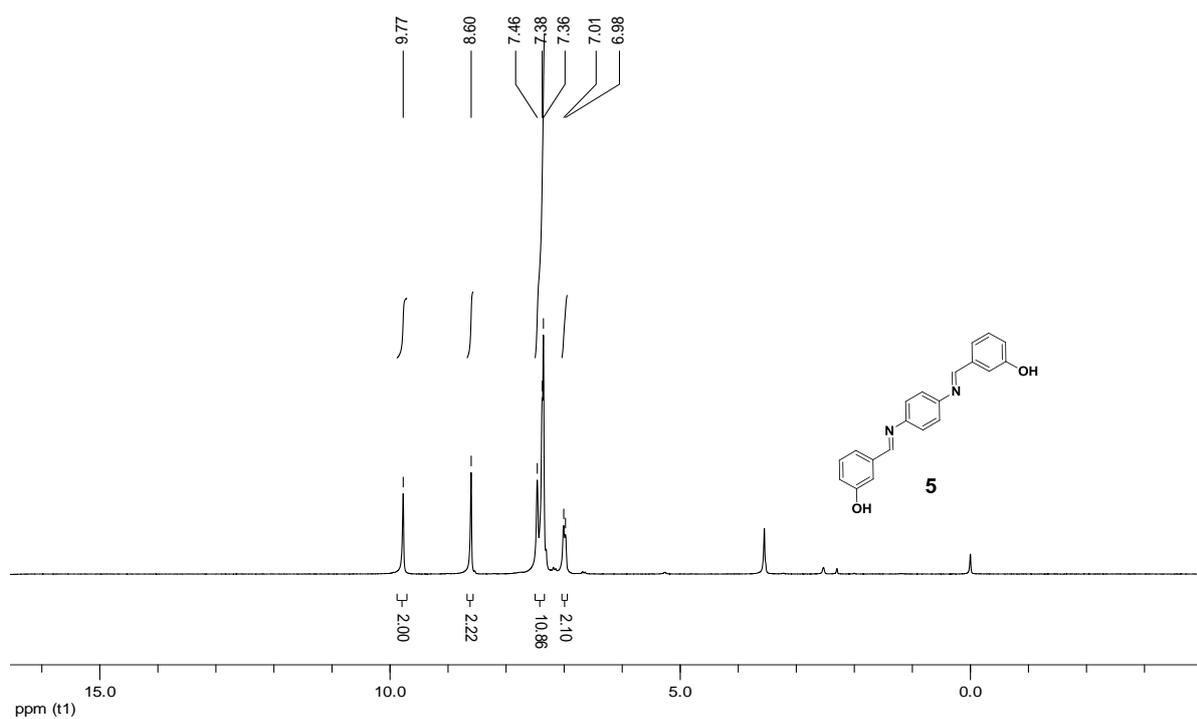


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**5**).

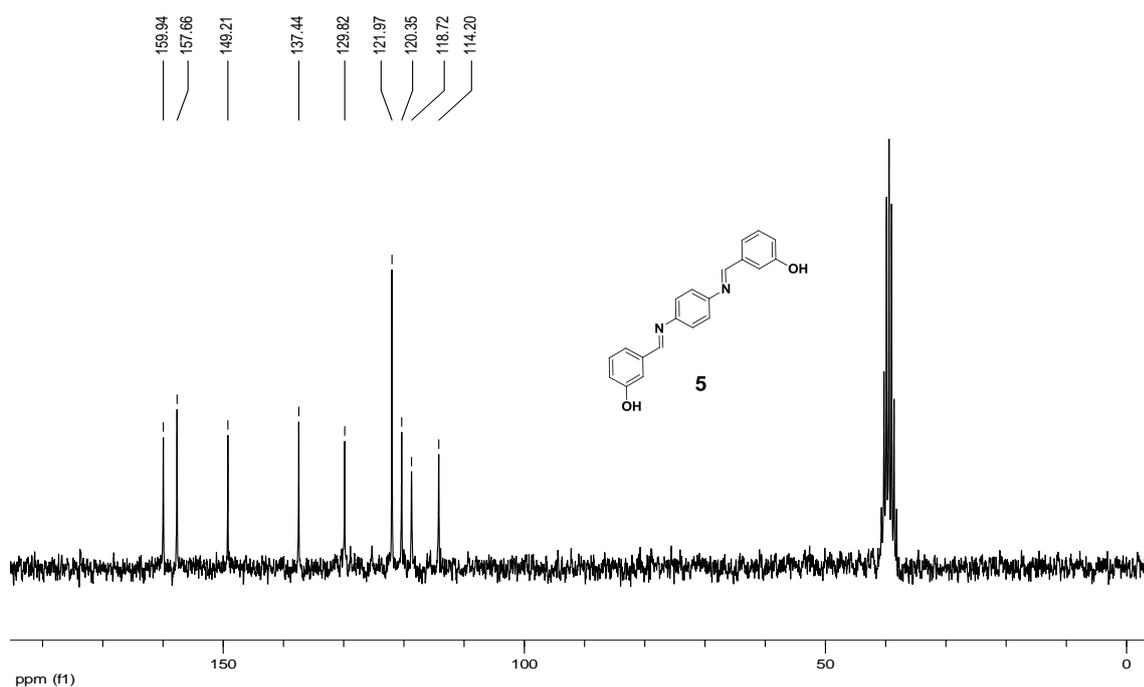


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**5**).

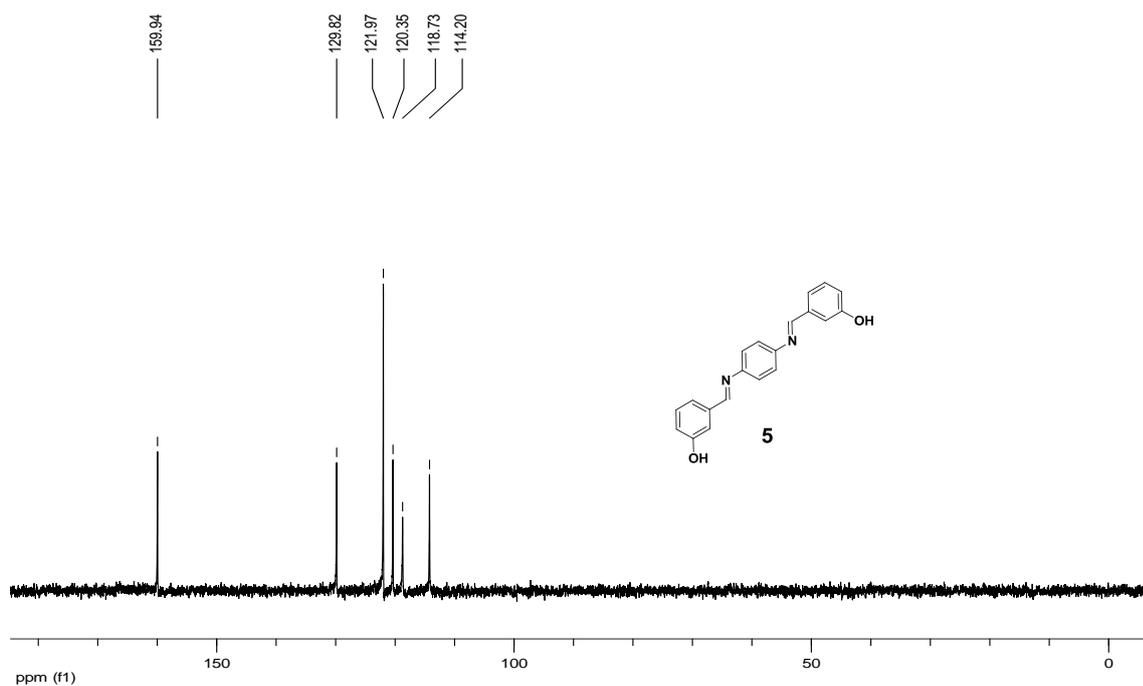


Figura 23. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**5**).

6.6 – Composto 6.

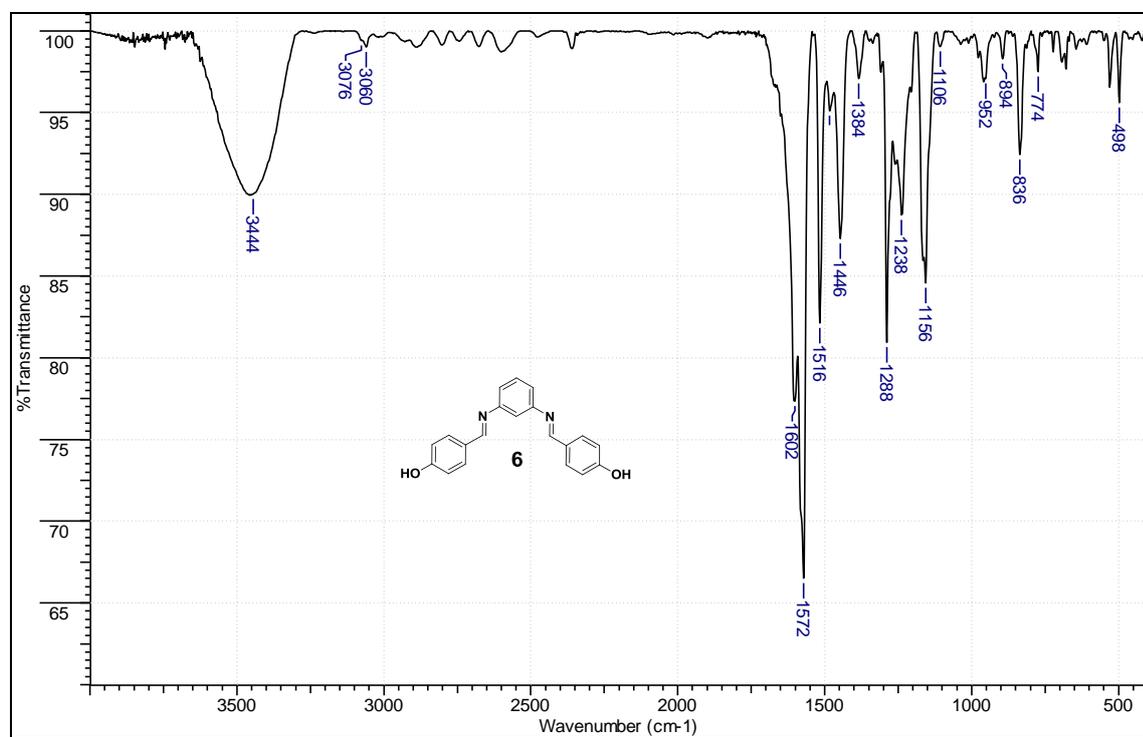


Figura 24. Espectro no infravermelho do composto **6** pastilhado em KBr.

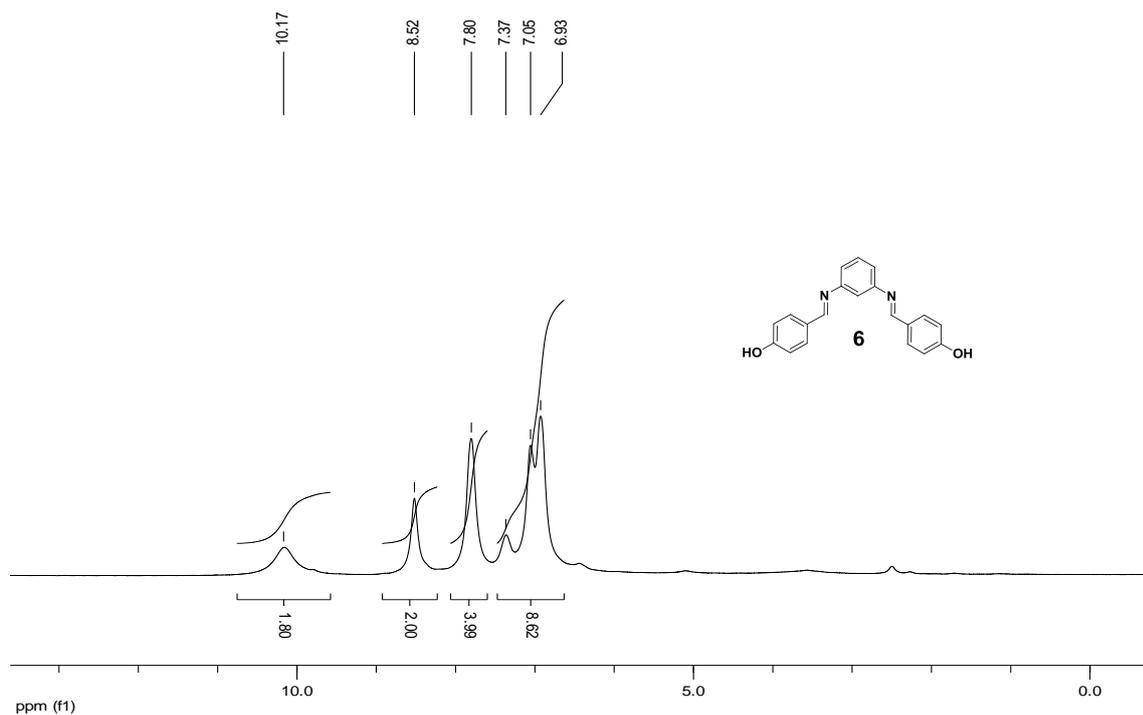


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**6**).

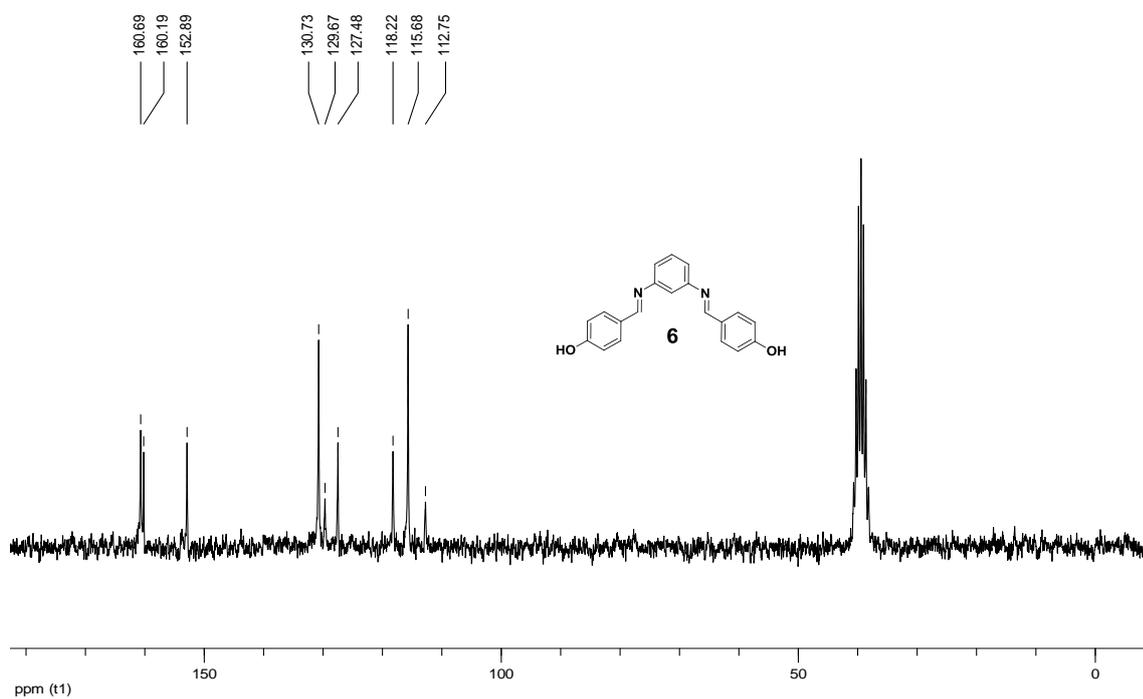


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**6**).

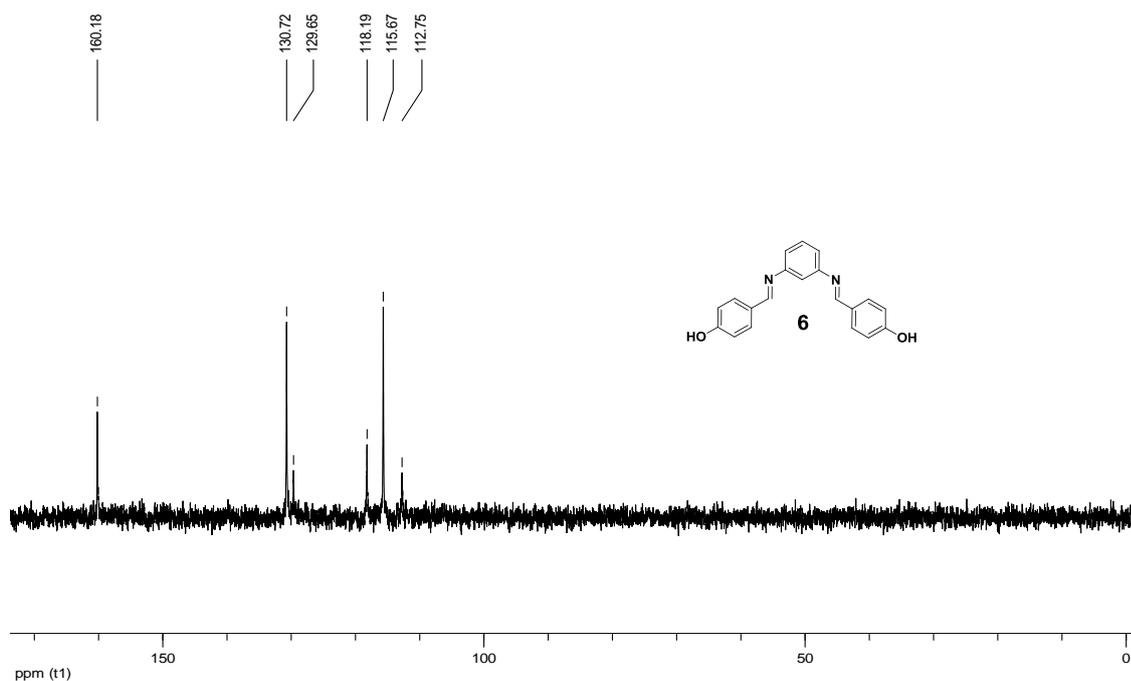


Figura 27. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,3-diimina (**6**).

6.7 – Composto 7.

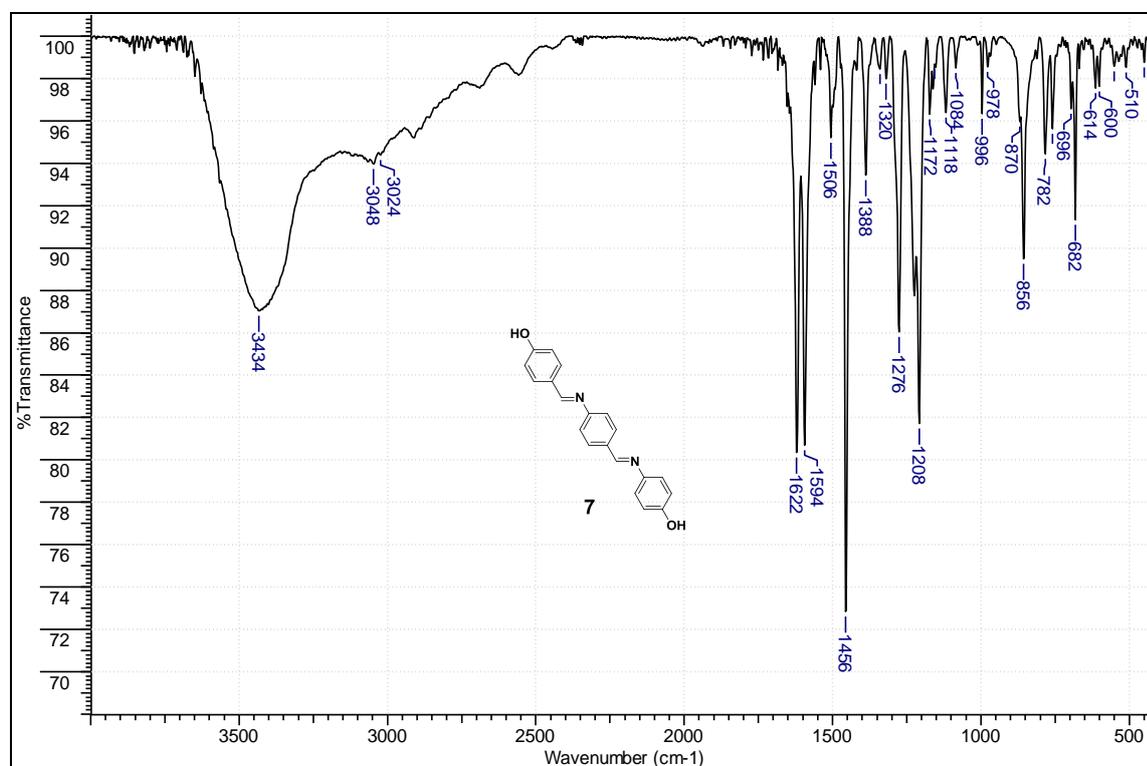


Figura 28. Espectro no infravermelho do composto **7** pastilhado em KBr.

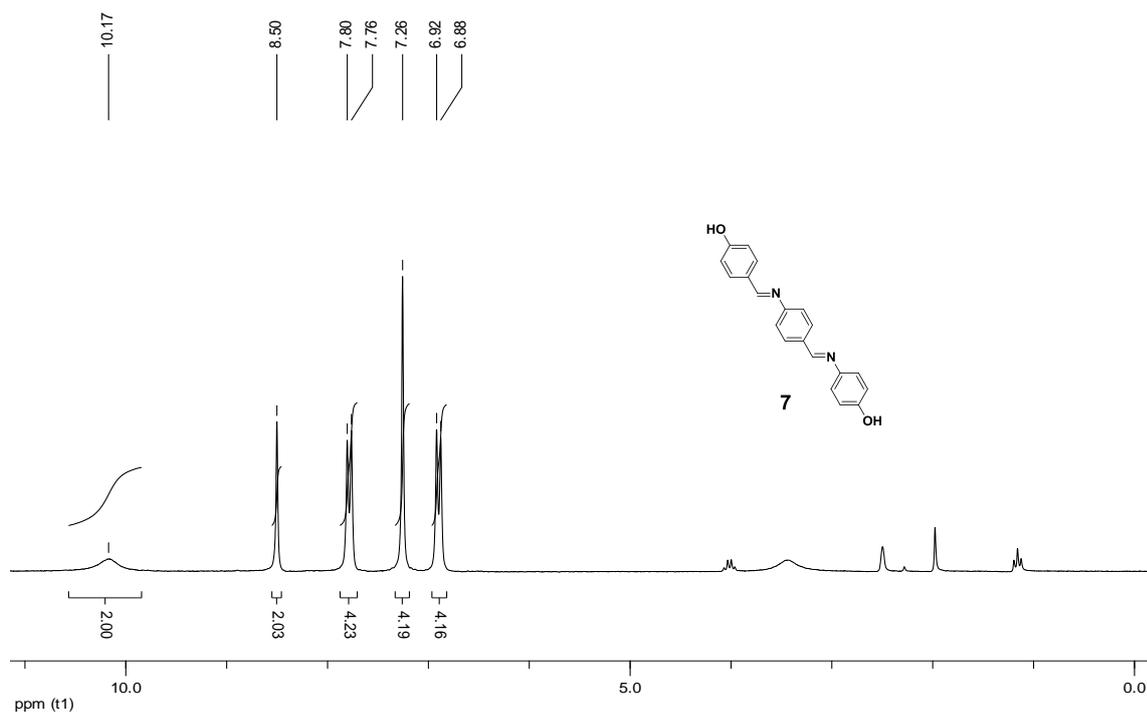


Figura 29. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(4-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-diimina (7).

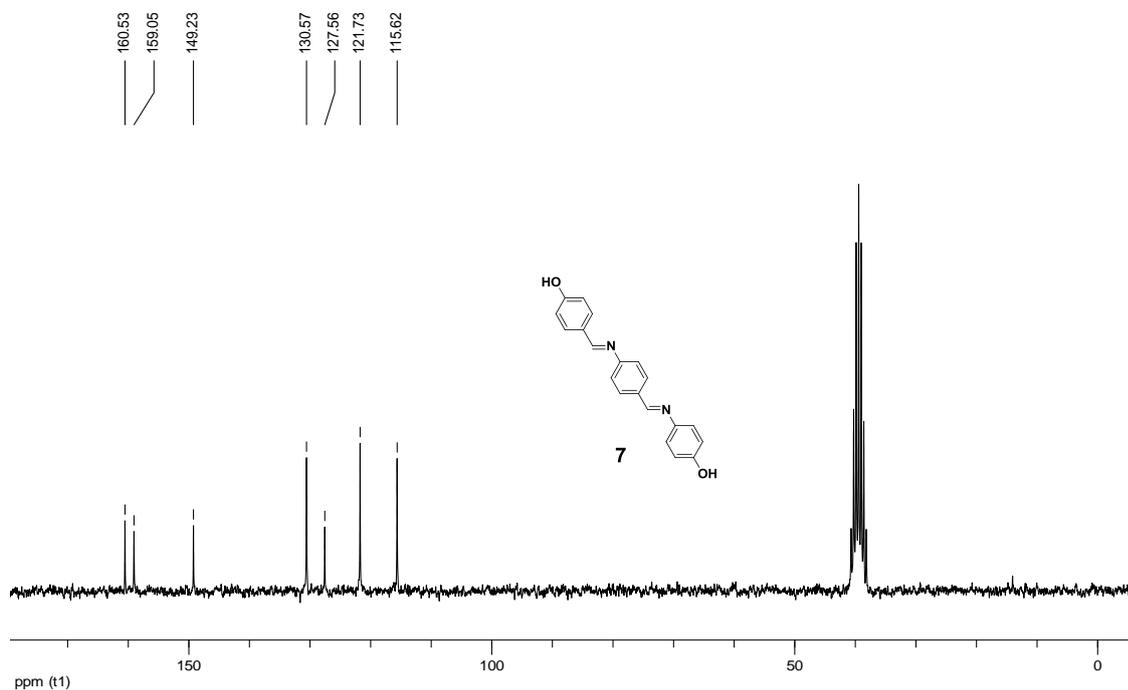


Figura 30. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(4-hidroxi-benzilideno)benzeno-1,4-diimina (7).

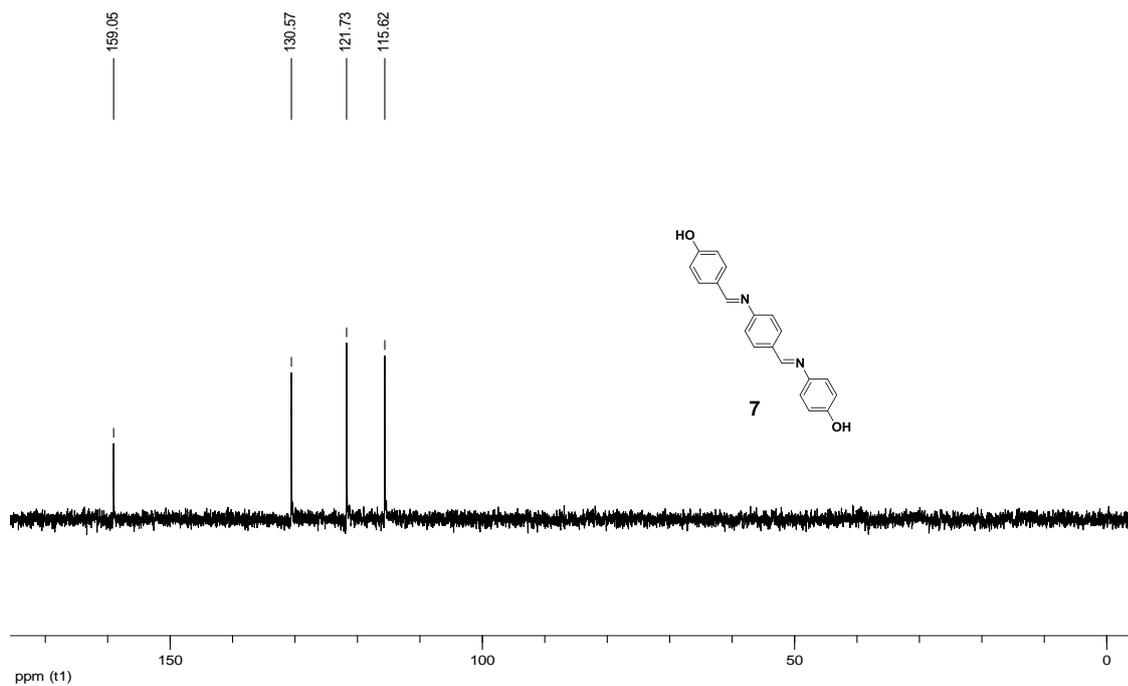


Figura 31. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzilideno)benzeno-1,4-diimina (**7**).

6.8 – Composto 8.

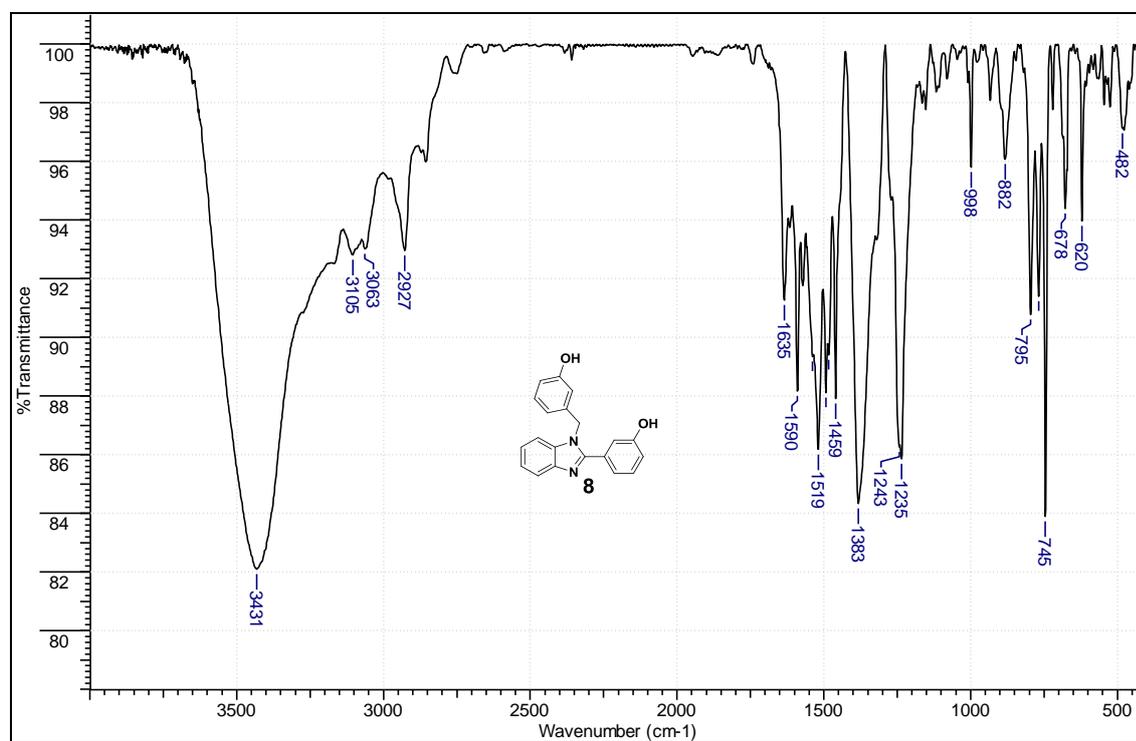


Figura 32. Espectro no infravermelho do composto **8** pastilhado em KBr.

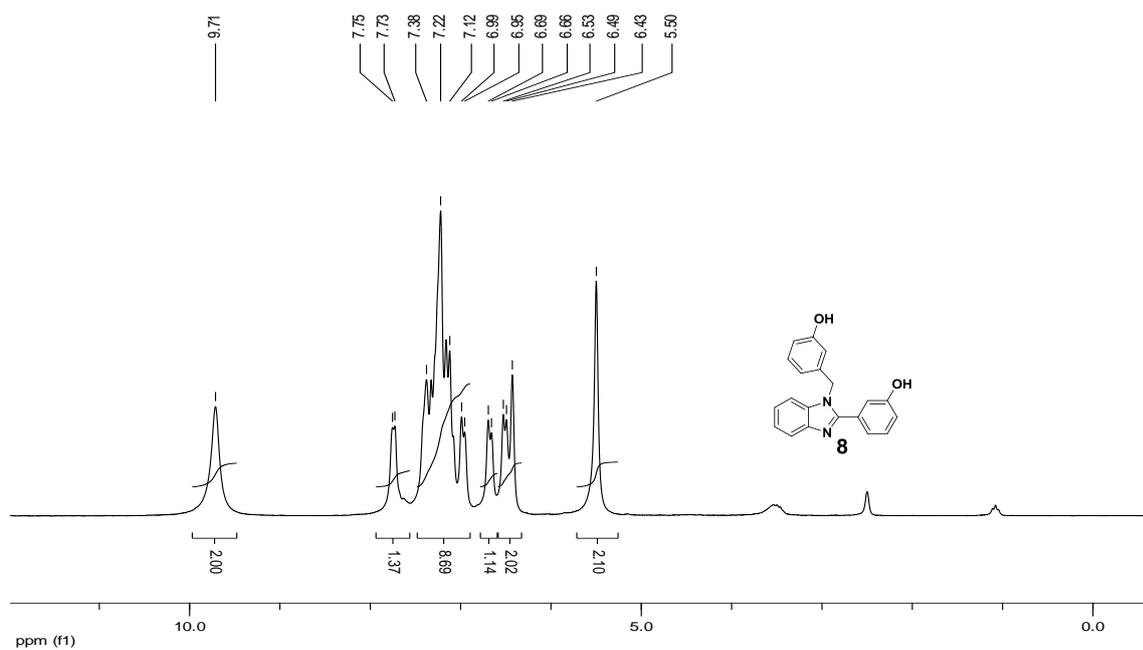


Figura 33. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxifenil)benzimidazol (**8**).

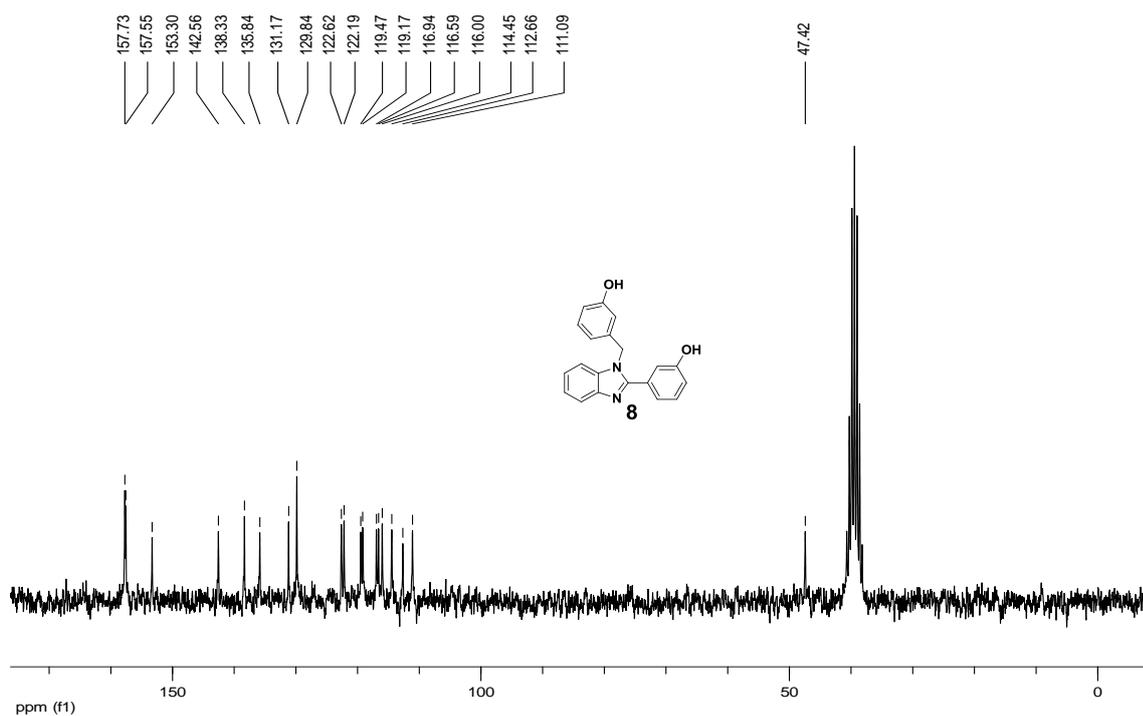


Figura 34. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxifenil)benzimidazol (**8**).

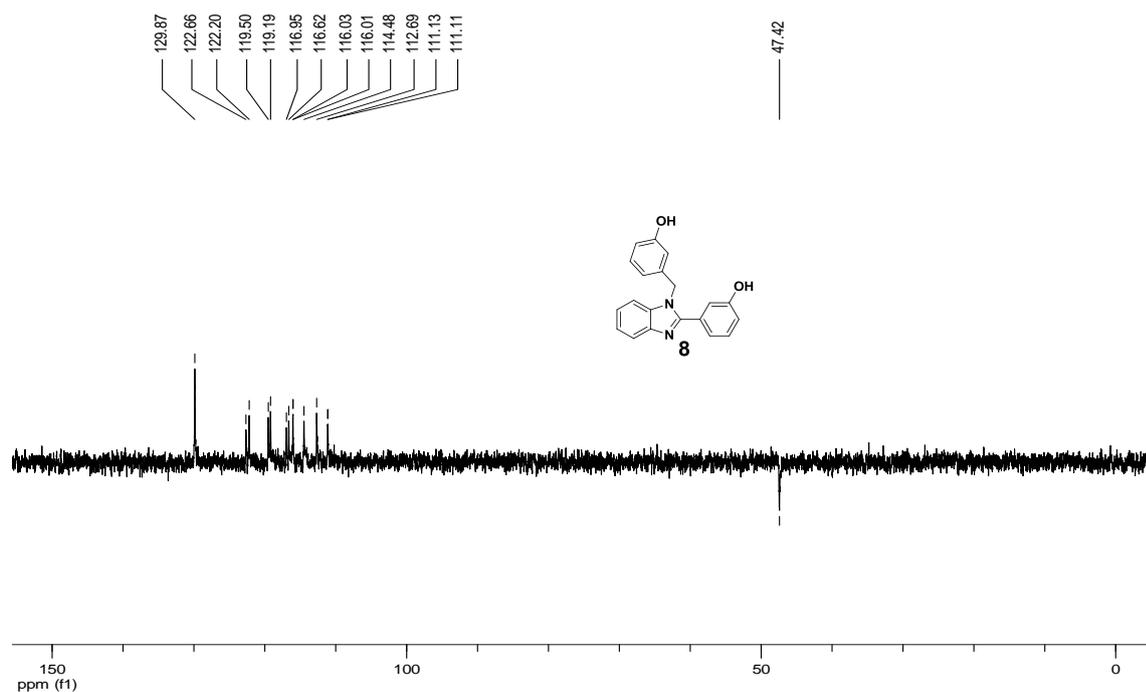


Figura 35. Subespectro DEPT 135 (100 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-Bis(3-hidroxifenil)benzimidazol (**8**).

6.9 – Composto 9.

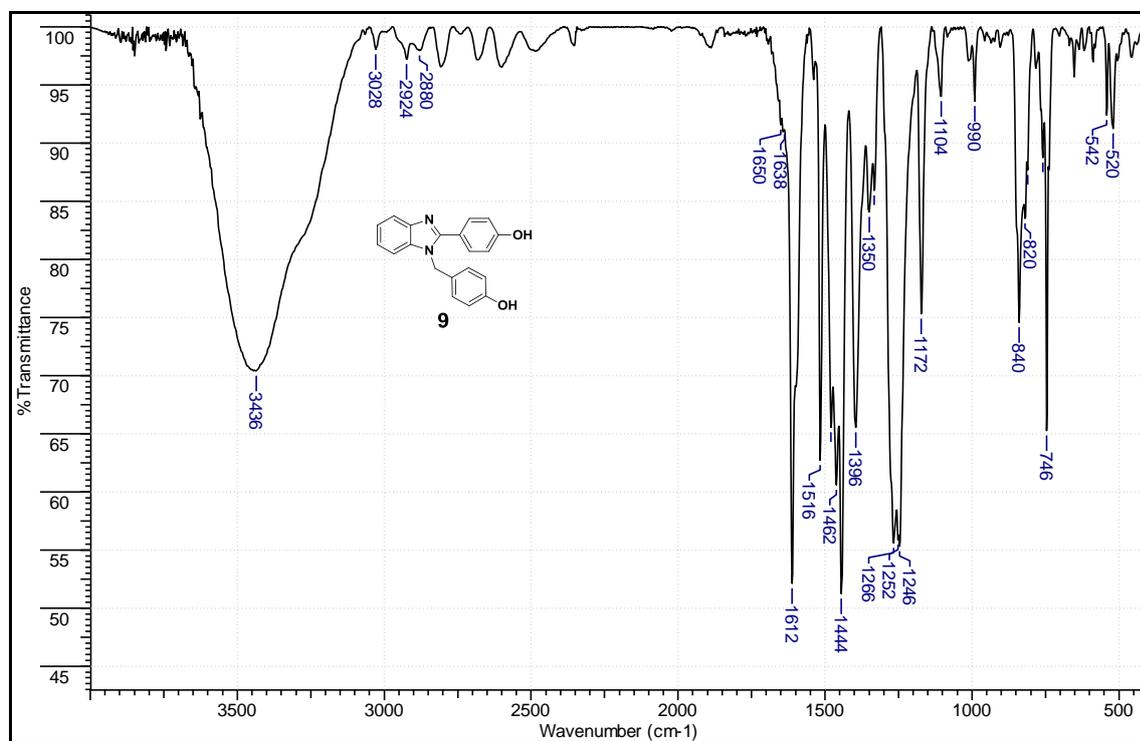


Figura 36. Espectro no infravermelho do composto **9** pastilhado em KBr.

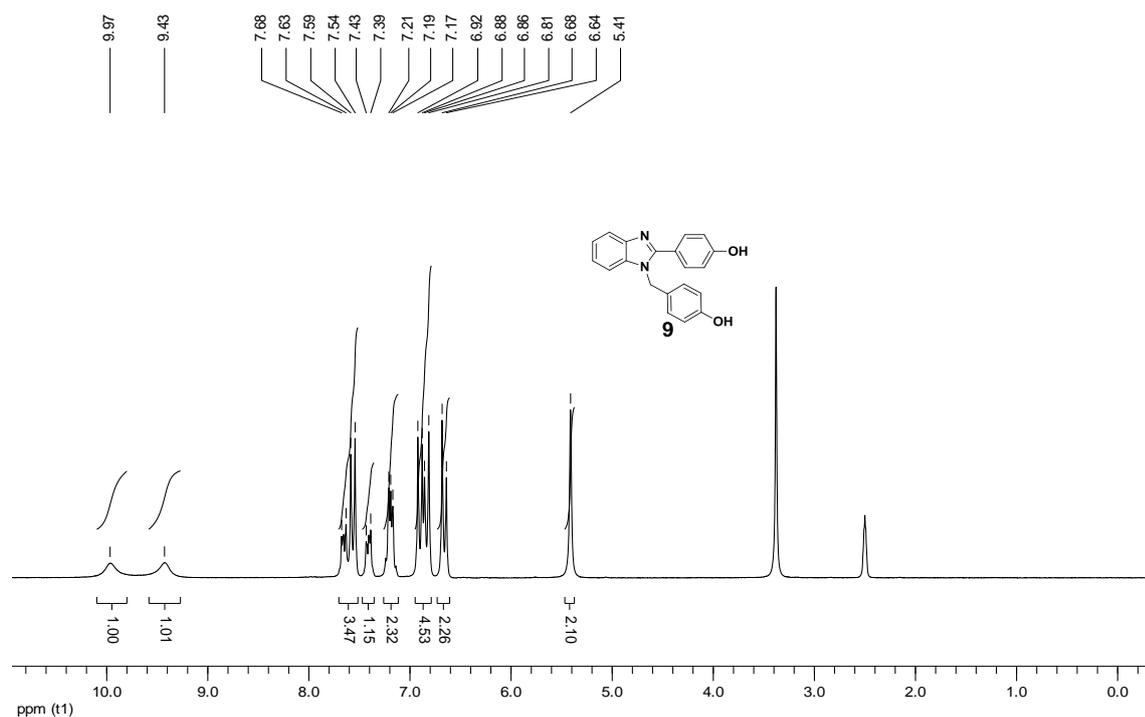


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)benzimidazol (**9**).

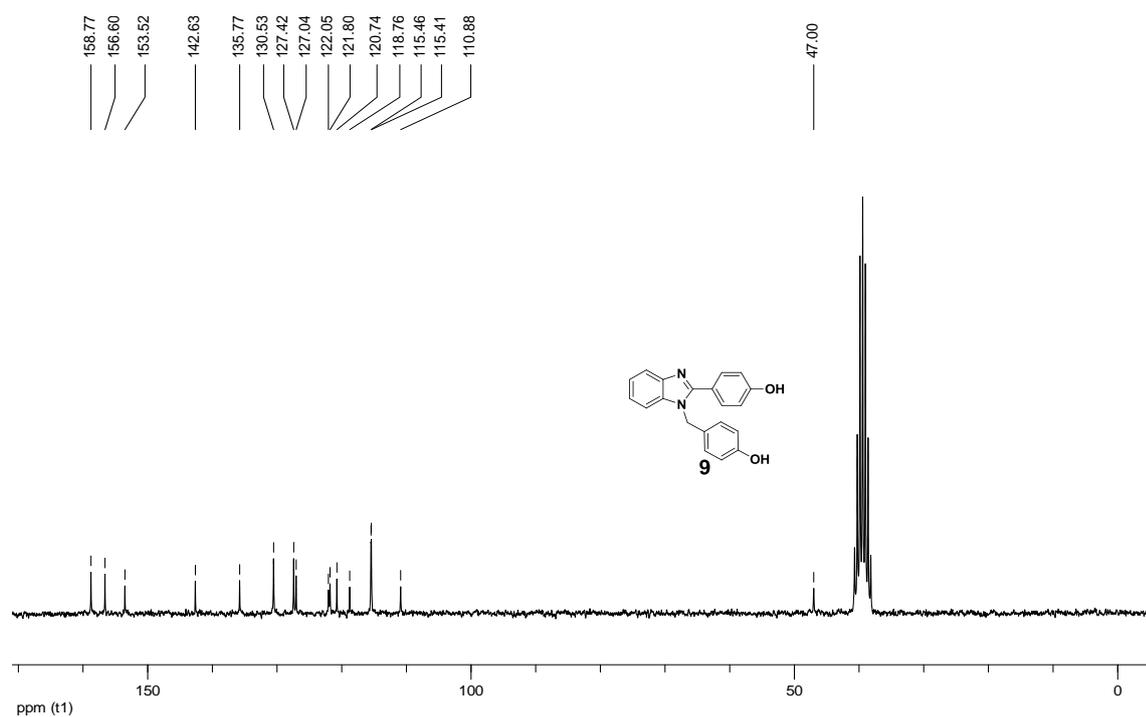


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)benzimidazol (**9**).

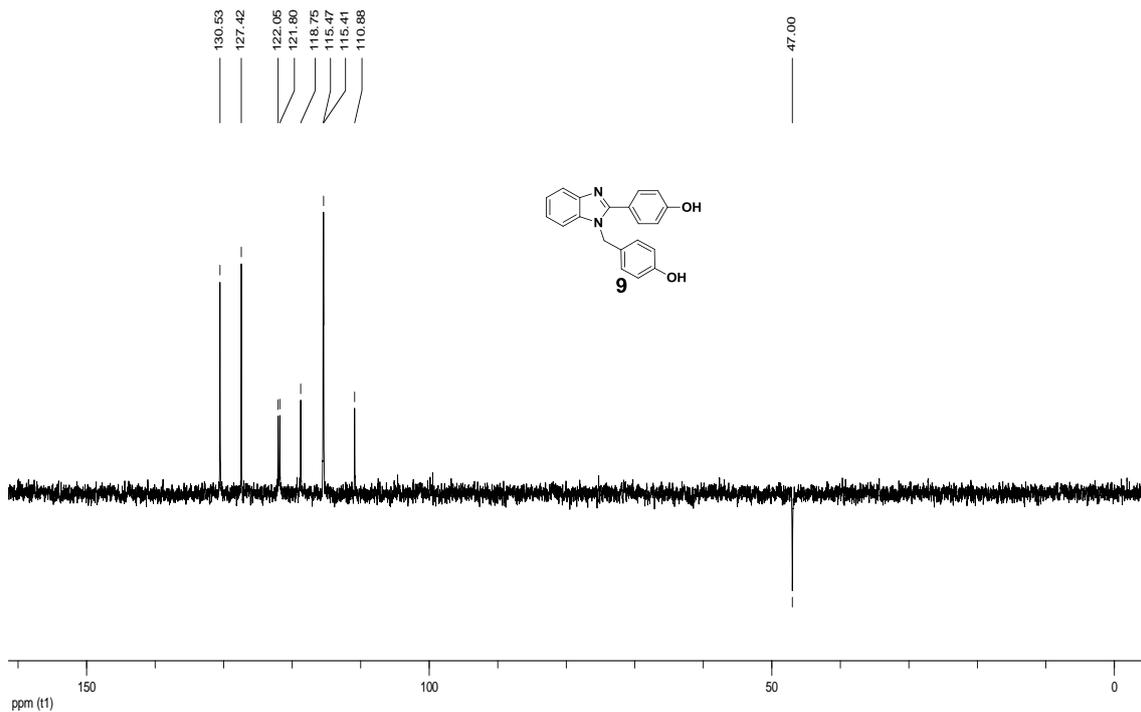


Figura 39. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-Bis(4-hidroxifenil)benzimidazol (**9**).

6.10 – Composto 10.

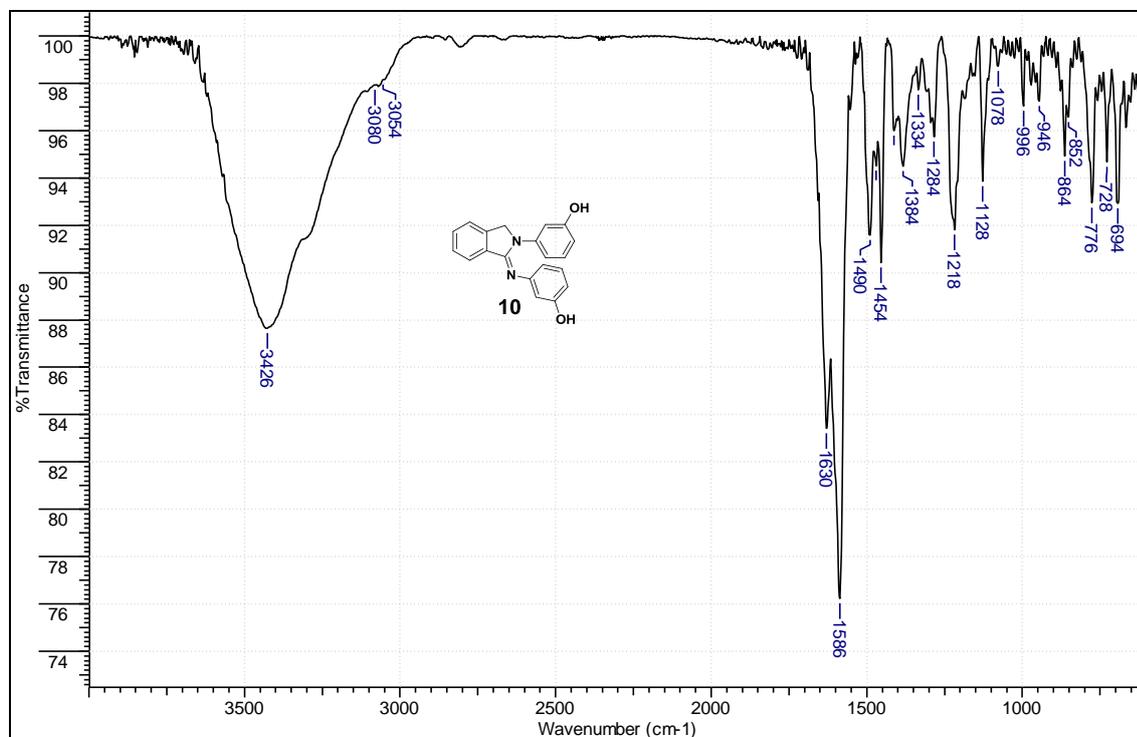


Figura 40. Espectro no infravermelho do composto **10** pastilhado em KBr.

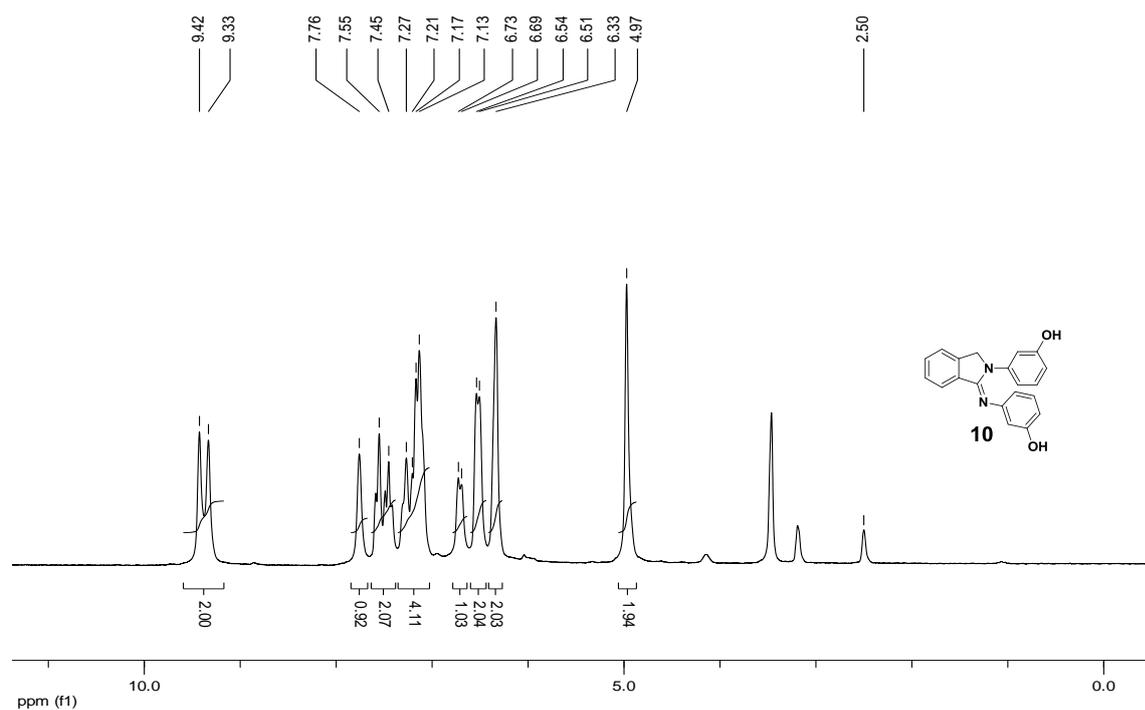


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxifenil)iminoisoindolina (**10**).

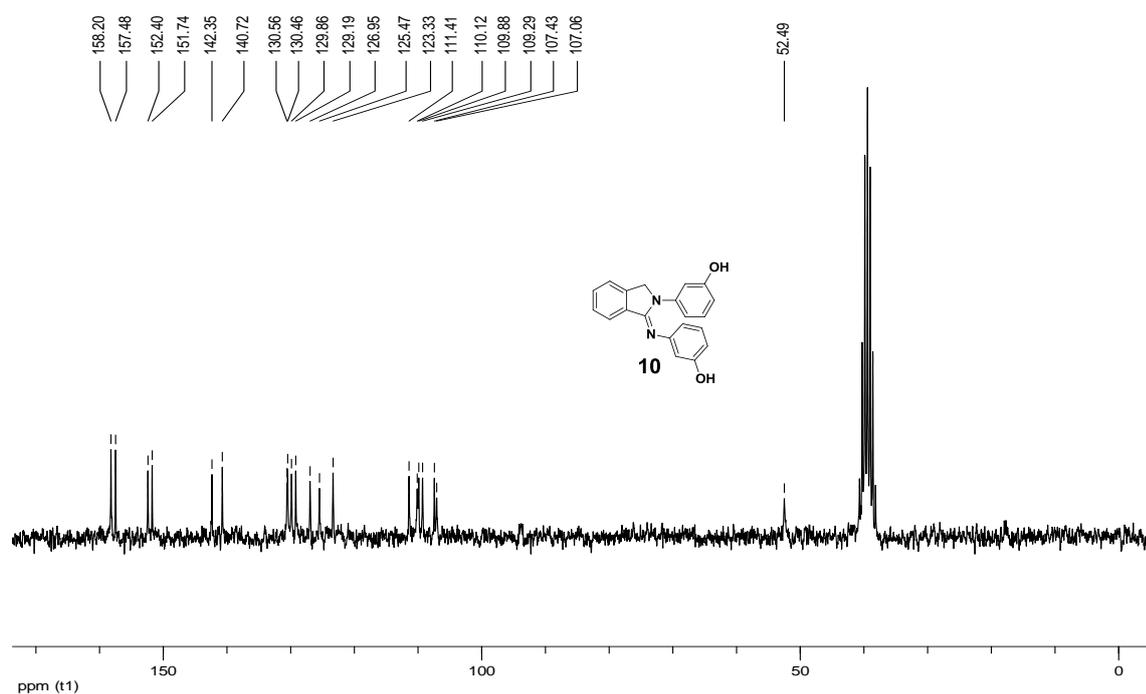


Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxifenil)iminoisoindolina (**10**).

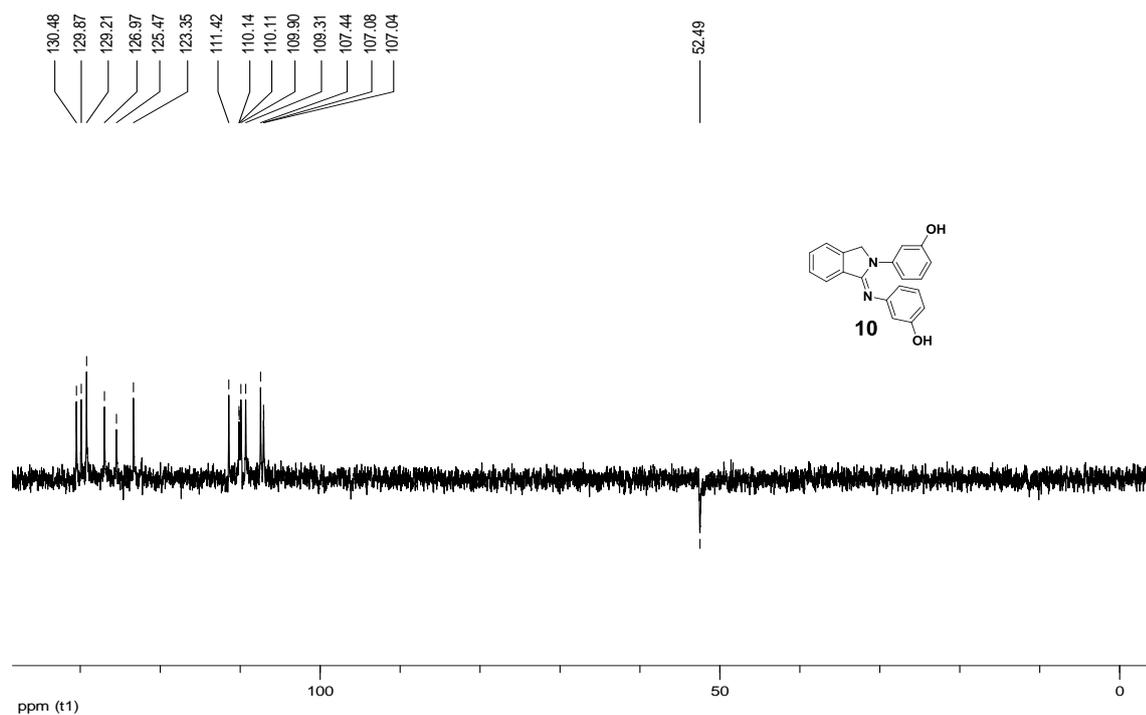


Figura 43. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-hidroxifenil)iminoisindolina (**10**).

6.11 – Composto 11

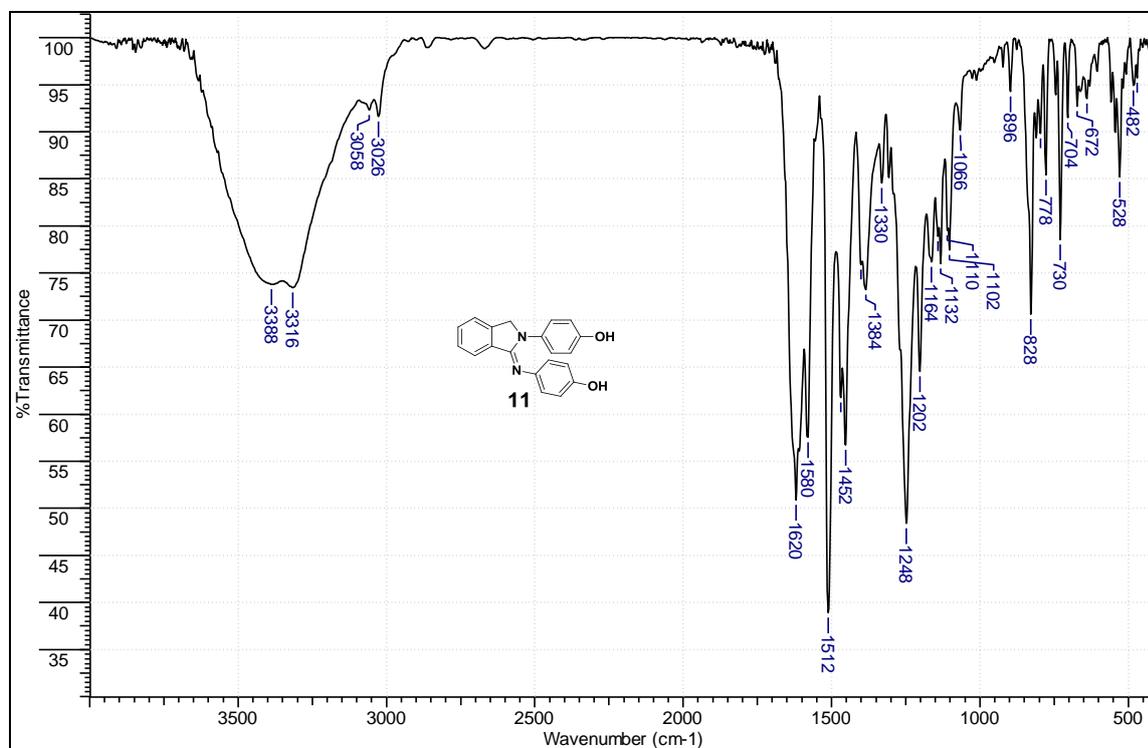


Figura 44. Espectro no infravermelho do composto **11** pastilhado em KBr.

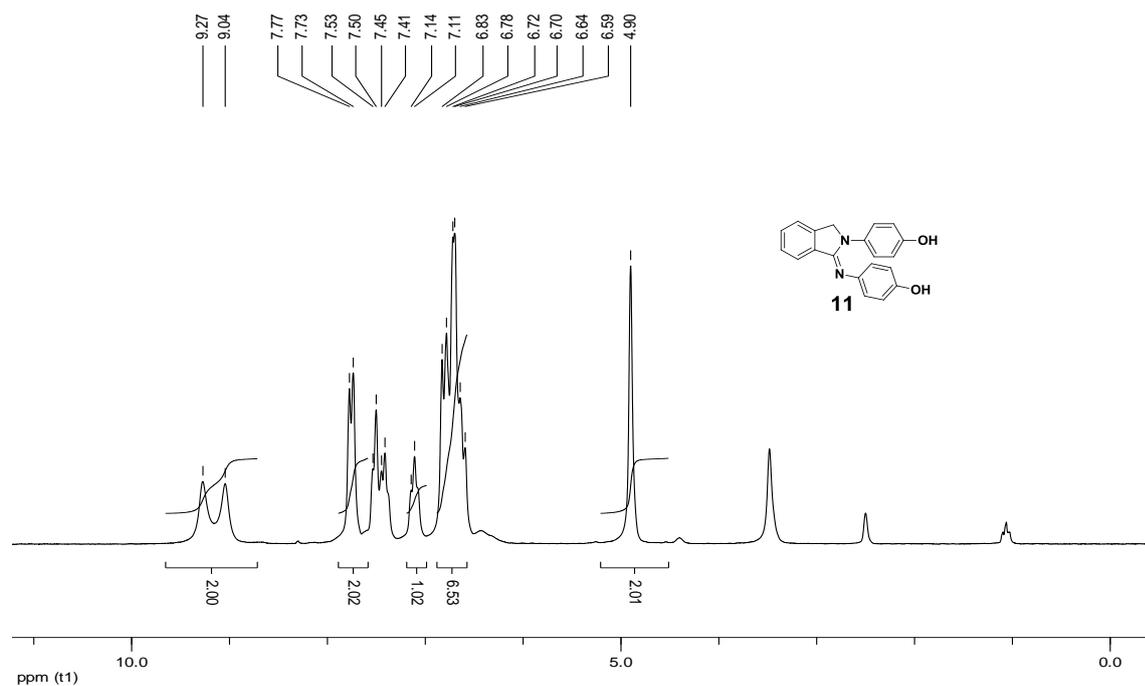


Figura 45. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**).

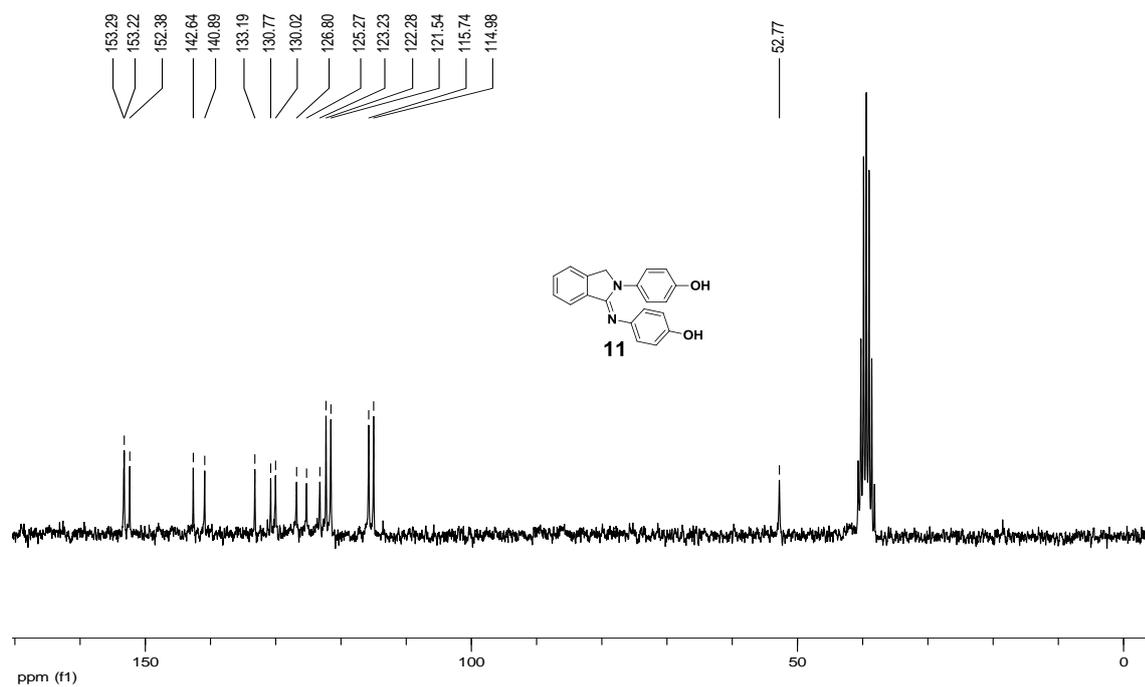


Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxifenil)iminoisoindolina (**11**).

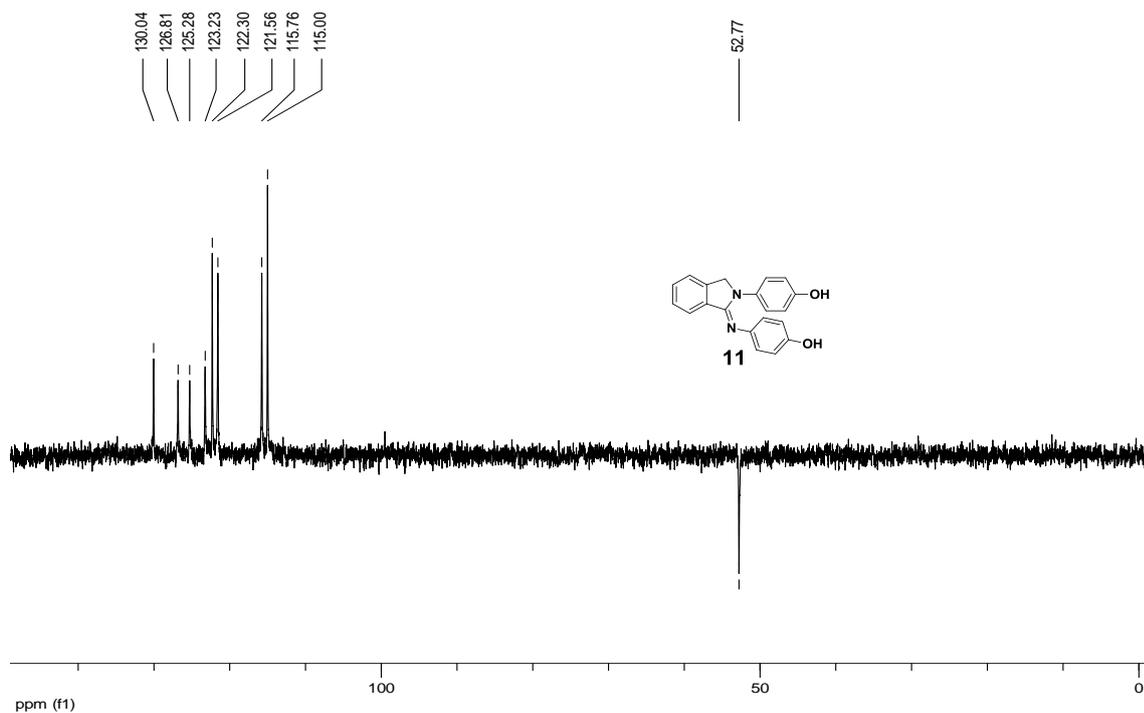


Figura 47. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-Bis(4-hidroxifenil)iminoisindolina (**11**).

6.12 – Composto 12.

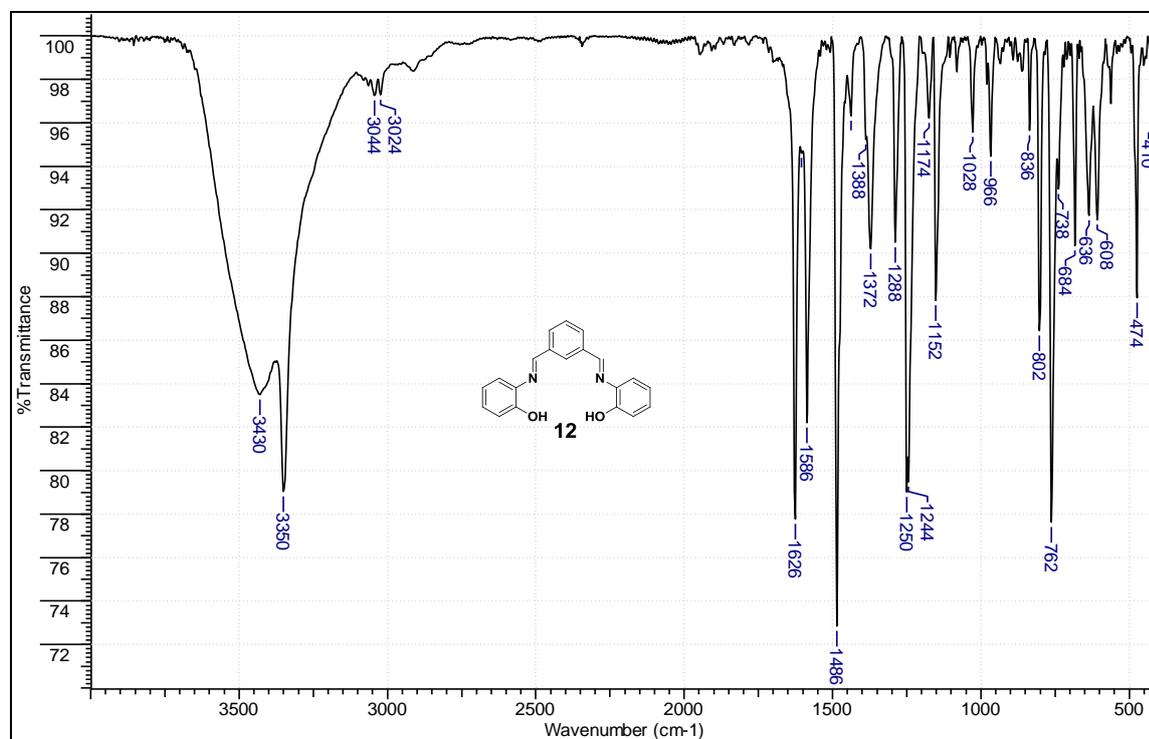


Figura 48. Espectro no infravermelho do composto **12** pastilhado em KBr.

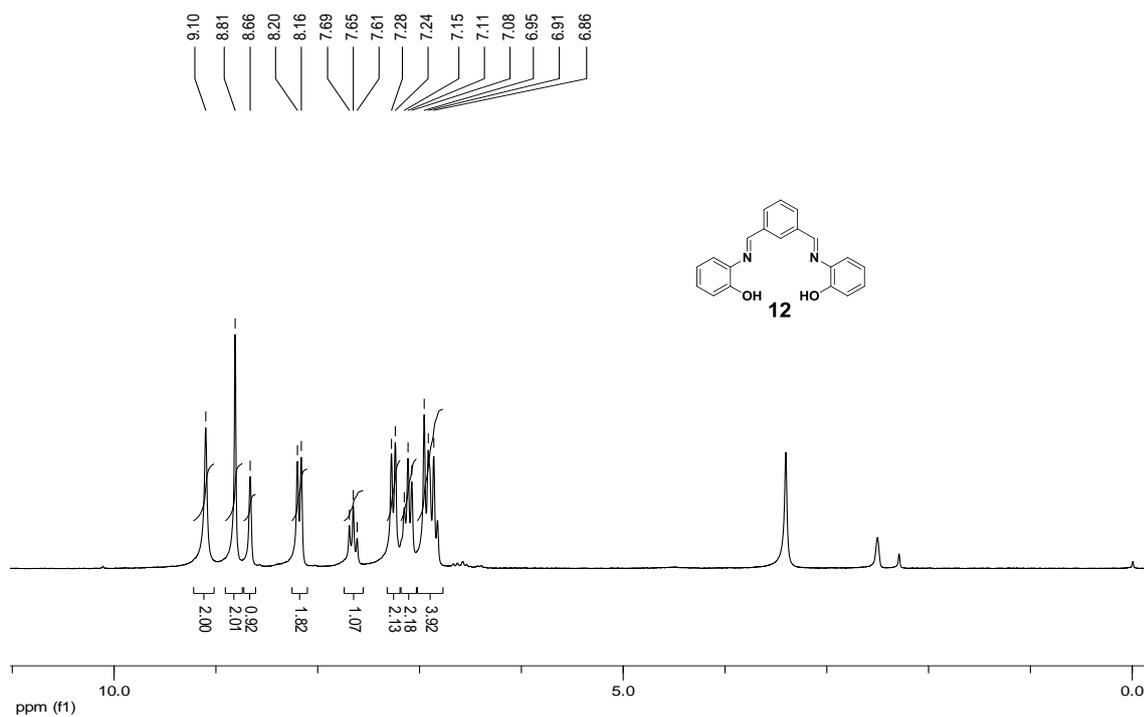


Figura 49. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**12**).

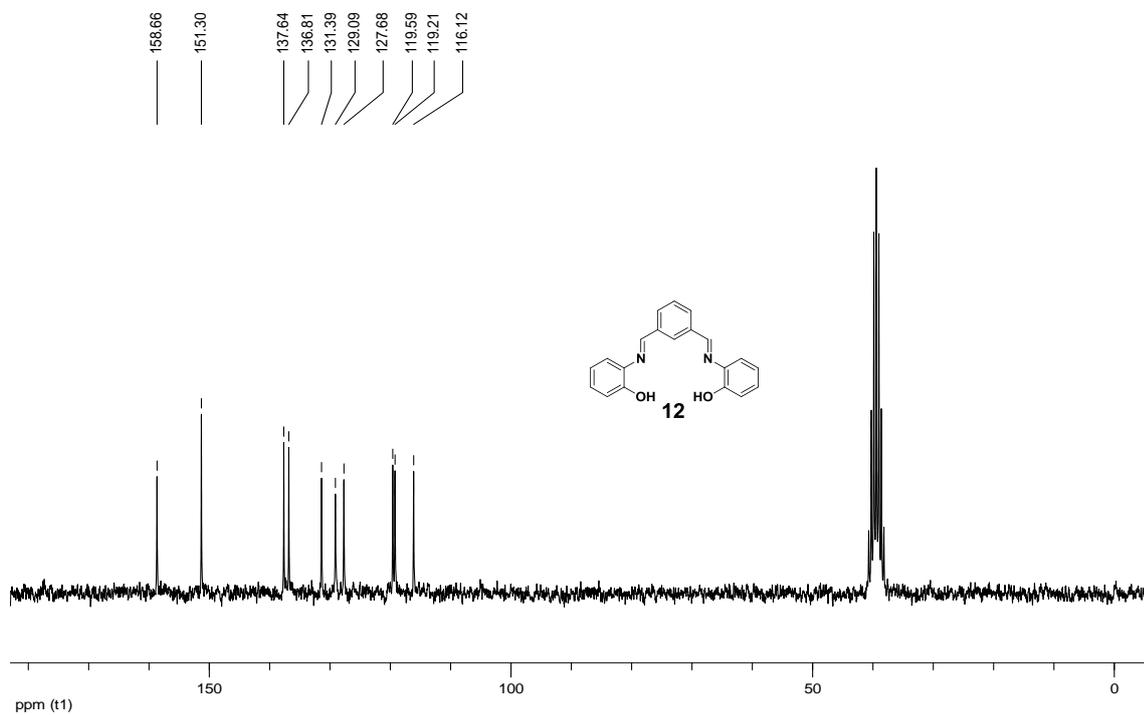


Figura 50. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**12**).

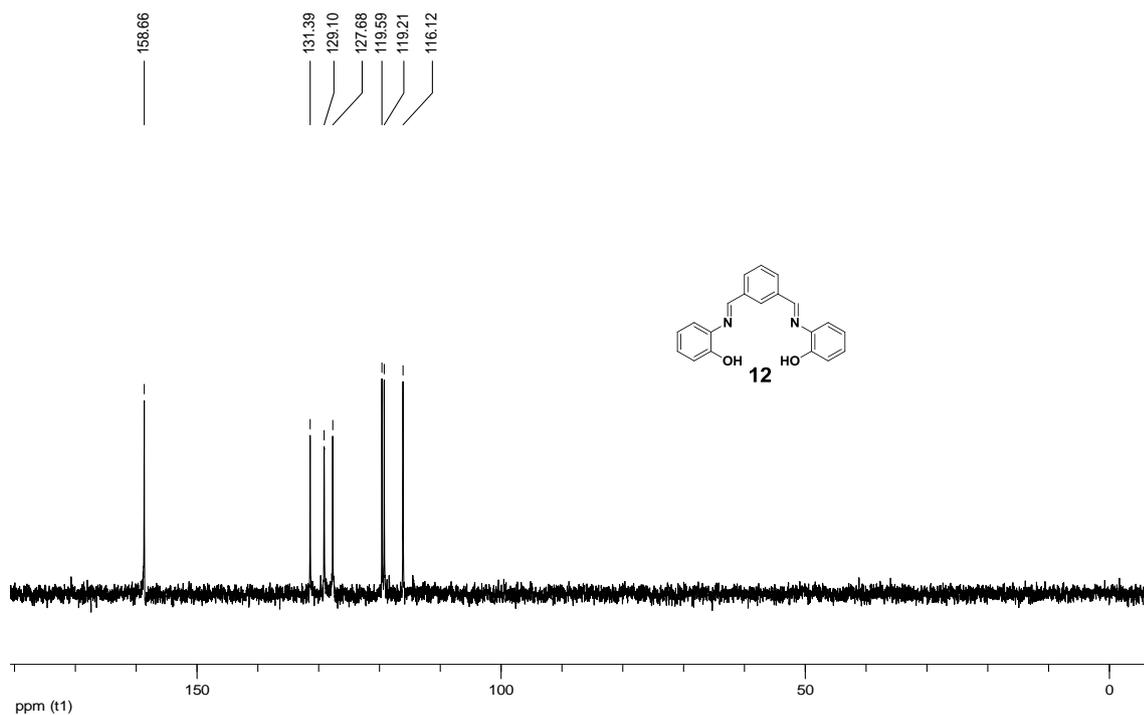


Figura 51. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)isofaldimina (**12**).

6.13 – Composto 13.

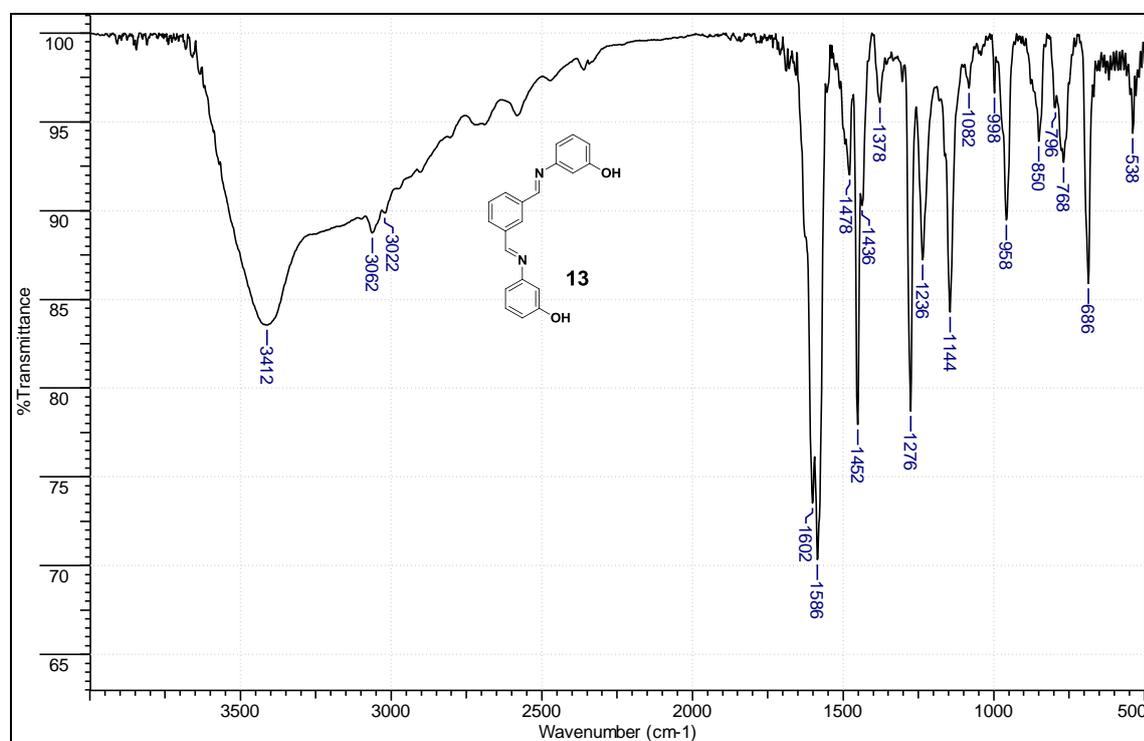


Figura 52. Espectro no infravermelho do composto **13** pastilhado em KBr.

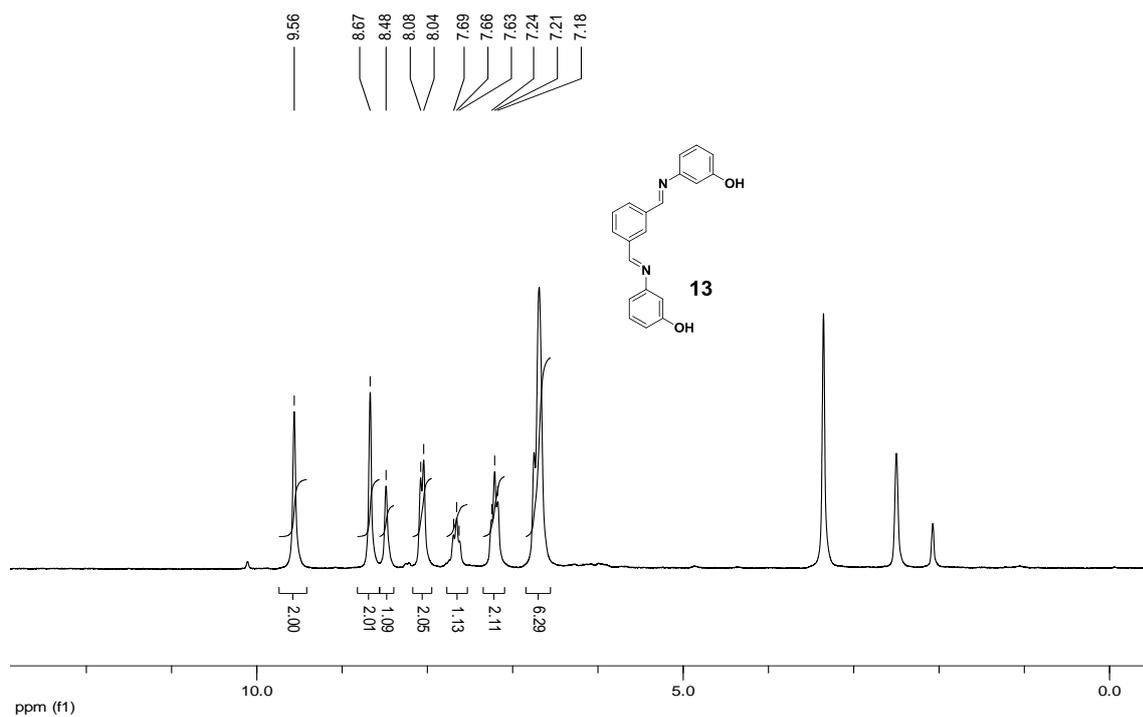


Figura 53. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**13**).

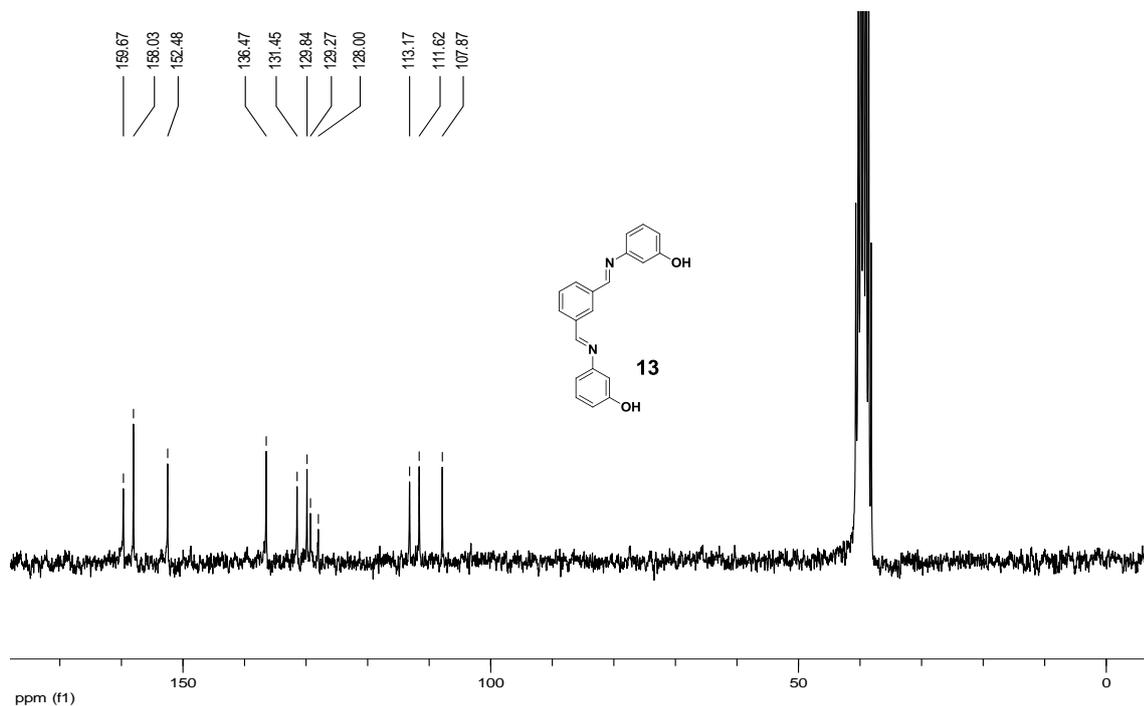


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**13**).

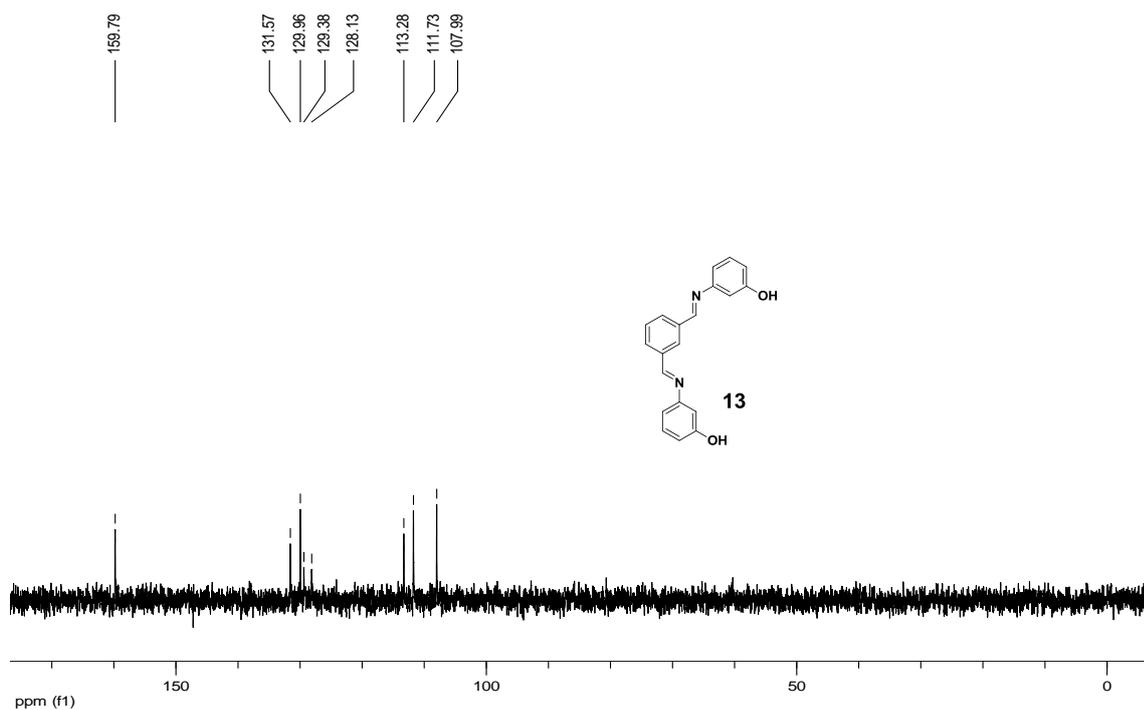


Figura 55. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO-*d*₆) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**13**).

6.14 – Composto 14.

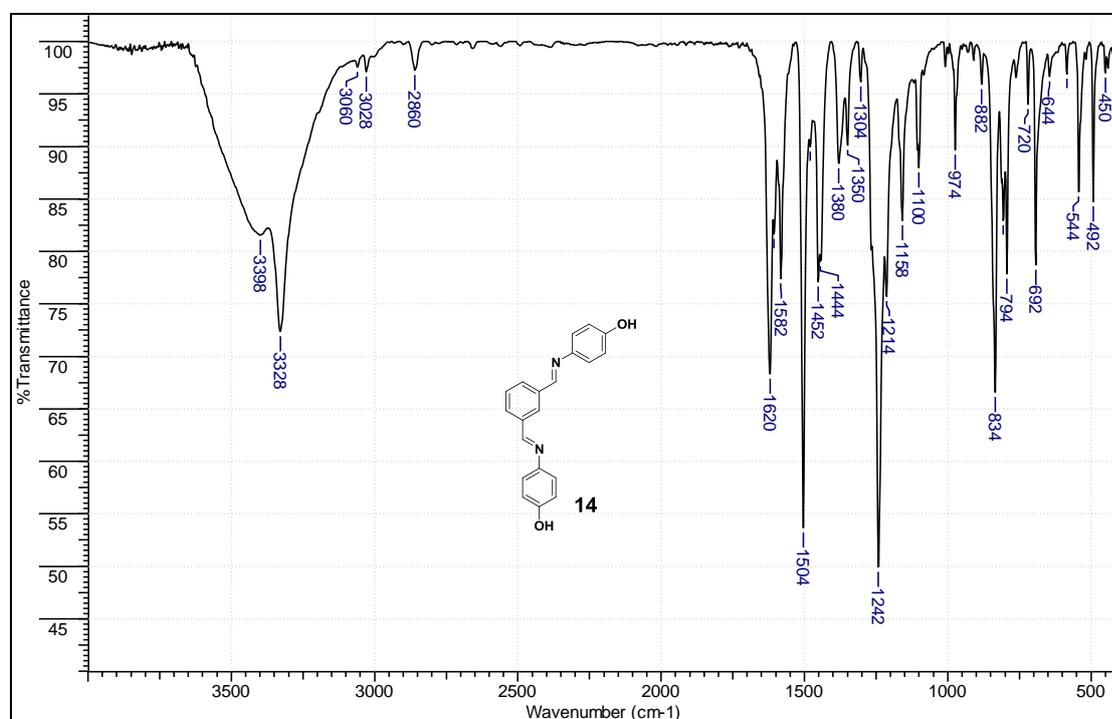


Figura 56. Espectro no infravermelho do composto **14** pastilhado em KBr.

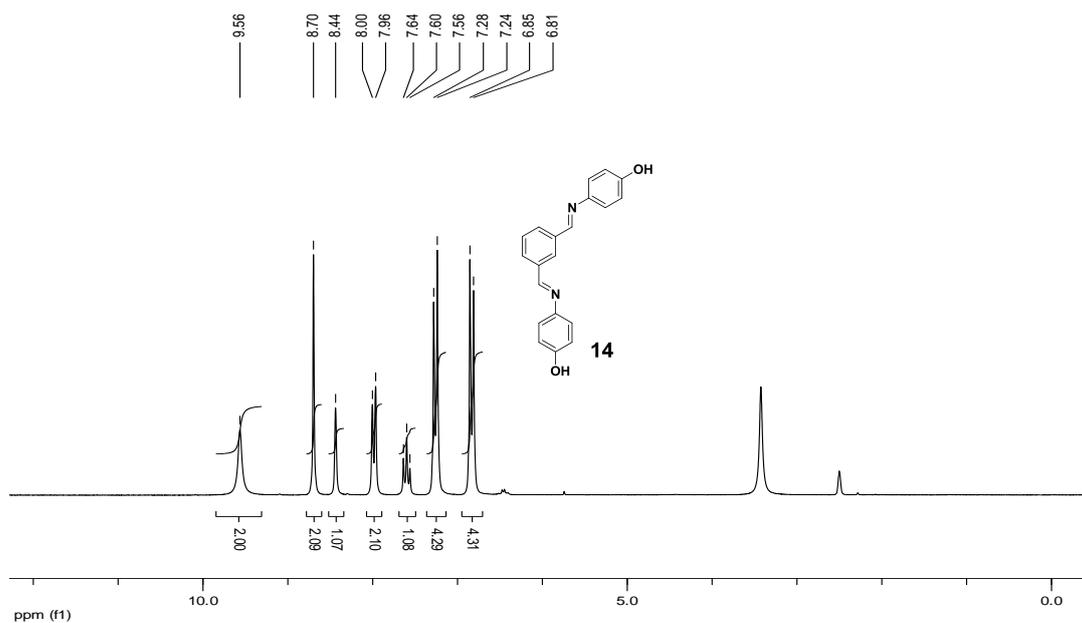


Figura 57. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaltdiimina (**14**).

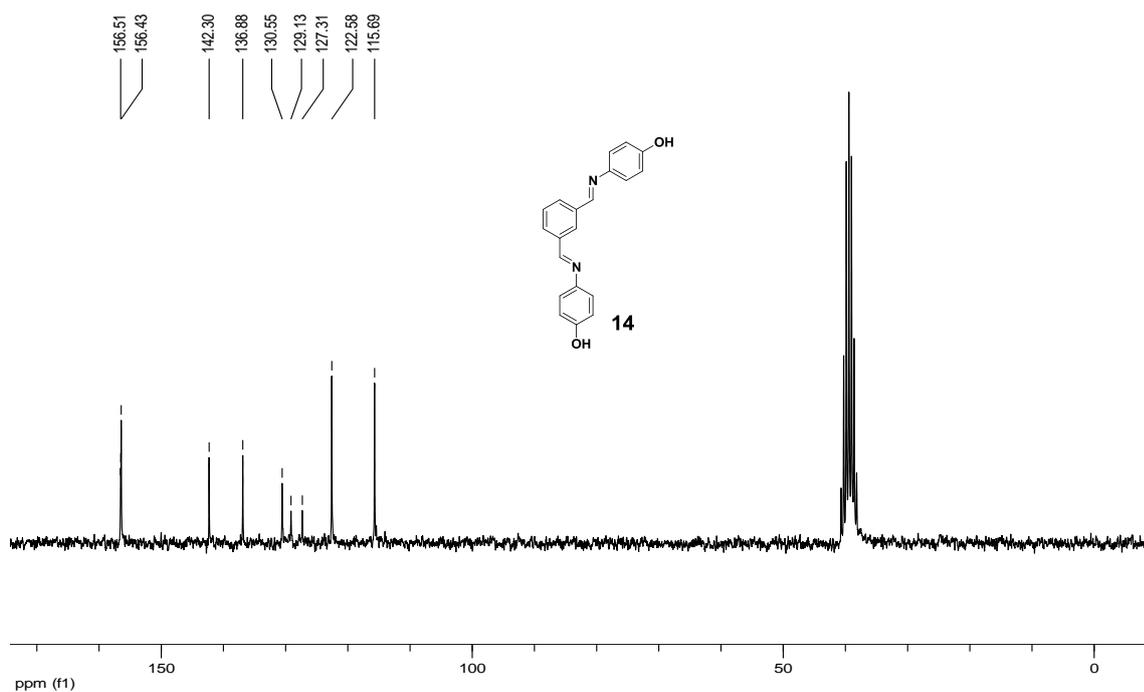


Figura 58. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaltdiimina (**14**).

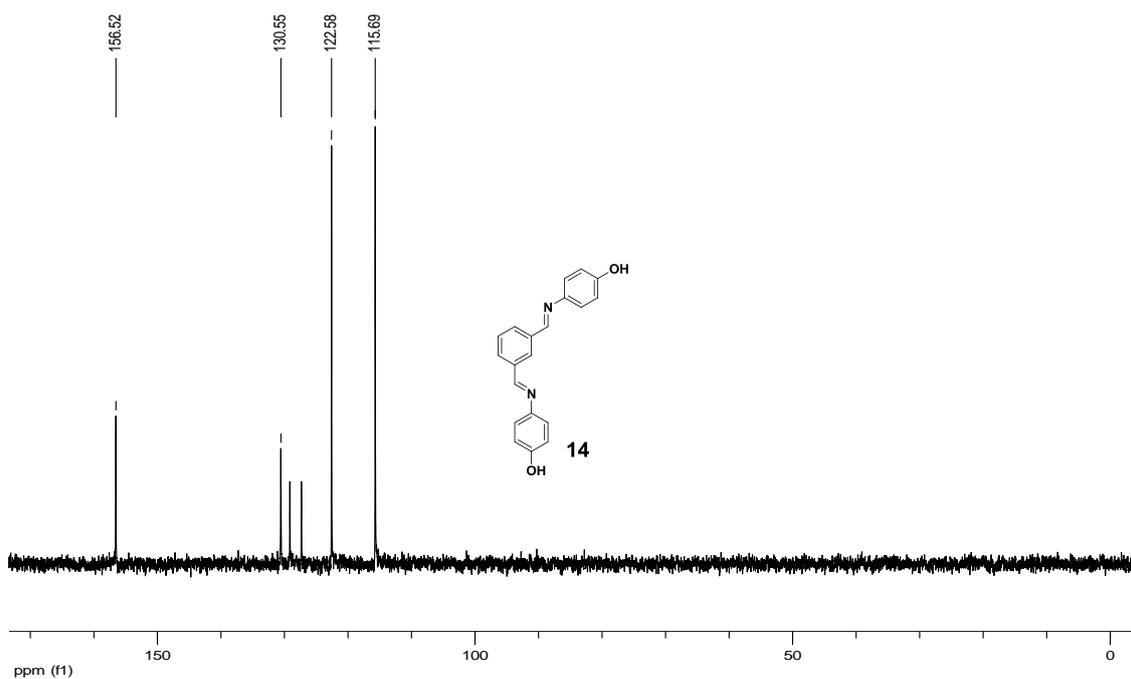


Figura 59. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)isofaldiimina (**14**).

6.15 – Composto 15.

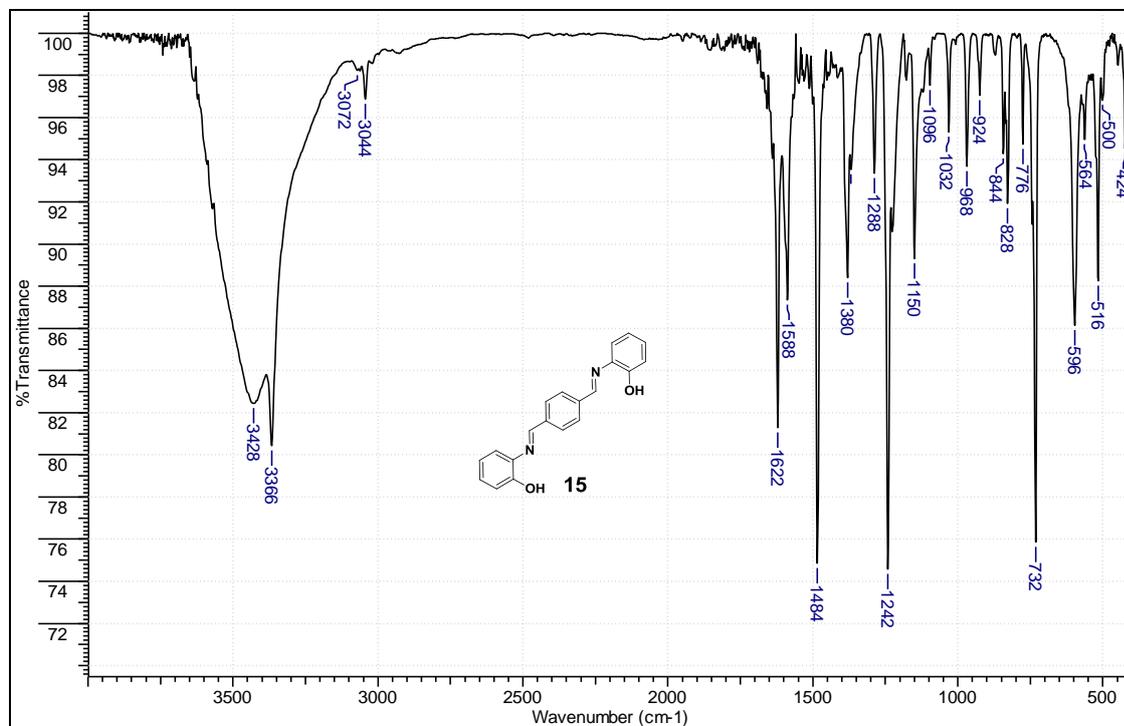


Figura 60. Espectro no infravermelho do composto **15** pastilhado em KBr.

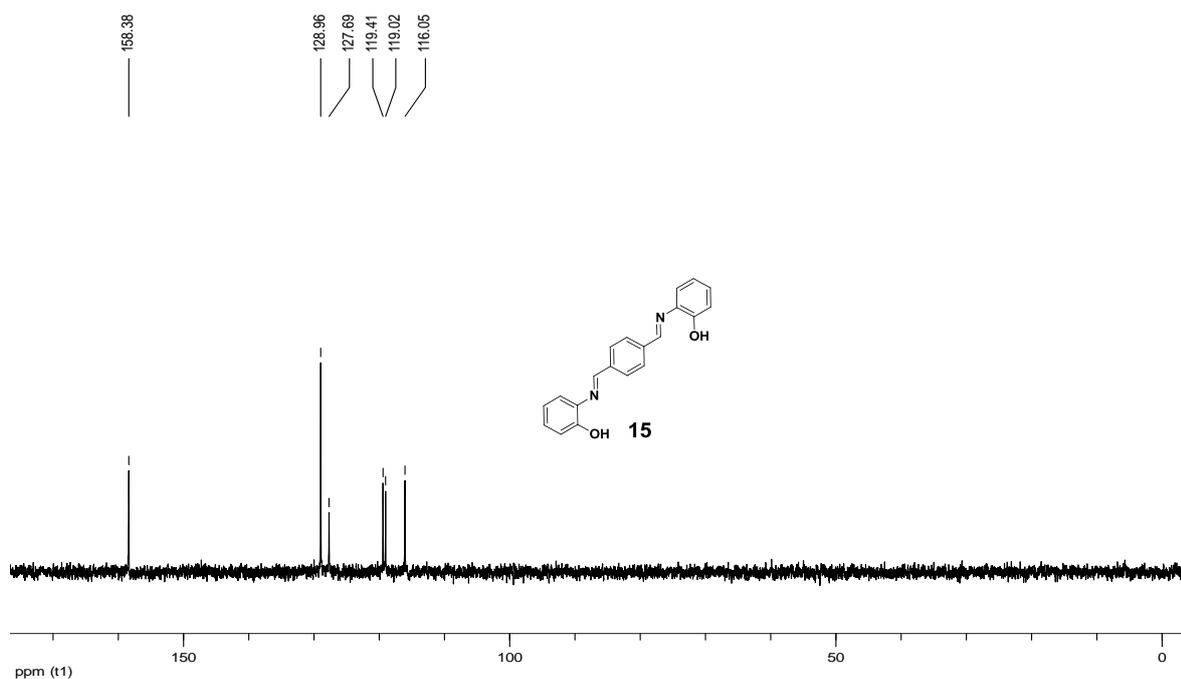


Figura 63. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(2-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (**15**).

6.16 – Composto 16.

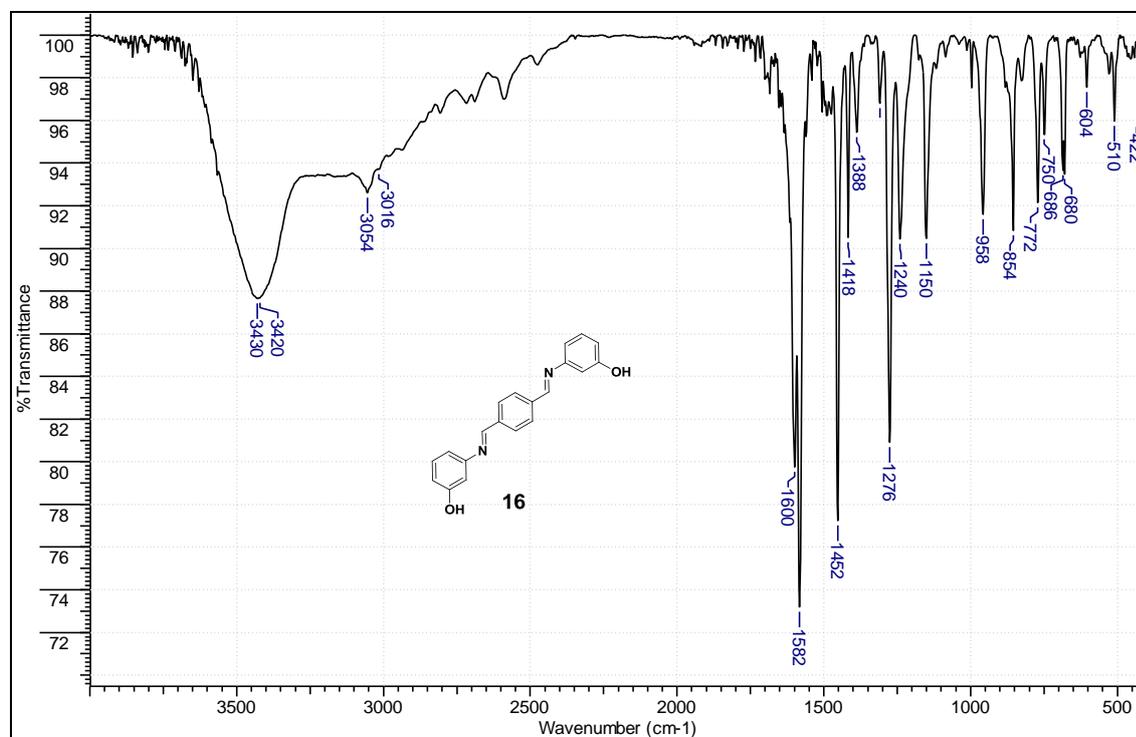


Figura 64.: Espectro no infravermelho do composto **16** pastilhado em KBr.

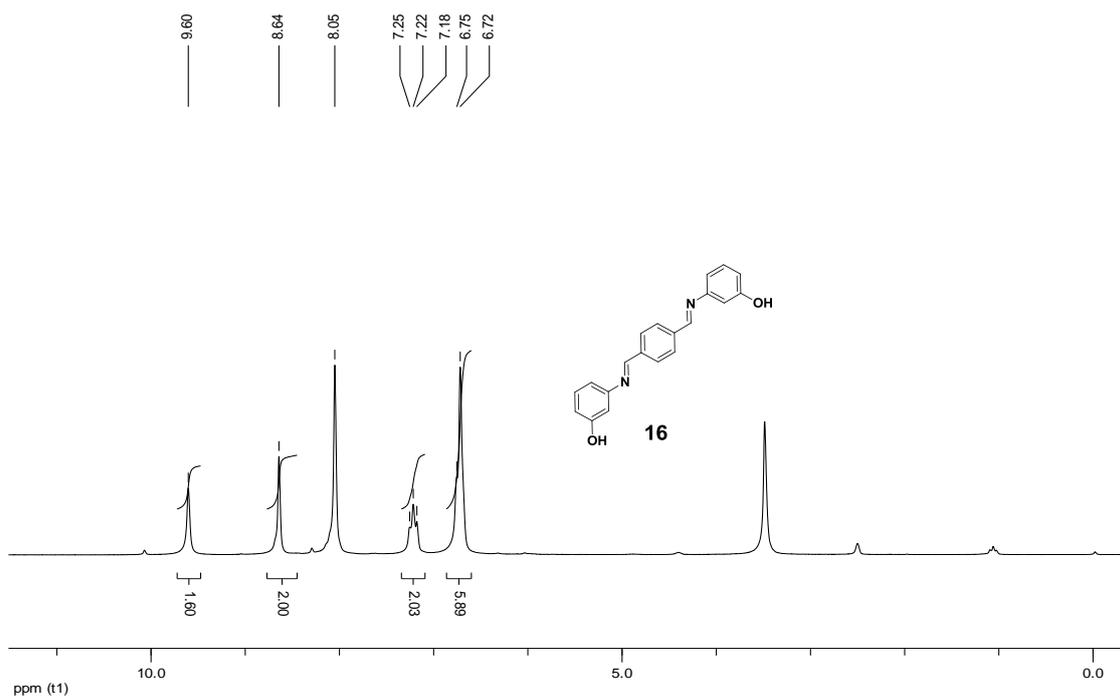


Figura 65. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)tereftaldiimina (**16**).

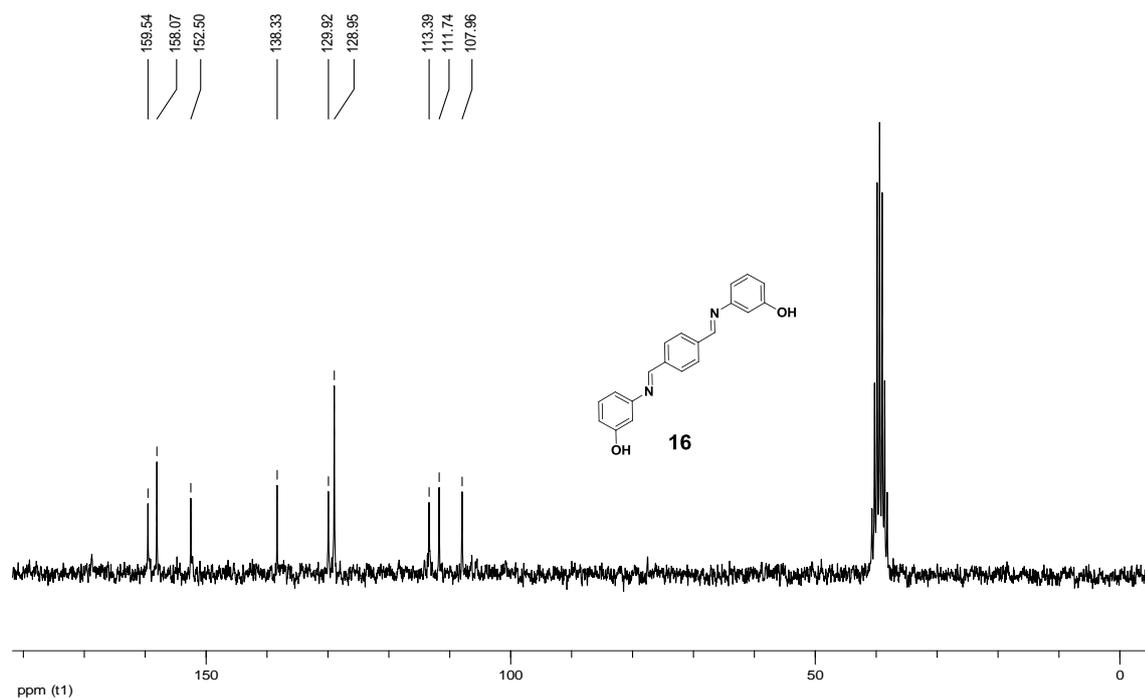


Figura 66. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)tereftaldiimina (**16**).

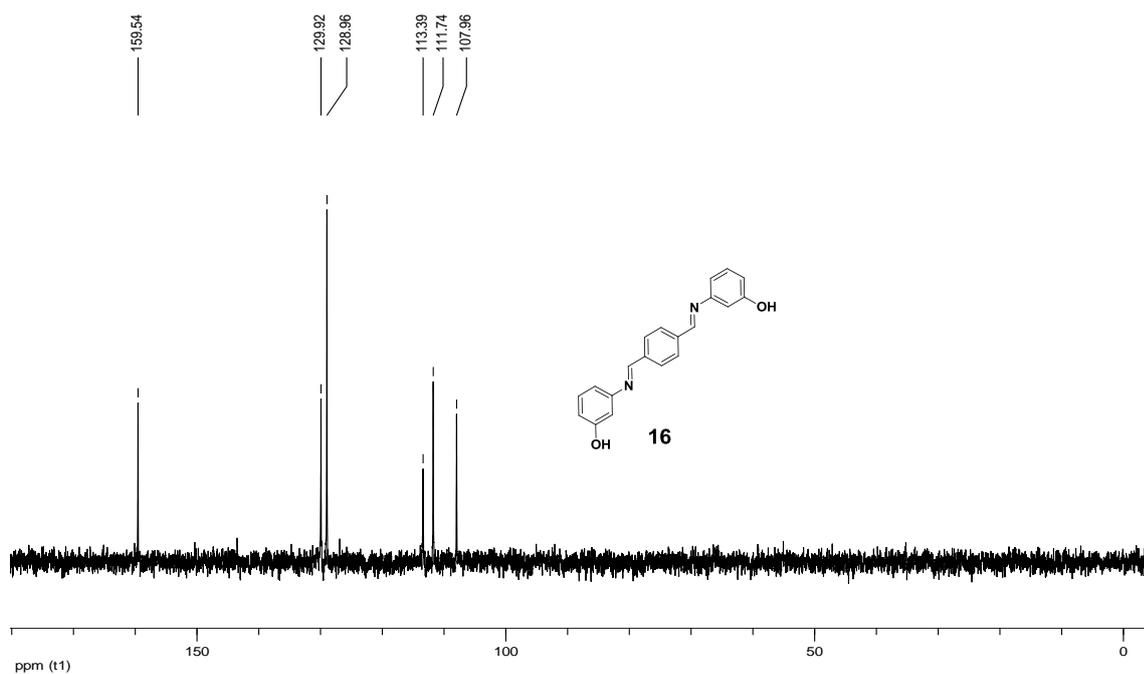


Figura 67. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (**16**).

6.17 – Composto 17.

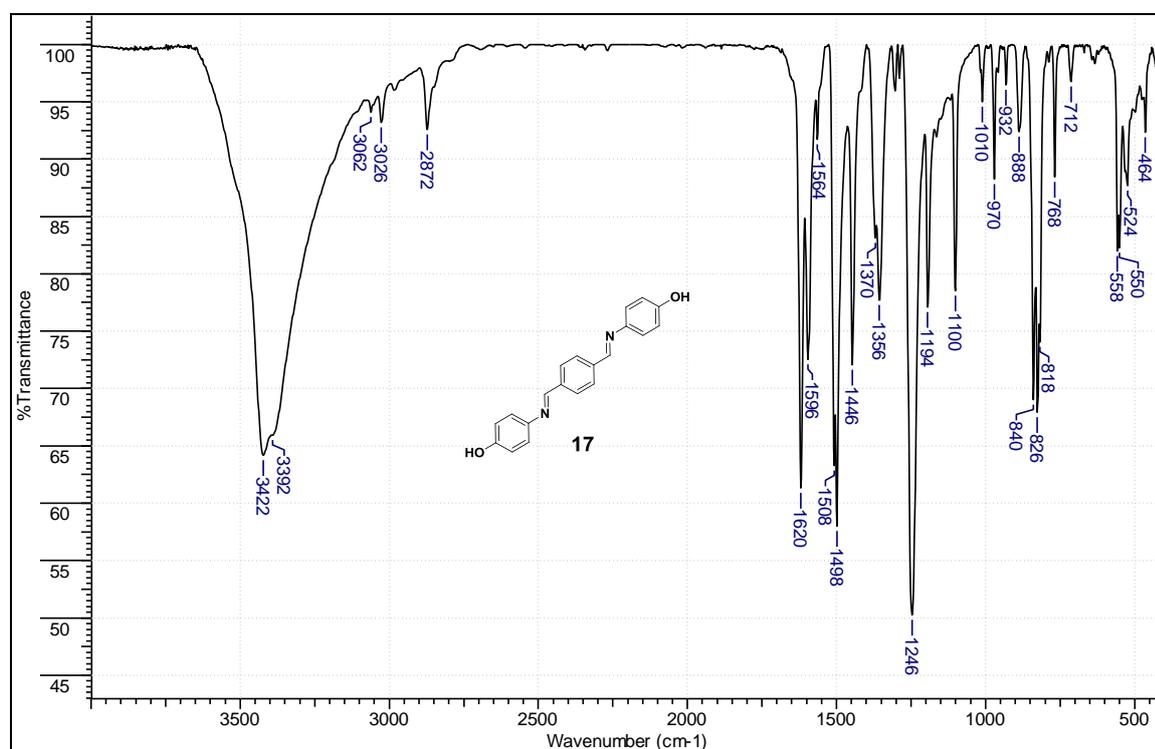


Figura 68. Espectro no infravermelho do composto **17** pastilhado em KBr.

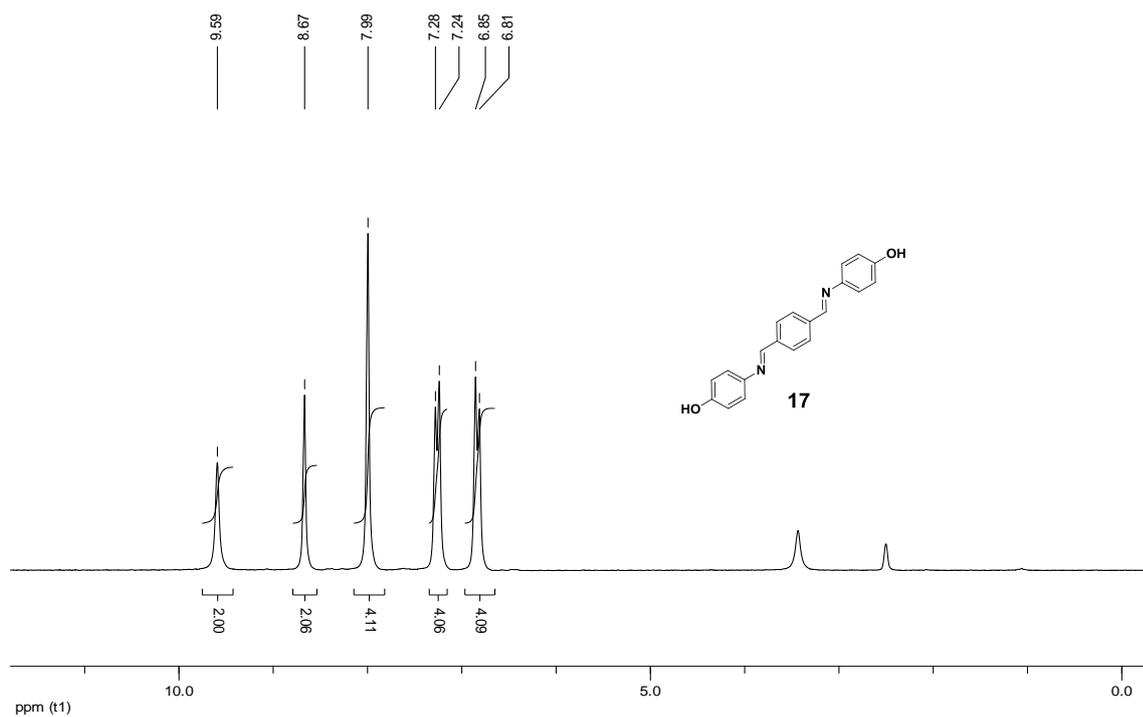


Figura 69. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (**17**).

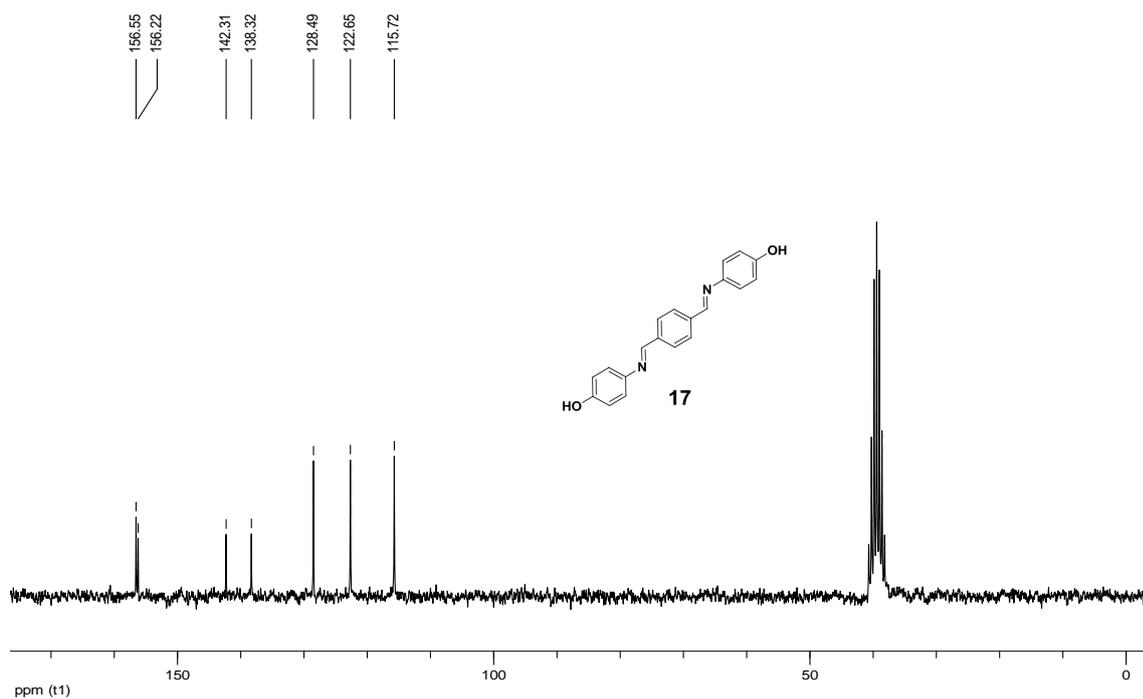


Figura 70. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)teraftaldiimina (**17**).

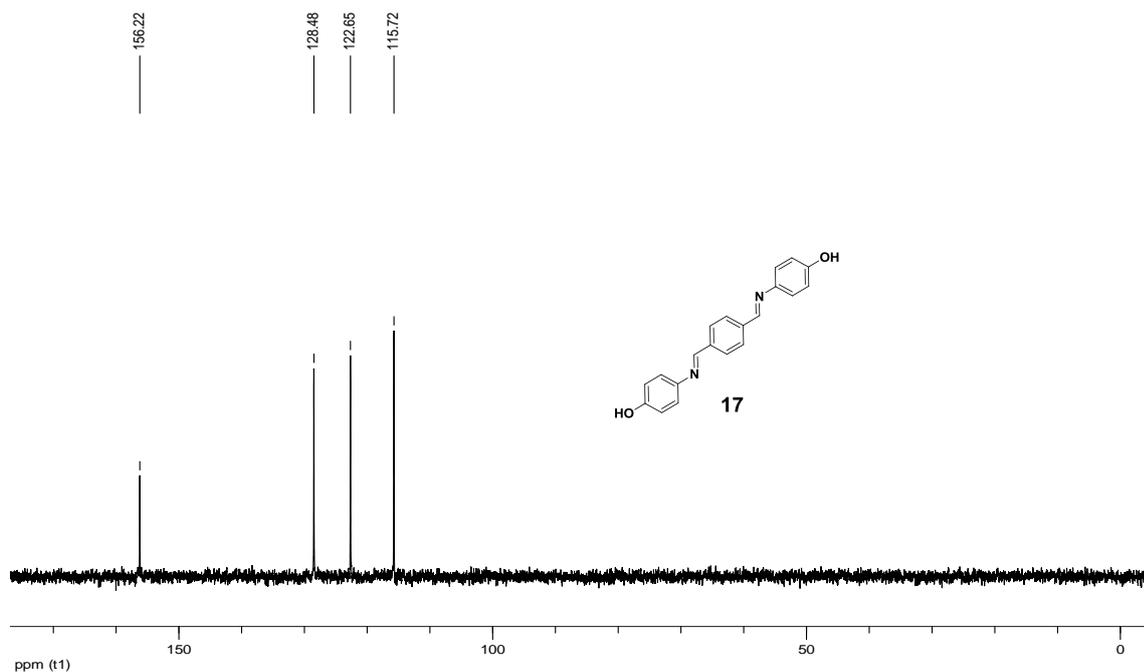


Figura 71. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-hidroxibenzeno)tereftaldiimina (**17**).

6.18 – Composto 18.

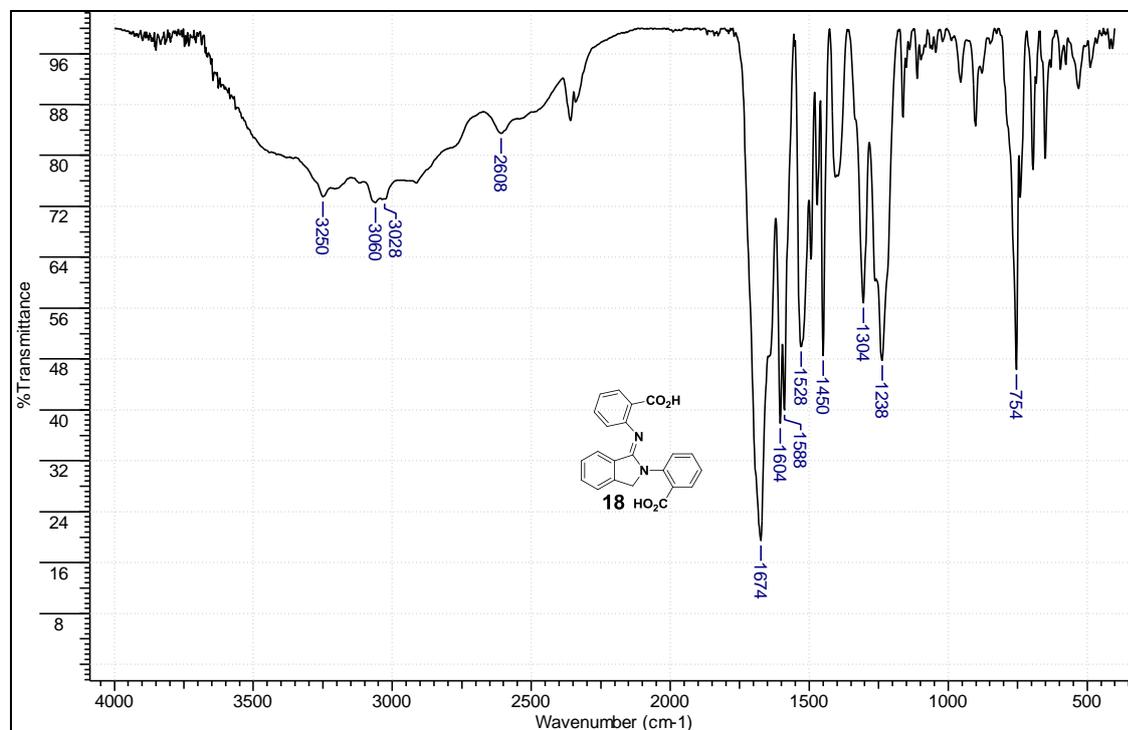
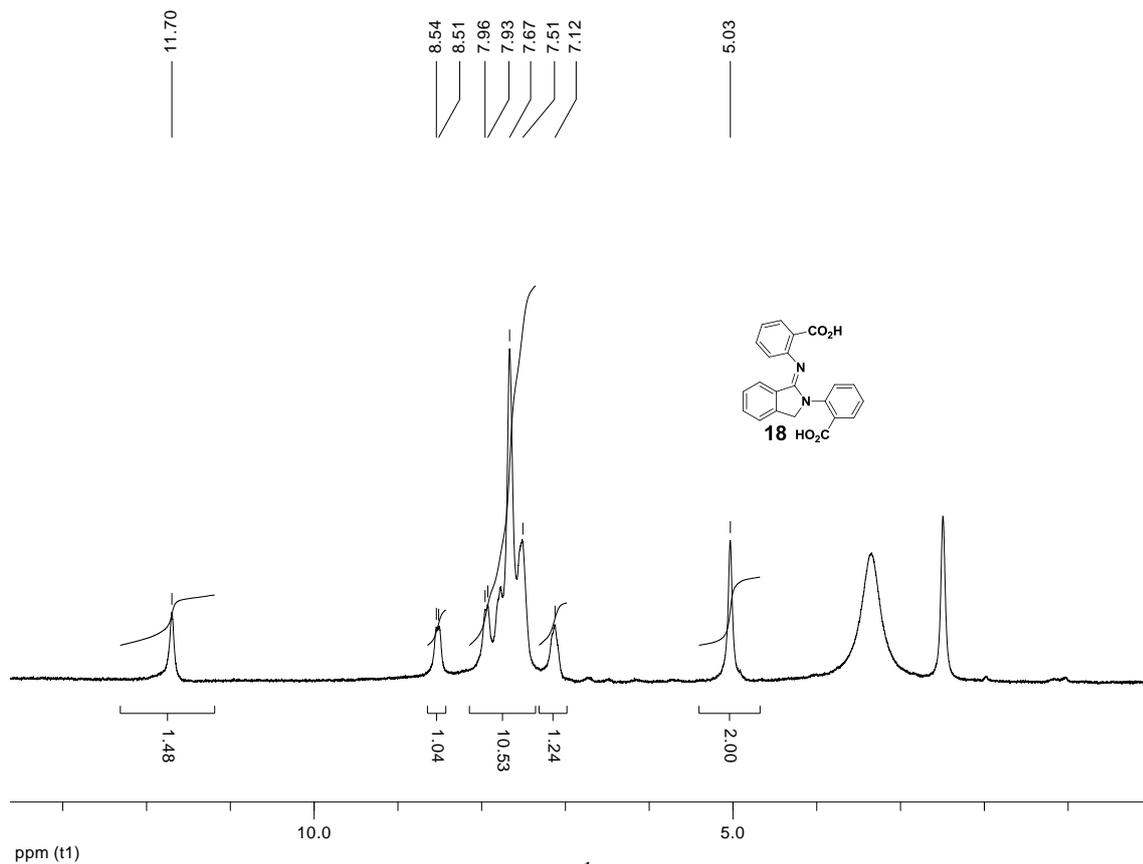


Figura 72. Espectro no infravermelho do composto **18** pastilhado em KBr.



ppm (t1)
Figura 73. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(2-carboxifenil)iminoisoindolina (**18**).

6.19 – Composto 19.

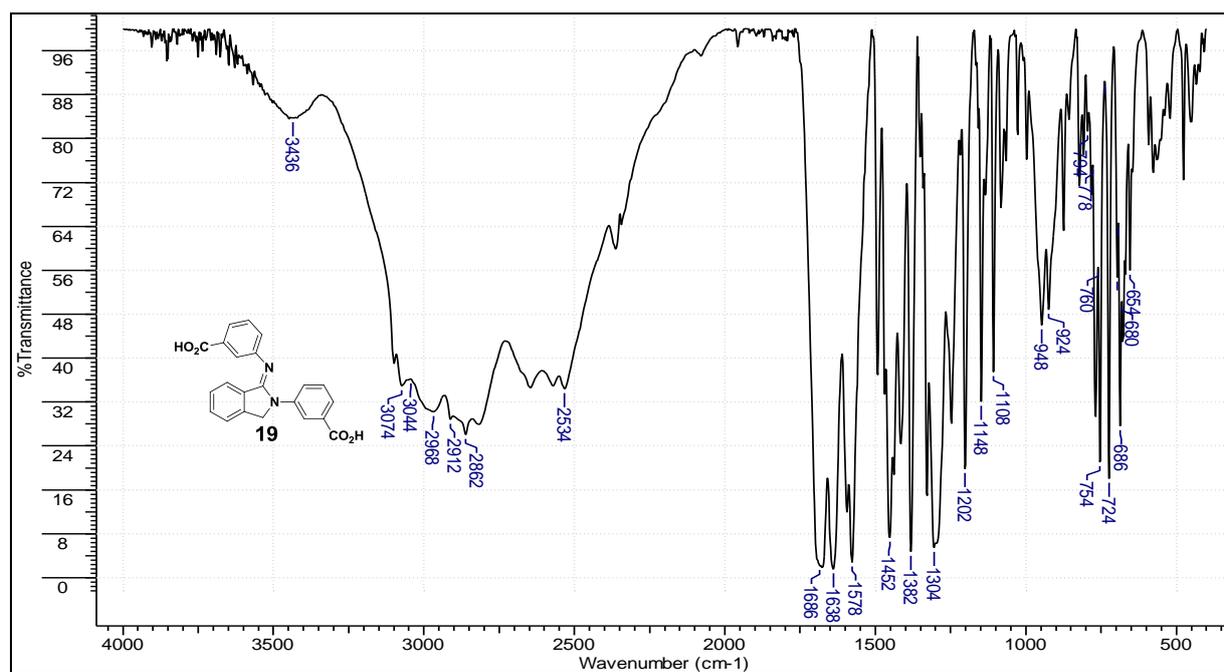


Figura 74. Espectro no infravermelho do composto **19** pastilhado em KBr.

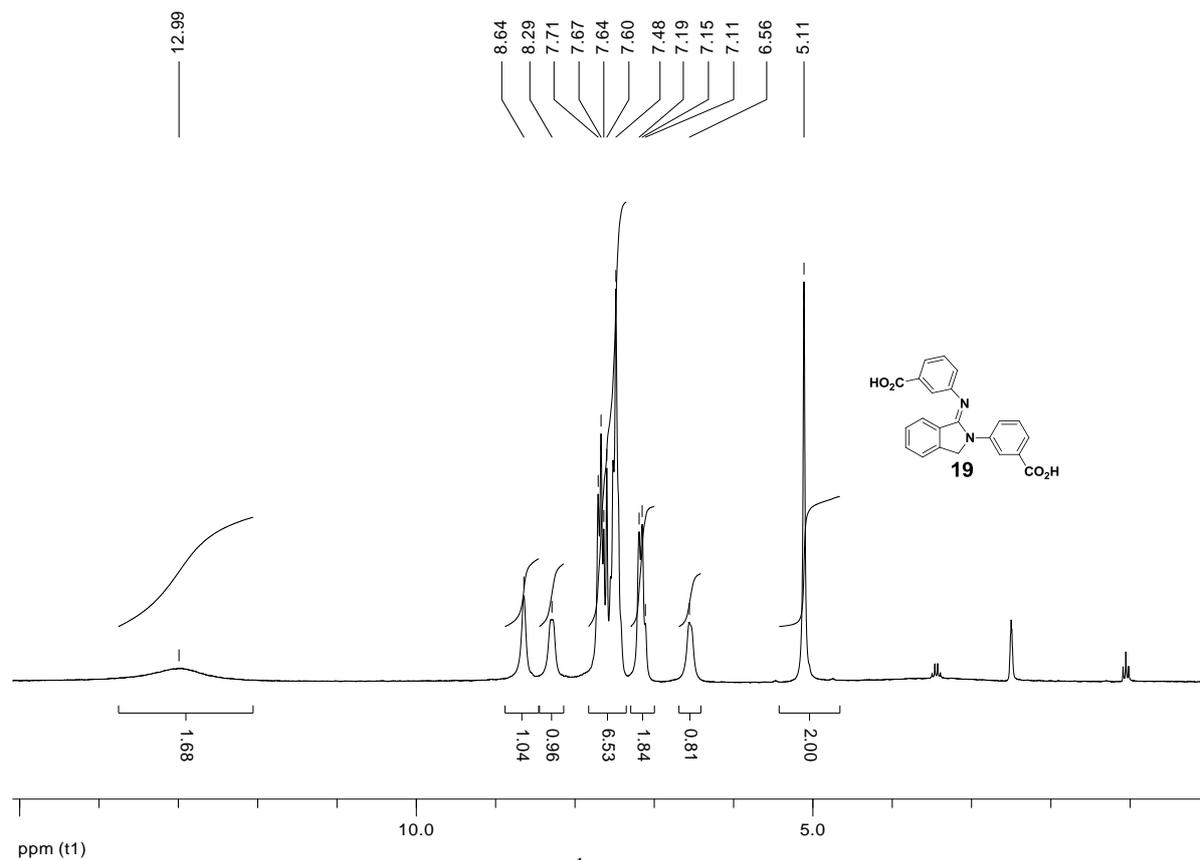


Figura 75. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxifenil)iminoisoindolina (**19**).

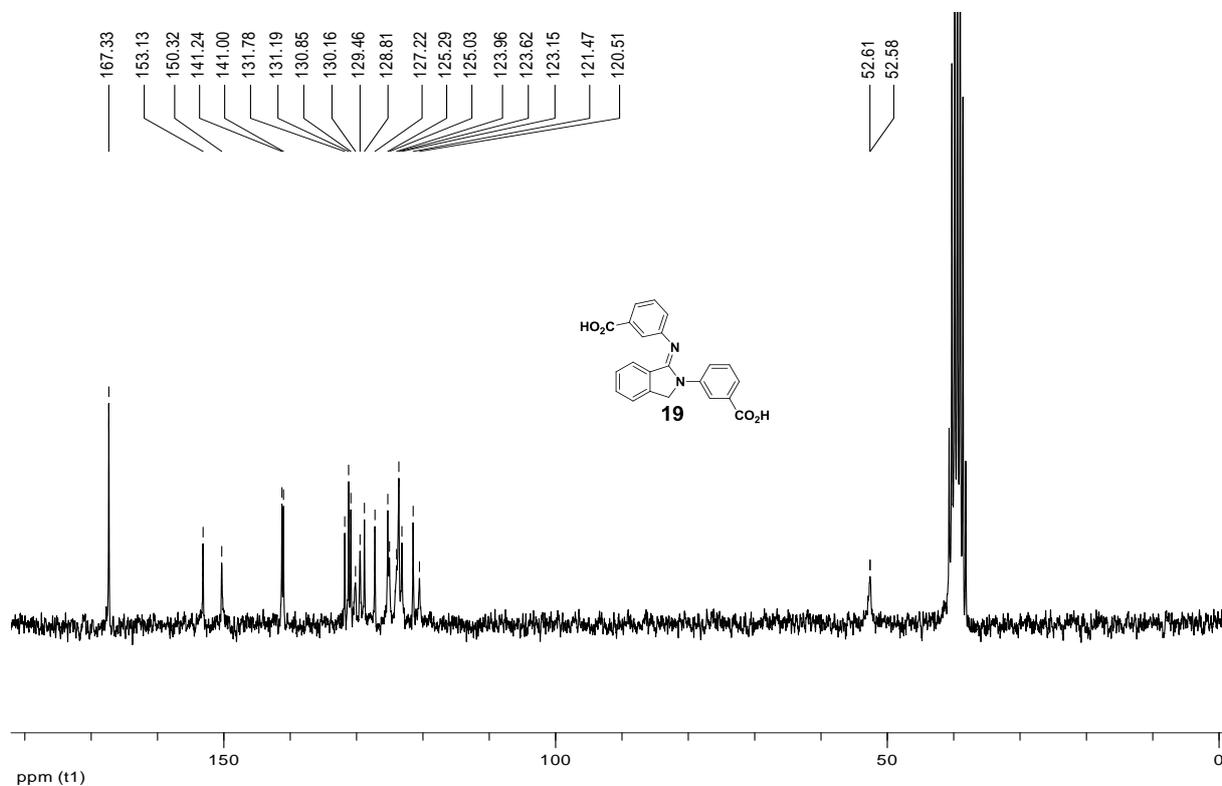


Figura 76. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxifenil)iminoisoindolina (**19**).

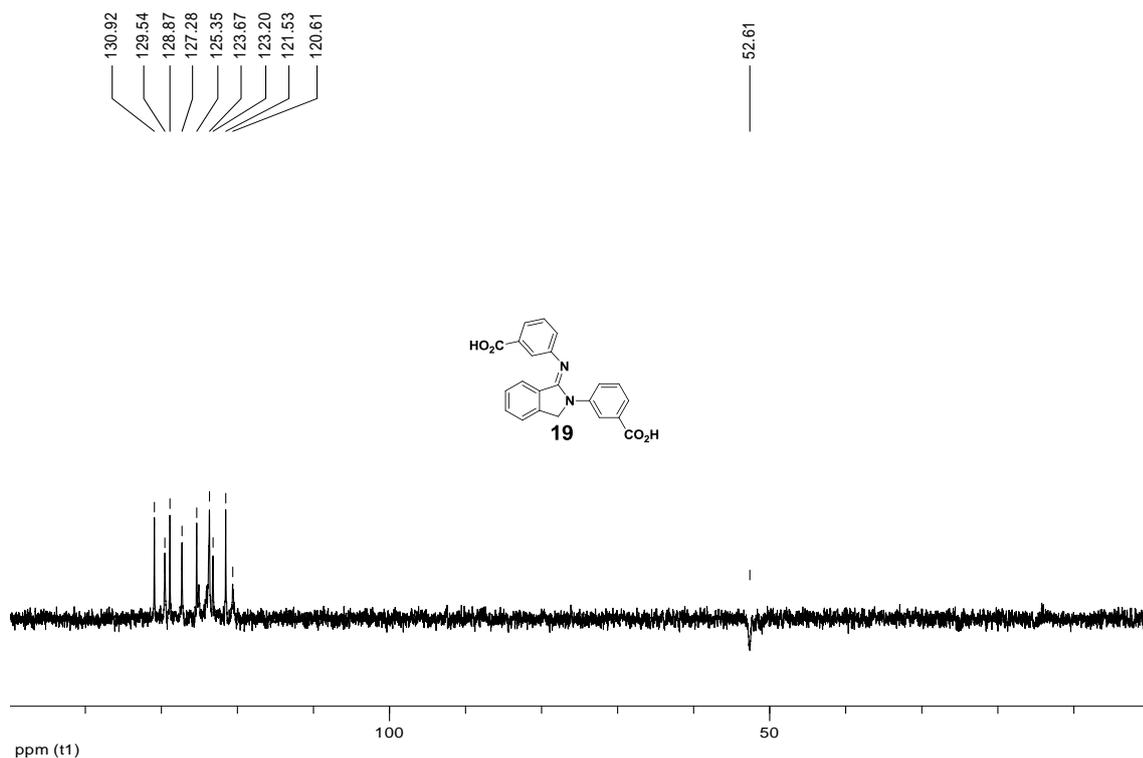


Figura 77. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-carboxifenil)iminoisindolina (**19**).

6.20 – Composto 20.

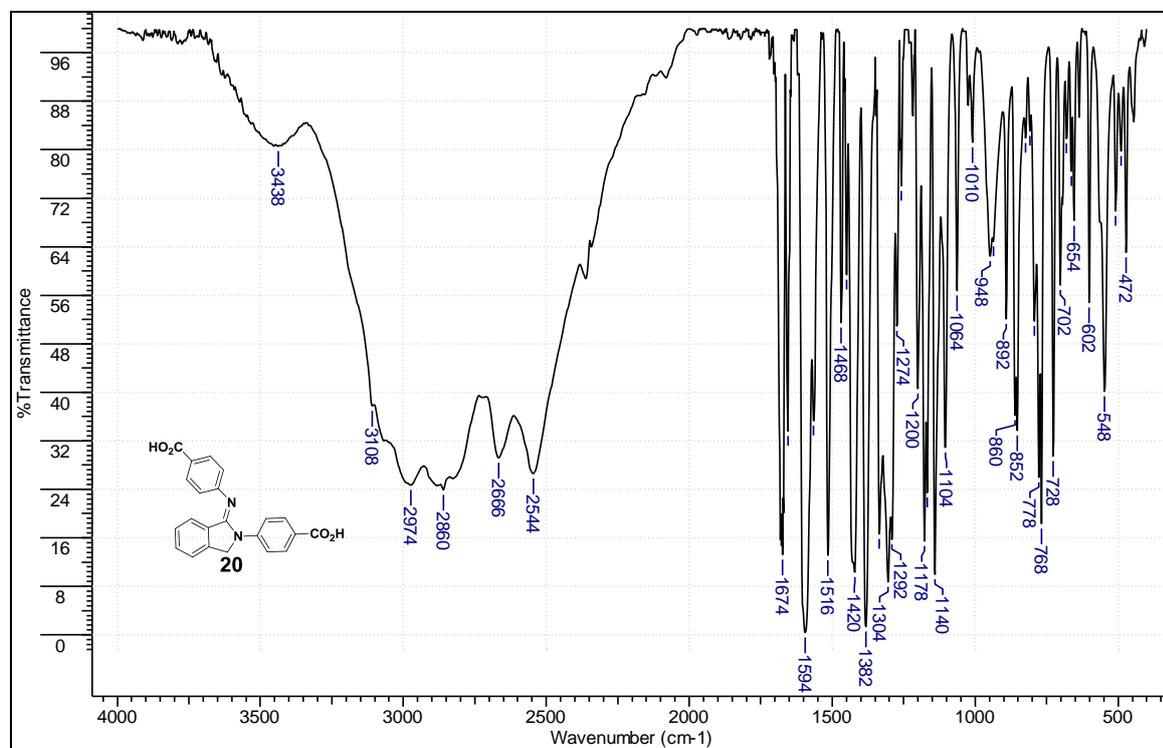


Figura 78. Espectro no infravermelho do composto **20** pastilhado em KBr.

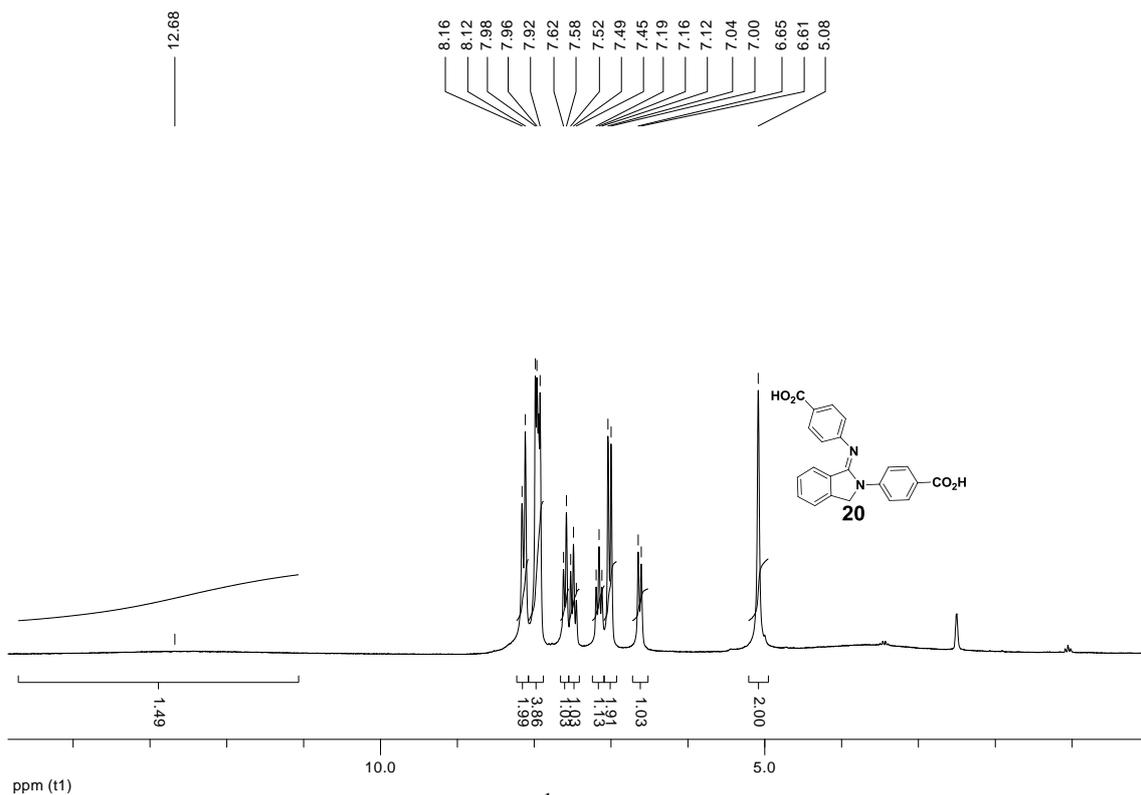


Figura 79. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxifenil)iminoisoindolina (**20**).

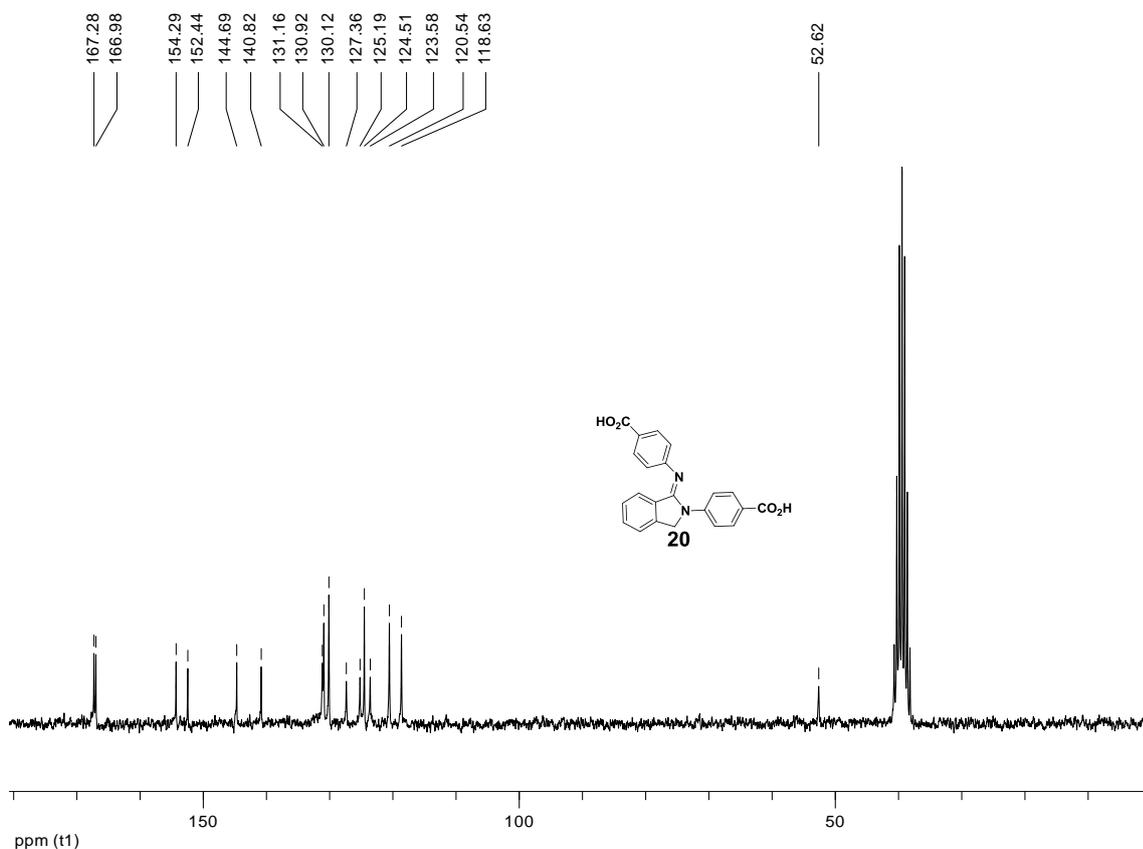


Figura 80. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxifenil)iminoisoindolina (**20**).

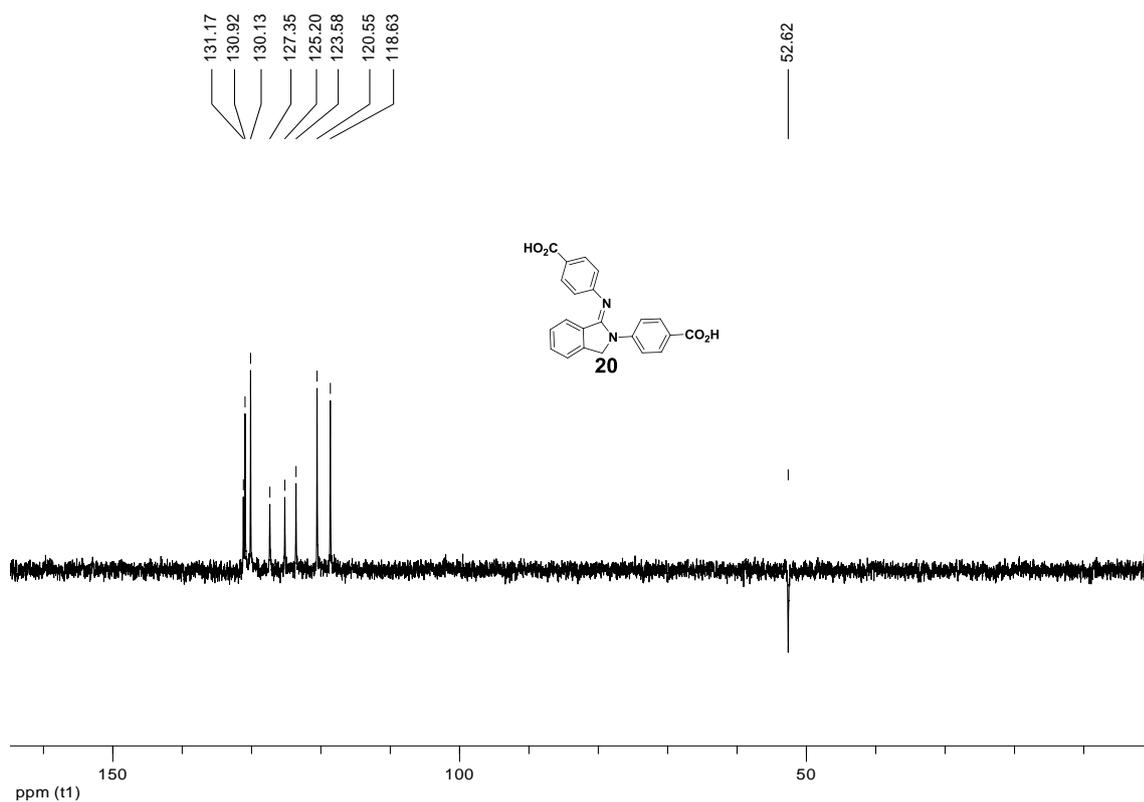


Figura 81. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-carboxifenil)iminoisindolina (**20**).

6.21 – Composto 21.

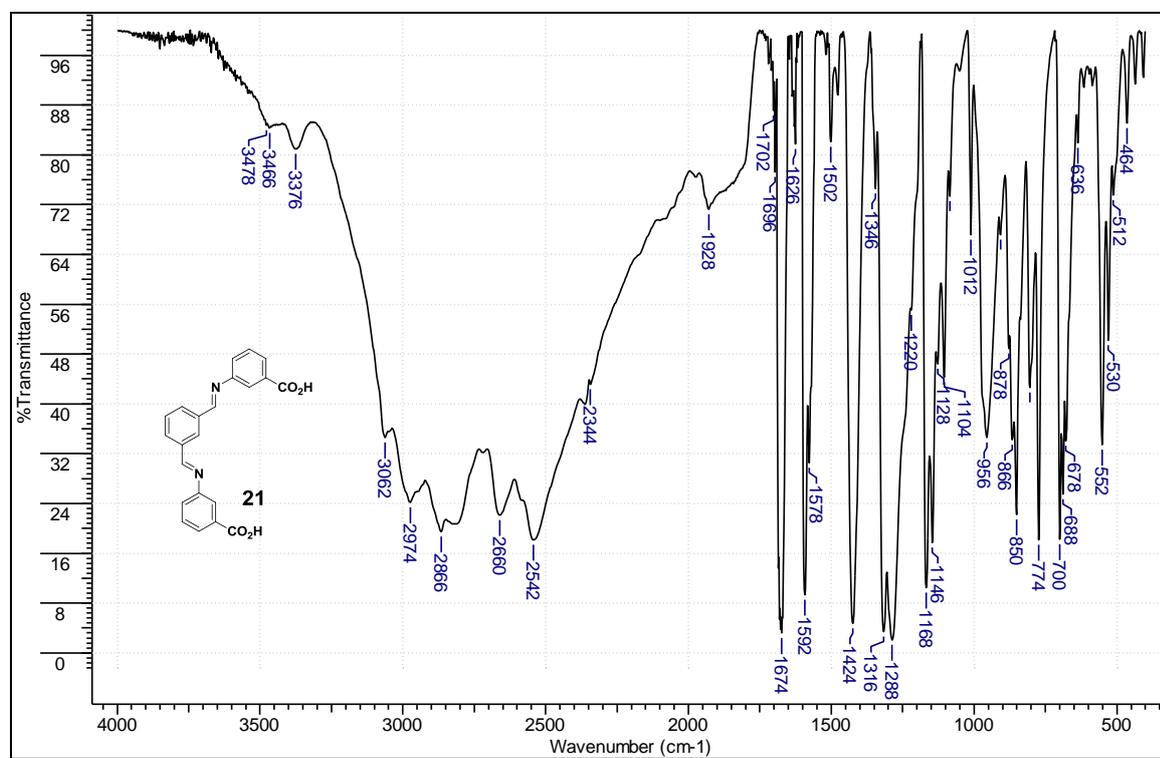


Figura 82. Espectro no infravermelho do composto **21** pastilhado em KBr.

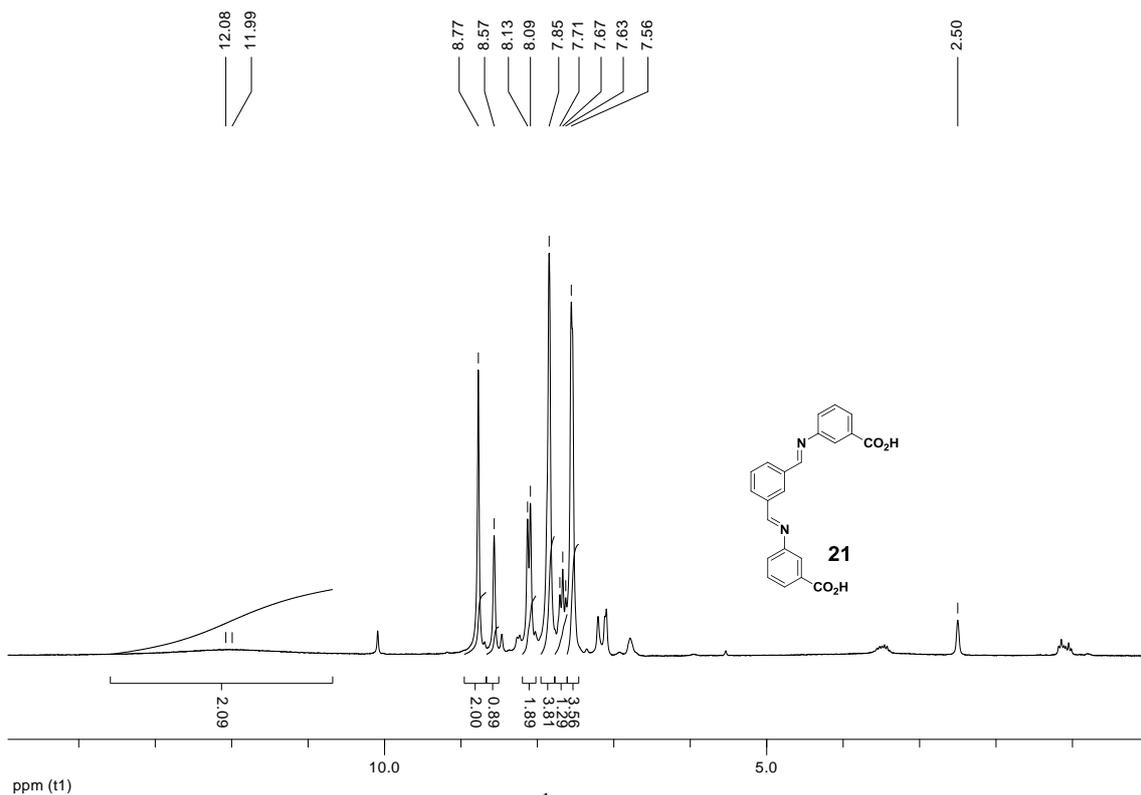


Figura 83. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)isofalddiimina (**21**).

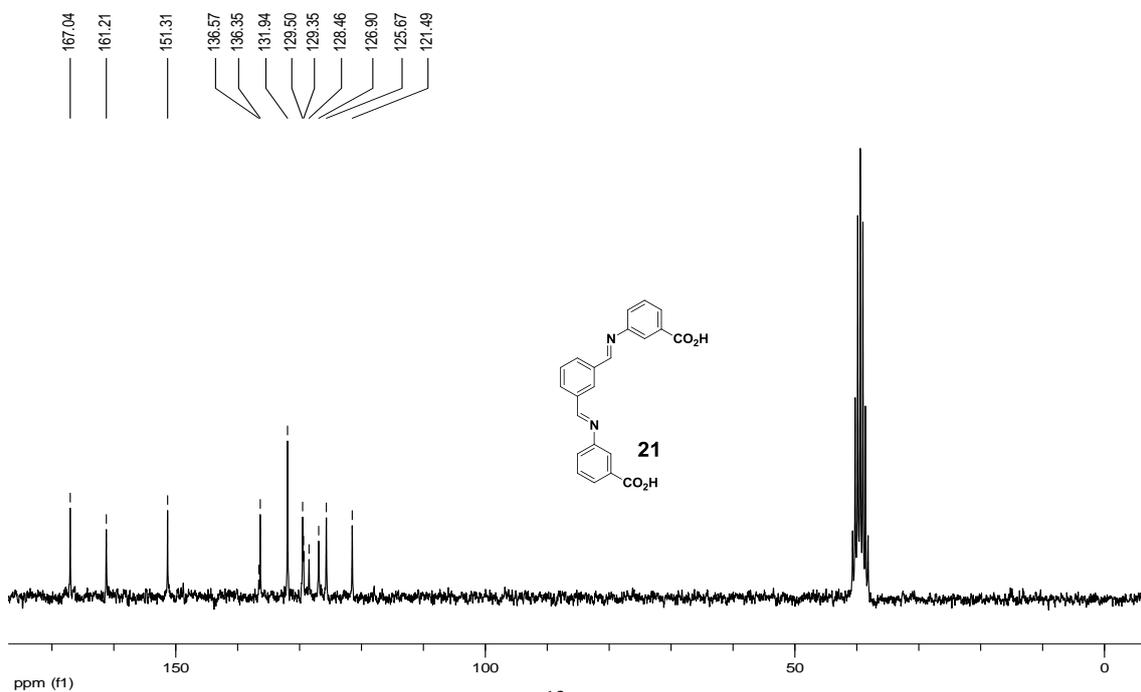


Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)isofalddiimina (**21**).

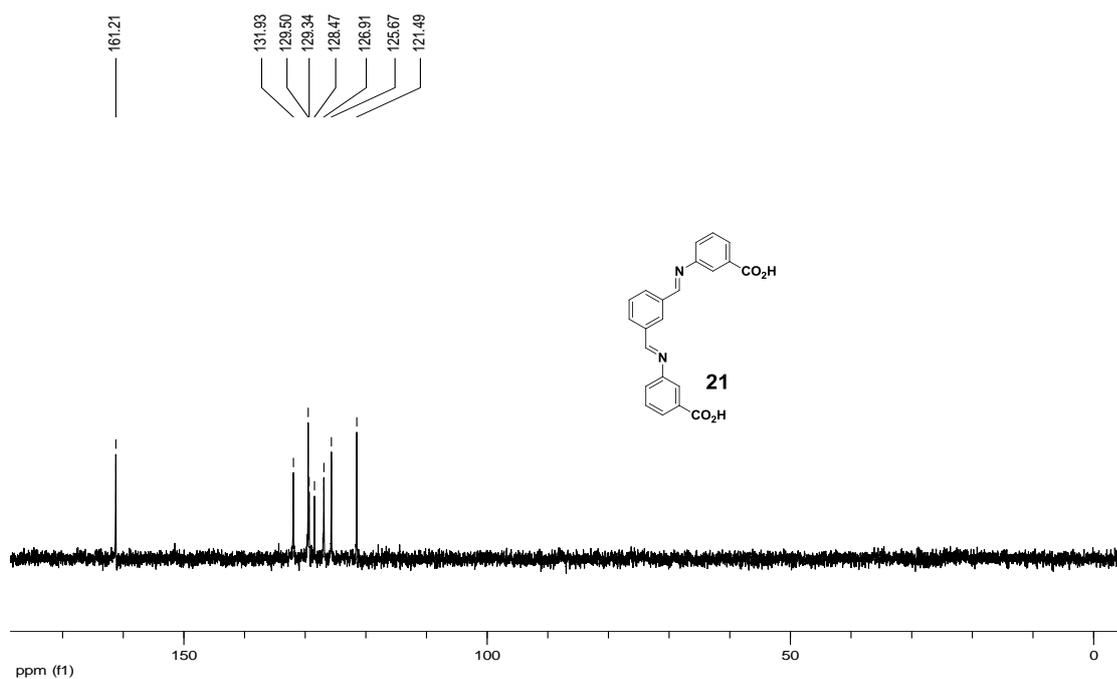


Figura 85. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)isofaltdiimina (**21**).

6.22 – Composto 22.

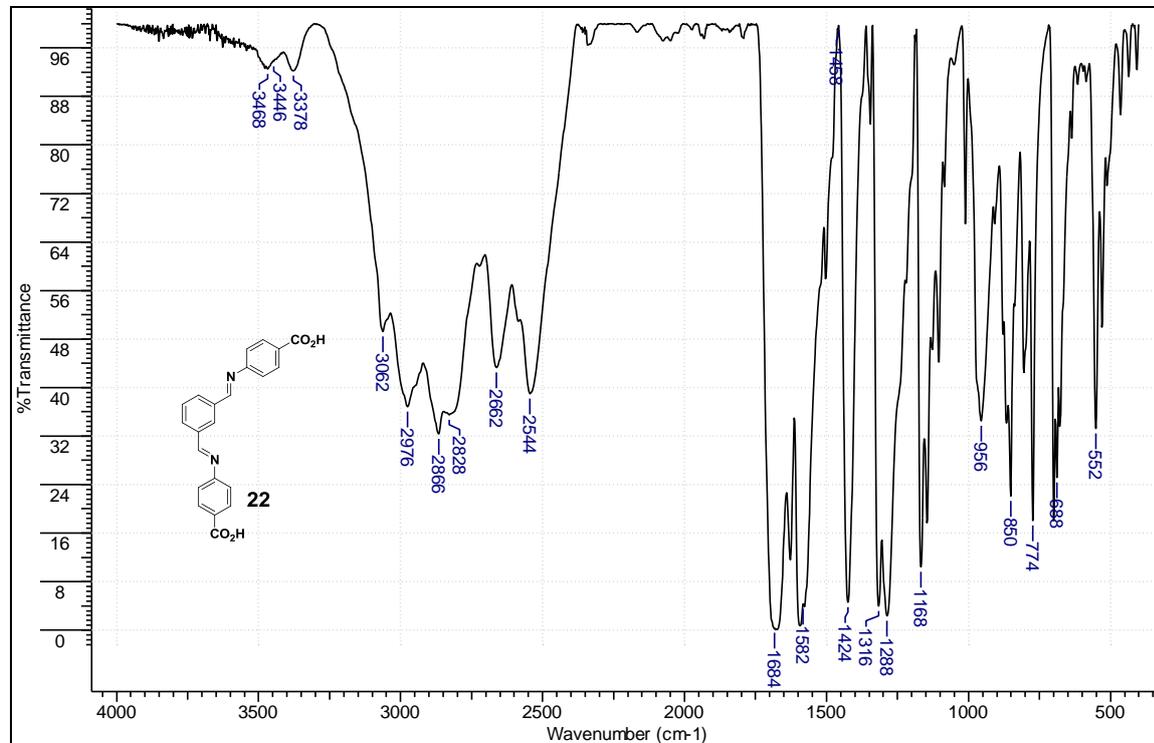


Figura 86. Espectro no infravermelho do composto **22** pastilhado em KBr.

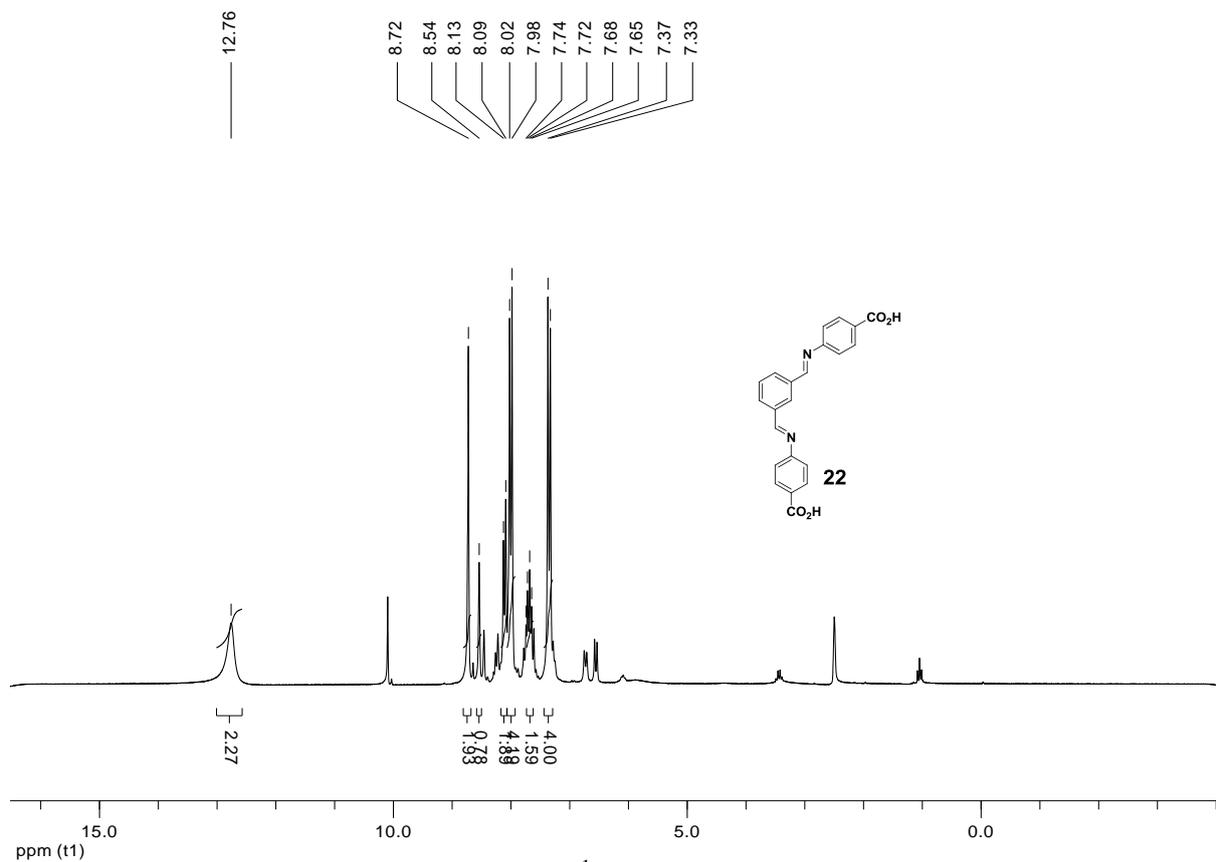


Figura 87. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)isofaldiimina (**22**).

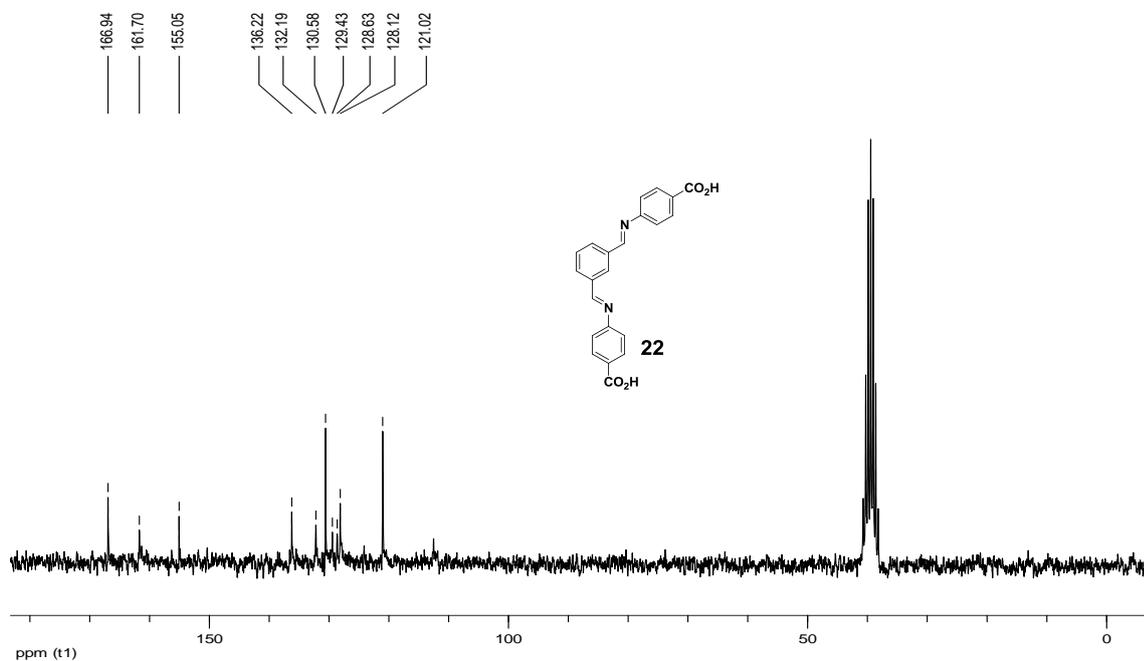


Figura 88. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)isofaldiimina (**22**).

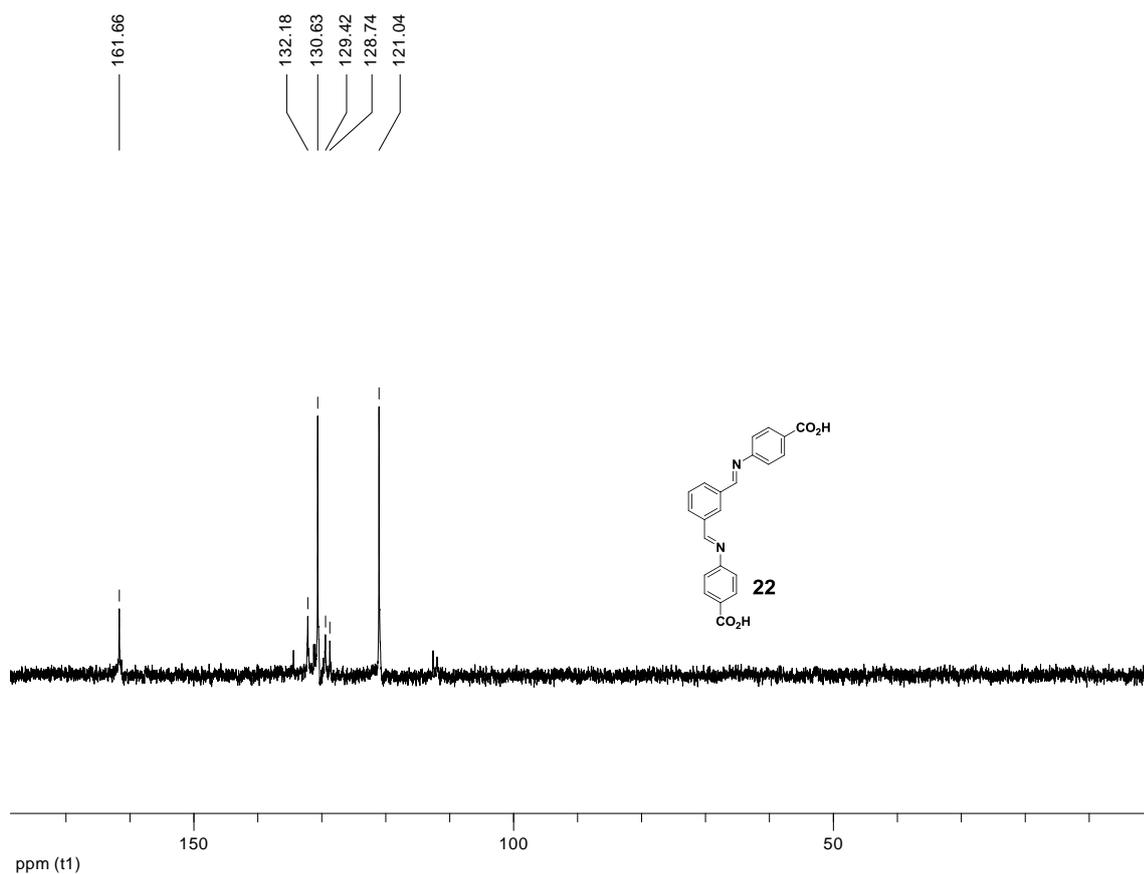


Figura 89. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)isofalddiimina (**22**).

6.24 – Composto 23.

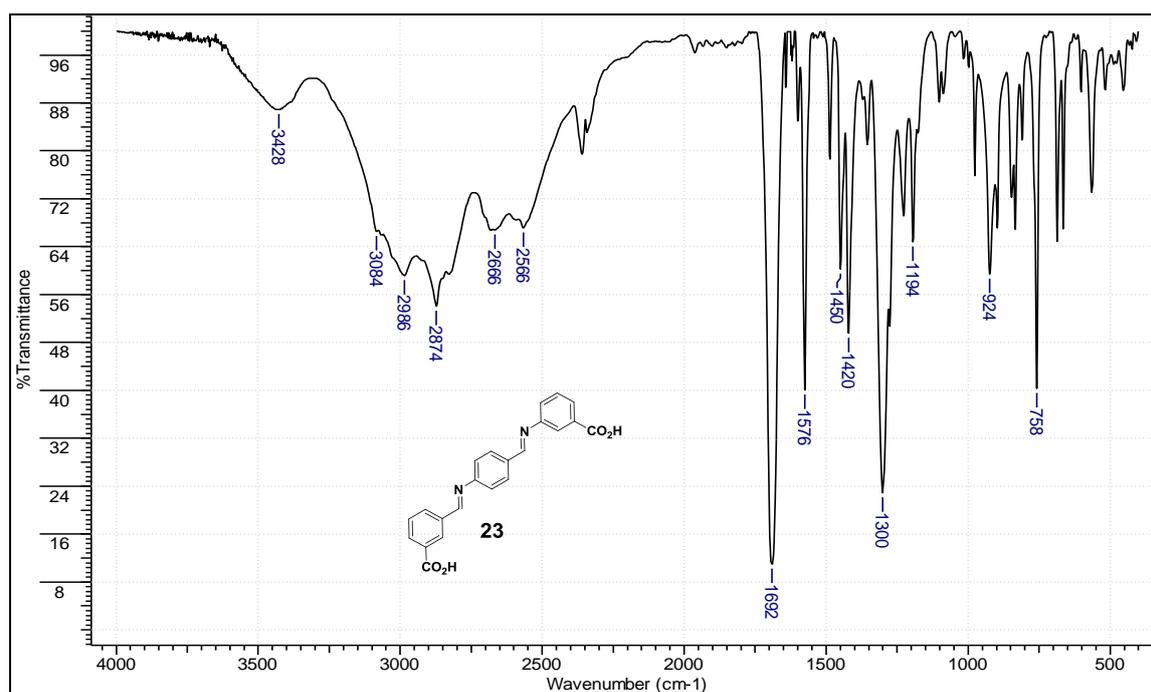


Figura 90. Espectro no infravermelho do composto **23** pastilhado em KBr.

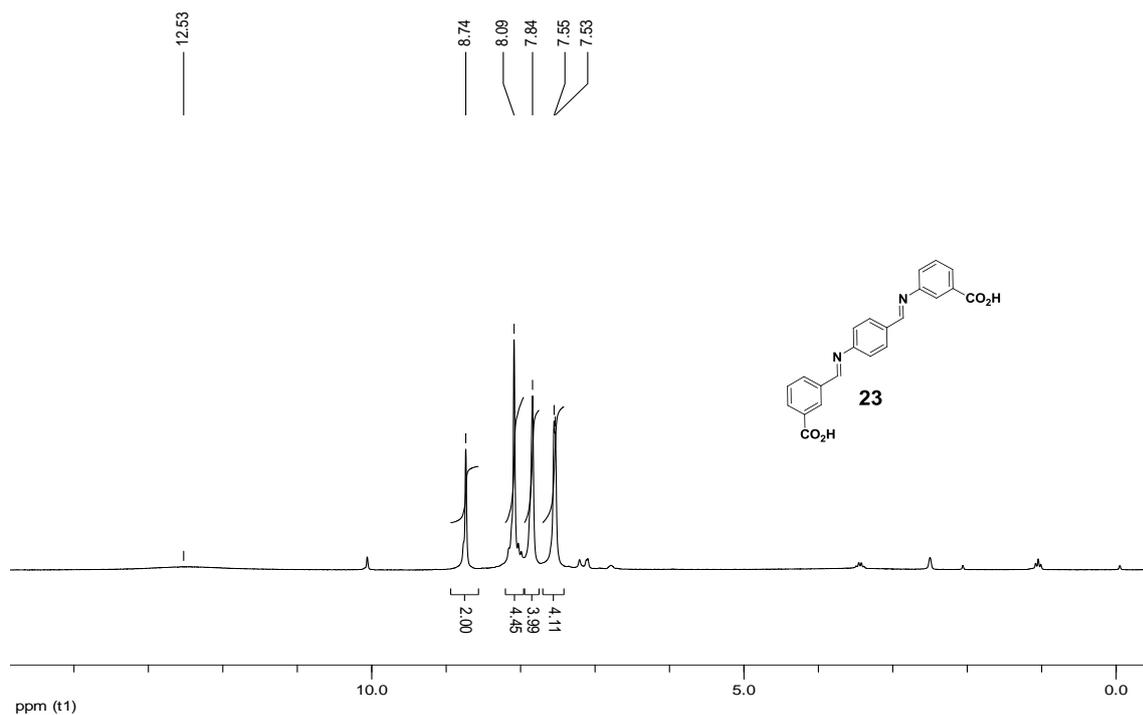


Figura 91. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)tereftaldiimina (**23**).

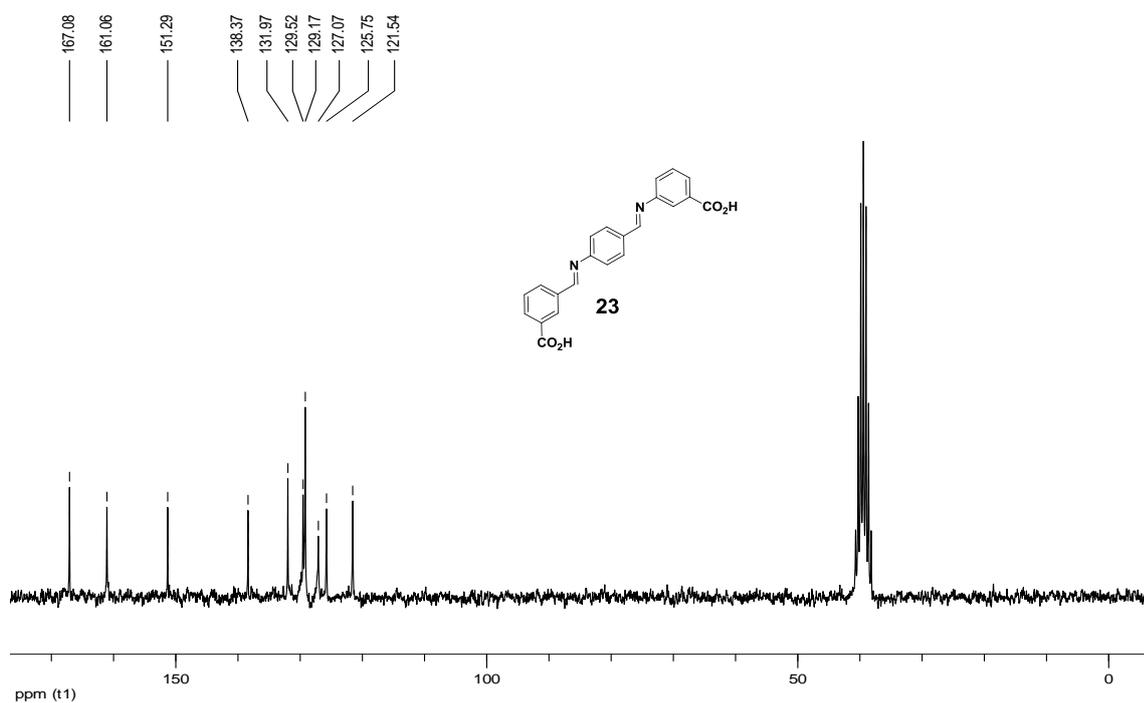


Figura 92. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)tereftaldiimina (**23**).

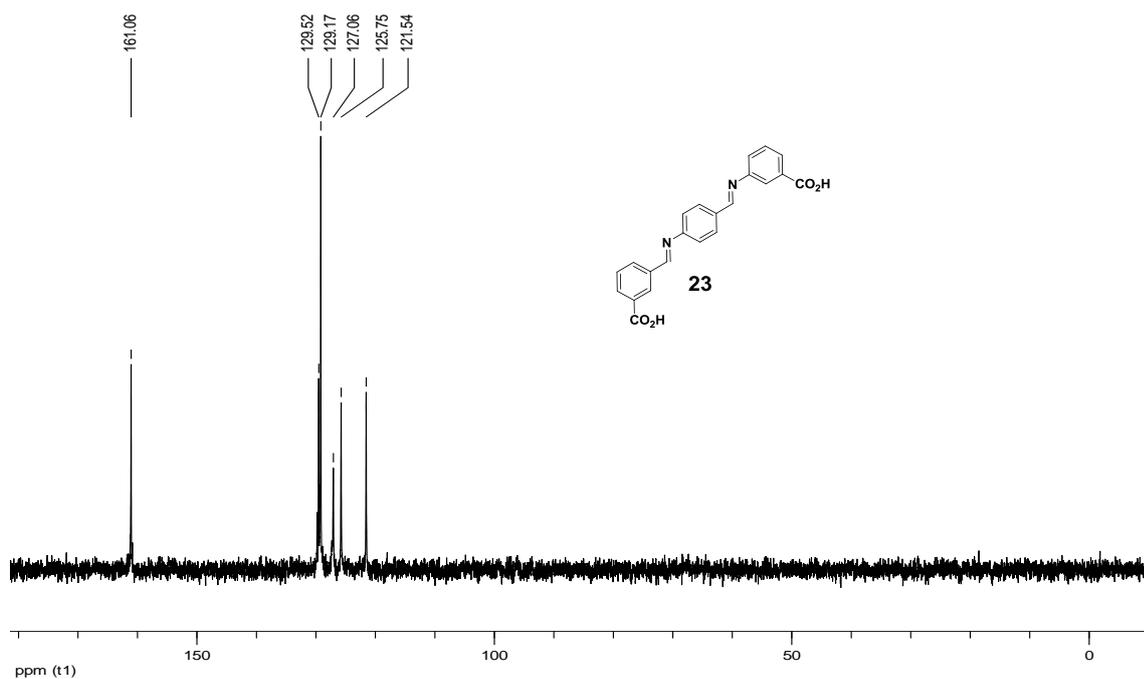


Figura 93. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(3-carboxibenzeno)teraftaldimina (**23**).

6.25 – Composto 24.

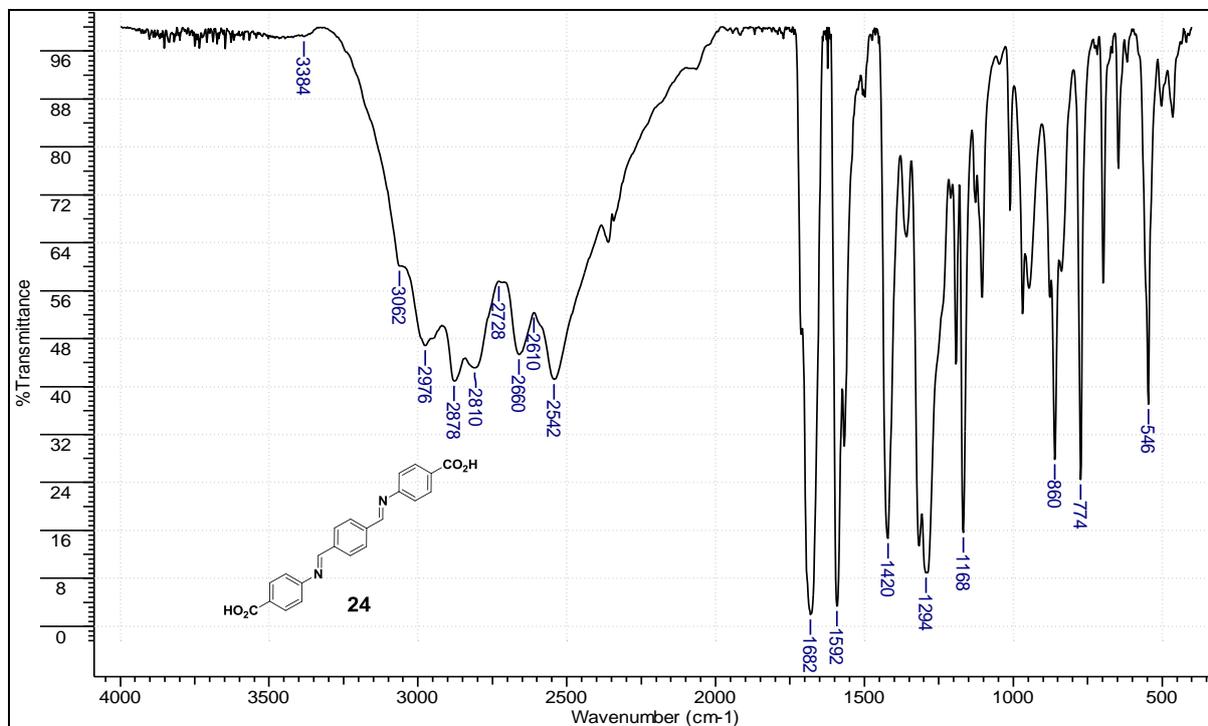


Figura 94. Espectro no infravermelho do composto **24** pastilhado em KBr.

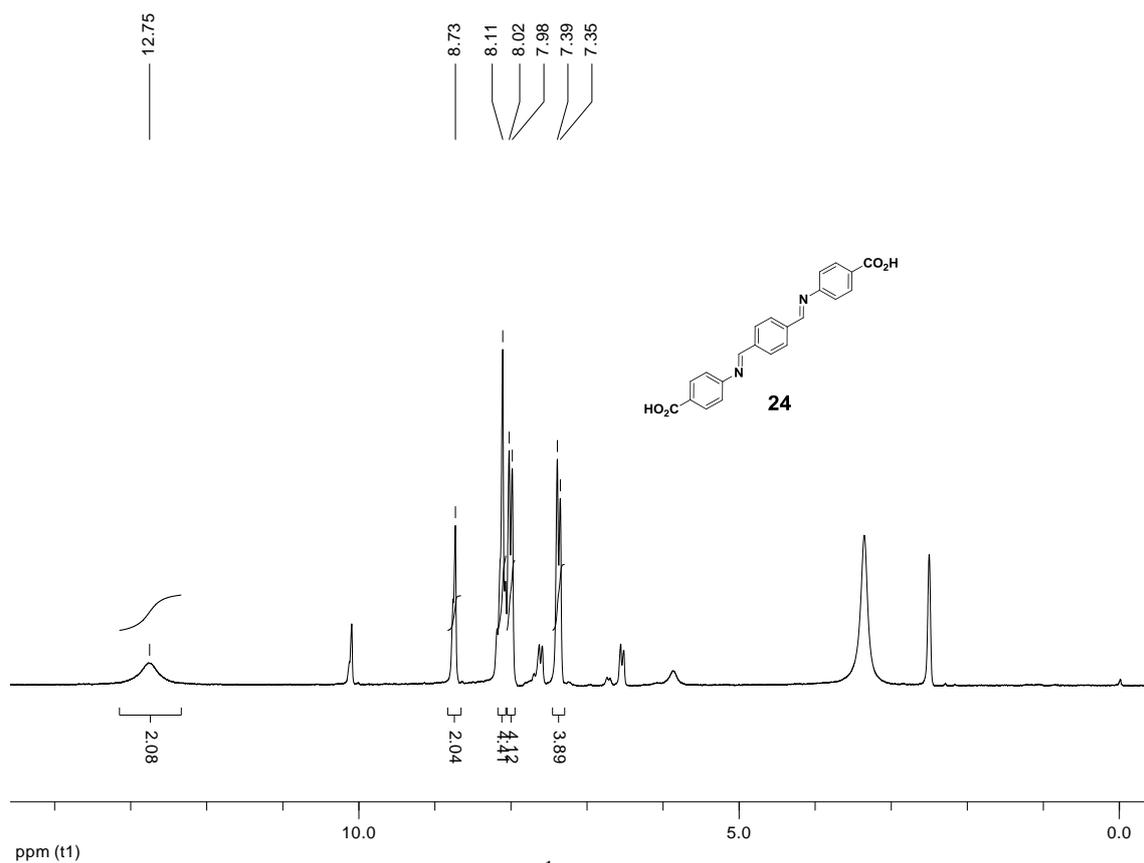


Figura 95. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)tereftaldiimina (**24**).

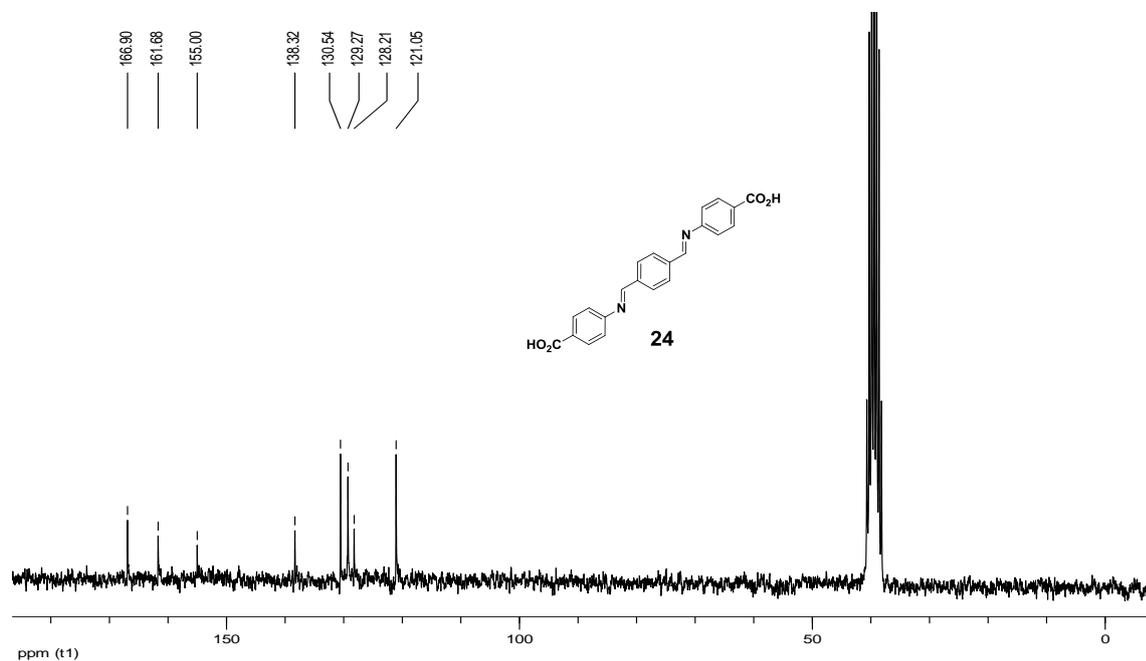


Figura 96. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz; $\text{DMSO-}d_6$) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)tereftaldiimina (**24**).

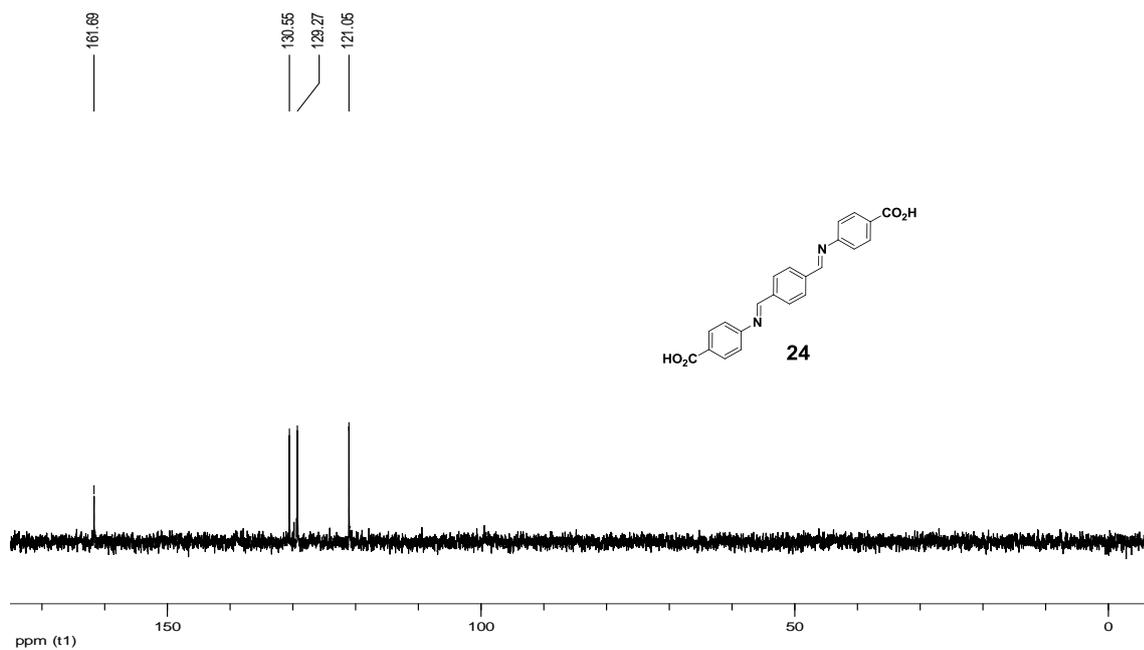


Figura 97. Subespectro DEPT 135 (50 MHz; DMSO- d_6) de *N,N'*-bis(4-carboxibenzeno)teraftaldiimina (**24**).

6.26 – Composto 25.

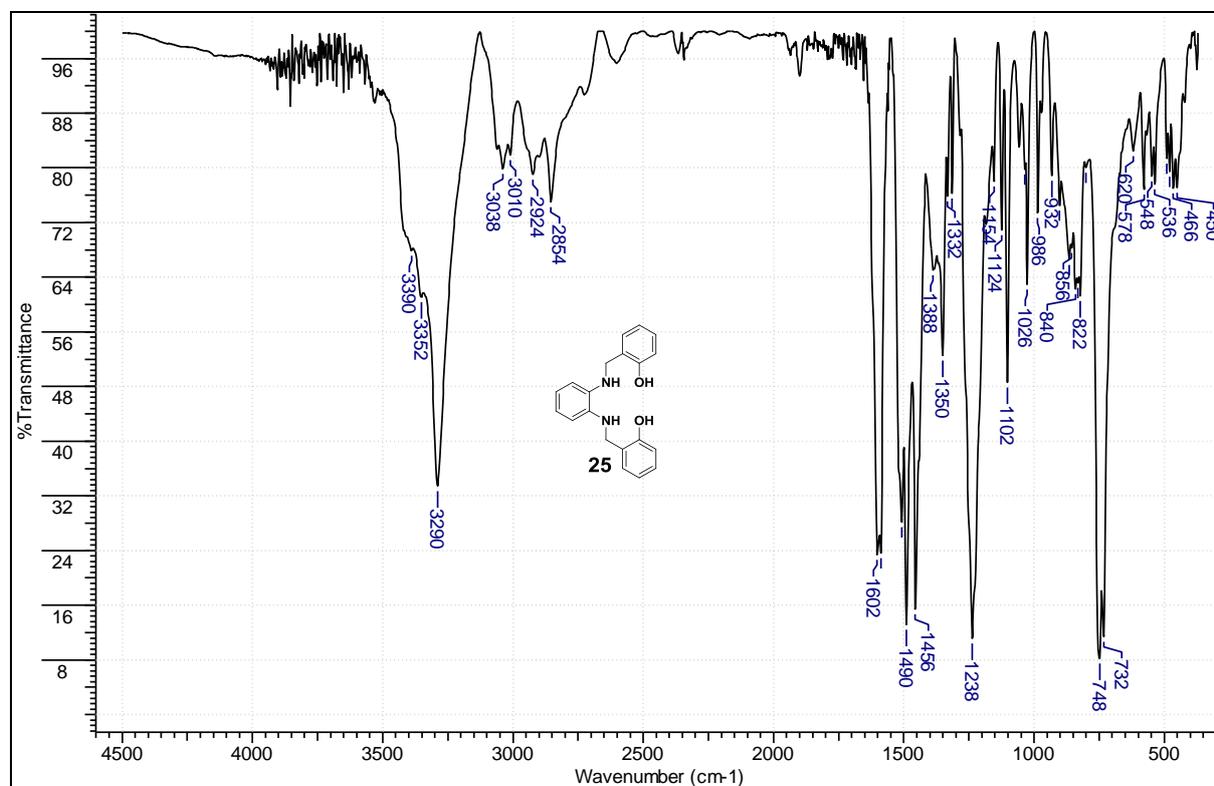


Figura 98. Espectro no infravermelho do composto **25** pastilhado em KBr.

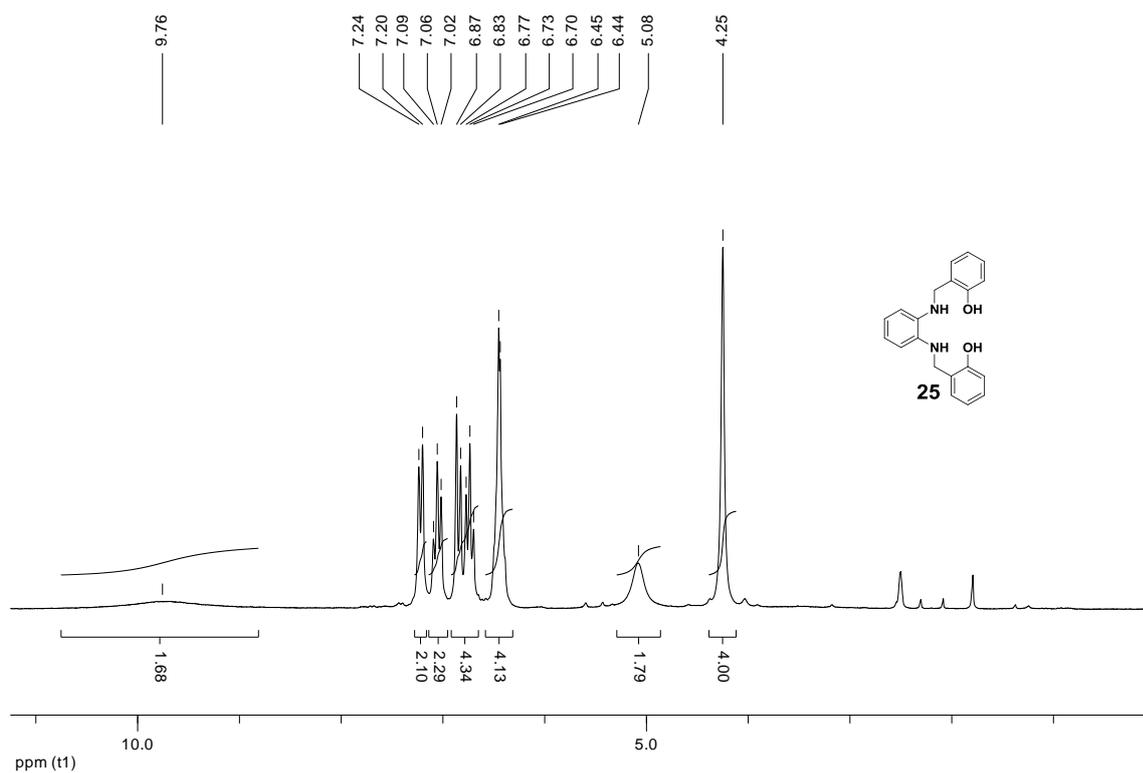


Figura 99. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **25**.

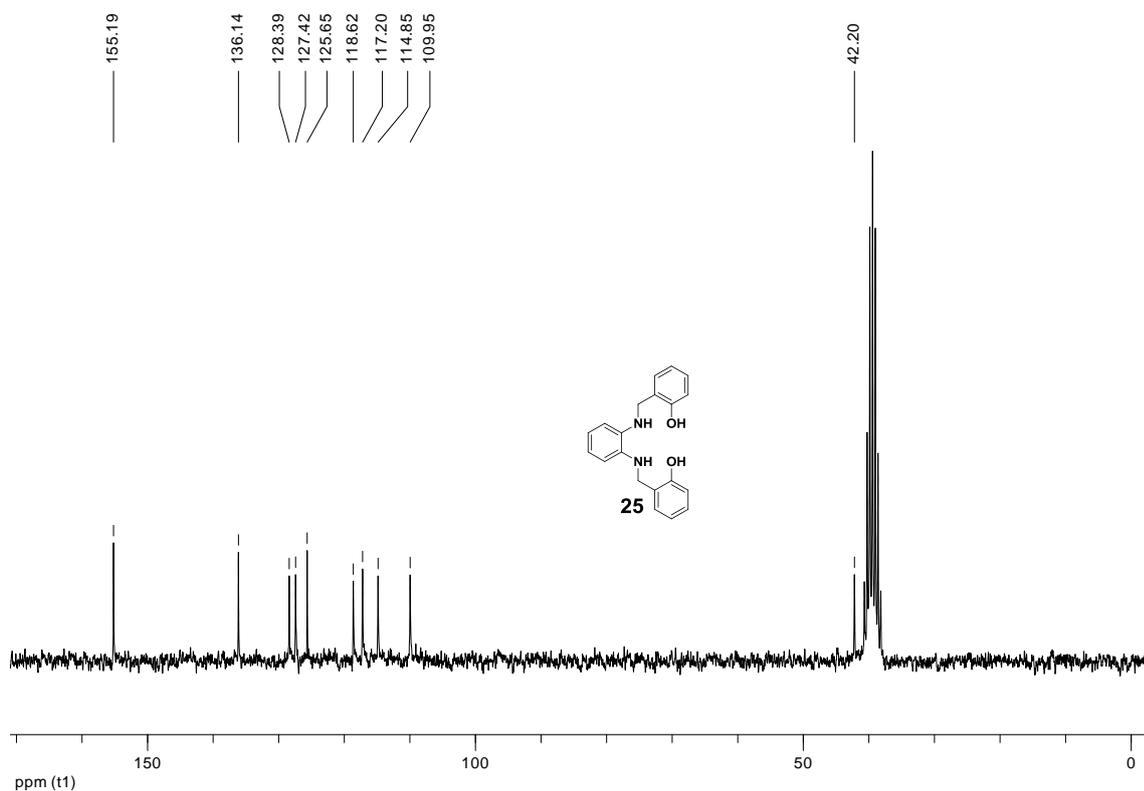


Figura 100. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **25**.

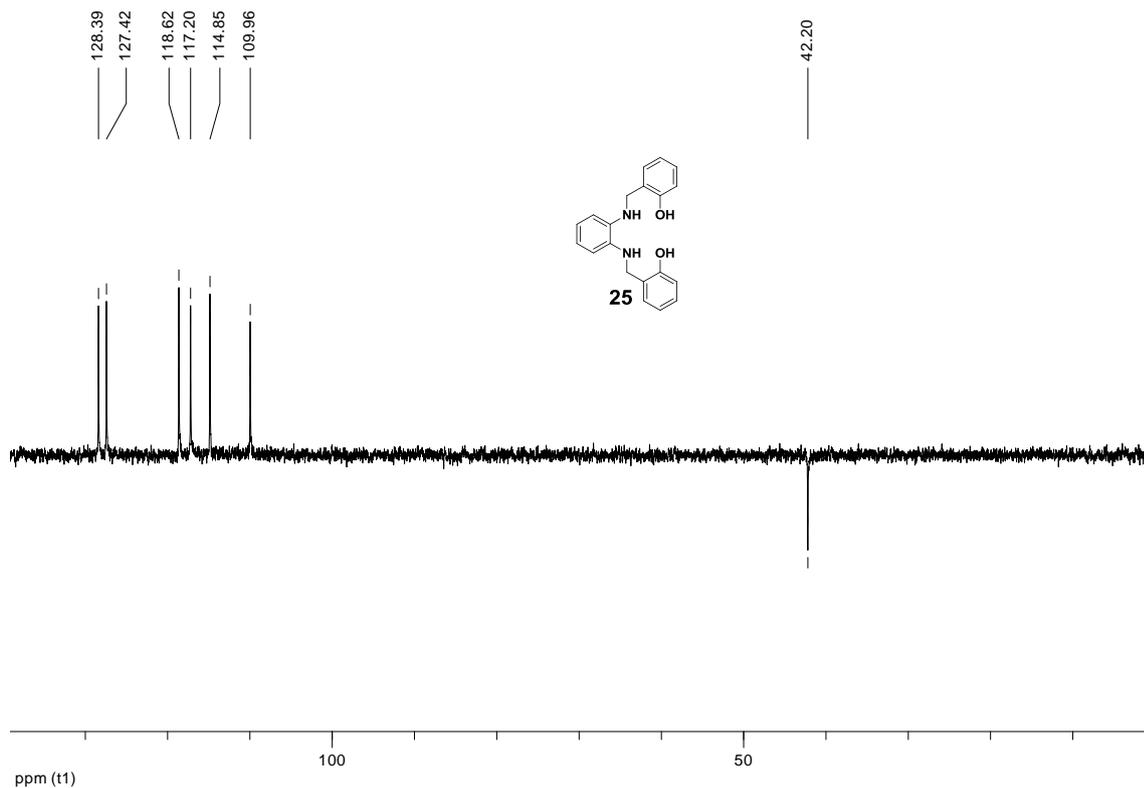


Figura 101. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **25**.

6.27 – Composto 26.

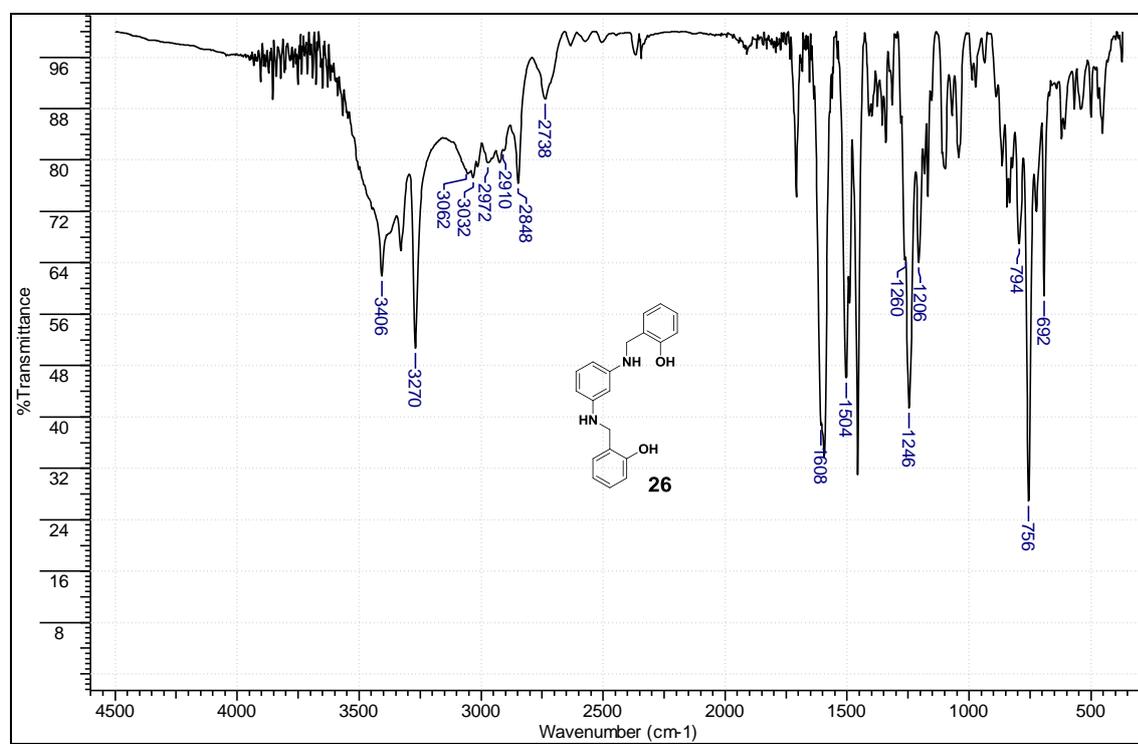


Figura 102. Espectro no infravermelho do composto **26** pastilhado em KBr.

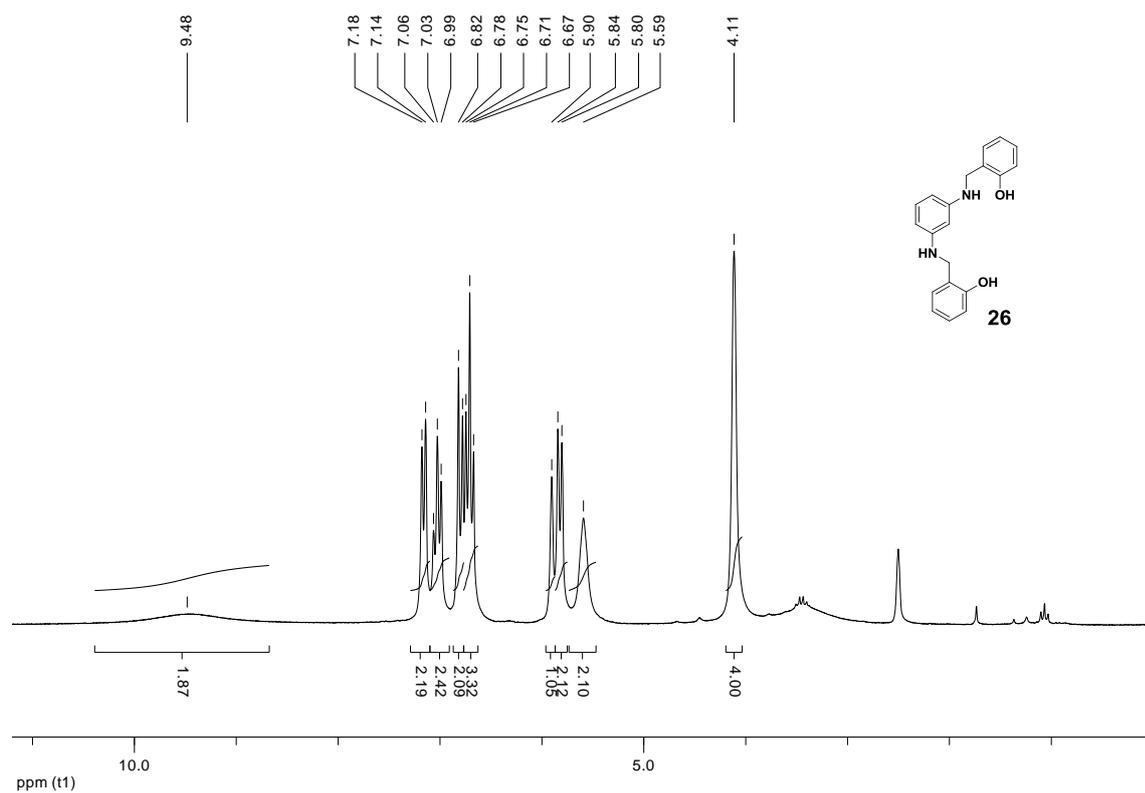


Figura 103. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **26**.

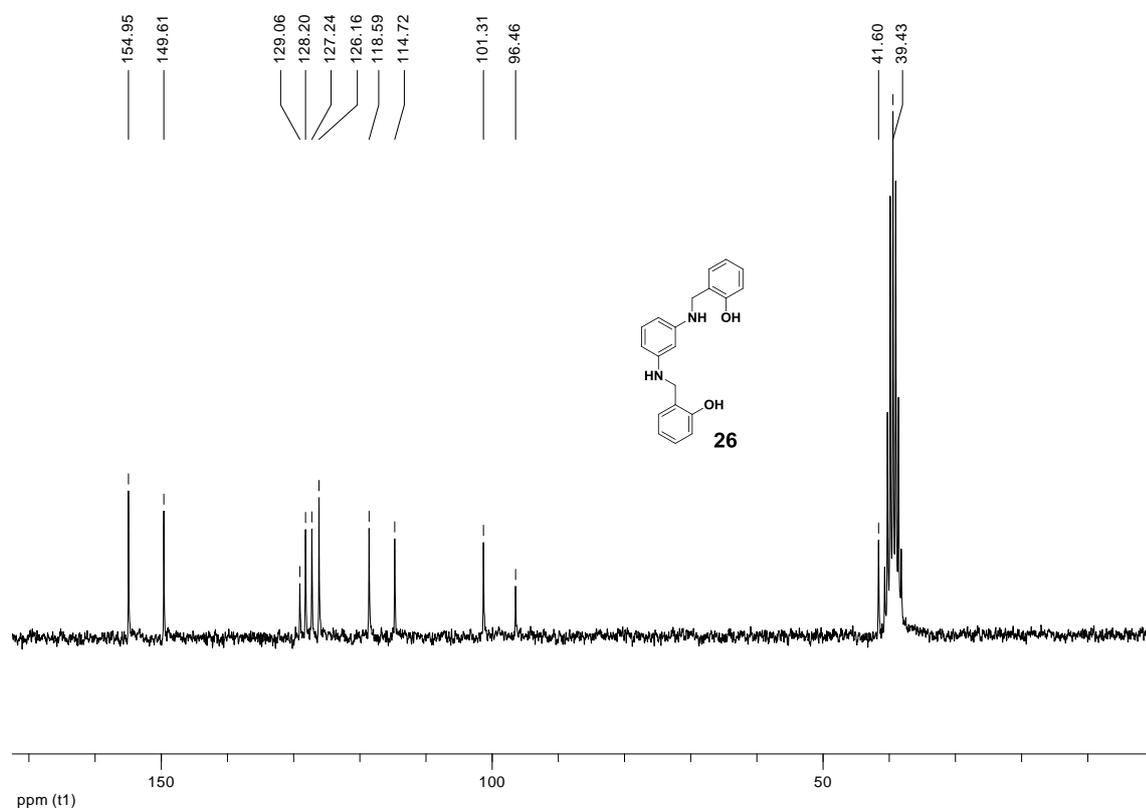


Figura 104. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **26**.

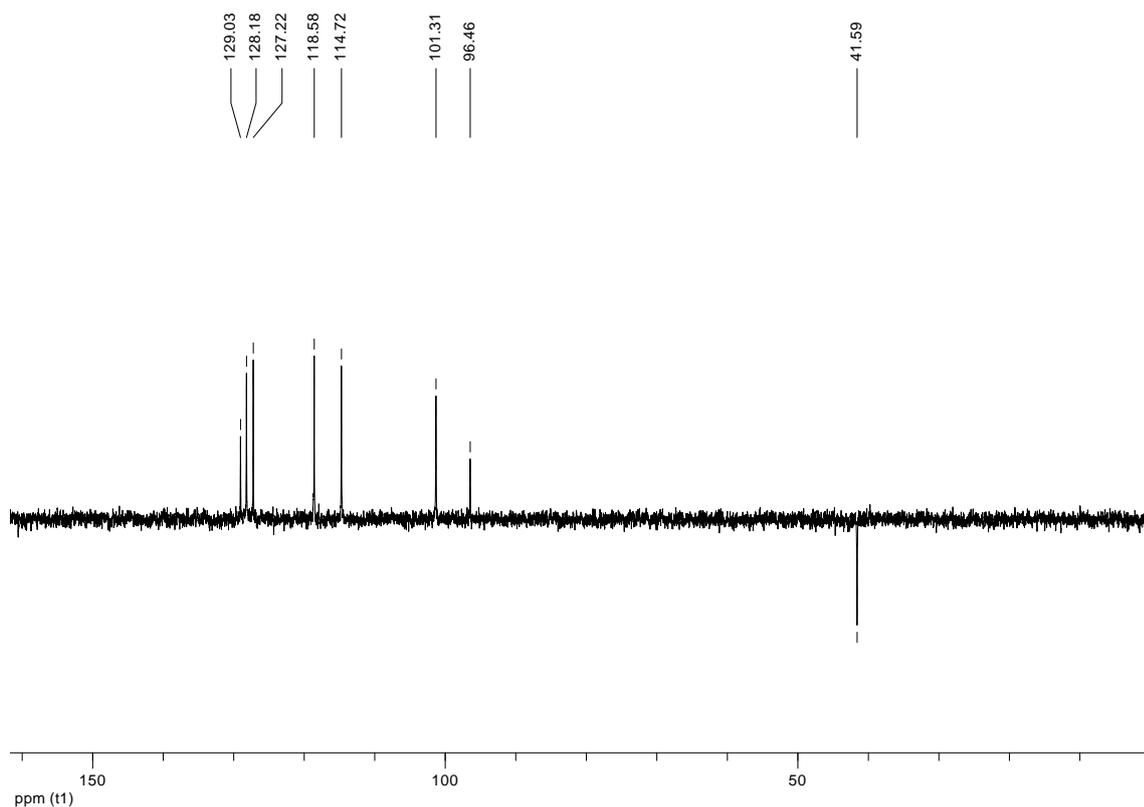


Figura 105. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **26**.

6.28 – Composto 27.

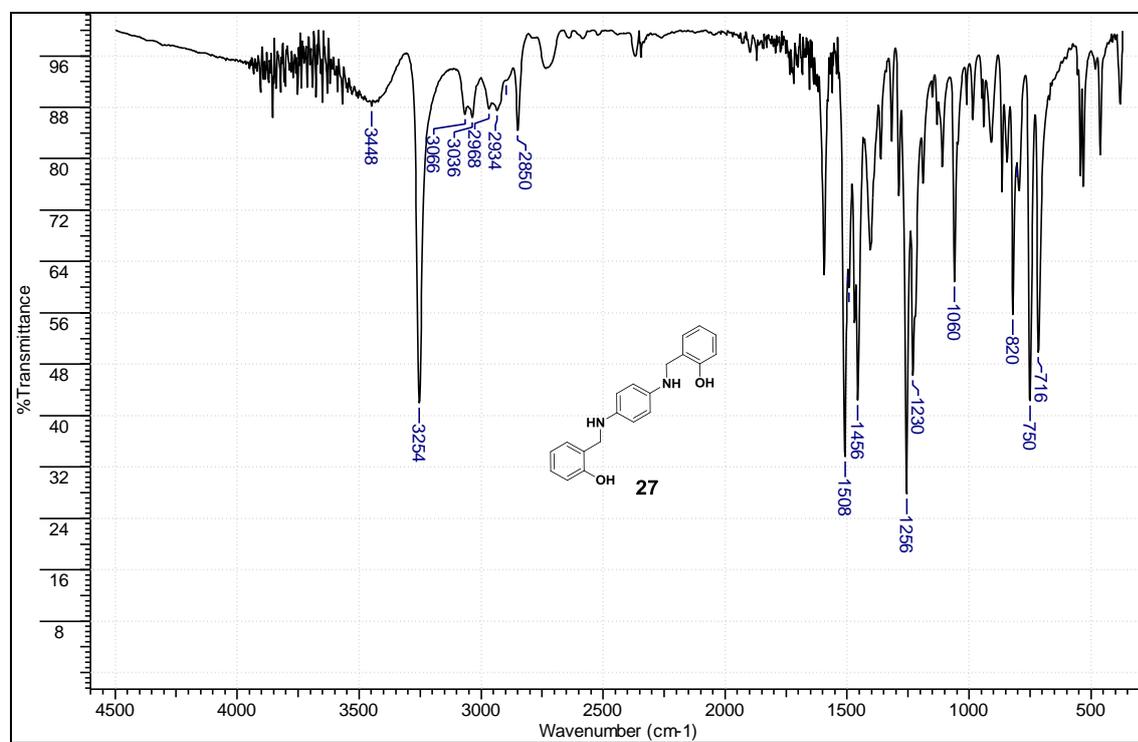


Figura 106. Espectro no infravermelho do composto **27** pastilhado em KBr.

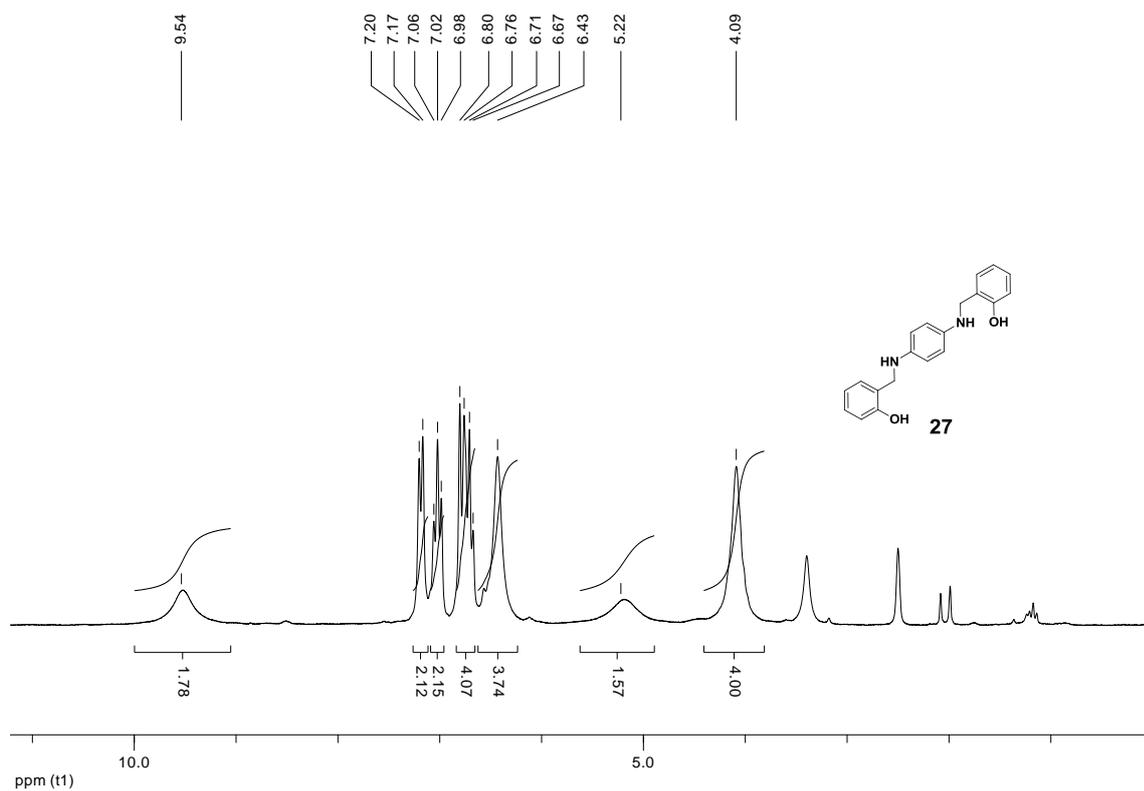


Figura 107. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **27**.

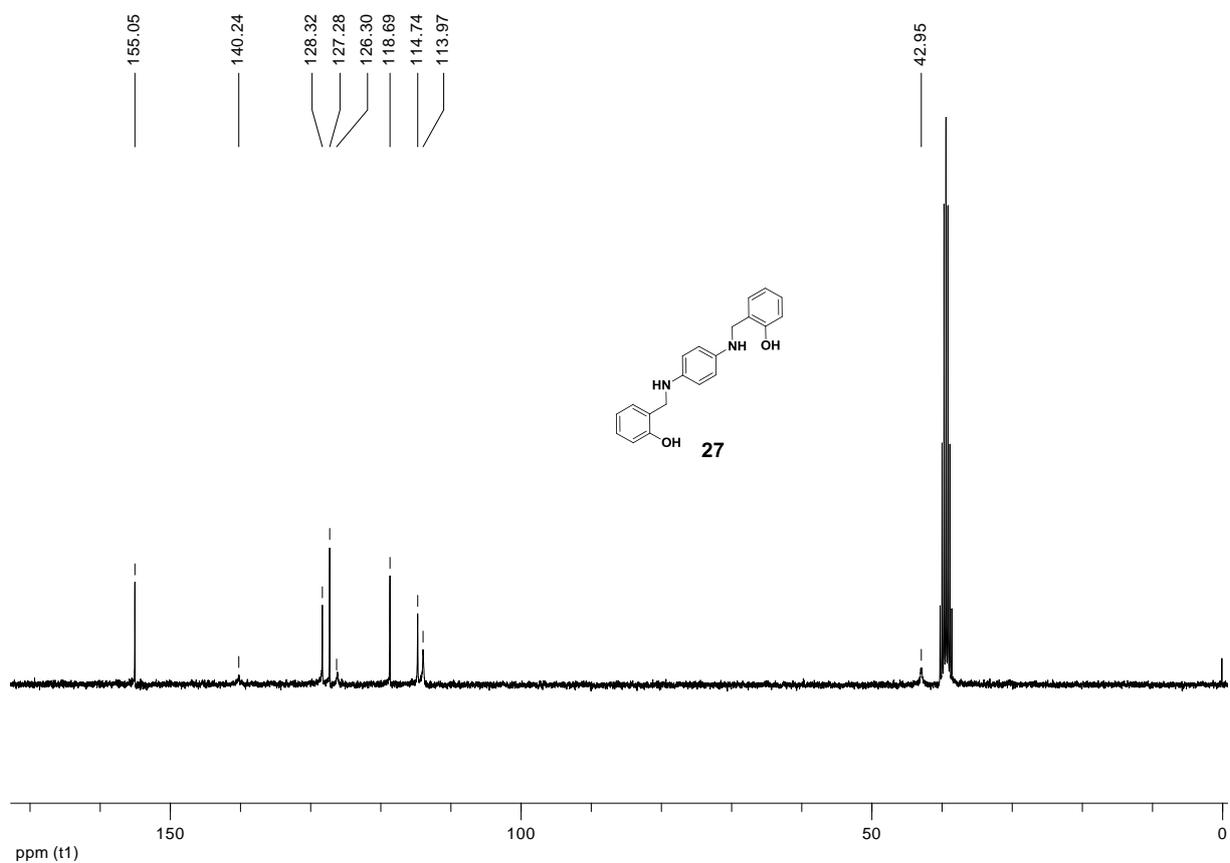


Figura 108. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **27**.

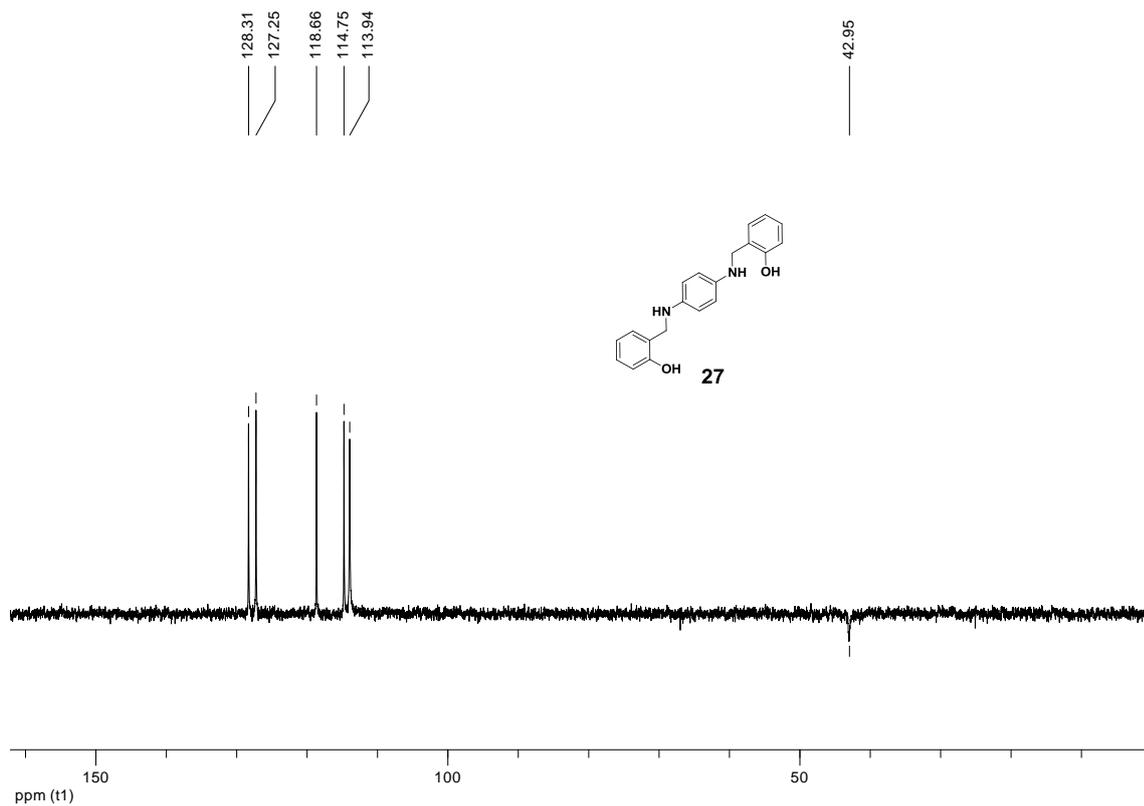


Figura 109. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **27**.

6.29 – Composto 28.

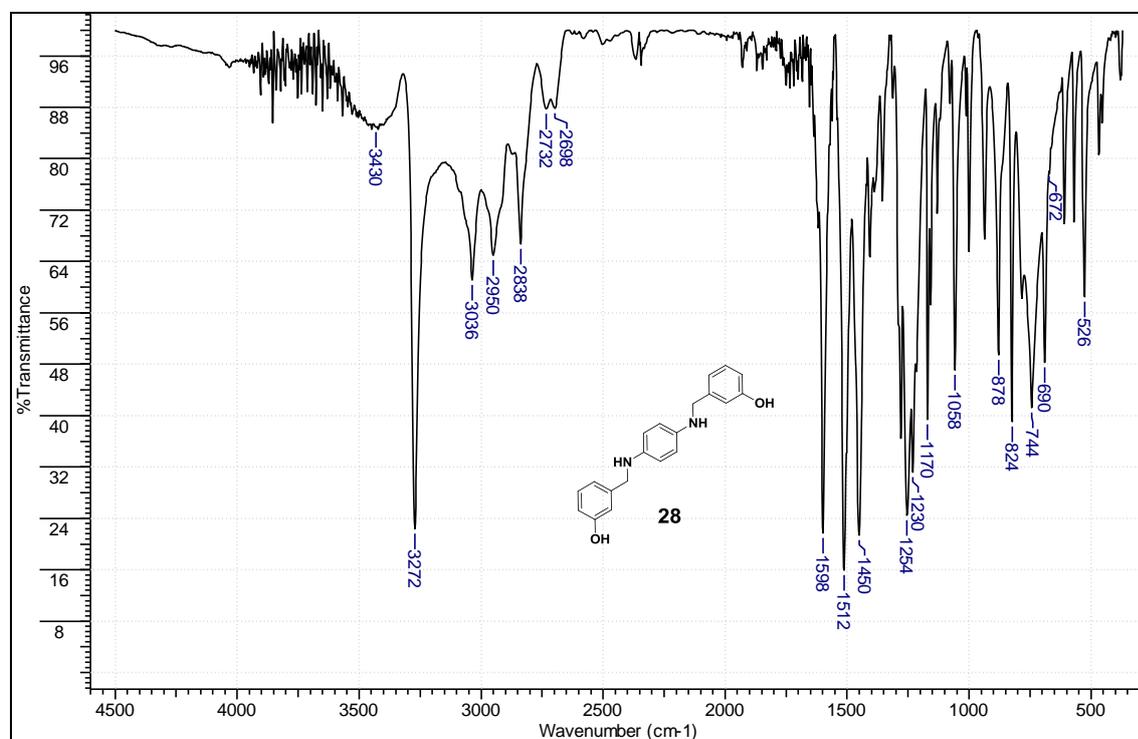


Figura 110. Espectro no infravermelho do composto **28** pastilhado em KBr.

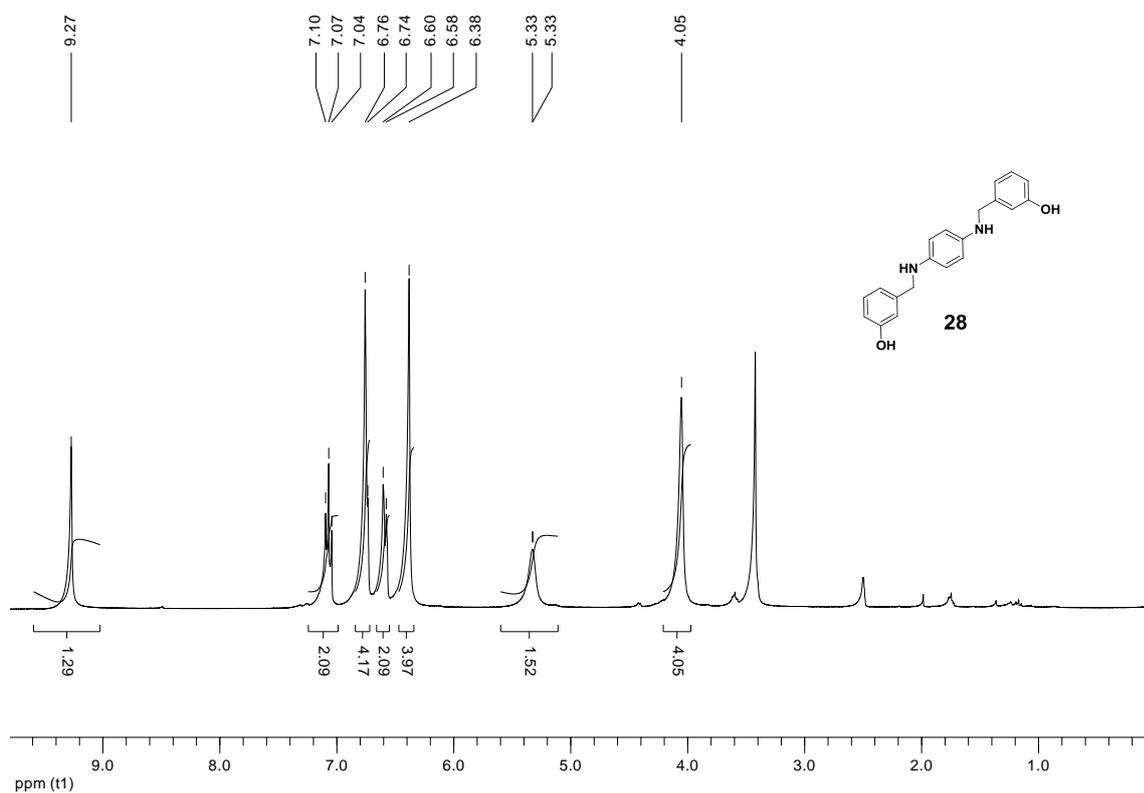


Figura 111. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **28**.

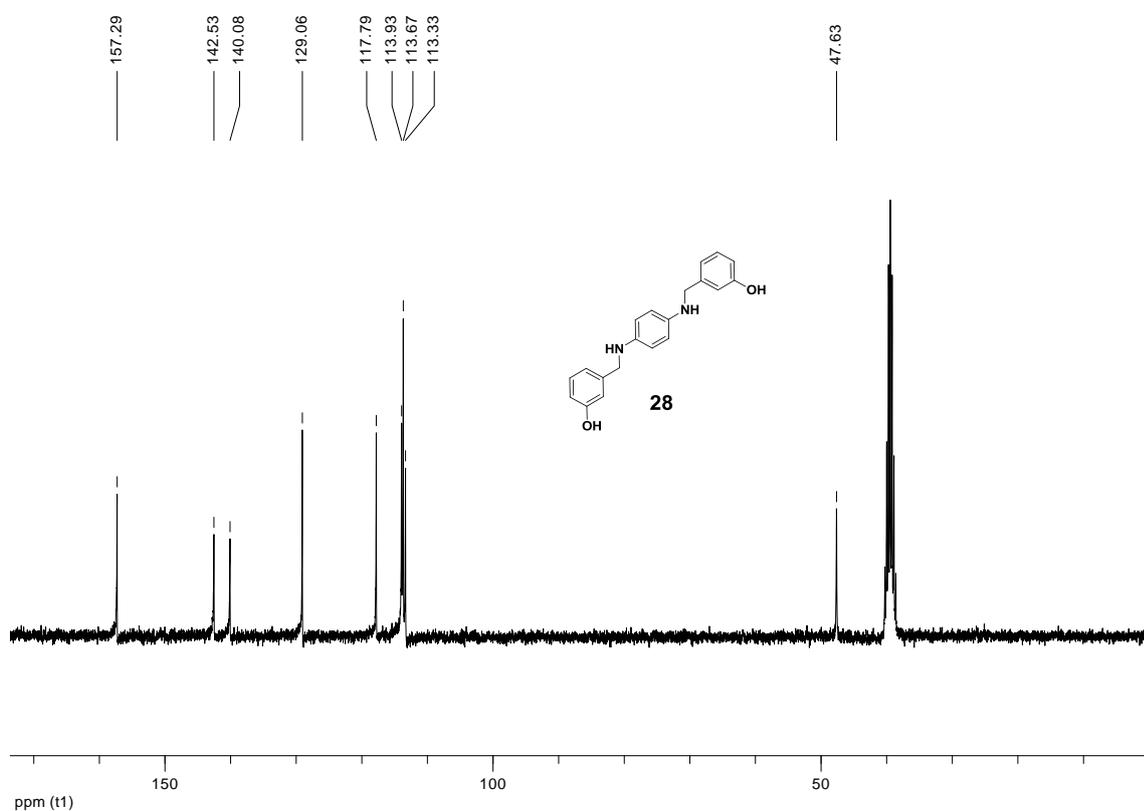


Figura 112. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **28**.

6.31 – Composto 29.

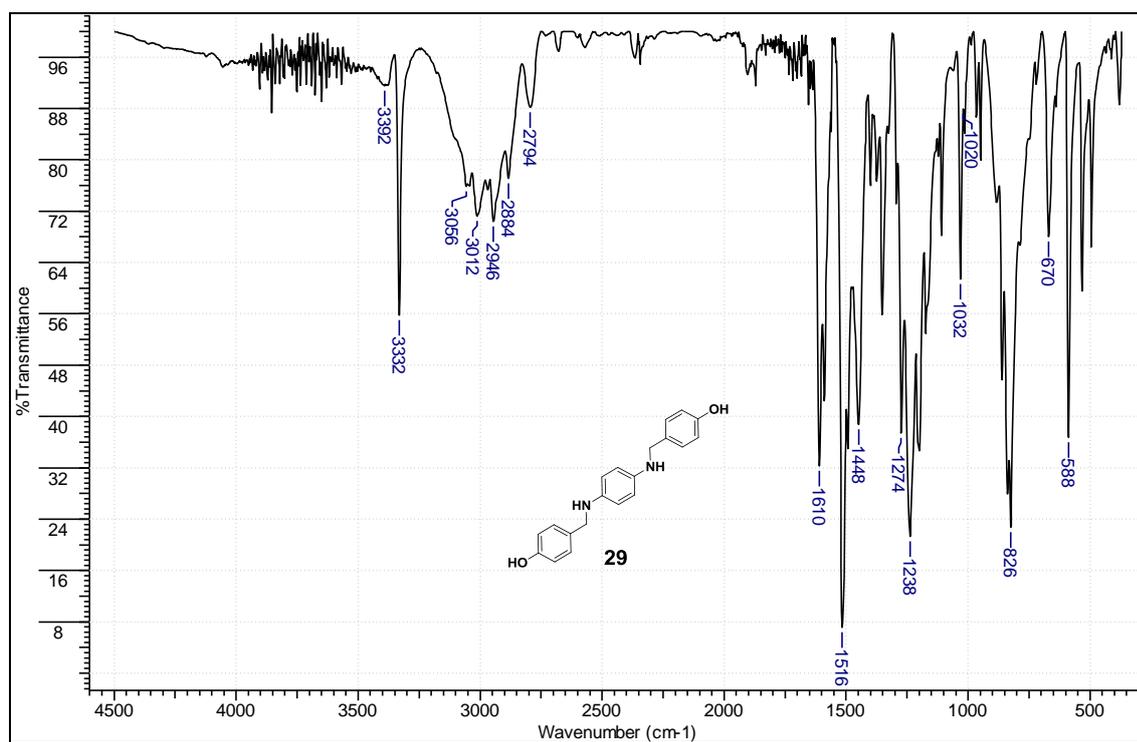


Figura 113. Espectro no infravermelho do composto 29 pastilhado em KBr.

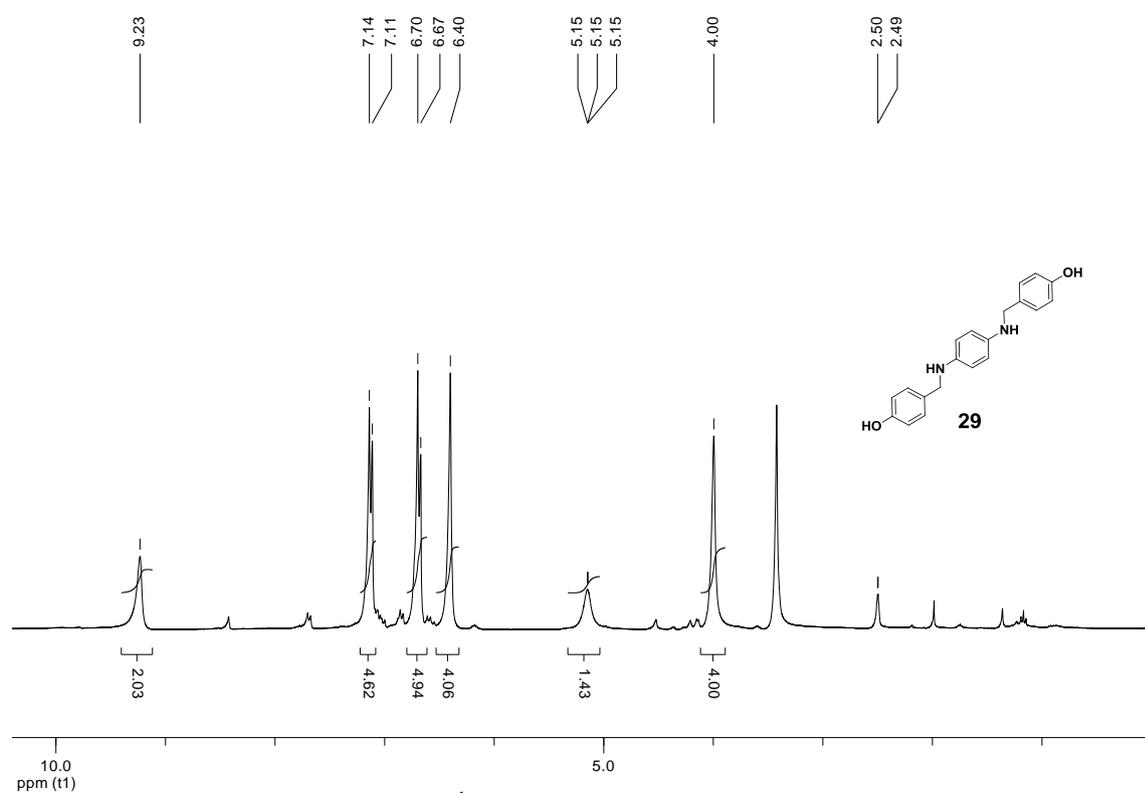


Figura 114. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 29.

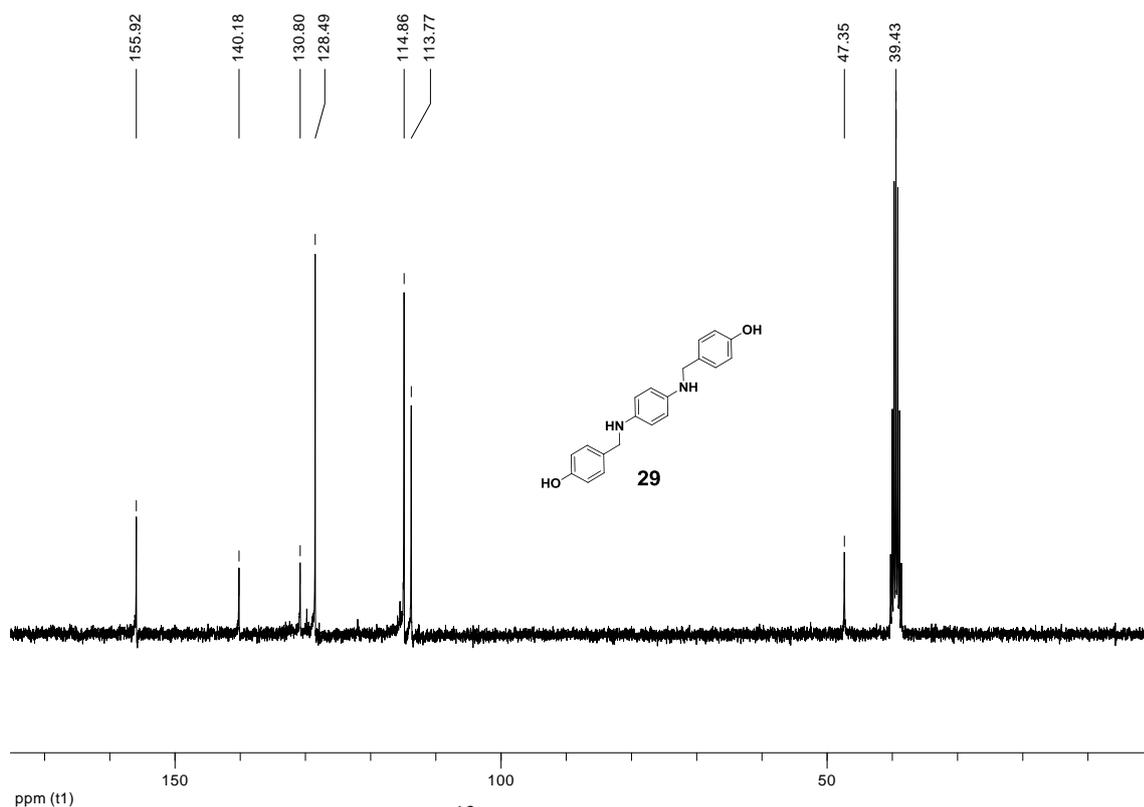


Figura 115. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **29**.

6.32 – Composto 30.

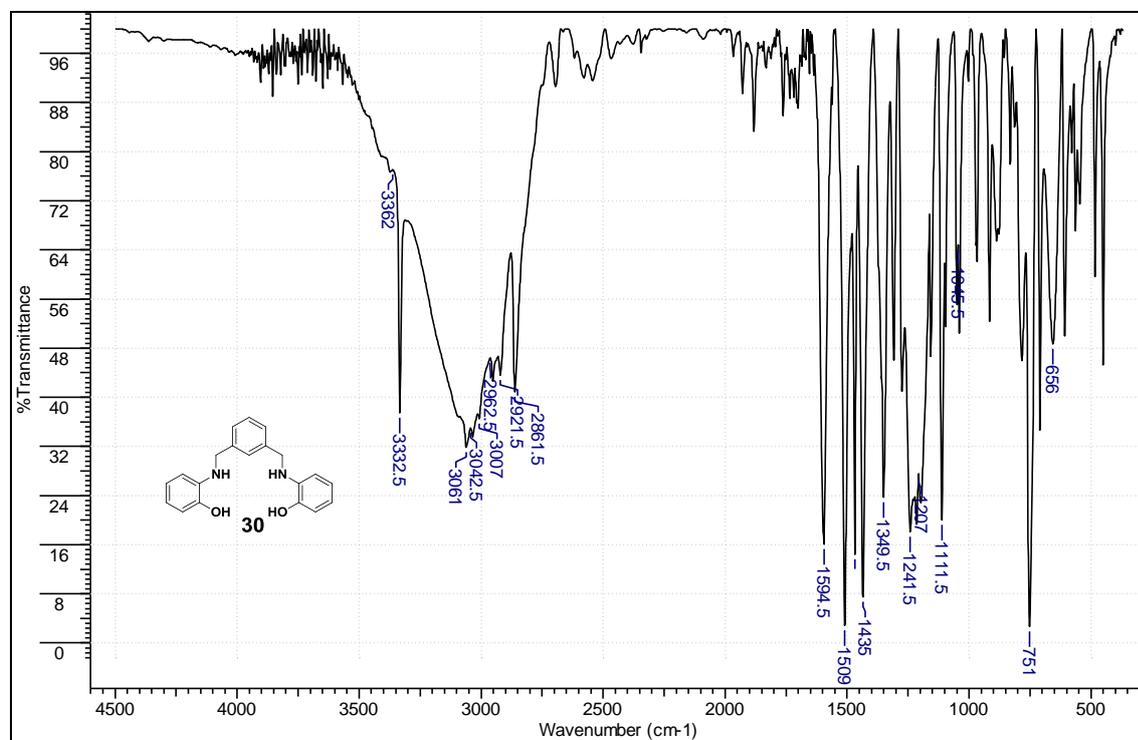


Figura 116. Espectro no infravermelho do composto **30** pastilhado em KBr.

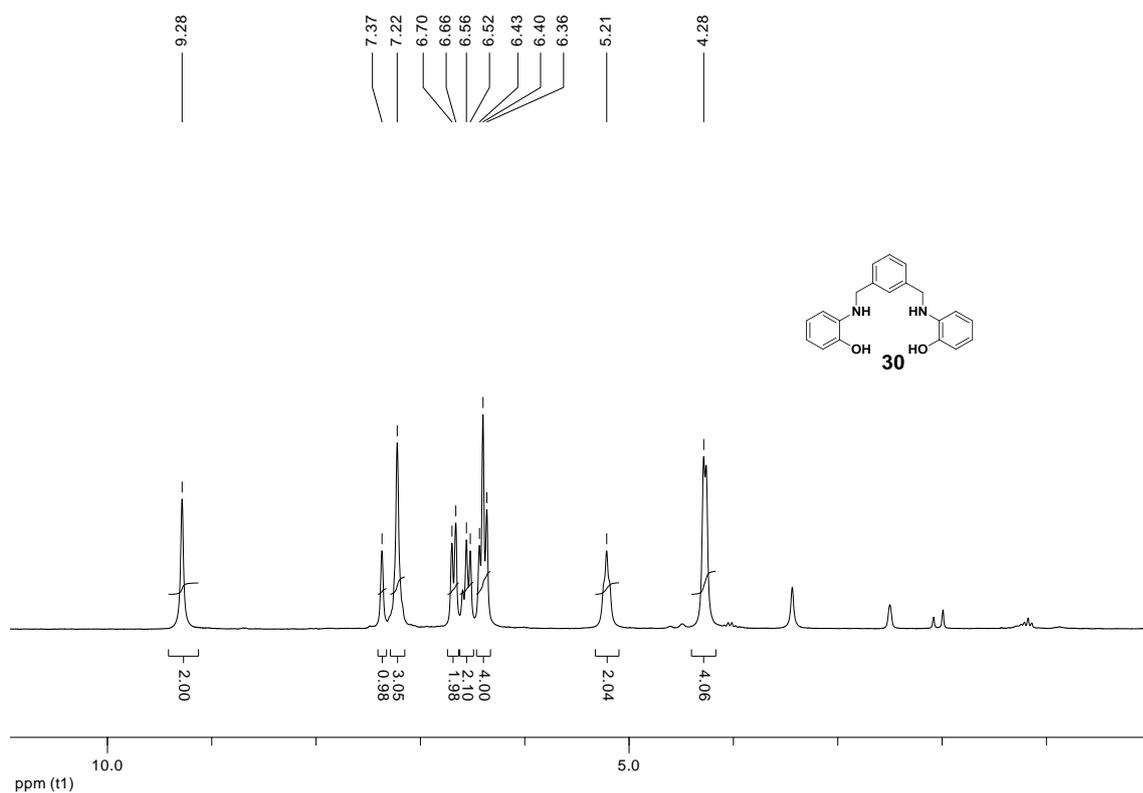


Figura 117. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **30**.

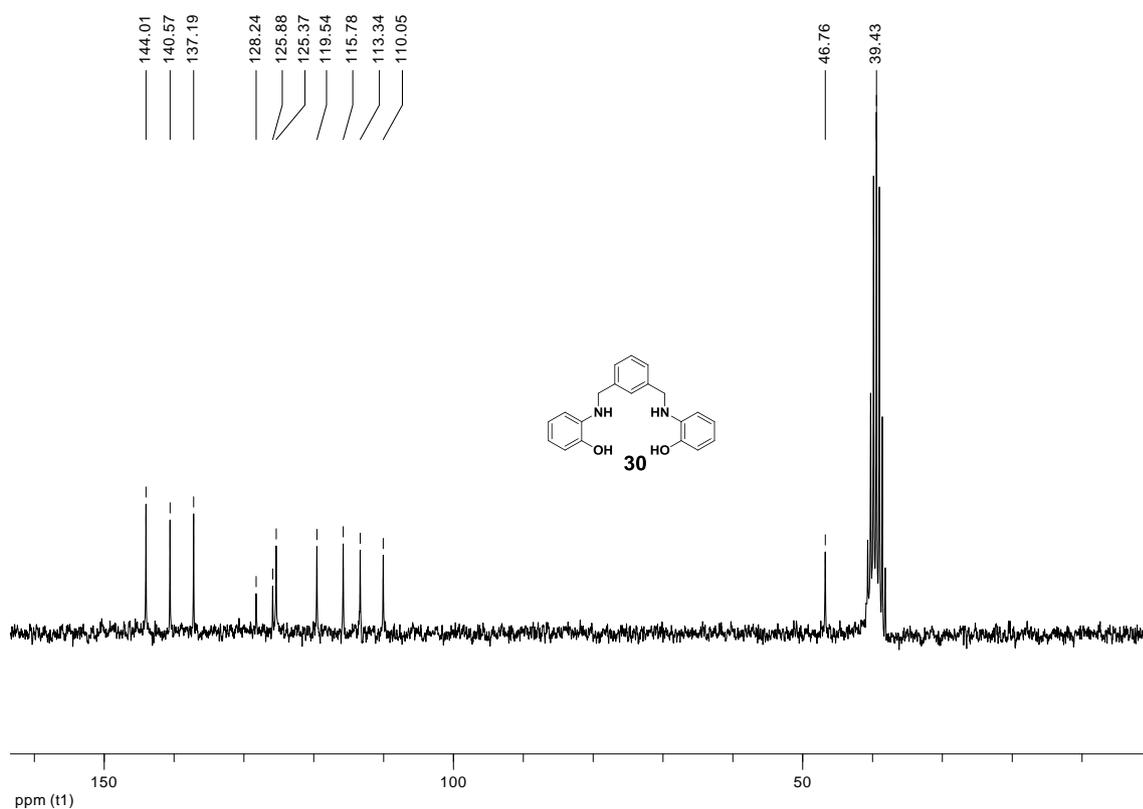


Figura 118. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **30**.

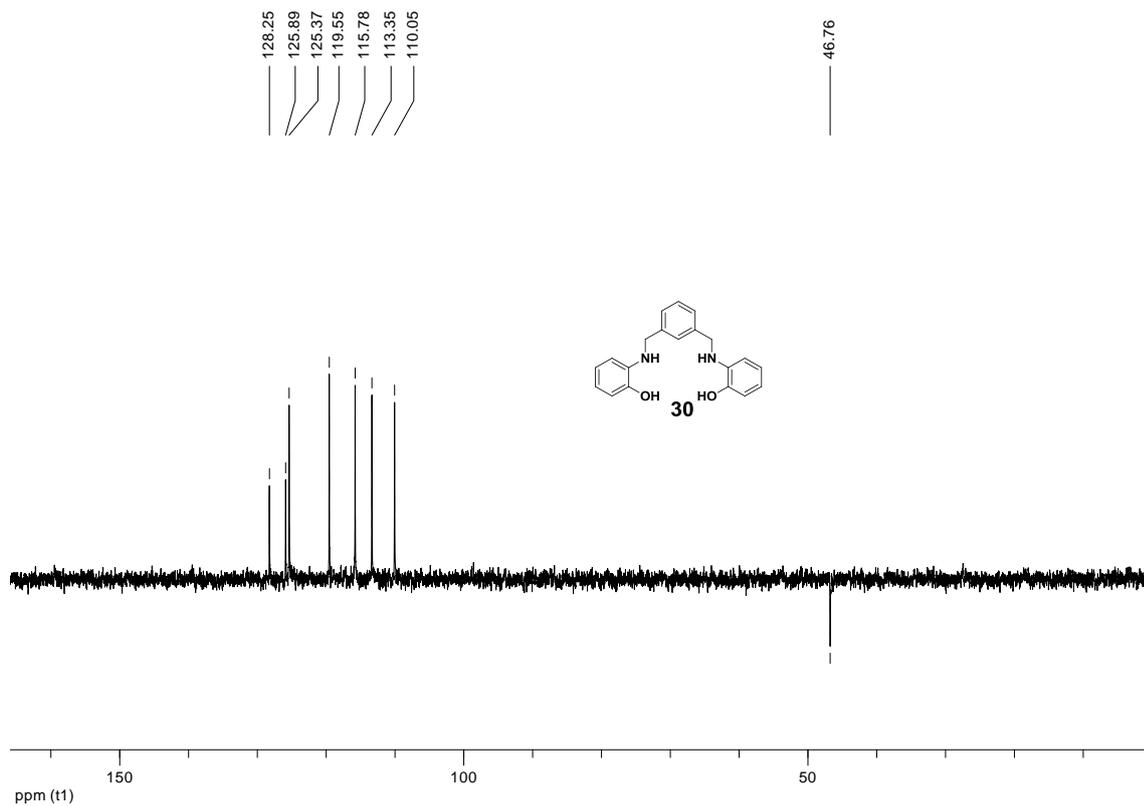


Figura 119. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **30**.

6.33 – Composto 31.

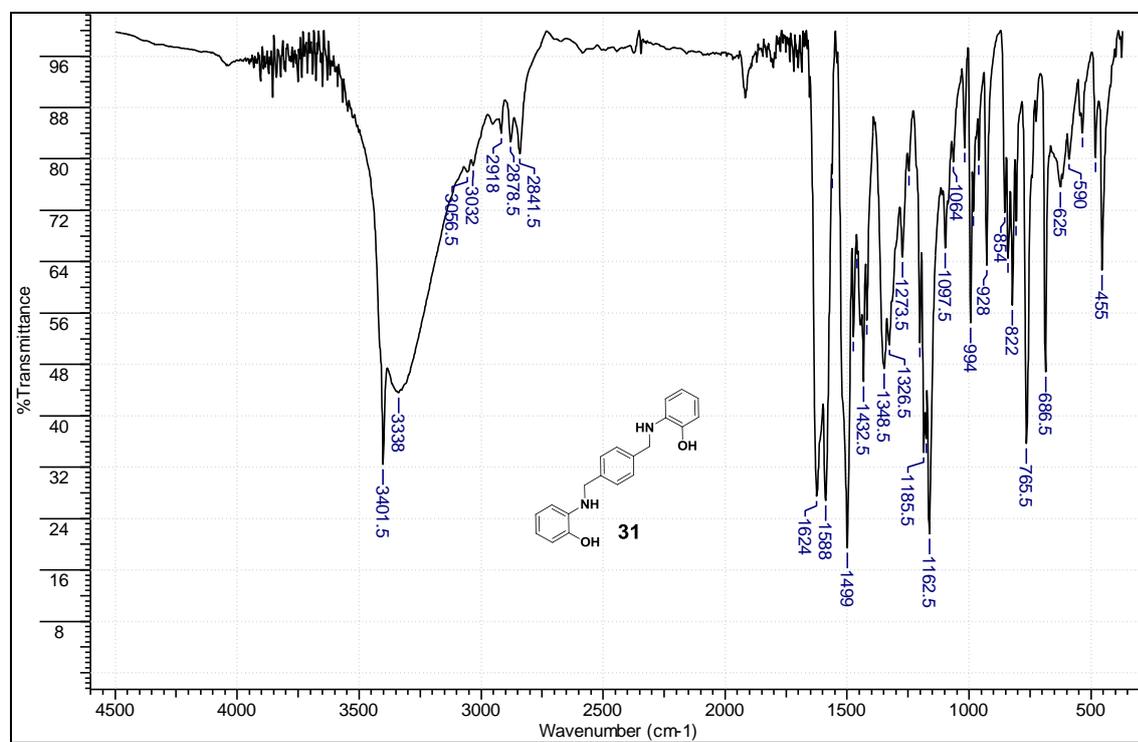


Figura 120. Espectro no infravermelho do composto **31** pastilhado em KBr.

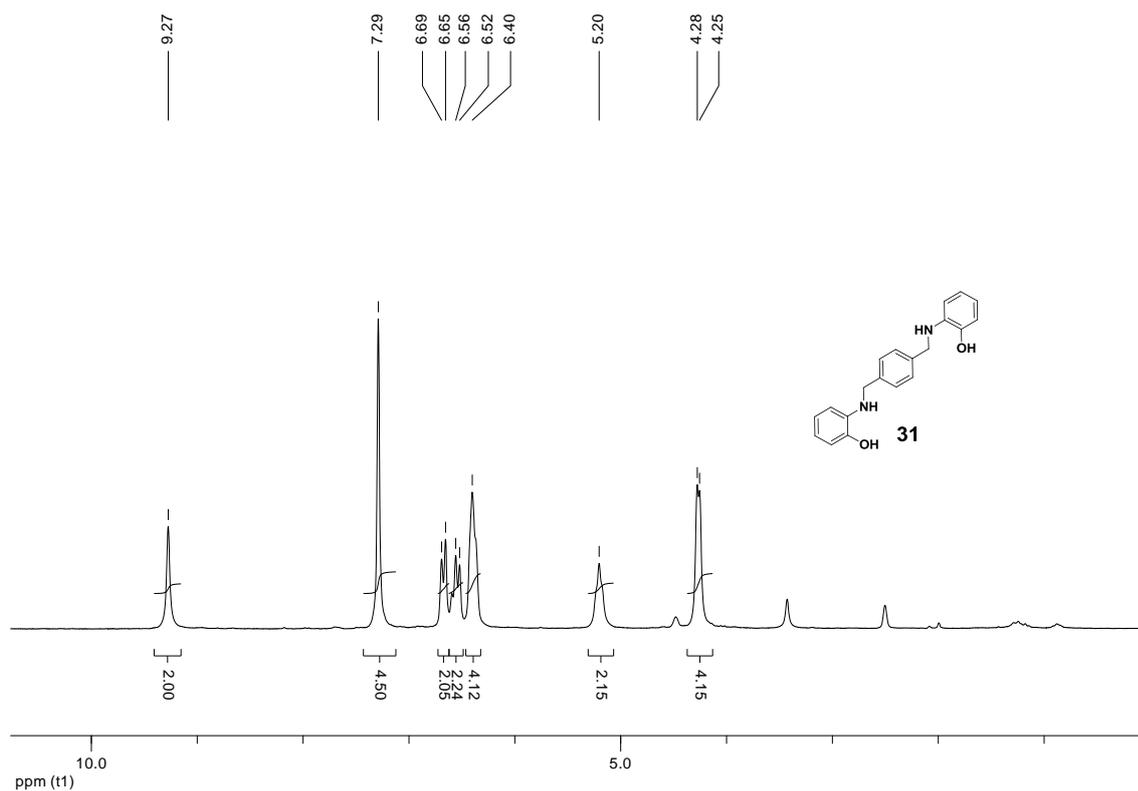


Figura 121. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **31**.

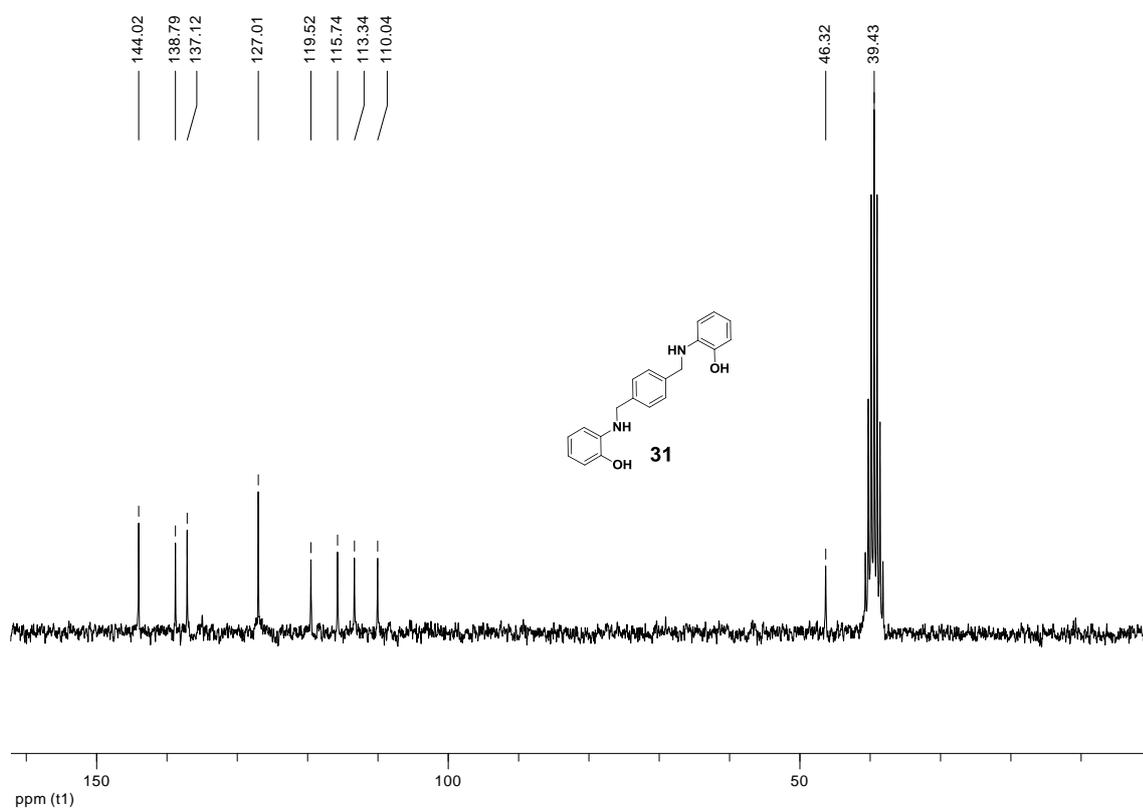


Figura 122. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **31**.

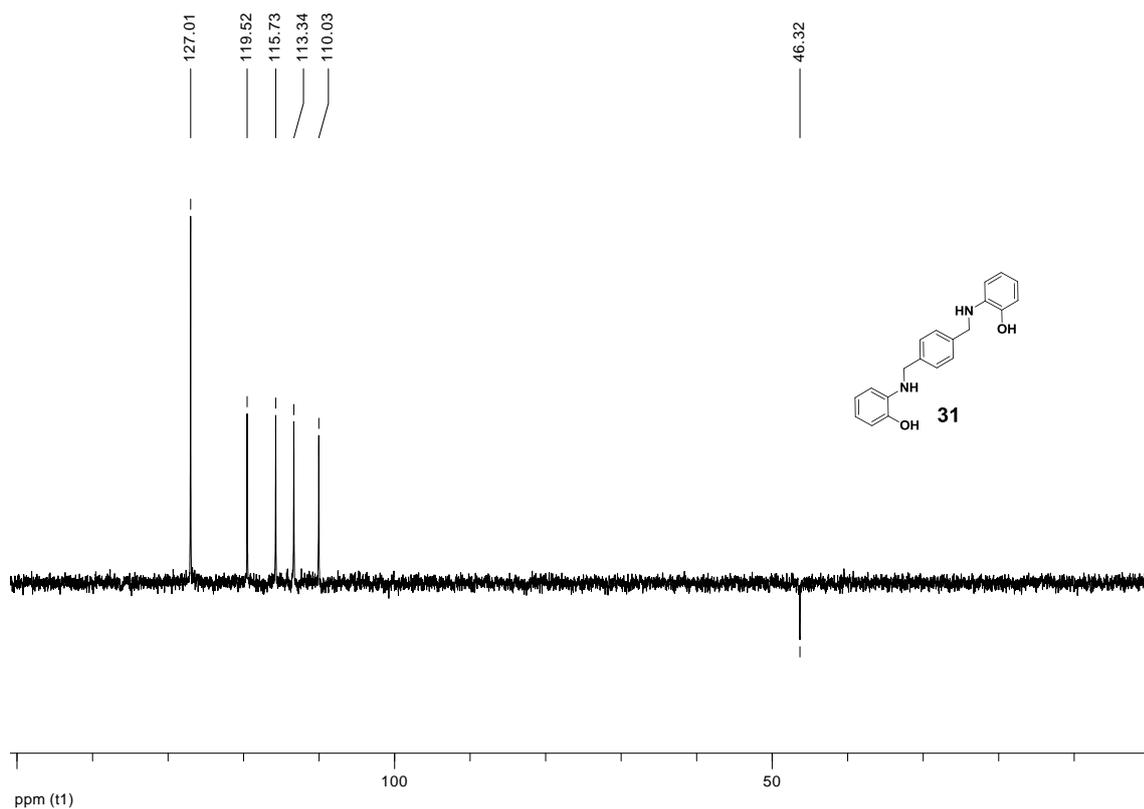


Figura 123. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **31**.

6.34 – Composto 32.

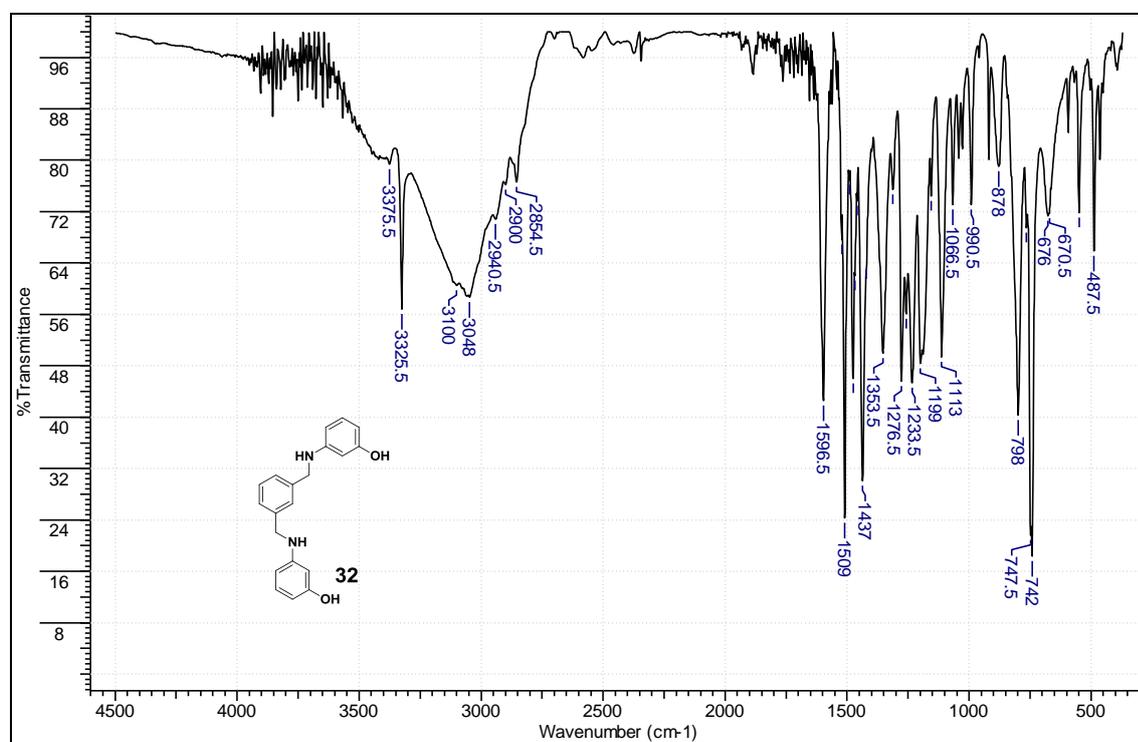


Figura 124. Espectro no infravermelho do composto **32** pastilhado em KBr.

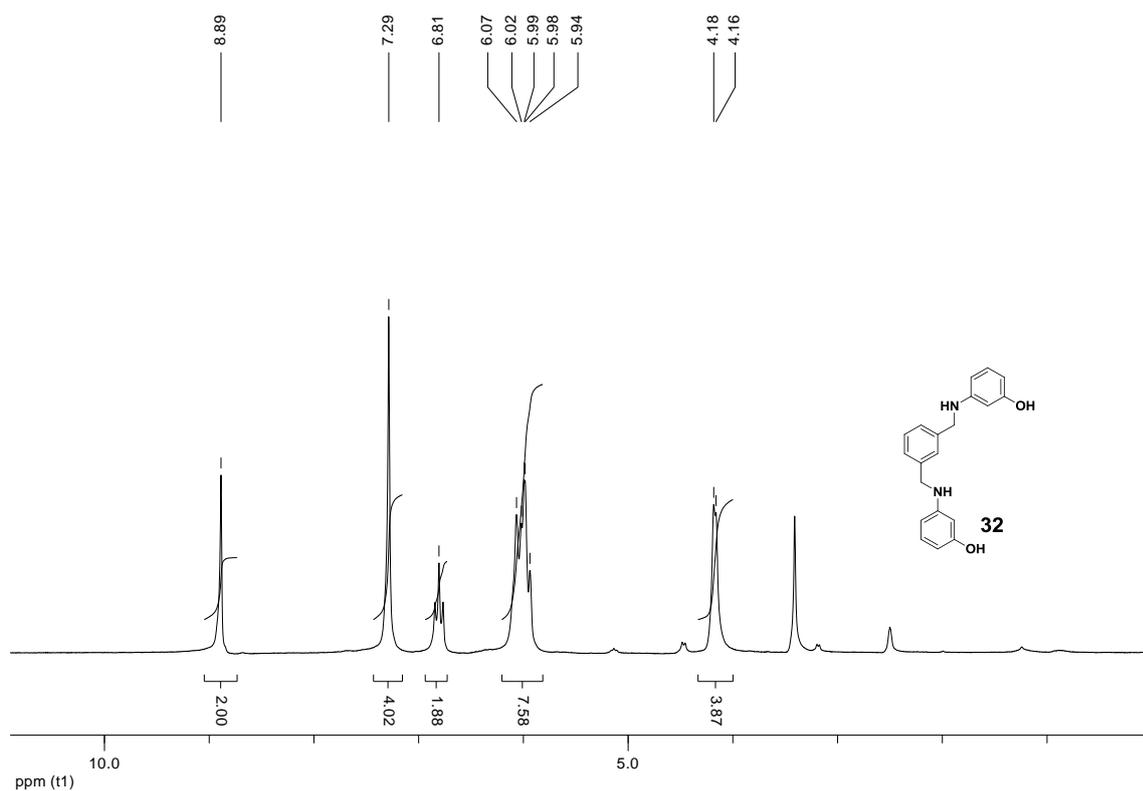


Figura 125. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **32**.

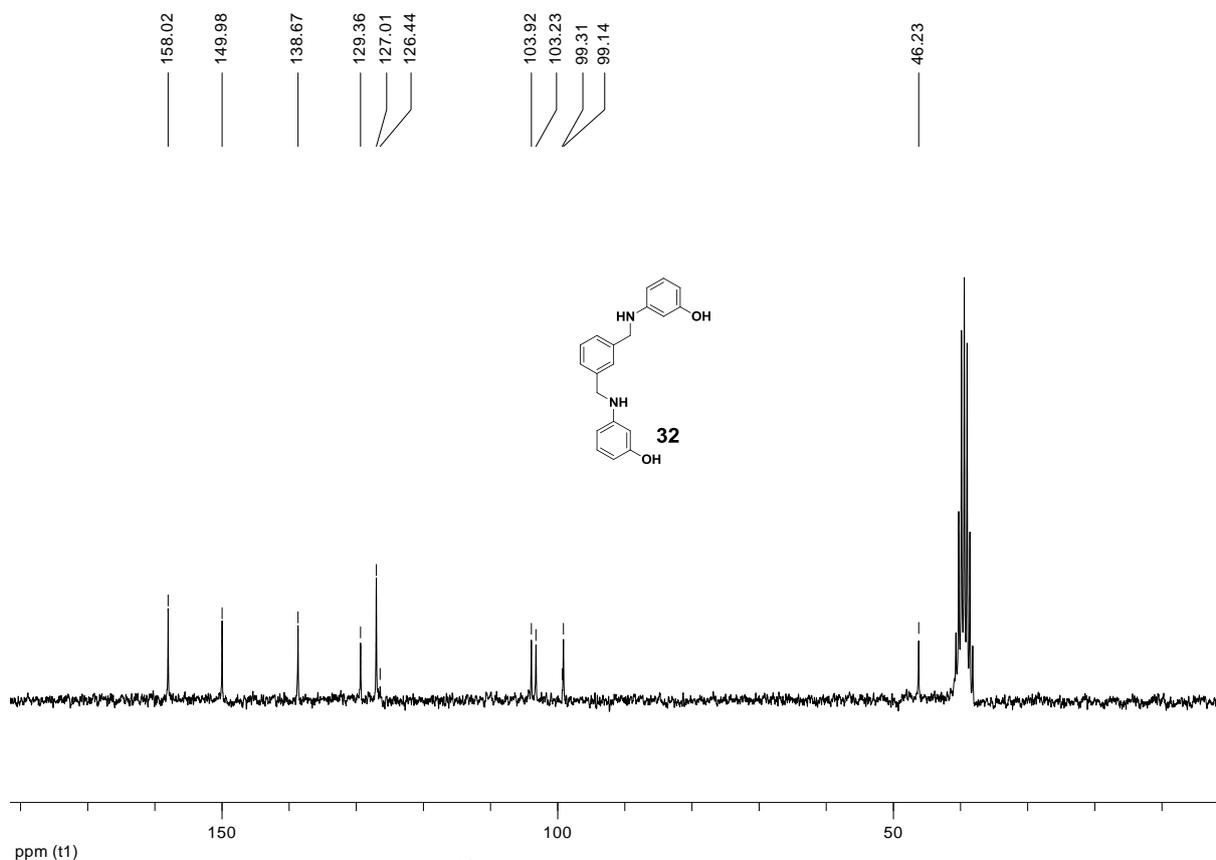


Figura 126. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **32**.

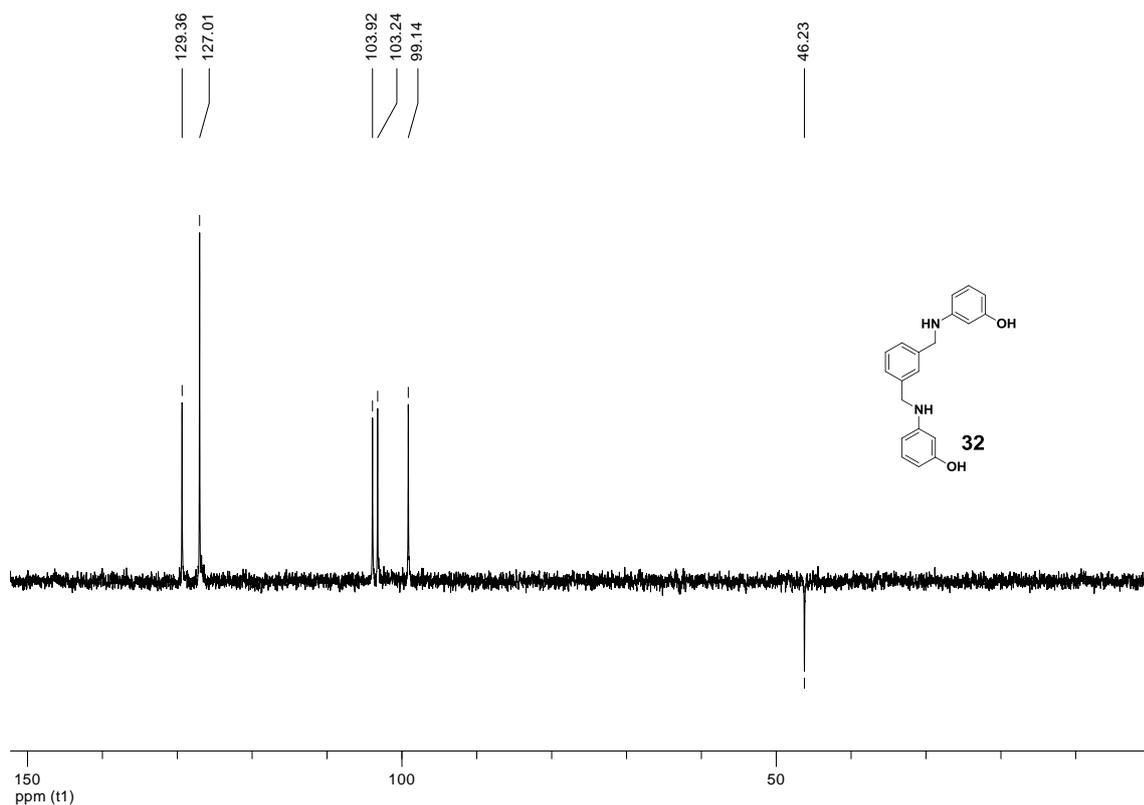


Figura 127. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **32**.

6.35 – Composto 33.

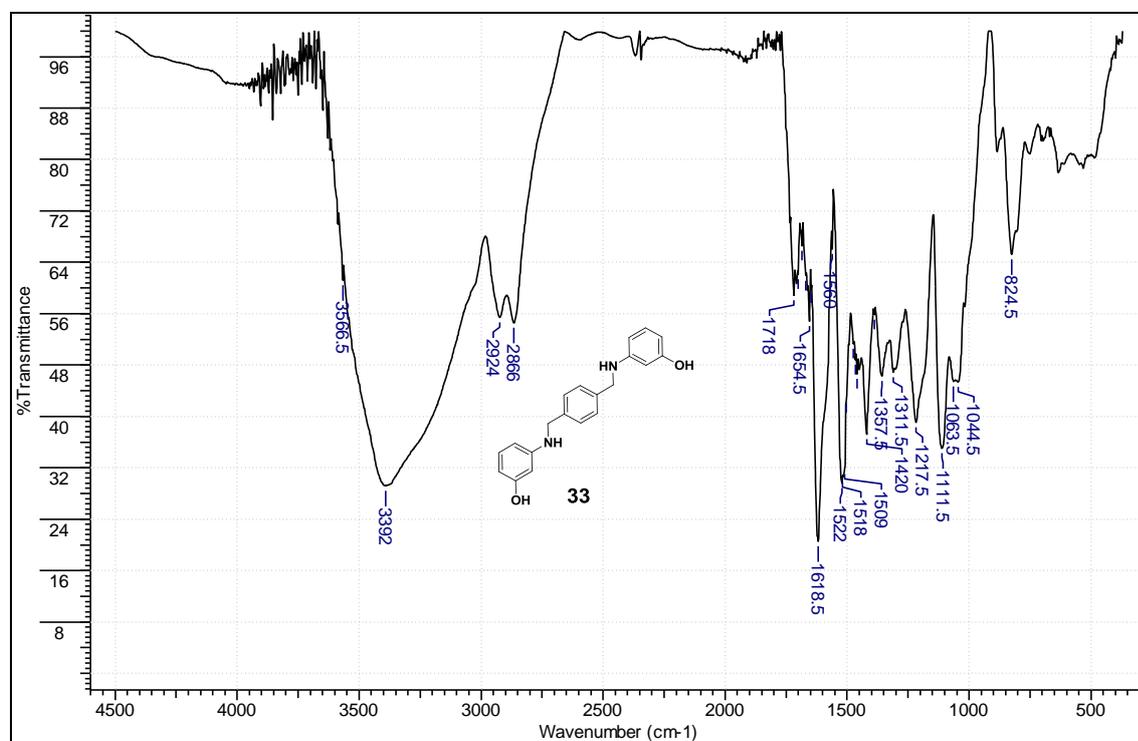


Figura 128. Espectro no infravermelho do composto **33** pastilhado em KBr.

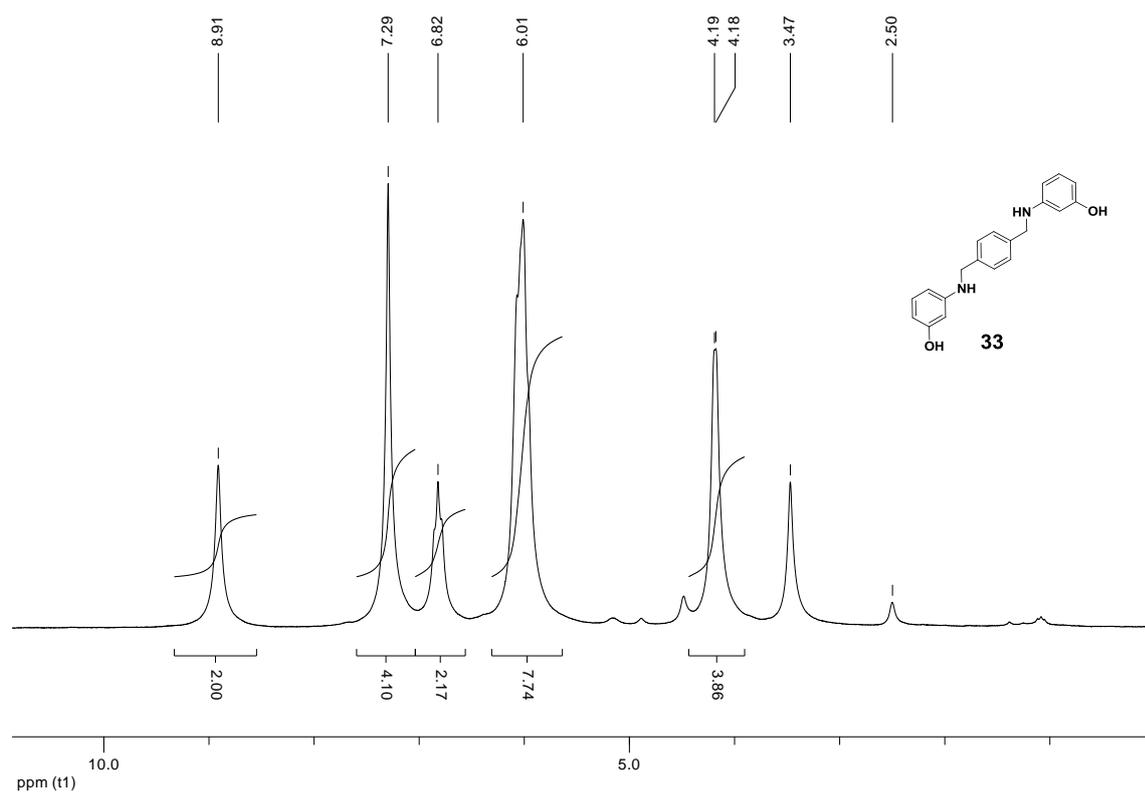


Figura 129. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **33**.

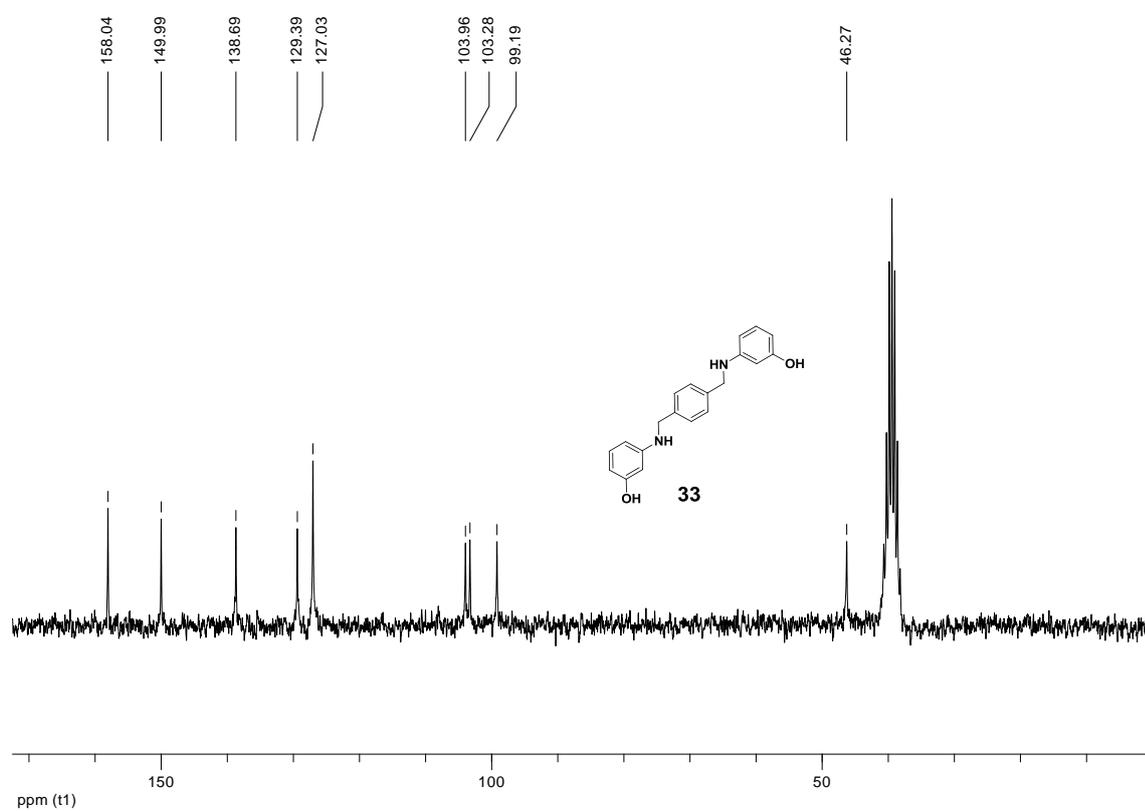


Figura 130. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **33**.

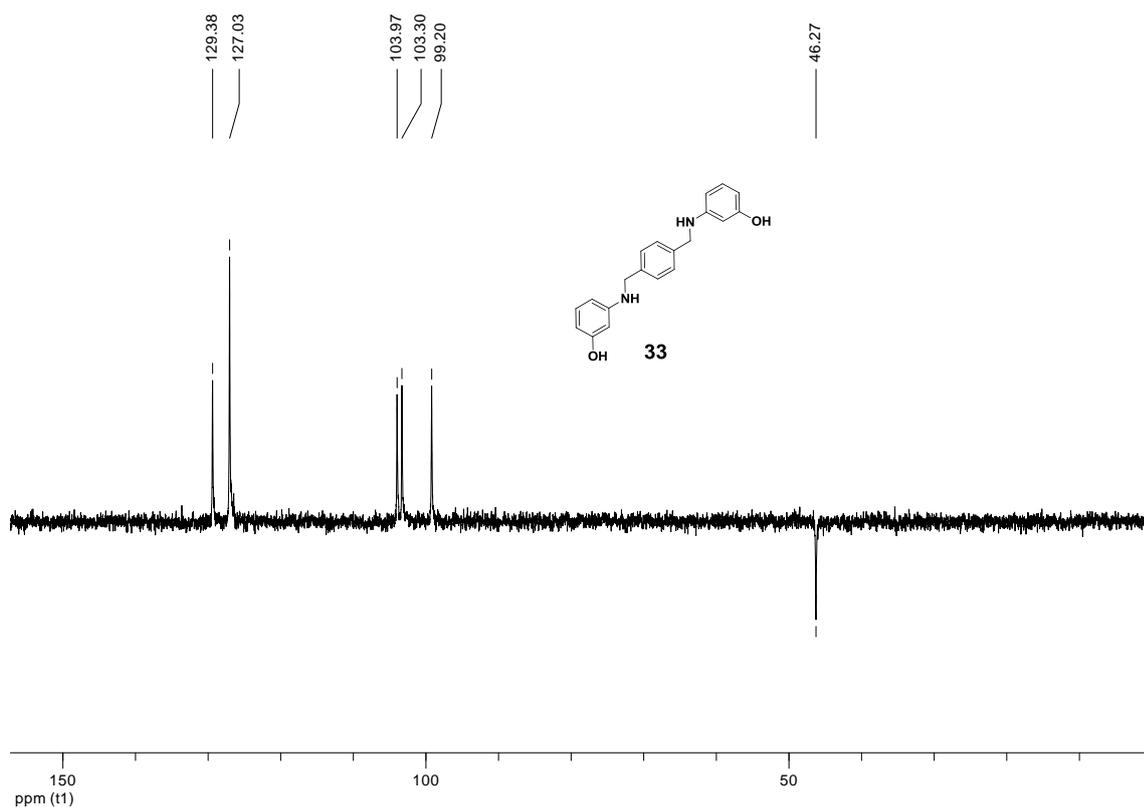


Figura 131. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto 33.

6.36 – Composto 34.

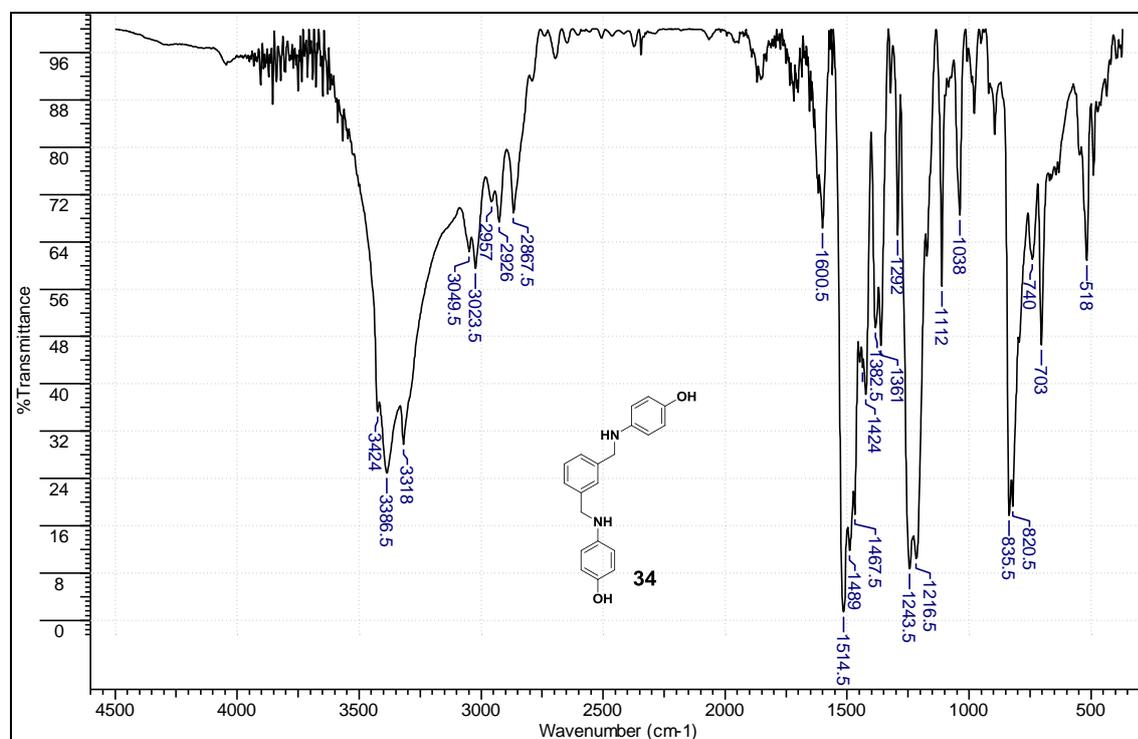


Figura 132. Espectro no infravermelho do composto 34 pastilhado em KBr.

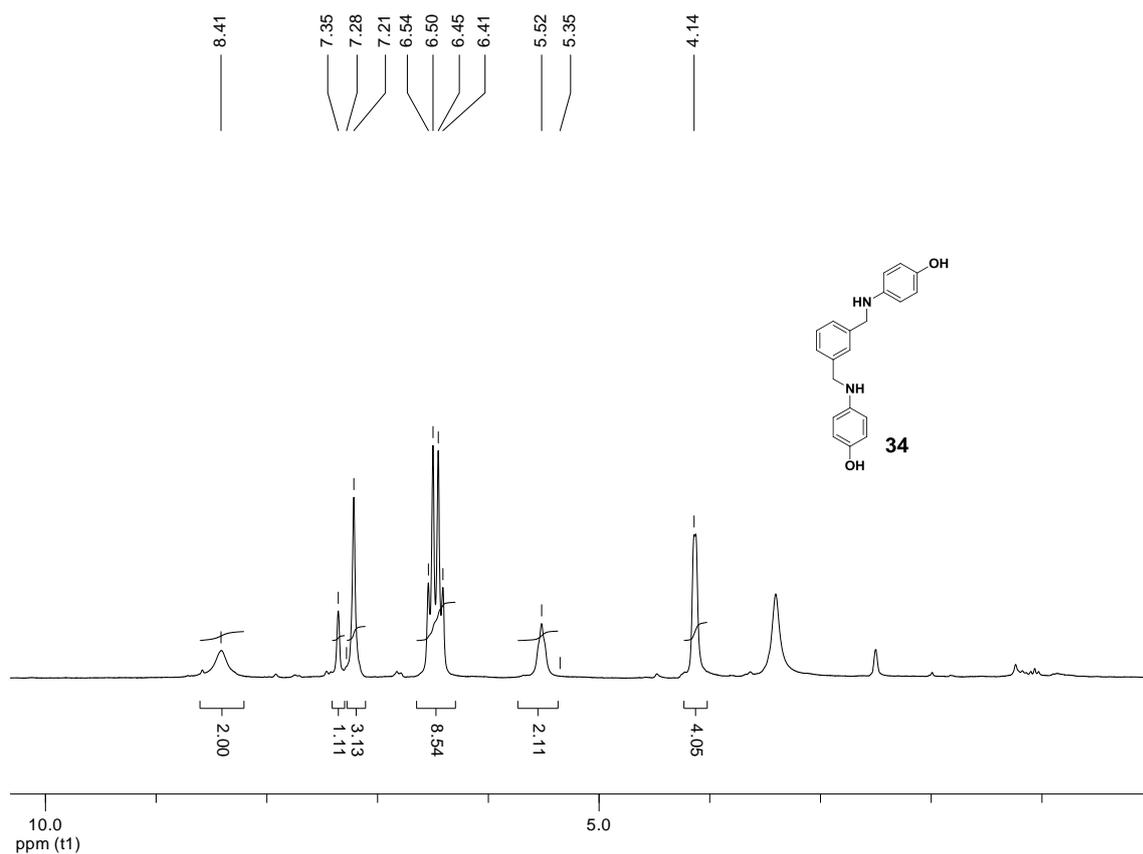


Figura 133. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **34**.

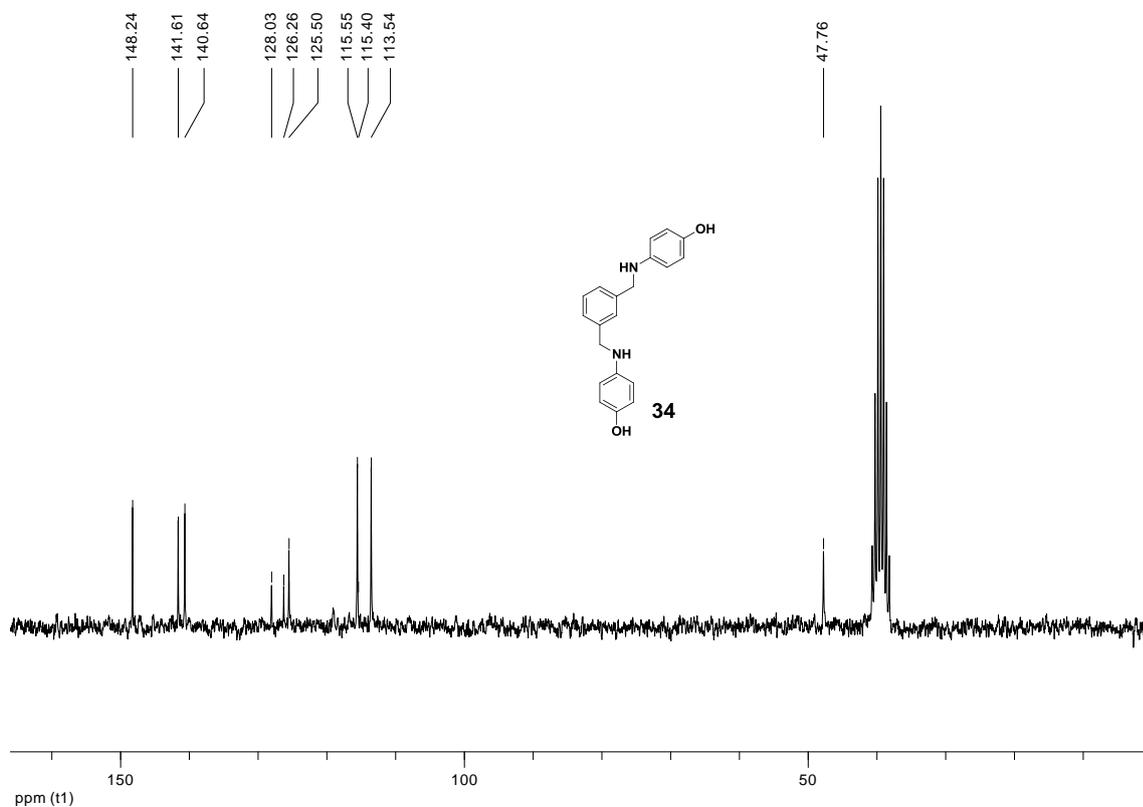


Figura 134. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **34**.

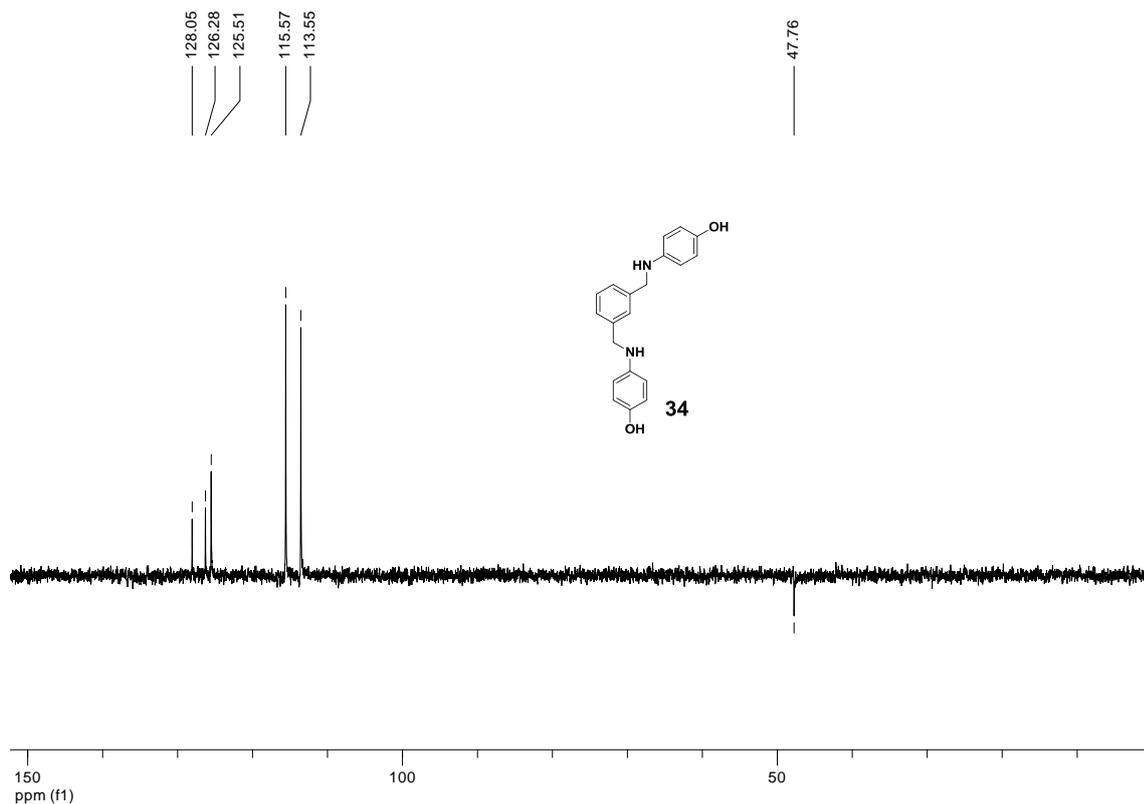


Figura 135. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **34**.

6.37 – Composto 35.

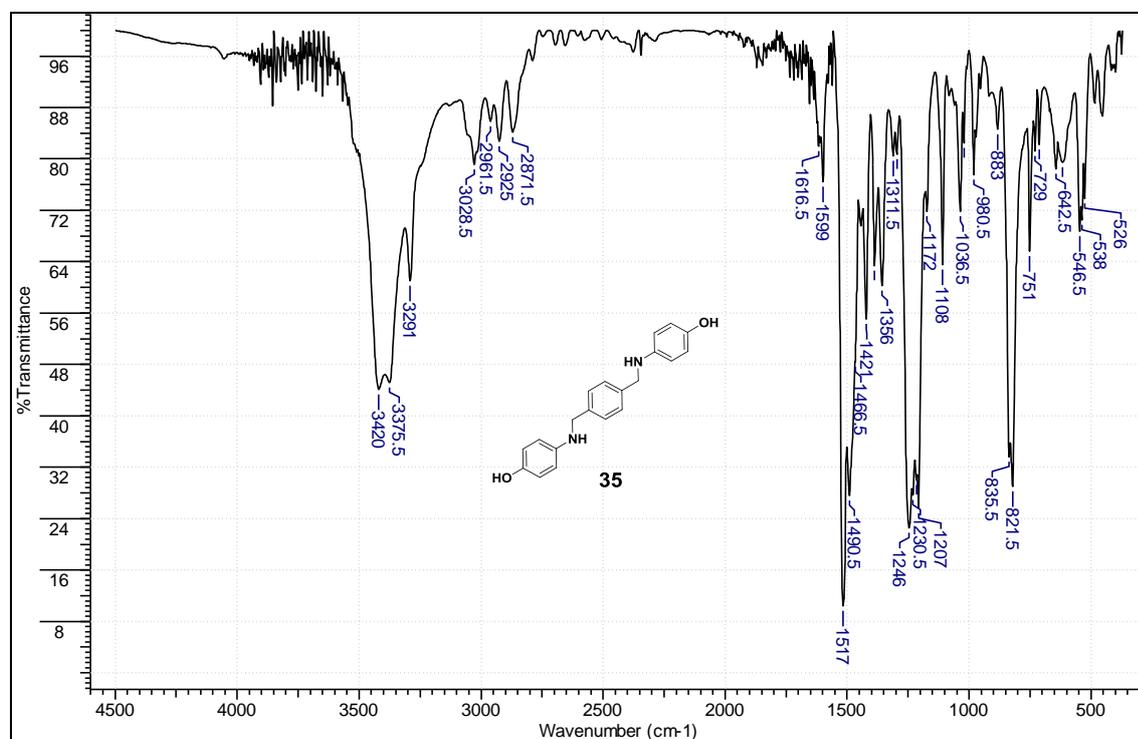


Figura 136. Espectro no infravermelho do composto **35** pastilhado em KBr.

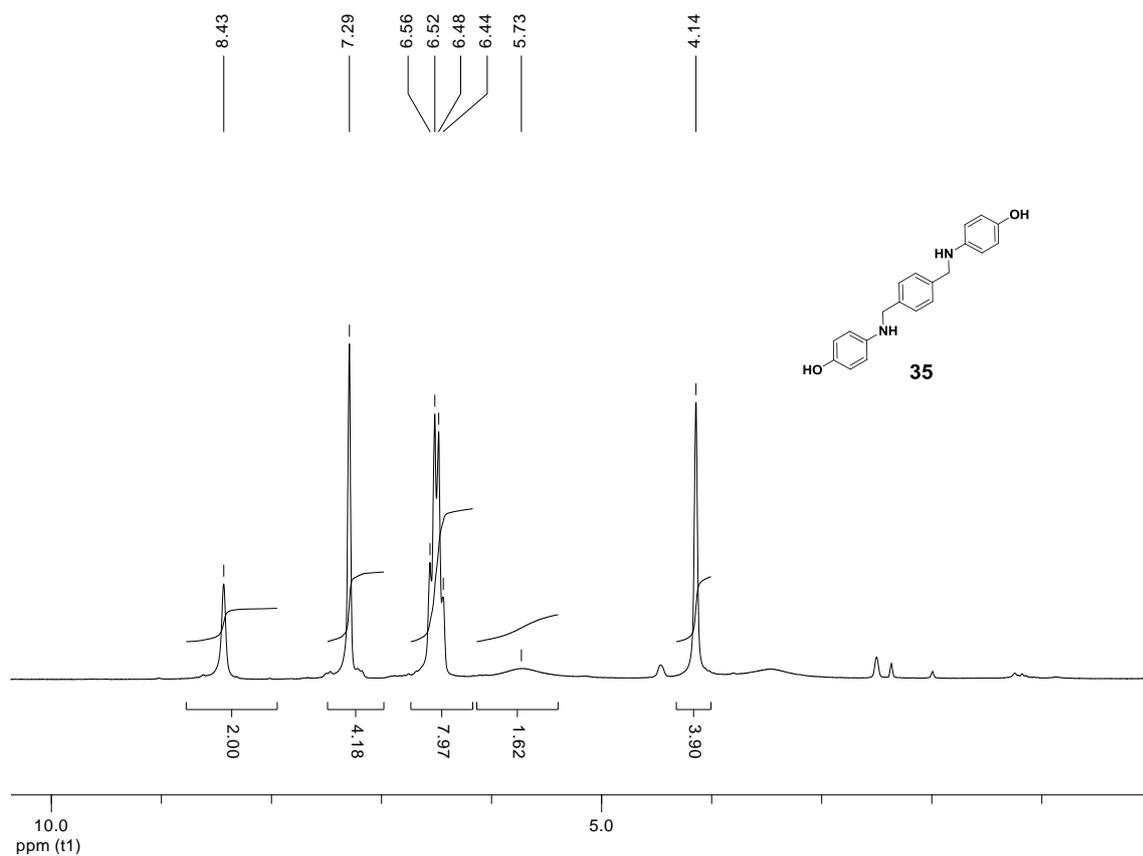


Figura 137. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **35**.

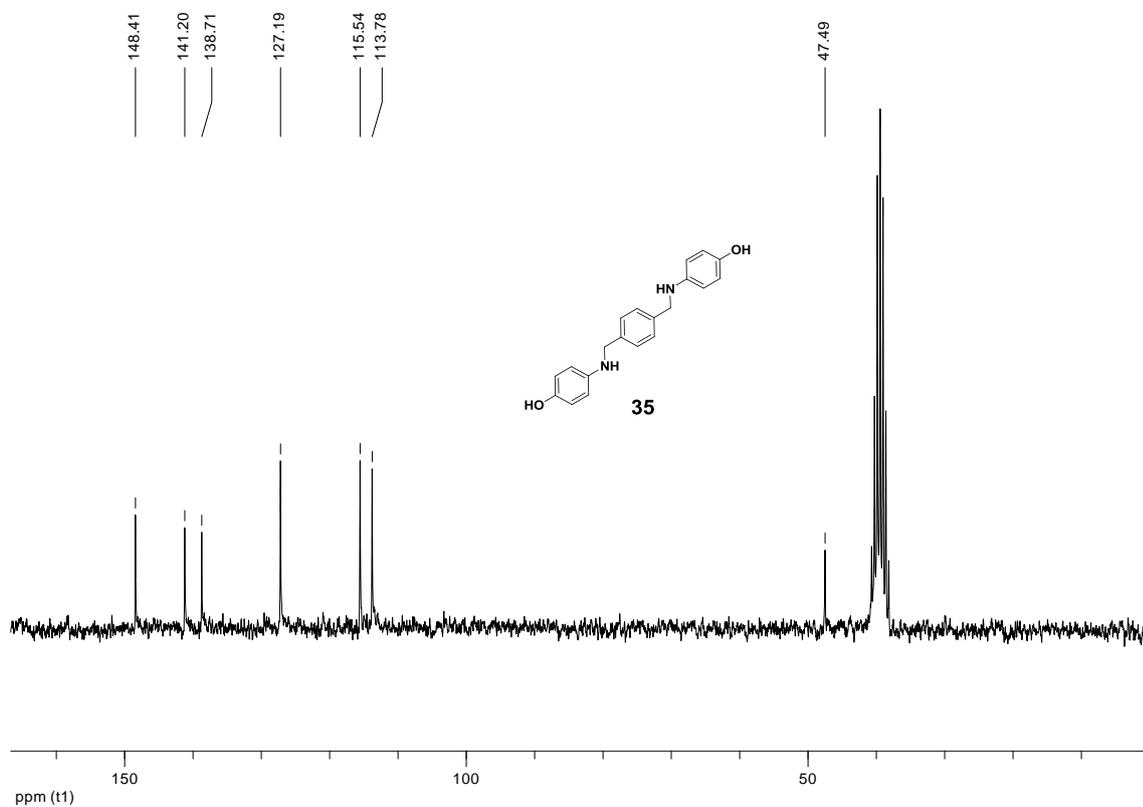


Figura 138. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **35**.

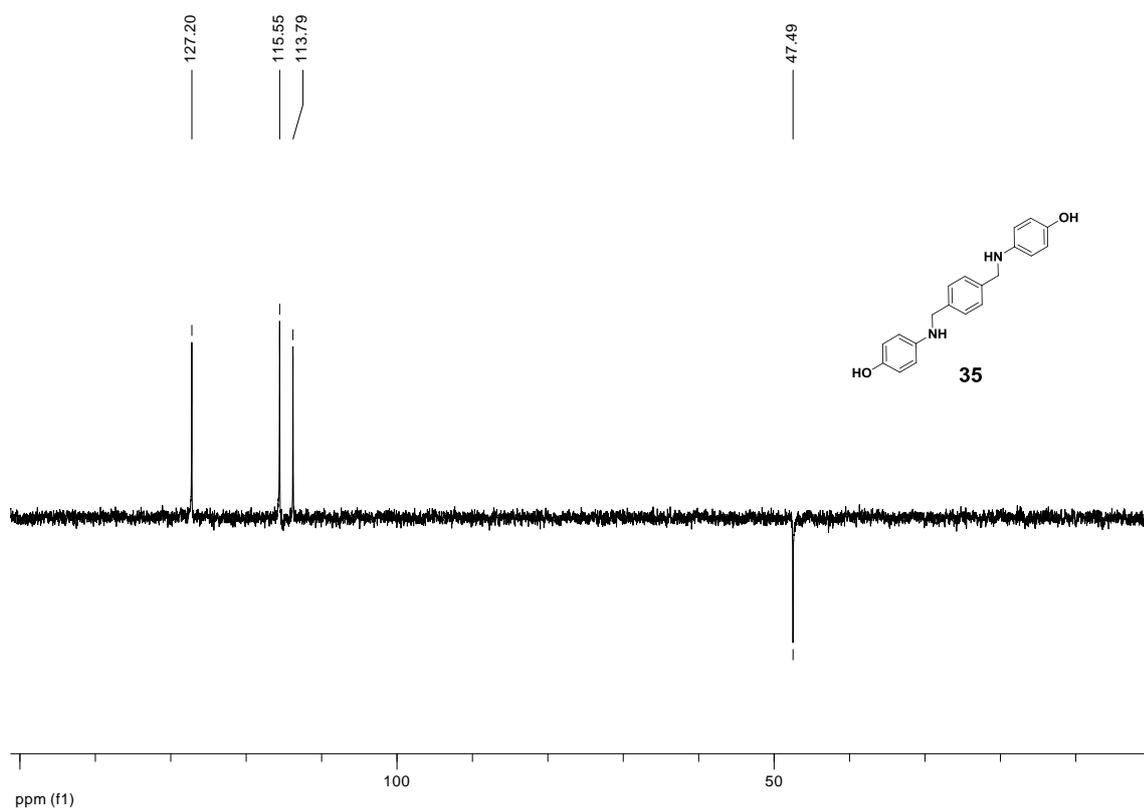


Figura 139. Subespectro DEPT 135 (50 MHz, DMSO- d_6) do composto **35**.

6.38 – Composto 36.

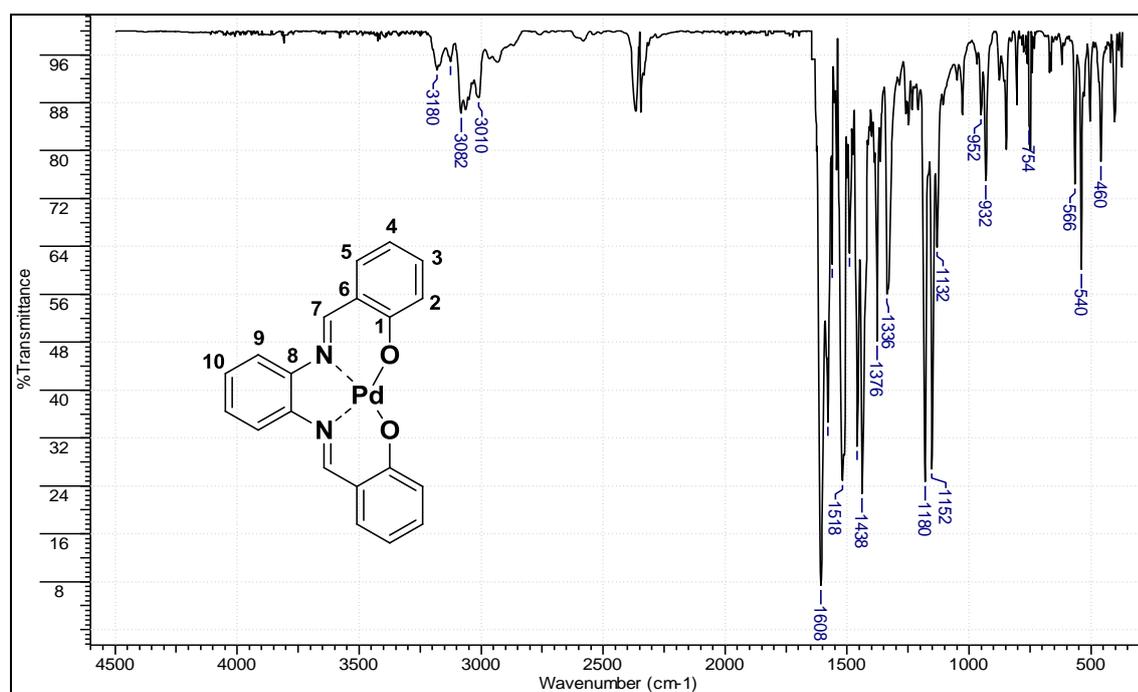


Figura 140. Espectro no infravermelho do complexo **36** pastilhado em KBr.

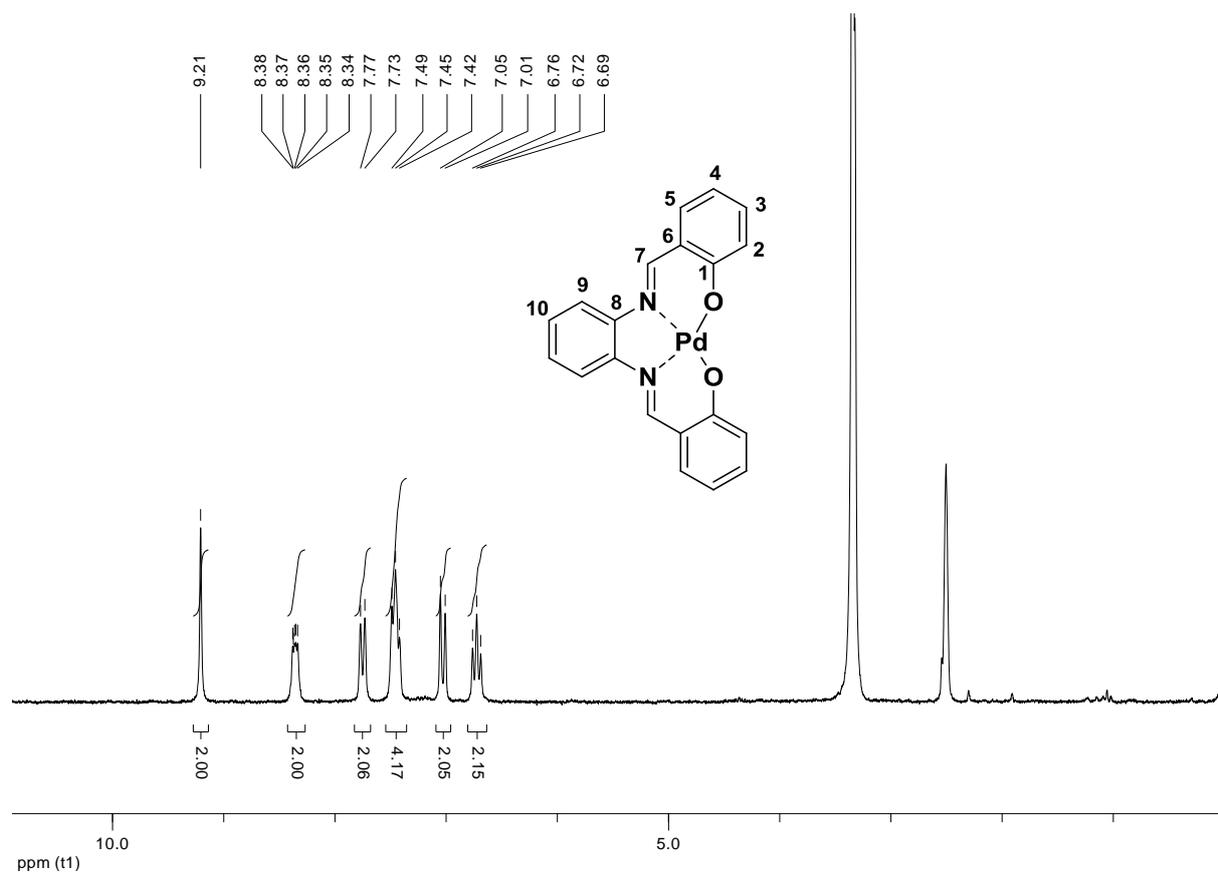


Figura 141. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do complexo **36**.

6.39 – Composto 37.

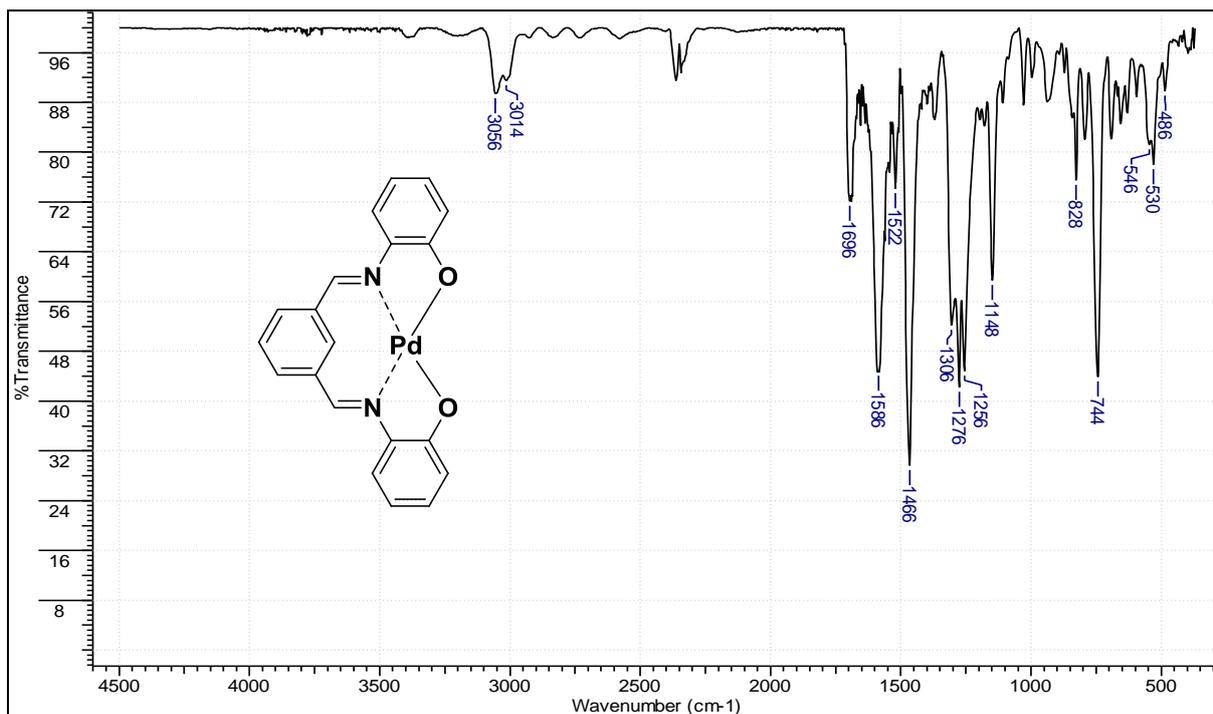


Figura 142. Espectro no infravermelho do complexo **37** pastilhado em KBr.

6.40 – Composto 38.

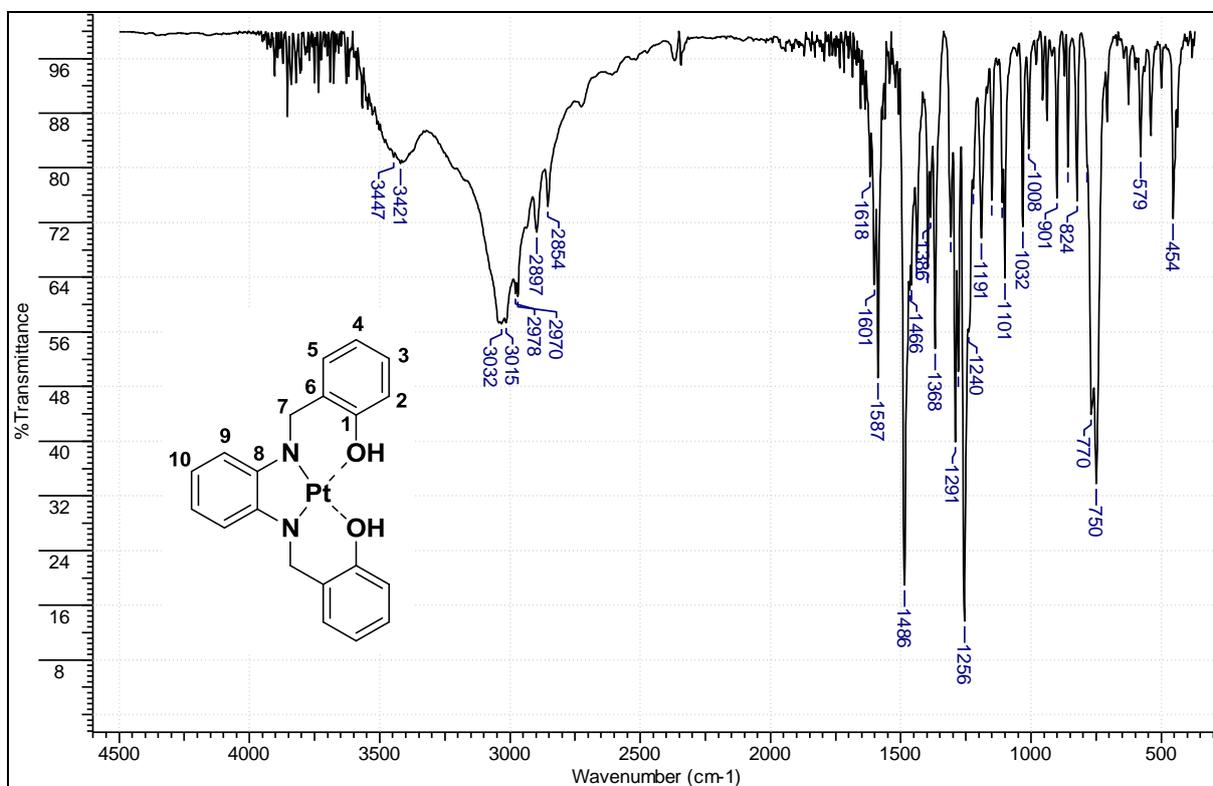


Figura 141: Espectro no infravermelho do complexo **38** pastilhado em KBr.

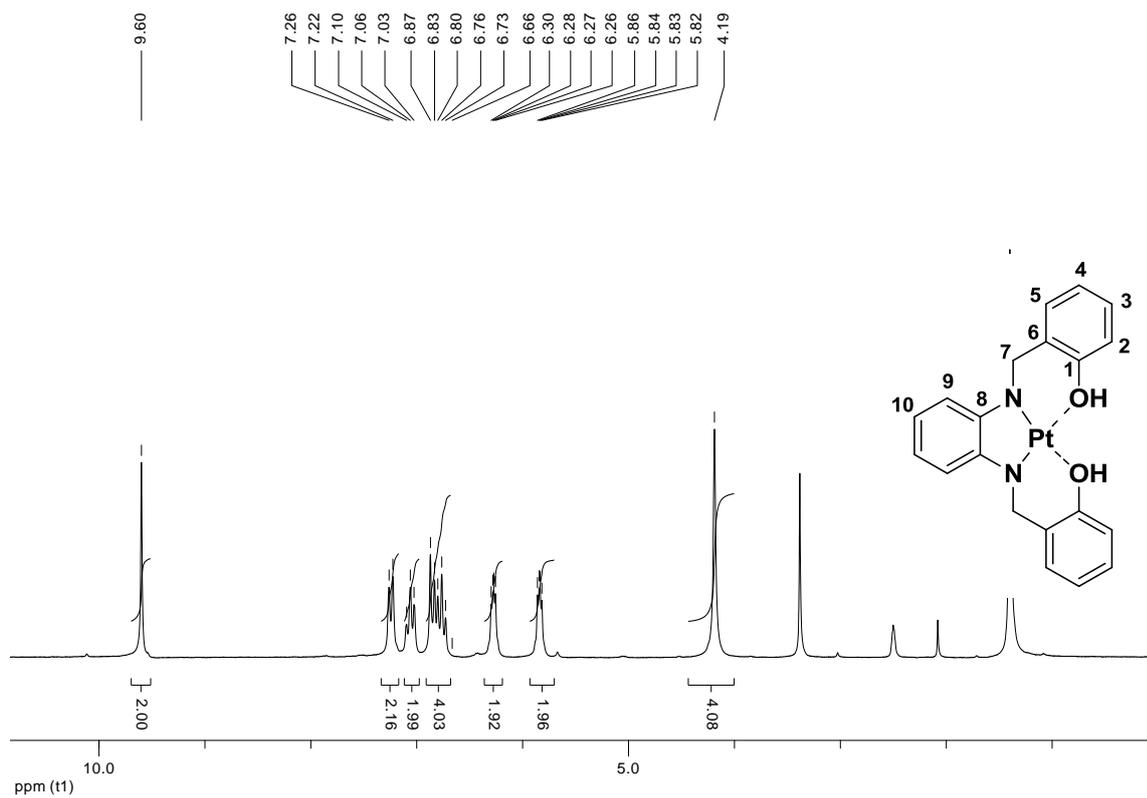


Figura 144. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do complexo **38**.

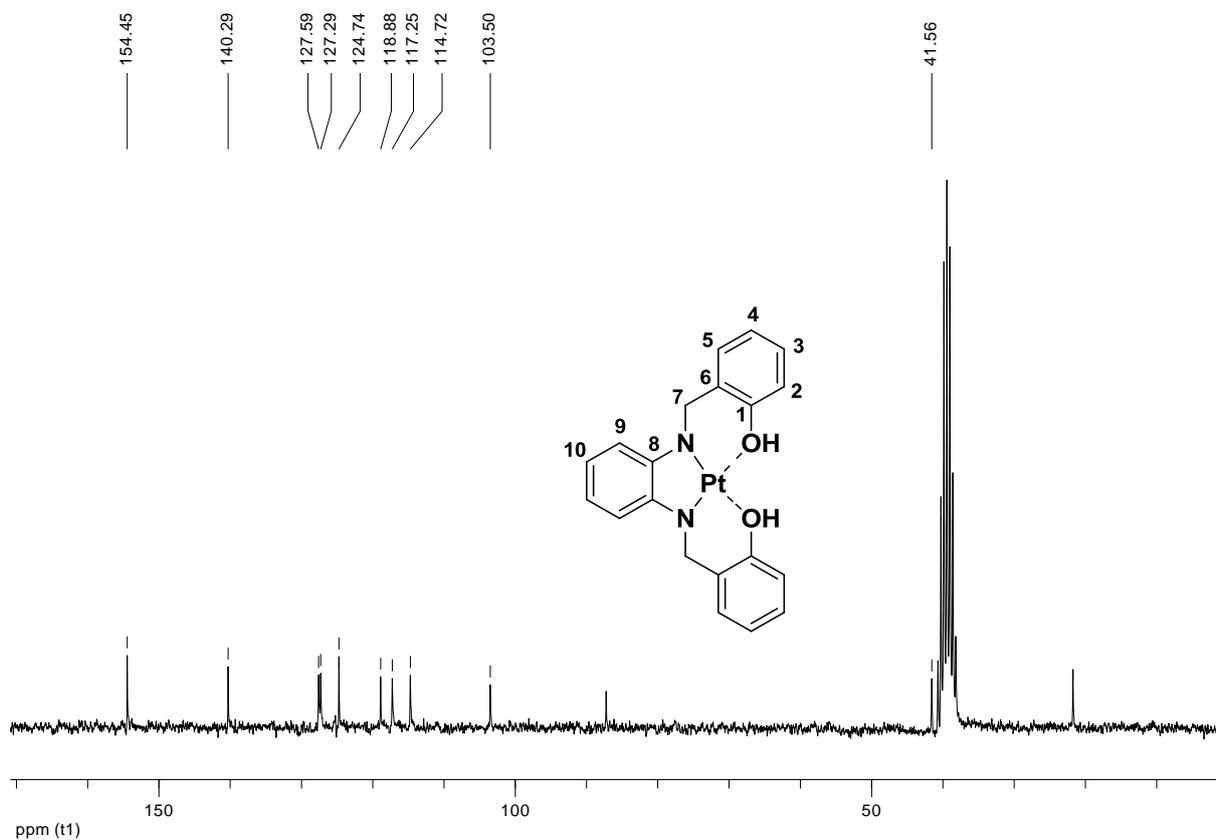


Figura 145. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do complexo **38**.

6.41. Atividade antioxidante

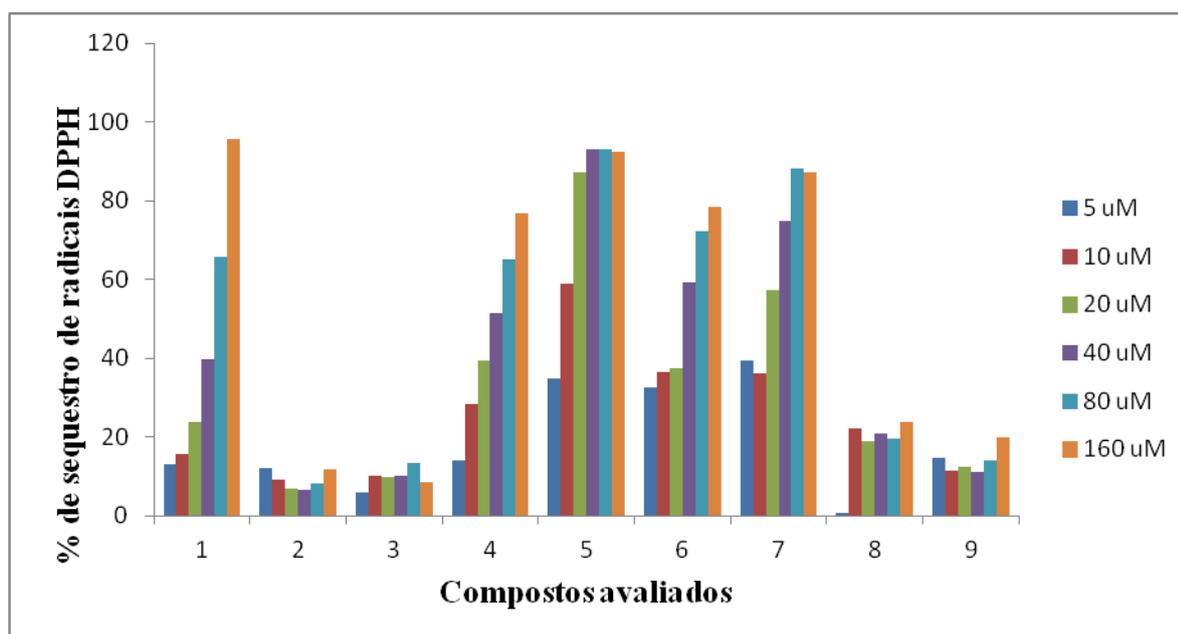


Figura 146. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH dos compostos 1-9.

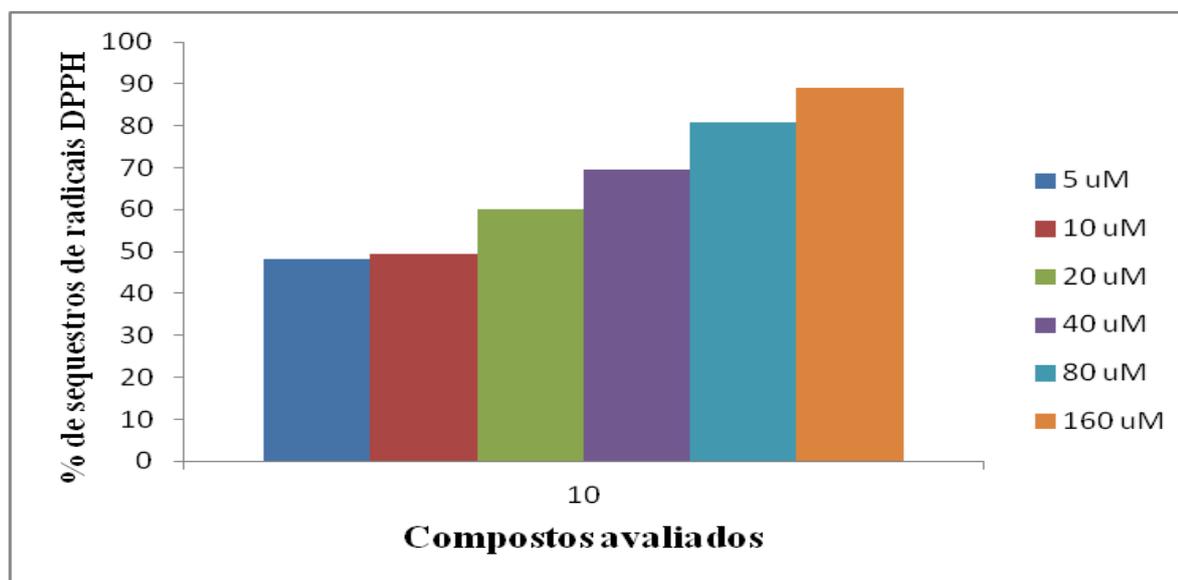


Figura 147. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH do composto 10.

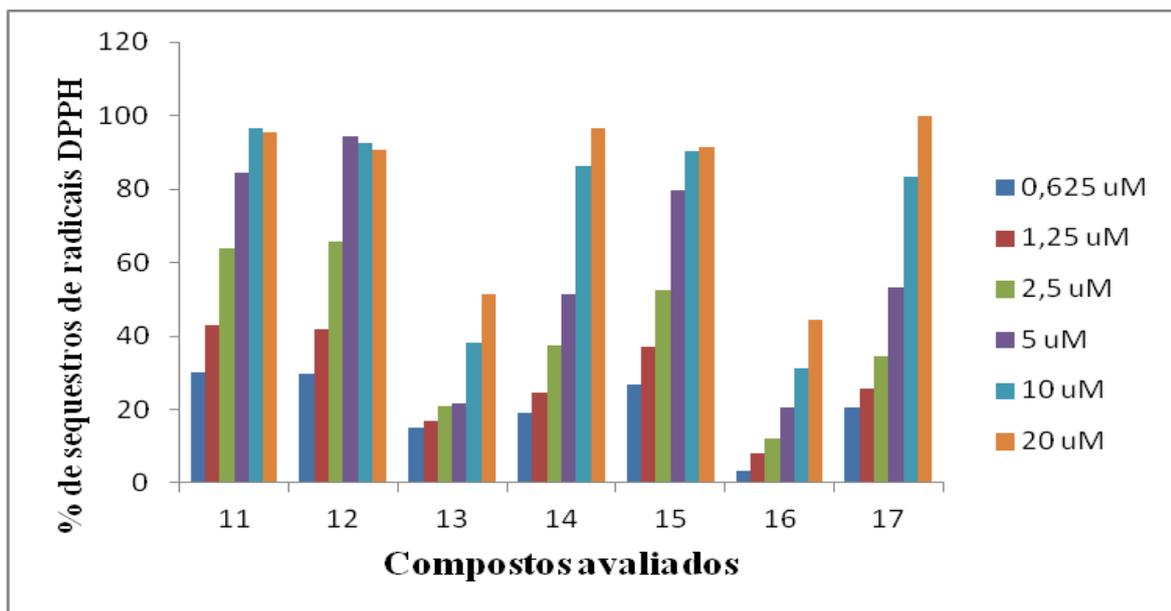


Figura 148. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH dos compostos **11-17**.

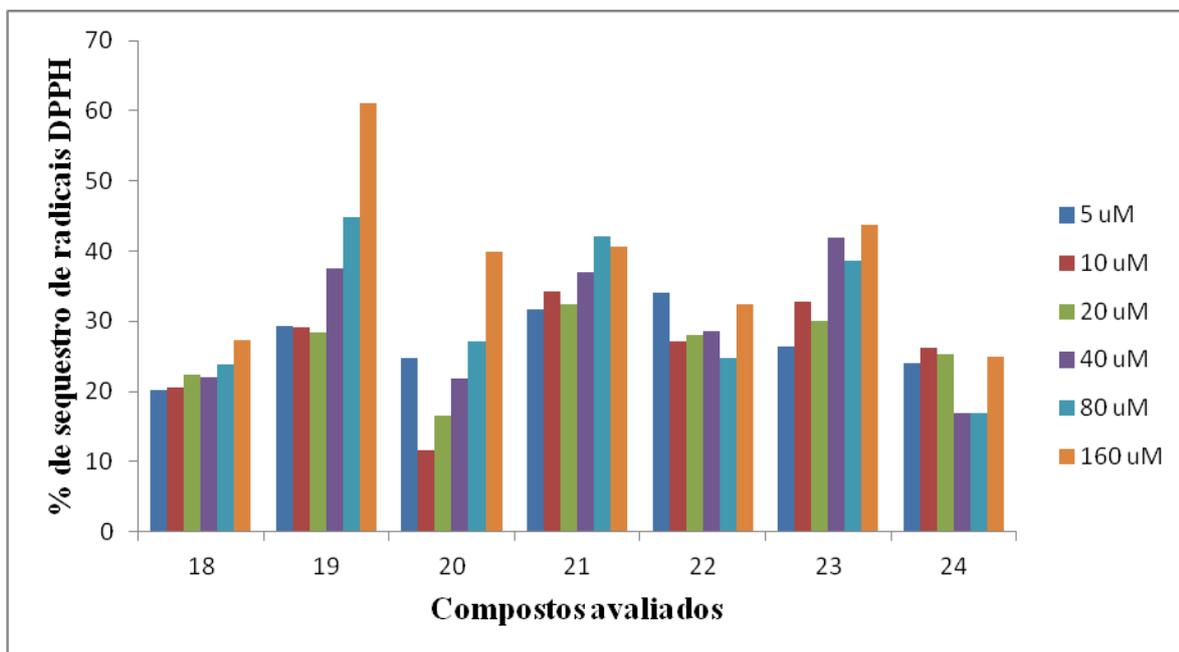


Figura 149. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH dos compostos **18-24**.

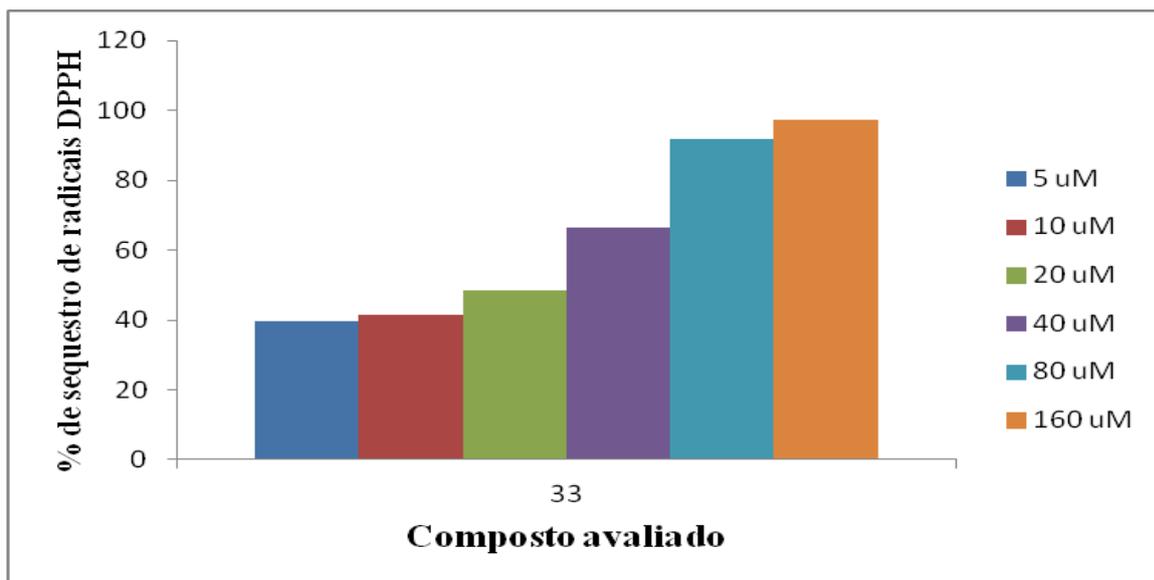


Figura 150. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH do composto 33.

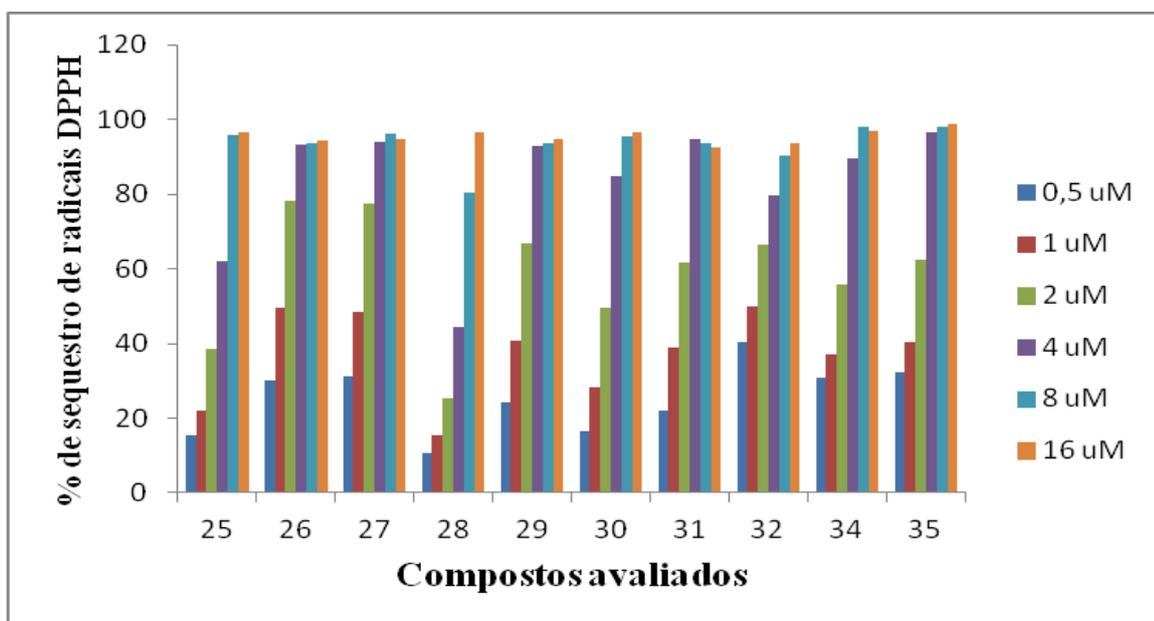


Figura 151. Porcentagens de sequestro de radicais DPPH dos compostos 25-33 e 34-35.