

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Dissertação de Mestrado

**Síntese de 4-tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)
pirrolidina e estudo da atividade antimicrobiana**

Adriana Machado das Neves

Pelotas, 2014

ADRIANA MACHADO DAS NEVES

**Síntese de 4-tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)
pirrolidina e estudo da atividade antimicrobiana**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Wilson João Cunico Filho

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

SÍNTSE DE TIAZOLIDINONAS DERIVADAS DA 1-(2-AMINOETIL)PIRROLIDINA E
ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

elaborada por
Adriana M. Neves

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho - Presidente/ Orientador –UFPel

Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira – UFPel

Prof. Dr. Pablo Machado – PUC-RS

Pelotas, 30 de julho de 2014

Dedico esta dissertação ao meu orientador, o Prof. Dr. Wilson Cunico pela a oportunidade, credibilidade e ajuda para a concretização deste trabalho. E também a minha colega e amiga de todas as horas, Daniela Gouvêa, por toda a grande ajuda para que este momento fosse alcançado.

AGRADECIMENTOS

Nessa etapa importante da minha vida gostaria de agradecer a todos que de alguma forma colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho. Agradeço primeiramente a Deus pela força, perseverança e por demonstrar-me o caminho.

Hoje o sonho, que há algum tempo parecia distante torna-se concretizado, onde muitas foram às superações para a realização desta etapa e somente consegui alcançar este sonho com a ajuda de familiares, colegas e amigos e por isso sou imensamente grata.

A minha família, meus pais André e Ana, por tudo que já fizeram por mim. As minhas irmãs que são as pessoas mais importantes da minha vida. A mana Andréia por todo amor, compreensão, companheirismo, apoio incondicional e incentivo, a mana Andressa que é minha razão de vida.

Agradeço a minha afilhada Cristiane, princesinha que me enche de alegria, ao meu cunhado Cristiano e a prima Franciele pelo carinho. Aos tios Neiva, Eloi, Pedro, dinda Irene e a vó Terezinha (em memória) por todo apoio, dedicação e carinho, pela grande ajuda para superar as dificuldades e a todos meus demais familiares.

Um agradecimento especial a este exemplo de orientador o Prof. Dr. Wilson Cunico pela oportunidade, por acreditar no meu trabalho, pela confiança, pelos conselhos, atenção e ensinamentos. Agradeço também a sua família esposa Gabriela pela simpatia e seu filho Bernardo pelo seu carisma e observações. A essa família agradeço o imenso carinho que sempre nos receberam.

A colega e grande amiga Daniela Gouvêa por sempre ajudar-me quando precisava, por ter me ensinado muito de tudo que aprendi no laboratório. A essa pessoa dedicada em tudo que faz e sempre prestativa a todos que estão a sua volta, considero você um exemplo de profissional. Somente tenho a agradecer por estar presente nos momentos felizes e difíceis, pela paciência e companheirismo, jamais esquecerei e serei eternamente grata.

Agradeço a Rosiane M. Martins e ao prof. Rafael Guerra Lund - Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia/ UFPel - pela realização dos testes de avaliação da atividade antimicrobiana, a aluna Fernanda Nedel e o prof. Flávio Demarco pela realização do teste de citotoxicidade das tiazolidinonas. Também agradeço ao meu colega de laboratório Daniel pela ajuda na interpretação dos resultados.

A minha aluna de iniciação científica Gabriele Berwaldi pela amizade e por toda a grande ajuda na realização deste trabalho. A Patrícia -UFSC- e a Daniela - UNICAMP- pela realização das análises de RMN de ^1H , ^{13}C e em 2D e ao Auri e ao Laboratório de cromatografia pelas análises de massas CG e CG/MS.

Agradeço a “família” LaQuiABio pelo companheirismo, paciência, aprendizado e auxílio em vários momentos dessa trajetória, assim sendo, gostaria de expressar o orgulho que tenho de ser parte desta grande equipe.

Ao Prof. Geonir Siqueira por ser prestativo, pelo empréstimo de livros e esclarecimento de dúvidas. Aos colegas de pós do laboratório pela amizade: Daniela agradeço por tudo, Auri por toda a grande ajuda, José por ser prestativo e pela ajuda com micro-ondas, Juliano pela ajuda na parte sintética e por ensinar-me sobre a espectroscopia de RMN, Hellen pelas manhãs e tardes de estudo para as disciplinas do mestrado e aos demais alunos da pós-graduação Daniel, Silvana, Bruna e Marizane.

Aos colegas de iniciação científica Gabriele, Caroline e Roberta, pela ajuda e pela amizade, também a todos os demais colegas Camila, Liane, Andressa, César e Marcelo. Deixo também um agradecimento às colegas que já fizeram parte deste grupo Valéria, Alice e Maiéle pela amizade.

Agradeço a todos os docentes do programa de Pós Graduação em Química, especialmente aos que ministraram as disciplinas cursadas. Também a todos os colegas pela troca de conhecimentos, em particular aos do grupo de estudos em especial aos amigos Camila e Alex.

A secretaria do programa de pós-graduação Djanira e a todos os funcionários do departamento de química, em especial aos da química orgânica Isabel, Hélio, Daiane, Marina entre outros.

Agradeço aos Laboratórios: LabHerBio e a sua grande equipe Mariana, Camila, Bruna, as Carol, Rosiane e Priscila e aos demais colegas pelo acolhimento, ajuda e festinhas criativas e divertidas; Ao LASIR e a professora Daniela Bianchini por tudo que aprenhi juntamente com a Luana em um trabalho realizado sobre catalisadores.

Agradeço também aos amigos pelos conselhos, auxílios, carinhos e palavras, além de se fazerem presentes. A amizade de cada um significa muito para mim em especial: A Nazi pela morada nesses últimos meses de mestrado acolhendo-me em sua família com carinho, dedicação e por tudo que tem feito por mim. A amiga Paula, Maiéli, Gabriele e Daniela pela confiança, carinho e por sempre se fazendo presentes. Também as amigas Luciara e Adriana entre muitos outros.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Química, e a Universidade Federal de Pelotas, a Universidade Federal de Santa Catarina e a Universidade Estadual de Campinas.

Agradeço a CAPES, CNPQ e a FAPERGS pelo auxílio financeiro. Em especial a FAPERGS por ser o órgão financiador desse trabalho, desenvolvido pelo projeto do PRONEM a qual este trabalho também faz parte.

“Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão perder com classe e vencer com ousadia, pois o triunfo pertence a quem se atreve a vida. O mundo está nas mãos daqueles que tem coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos.”

Charles Chaplin

RESUMO

NEVES, Adriana Machado. **Síntese de tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)pirrolidina e estudo da atividade antimicrobiana.** 2014. 138f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Uma série de vinte e duas 1,3-tiazolidin-4-onas foi sintetizada a partir da 1-(2-aminoetil)pirrolidina, benzaldeídos substituídos nas posições *ortho*, *meta* e *para* (NO_2 , F, Cl, OCH_3 , CH_3 e OH), e o ácido mercaptoacético. As tiazolidinonas foram sintetizadas pela reação “one-pot” através da metodologia de aquecimento térmico convencional com o uso de *Dean Stark* para remoção azeotrópica da água. A reação ocorreu em 5 horas, com a formação inicial do intermediário imina, posterior ciclização intramolecular e formação dos produtos. Todas as substâncias são inéditas na literatura e foram identificadas através de cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (CG-MS), ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN) e para 5 compostos massas de alta resolução (ESI). Além disso, foram estudadas metodologias alternativas utilizando aparelho de ultrassom e micro-ondas visando uma redução do tempo de reação através de reações “one-pot” e multicomponente, respectivamente. Posteriormente, a série de compostos obtida foi submetida à avaliação antimicrobiana contra fungos (*Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. lipolytica*, *C. famata*) e bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*), utilizando-se a técnica de microdiluição em caldo. Os resultados encontrados foram relatados como a concentração necessária para inibir 50% do crescimento dos microorganismos (IC_{50}), sendo que o composto 4- CH_3 apresentou o menor valor de IC_{50} (7,81 $\mu\text{g/mL}$) além de apresentar grande seletividade pelo fungo *C. parapsilosis*. Por outro lado, o composto 2-F apresentou atividade antifúngica de amplo aspecto, sendo considerado o mais potente antifúngico da série. A citotoxicidade das tiazolidinonas foram avaliados em células de fibroblastos de camundongos NIH/3T3 expostas por 24 e 48 h a cada composto, sendo os dados expressos como média \pm SEM e considerando o valor de $p < 0,05$ como diferença significativa, analisando os dados através do Teste de Tukey. Em geral, a grande maioria dos compostos não apresentou citotoxicidade na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$, sendo este resultado comparado com o controle.

Palavras-chave: Tiazolidinonas, pirrolidina, síntese, antimicrobiana, citotoxicidade.

ABSTRACT

NEVES, Adriana Machado. **Synthesis of thiazolidinones from 1-(2-aminoethyl)pyrrolidine and study of the antimicrobial activity.** 2014. 138f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Twenty-two 1,3-thiazolidin-4-ones were synthesized from 1-(2-aminoethyl)pyrrolidine, arenaldehydes substituted at the ortho, meta and para (NO_2 , F, Cl, OCH_3 , CH_3 , and OH) and mercaptoacetic acid. These thiazolidinones were synthesized by one-pot methodology using conventional thermal heating in a Dean Stark trap for azeotropic removal of water. The reaction occurred at 5 hours with the initial formation of the intermediate imine followed by an intramolecular cyclization to the products. All substances are novel in the literature and were identified by mass spectrometry (GC-MS), nuclear magnetic resonance ^1H and ^{13}C (NMR) and five of them by high resolution mass spectroscopy (HRMS). In addition, alternative methodologies were studied using ultrasound and microwave searching for a reduction in the reaction time through one-pot and multicomponent reactions. All synthesized compounds have been evaluated their antimicrobial activity against fungi (*Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. lipolytica*, *C. famata*), and bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), using the broth microdilution bioassay. The results were reported in values inhibit growth by 50% (IC_{50}). The compound 4- CH_3 showed the better antifungal activity of the series with IC_{50} value (7,81 $\mu\text{g/mL}$) and high selectivity by the fungus *Candida parapsilosis*. On the other hand, Compound 2-F broad sweep showed antifungal activity and is considered the most potent antifungal. The cytotoxicity of thiazolidinones were evaluated in NIH/3T3 fibroblast cells exposed mice for 24 and 48 h each compound, with data expressed as mean \pm SEM and considering the value of $p < 0,05$ as a significant difference, analyzing the data using Tukey's test. In general, the compounds did not show cytotoxic at the concentrations of 250 $\mu\text{g/mL}$ when compared to control.

Key-words: thiazolidinones, pyrrolidine, synthesis, antimicroal, cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura da tiazolidina A e dos diferentes isômeros constitucionais do anel da tiazolidinona	17
Figura 2: Estrutura geral de 1,3-tiazolidin-4-onas.....	17
Figura 3: Exemplos de tiazolidinonas com atividade biológica.....	18
Figura 4: Antibióticos que contém o heterociclo pirrolidina	19
Figura 5: Variação dos substituintes da 4-tiazolidinona.....	22
Figura 6: Frequências sonoras em (kHz).	28
Figura 7: Fenômeno de cavitação.	28
Figura 8: Localização da região de micro-ondas no espectro eletromagnético.....	30
Figura 9: Estereoquímica da 4-tiazolidinona.	33
Figura 10: Estrutura da 4-tiazolidinona 70, 71 e 72	36
Figura 11: Estrutura da 4-tiazolidinona 73 e 74	37
Figura 12: Estrutura da 4-tiazolidinona 75, 76 e 77	38
Figura 13: Estrutura da 4-tiazolidinona 78	39
Figura 14: Estrutura da 4-tiazolidinona 79, 80 e 81	39
Figura 15: Moléculas de aminas heterocíclicas.....	48
Figura 16: Espectro de RMN ¹ H do composto da tiazolidinona 5b (200 MHz).....	61
Figura 17: Expansão do espectro de RMN ¹ H da tiazolidinona 5b referente aos hidrogênios H5a, H5b e H6a	61
Figura 18: Espectro de RMN ¹³ C do composto da tiazolidinona 5b (50 MHz).....	63
Figura 19: Espectro de 2D-RMN de COSY da tiazolidinona 5b	64
Figura 20: Configuração estrutural da tiazolidinona 5b	65
Figura 21: Espectro de 2D-RMN de HMQC da tiazolidinona 5b	65
Figura 22: Espectro de 2D-RMN de HMBC da tiazolidinona 5b	66
Figura 23: Espectro de massas CG/MS da substância 5b	67
Figura 24: Fragmentação de massas da tiazolidinona 5b	67
Figura 25: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona 5f ..	68
Figura 26: Estruturas das tiazolidinonas frente à atividade antifúngica.....	77
Figura 27: Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas 5a-i	83
Figura 28: Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas 5j-m, 5o, 5q e 5s	84
Figura 29: Estudo da atividade antimicrobiana contra <i>Candida parapsilosis</i>	85

Figura 30: Estudo da atividade antimicrobiana dos compostos 5d e 5g	86
Figura 32: Estudo da citotoxicidade dos compostos 5d , 5g , 5h e 5m	87
Figura 33: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5a (200 Hz).....	96
Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5a (50 Hz).....	96
Figura 35: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5b (200 Hz).	97
Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5b (50 Hz).....	97
Figura 37: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5c (200 Hz).....	98
Figura 38: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5c (50 Hz).....	98
Figura 39: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5d (200 Hz).	99
Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5d (50 Hz).....	99
Figura 41: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5e (200 Hz).....	100
Figura 42: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5e (50 Hz).....	100
Figura 43: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5f (200 Hz)	101
Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5f (50 Hz).....	101
Figura 45: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5g (200 Hz)	102
Figura 46: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5g (200 Hz).....	102
Figura 47: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5h (200 Hz)	103
Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5h (50 Hz).....	103
Figura 49: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5i (200 Hz).....	104
Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5i (50 Hz).....	104
Figura 51: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5j (200 Hz).....	105
Figura 52: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5j (50 Hz).....	105
Figura 53: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5k (200 Hz).....	106
Figura 54: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5k (50 Hz).....	106
Figura 55: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5l (200 Hz).....	107
Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5l (50 Hz).....	107
Figura 57: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5m (200 Hz).....	108
Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5m (50 Hz).....	108
Figura 59: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5o (200 Hz)	109
Figura 60: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5o (50 Hz).....	109
Figura 61: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5q (200 Hz)	110
Figura 62: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5q (50 Hz).....	110
Figura 63: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5s (200 Hz).....	111
Figura 64: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5s (50 Hz).....	111

Figura 65: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona 5u (200 Hz).	112
Figura 66: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona 5u (50 Hz).	112
Figura 67: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5a .	114
Figura 68: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5b .	115
Figura 69: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5c .	116
Figura 70: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5d .	117
Figura 71: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5e .	118
Figura 72: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5f .	119
Figura 73: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5g .	120
Figura 74: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5h .	121
Figura 75: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5i .	122
Figura 76: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5j .	123
Figura 77: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5k .	124
Figura 78: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5l .	125
Figura 79: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5m .	126
Figura 80: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5n .	127
Figura 81: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5o .	128
Figura 82: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5p .	129
Figura 83: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5q .	130
Figura 84: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5r .	131
Figura 85: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5s .	132
Figura 86: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5t .	133
Figura 87: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5u .	134
Figura 89: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona 5c (Experimental e Calculado).	136
Figura 90: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona 5f (Experimental e Calculado).	136
Figura 91: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona 5i (Experimental e Calculado).	137
Figura 92: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona 5m (Experimental e Calculado).	137
Figura 93: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) do composto 5o (Experimental e Calculado).	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias sintetizadas.....	44
Tabela 2. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia de aquecimento térmico convencional.....	50
Tabela 3. Rendimentos e ponto de fusão dos compostos sintetizados 5a-u	51
Tabela 4. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia em ultrassom.....	55
Tabela 5. Rendimentos dos compostos sintetizados 5c, 5f, 5i, 5l, 5m e 5p através da metodologia em ultrassom.....	56
Tabela 6. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia em micro-ondas.....	57
Tabela 7. Rendimentos dos compostos sintetizados 5c, 5f, 5i, 5l, 5m e 5p através da metodologia em micro-ondas e comparação com outras metodologias.....	58
Tabela 8. Dados de RMN de ^1H das tiazolidinonas 5a-u	69
Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C das tiazolidinonas 5a-u	73
Tabela 10. Dados de espectrometria de massas (CG/MS) das tiazolidinonas 5a-u	75
Tabela 11. Dados do espectro de massas em alta resolução (ESI-FTMS) das tiazolidinonas 5c, 5f, 5i, 5m e 5o	76
Tabela 12. Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos compostos e fármacos de referência sobre patógenos humanos.....	79

LISTA DE ABREVEATURAS

- RMN – Ressonância Magnética Nuclear
COSY – *Correlation Spectroscopy*
HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Coherence*
HMQC – Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
CG/MS – Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massas
ATCC – *American Type Culture Collection*
NIH/3T3 – Células normais de fibroblastos de camundongos
MTT – brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio
± SEM – média do desviopadrão
DIPEA – *N,N-diisopropiletilamina*
DCC – 1,3-diclorocarbonodiimida
 BF_3 – trifluoreto de boro
DSAS – dodecilbenzenossulfónico
 $\text{Bi}(\text{SCH}_2\text{COOH})_2$ – 2, 2', 2"-*bis*-muthinetriyl-*tris*-(sulfanediyl)triacético
PPT – tripsina de pâncreas de suínos
THF – tetrahidrofurano
 $[\text{MIM}]^+\text{BF}_4^-$ - 1-metilimidazol tetrafloroborato
 $\text{HClO}_4 \cdot \text{SiO}_2$ – ácido perclórico adsorvido em sílica gel
CIM – Concentração inibitória mínima
 CDCl_3 – clorofórmio deuterado
TMS – trimeilsilano
 NaHCO_3 – bicarbonato de sódio
 MgSO_4 – sulfato de magnésio
CCD – cromatografia de camada fina
CAC – candidiasis atrófica crônica
DMSO – dimetilsulfóxido
 IC_{50} – redução do crescimento em 50%
CMM – concentração microbicida mínima
DMEM – Eagle Modificado por Dulbecco
RPMI – *Roswell Park Memorial Institute medium*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1. Química da 4-tiazolidinona	22
2.2. Métodos de obtenção da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona.....	24
2.3. Metodologias alternativas para a obtenção da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona	27
2.3.1. Ultrassom	27
2.3.2. Síntese de 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona com o uso de ultrassom	29
2.3.3. Micro-ondas.....	30
2.3.4. Síntese de 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona com o uso de micro-ondas.....	31
2.4. Estereoquímica e reatividade da 4-tiazolidinonas	33
2.5. Importância do heterociclo da 4-tiazolidinona na química medicinal	35
2.5.1. Estudo da atividade antimicrobiana da 4-tiazolidinona.....	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1. Reagentes e solventes utilizados	40
3.1.1. Solventes.....	40
3.1.2. Sais	40
3.1.3. Reagentes	40
3.2. Equipamentos utilizados.....	41
3.2.1. Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear.....	41
3.2.2. Espectrômetro de Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas	41
3.2.3. Espectrômetro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS).....	41
3.2.4. Aparelho de Ultrassom	42
3.2.5. Aparelho de Micro-ondas	42
3.2.6. Ponto de fusão	42
3.3. Métodos experimentais	42
3.3.1. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas 5a-u através da metodologia de aquecimento térmico convencional	42
3.3.2. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas (5c , 5f , 5i , 5l , 5m e 5p) através da metodologia em ultrassom.....	43

3.3.3. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas (5c, 5f, 5i, 5l, 5m e 5p) através da metodologia em micro-ondas	43
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	44
4.1. Numeração e nomenclatura das substâncias sintetizadas.....	44
4.2. Síntese das moléculas propostas.....	47
4.3. Metodologia de aquecimento convencional para a síntese das 4-tiazolidinonas 5a-u	48
4.3.1 Estudo da Condição de Reação.....	48
4.3.2. Síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas	50
4.3.3. Mecanismo proposto para a síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas em “one-pot”	52
4.4. Metodologias alternativas para a síntese das 4-tiazolidinonas 5	53
4.4.1. Síntese das 4-tiazolidinonas por irradiação ultrassônica.....	53
4.4.2. Síntese das 4-tiazolidinonas por micro-ondas.....	56
4.4.3. Mecanismo proposto para a síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas através da reação multicomponente	59
4.5. Identificação das substâncias sintetizadas	60
4.5.1. Identificação das 4-tiazolidinonas por RMN ^1H e ^{13}C	60
4.5.1. Identificação das 4-tiazolidinonas por 2D-RMN.....	63
4.5.3. Identificação das 4-tiazolidinonas por espectroscopia de massas CG/MS.....	66
4.5.4. Identificação das 4-tiazolidinonas por espectroscopia de massas de alta resolução ESI-FTMS.	67
4.6. Aplicações das 2,3-disubstituida-4-tiazolidinona em relação há à atividade antimicrobiana e teste de citotoxicidade.....	77
4.6.1. Avaliação da atividade antimicrobiana das 4-tiazolidinonas.....	77
4.6.2. Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas.....	79
4.6.3. Resultados frente à atividade antimicrobiana e citotoxicidade das 4-tiazolidinonas.....	85
5. CONCLUSÕES	88
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
ANEXO I.....	95
ANEXO II.....	113
ANEXO III.....	135

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A maioria dos fármacos em uso clínico atualmente, apresentam em sua estrutura no mínimo um núcleo heterocíclico. Por essa razão as substâncias heterocíclicas são de grande interesse para síntese orgânica, devido a sua vasta aplicação na química medicinal em virtude de suas propriedades farmacológicas (Patrick et al., 2009).

Existem inúmeras moléculas biologicamente ativas, um exemplo são as tiazolidinonas, heterociclos que contém um anel de cinco membros derivado da tiazolidina **A**. A carbonila deste anel possui posições variadas podendo estar presente no carbono 2 (**B**), 4 (**C**) ou 5 (**D**) da tiazolidinona, gerando três diferentes isômeros constitucionais (Figura 1) (Tripathi et al., 2014).

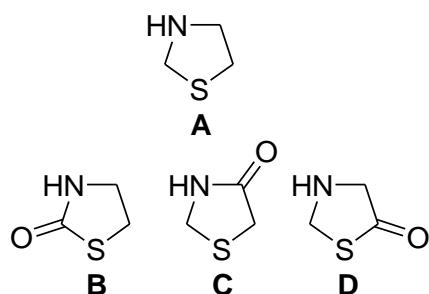


Figura 1: Estrutura da tiazolidina **A** e dos diferentes isômeros constitucionais do anel da tiazolidinona.

Dentro deste contexto as 1,3-tiazolidin-4-onas que apresentam em sua estrutura um átomo de enxofre na posição-1, um átomo de nitrogênio na posição-3 e um grupamento carbonila na posição-4 podendo conter diferentes substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel (Figura 2) (Tripathi et al., 2014).

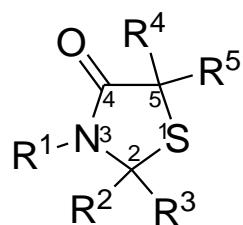


Figura 2: Estrutura geral de 1,3-tiazolidin-4-onas.

Diferentes pesquisadores vêm estudando este núcleo heterocílico devido a sua grande aplicabilidade na área medicinal. Atualmente, na literatura são encontrados muitos trabalhos que relatam as diversas aplicações das 4-tiazolidinonas na química medicinal, tais como a atividade anticâncer (Wu et al., 2014), anticonvulsivante (Ahmed et al., 2014), anti-inflamatória (Maccari et al., 2014),

antidiabética (Raza et al., 2013), antimicrobiana (Desai et al., 2014), antiviral (Masoud et al., 2013), antioxidante (Ranganatha et al., 2014), tuberculostática (Vintonyak et al., 2010) entre outras (Figura 3). Além disso, os fármacos como a pioglitazona, ralitoline e o etozoline utilizados, respectivamente, como antidiabético, anticonvulsivante e diurético, também contém o heterociclo tiazolidinona em sua estrutura (Figura 3) (Jain et al., 2012).

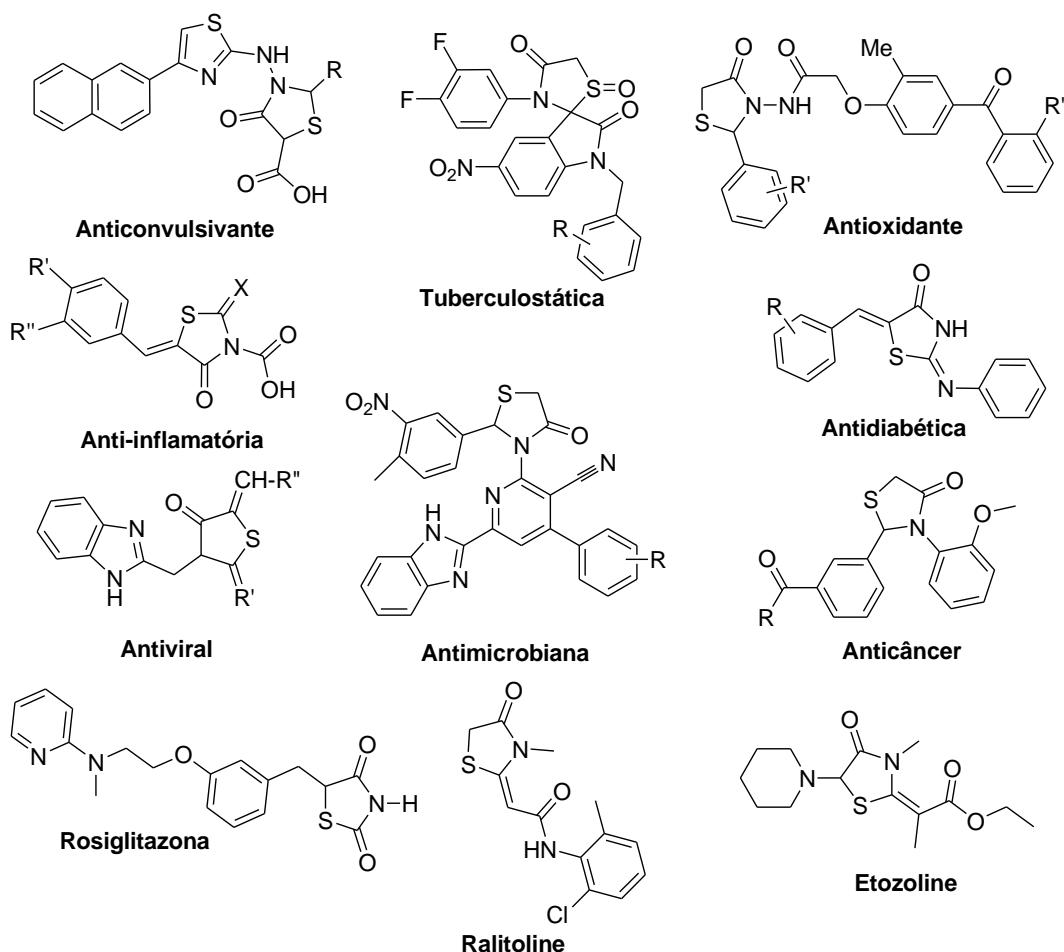


Figura 3: Exemplos de tiazolidinonas com atividade biológica.

Estudos demonstram que as tiazolidinonas desempenham um importante papel como agentes antimicrobianos. Como, por exemplo, no trabalho de Desai et al., 2014 onde foram sintetizadas tiazolidinonas as quais apresentaram ação antibacteriana e antifúngica mais proeminente que os fármacos cloranfenicol e cetoconazol utilizados como padrão.

Dessa forma as tiazolidinonas se mostram uma alternativa viável para o desenvolvimento de novos fármacos com essa ação. Por outro lado, o tratamento de doenças infecciosas ainda continua a ser um problema devido ao aumento do

número de micro-organismos resistentes aos múltiplos fármacos existentes. Essa resistência ocorre principalmente devido ao uso indiscriminado de medicamentos e à elevada capacidade de adaptação dos micro-organismos (Adki et al., 2012; Patel et al., 2012 e Silva et al., 2008).

A resistência microbiana crescente representa uma grande preocupação para a comunidade científica, a qual tem se elevado o número de estudos para a concepção e síntese de novos compostos com potencial atividade biológica, menos tóxicos e mais eficazes e seguros, sendo uma necessidade real percebida para a descoberta de novos fármacos com atividade antimicrobiana (Shalini et al., 2011; Prasad et al., 2011 e Adki et al., 2012).

Outro importante heterociclo é a pirrolidina, constituído de um anel de cinco membros que contém em sua estrutura um átomo de nitrogênio (Theophil et al., 2003). Esse anel está presente em alguns antibióticos como a clindamicina, derivado semissintético da lincomicina (Nussbaum et al., 2006) e cefepima, um fármaco semissintético de quarta geração da classe das cefalosporinas (Shahid et al., 2010) (Figura 4).

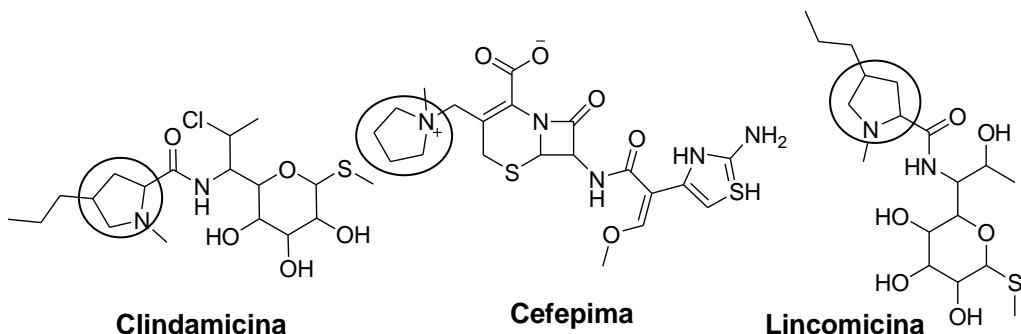


Figura 4: Antibióticos que contém o heterociclo pirrolidina

Além da atividade antibacteriana (Shi et al., 2011) o heterociclo pirrolidina apresenta outras aplicações farmacológicas relatadas na literatura como atividade anticonvulsivante (Kaminski et al., 2013) e anticâncer (Arun et al., 2013). Portanto, tendo em vista potencializar a atividade antimicrobiana das tiazolidinonas estudou-se uma metodologia eficiente para a união desses dois núcleos heterocíclicos.

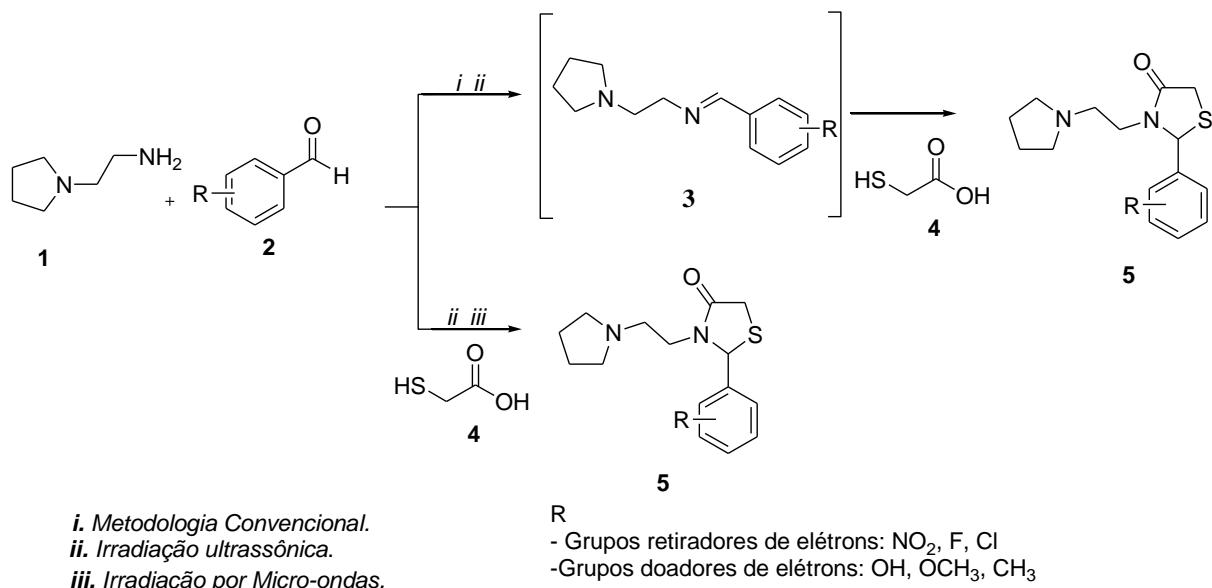
Dando continuidade aos estudos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Química Aplicada a Bioativos (LaQuiABio) (Kunzler et al., 2013; Drawanz et al., 2014 e Marques et al., 2014) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), a proposta deste trabalho é sintetizar tiazolidinonas derivadas da 1-(2-

aminoetil)pirrolidina com o uso de diferentes metodologias e verificar a atividade antimicrobiana dos compostos obtidos. Desta forma, os objetivos específicos são:

(a) Estudar as condições reacionais para a obtenção das 2-aryl-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-onas **5** por meio da metodologia de aquecimento convencional, através da reação entre 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, benzaldeídos substituídos **2**, com formação do intermediário imina **3** e adição posterior do ácido mercaptoacético **4**, reagindo para formar o anel da 1,3-tiazolidin-4-ona **5** (Esquema 1). A variação estrutural será realizada com benzaldeídos que contenham em sua estrutura grupos doadores e retiradores de elétrons como substituintes;

(b) Estudar metodologias alternativas como a irradiação ultrassônica e a de irradiação por micro-ondas realizando um estudo das condições reacionais para a realização da série das tiazolidinonas empregando benzaldeídos *p*-substituídos (Esquema 1). Posteriormente comparar os resultados obtidos nessas duas metodologias com a metodologia de aquecimento convencional;

Esquema 1:



(c) Identificar a estrutura dos compostos sintetizados através da interpretação dos dados de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ¹H e carbono ¹³C, incluindo 2D-RMN COSY, HMBC e HMQC, e por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG/MS);

(d) Avaliação da atividade antimicrobiana dos produtos através da metodologia de microdiluição em caldo, doze cepas de caráter patogênico: *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 29214, *Candida albicans* ATCC 62342 e isolados clínicos orais de espécies de *Candida albicans* (3) e não-*albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. lipolytica*, *C. famata*.

(e) Avaliação Citotóxica dos produtos frente a células normais de fibroblastos de camundongos (NIH/3T3), através do ensaio colorimétrico MTT, pelo teste de viabilidade celular, utilizando microplacas de 96 poços.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

De acordo com a literatura existem diversos trabalhos contendo relatos sobre o heterociclo da 4-tiazolidinona, em vista disso, esta revisão consiste em uma discussão ampla sobre esse núcleo visando abordar a sua importância sintética, a reatividade do anel e a atividade farmacológica antimicrobiana e citotóxica. Primeiramente, a síntese da 4-tiazolidinona é realizada através de diferentes metodologias, sendo que a mais comum é a de aquecimento térmico convencional, porém devido a diferentes fatores, como tempo de reação e a quantidade de solvente utilizado na reação, busca-se medidas sintéticas alternativas como, por exemplo, a sonoquímica e a de micro-ondas. Por essa razão, será brevemente relatado o funcionamento, o uso e a aplicação dos mesmos nas reações orgânicas.

Posteriormente, será discutida a aplicabilidade das 4-tiazolidinonas na química medicinal voltada para a atividade antimicrobiana, visto que o aumento do número de micro-organismos resistentes aos medicamentos já existentes aumentou a busca por novas moléculas para reverter essa situação. Contudo, esta revisão busca de forma abrangente relatar tópicos descritos ao longo desta dissertação para um melhor compreendimento do assunto.

2.1. Química da 4-tiazolidinona

A 4-tiazolidinona ou 1,3-tiazolidin-4-ona são uma forma saturada do tiazol com um grupo carbonila podendo conter diferentes substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel (Figura 5). A variação no átomo de nitrogênio e no átomo de carbono, no caso o carbono metilênico, depende dos materiais de partida utilizados na reação (Tripathi et al., 2014).

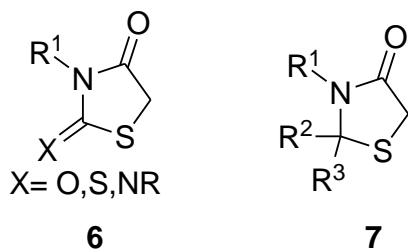
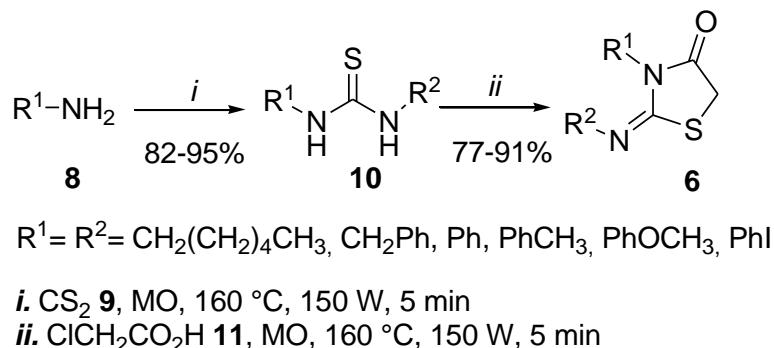


Figura 5: Variação dos substituintes da 4-tiazolidinona.

A reação de tiouréias substituídas com ácido α -haloacético produz a 2-imino-4-tiazolidinona **6** ($X=NR$). Recentemente Chau et al., 2014 descreveram a síntese

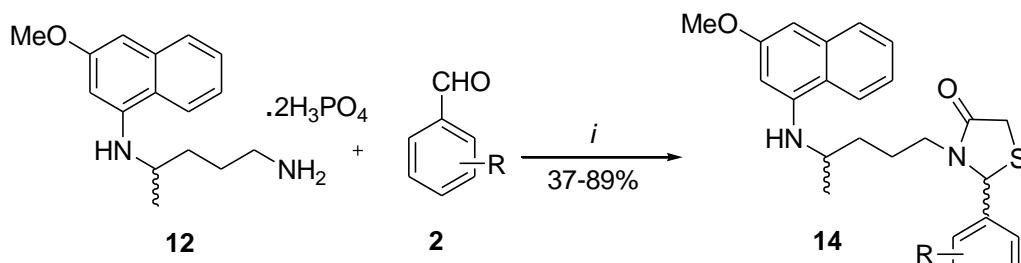
em duas etapas livre de solvente, pela metodologia em micro-ondas na temperatura de 160 °C e 150 W de potência por um tempo total de 10 minutos obtendo as 2-imino-4-tiazolidinonas **6** com excelentes rendimentos (Esquema 2). Na primeira etapa ocorre a formação da tiouréia simétrica **10**, a partir de aminas primárias **8** com dissulfeto de carbono **9**, através da reação de adição nucleofílica e depois foi adicionado o ácido cloroacético **11** ocorrendo à reação de ciclização intramolecular para a formação do anel da 4-tiazolidinona.

Esquema 2.



O estudo de diferentes metodologias para a obtenção de 4-tiazolidinona envolve a utilização de três componentes (amina, aldeído e ácido mercaptoacético) para a formação do anel da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona **7**, sendo este o principal foco desta revisão. A síntese da 4-tiazolidinona está descrita por muitos pesquisadores, sendo um exemplo, o trabalho de Neuenfeldt et al., 2011, o qual realizaram a síntese através da reação multicomponente utilizando difosfato de primaquina **12**, DIPEA **13**, benzaldeídos substituídos **2** e um excesso de ácido mercaptoacético **4** em refluxo de tolueno durante 3 horas obtendo o composto **14** com rendimentos de moderados a bons (Esquema 3).

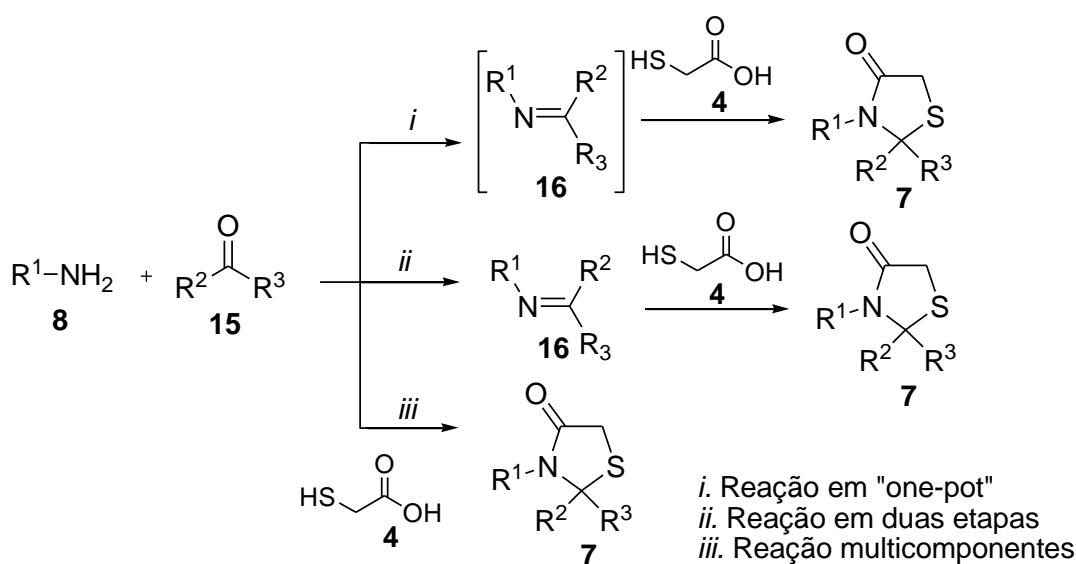
Esquema 3.



2.2. Métodos de obtenção da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona

A 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona é formada através da reação de adição seguida de substituição entre a amina primária ou hidrazina que reage com a carbonila do aldeído ou cetona, com a liberação de uma molécula de água gerando o intermediário imina, após ocorre a reação de ciclocondensação com o ácido mercaptoacético para a obtenção do núcleo da tiazolidinona. Esta reação pode acontecer em “one-pot”, multicomponente ou em duas etapas. A reação “one-pot”, ou seja, em um único recipiente, a amina reage inicialmente com o aldeído com posterior adição do ácido mercaptoacético (Esquema 4, condição *i*). A reação também pode proceder em duas etapas com o isolamento do intermediário imina (Base de Shif) (Esquema 4, condição *ii*). Além disso, na reação multicomponente, todos os três reagentes são adicionados no início da reação (Esquema 4, condição *iii*) (Tripathi et al., 2014).

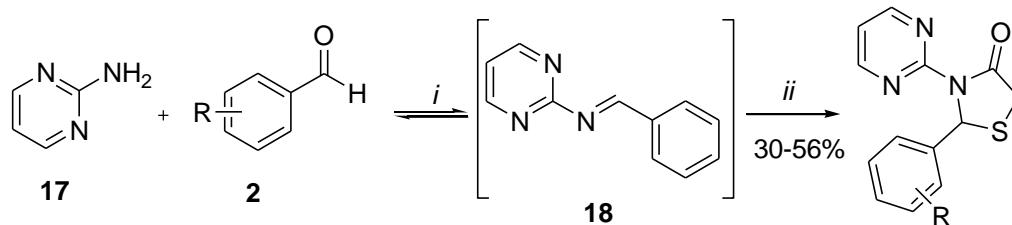
Esquema 4.



As moléculas de água geradas durante a reação devem ser removidas do meio para favorecer a formação do anel da 4-tiazolidinona, normalmente se utiliza um aparelho de *Dean Stark* para a remoção da mistura azeotrópica da mesma com o solvente (Kunzler et al., 2013 e Neuenfeldt et al., 2011), porém outras formas de remoção são empregadas como o uso de agentes de desidratação, por exemplo, 1,3-diclocarbonodiimida (DCC) (Thakare et al., 2014), γ -ferrita (Shrivastava et al., 2012), peneiras moleculares (Campos et al., 2013) entre outros.

Campos et al., 2013 desenvolverem uma eficiente síntese de 2-aryl-3-(pirimidin-2-il)-tiazolidinona **19**, através da reação em “one-pot” a partir de uma amina aromática a 2-aminopirimidina **17** com benzaldeídos substituídos **9**, empregando peneiras moleculares para a remoção da água, e o ácido de Lewis trifluoreto de boro BF_3 , a 80 °C por 3 horas, depois foi acrescentado o ácido mercaptoacético **4** permanecendo nesta temperatura por 16 horas, obtendo os compostos **19** com rendimentos moderados (Esquema 5).

Esquema 5.



$\text{R} = 4\text{-CH}_3, 2\text{-Cl}, 3\text{-F}, 4\text{-F}, 3\text{-OCH}_3, 2\text{-NO}_2, 3\text{-NO}_2, 2,4\text{-Cl}, 2,3\text{-OCH}_3,$

19

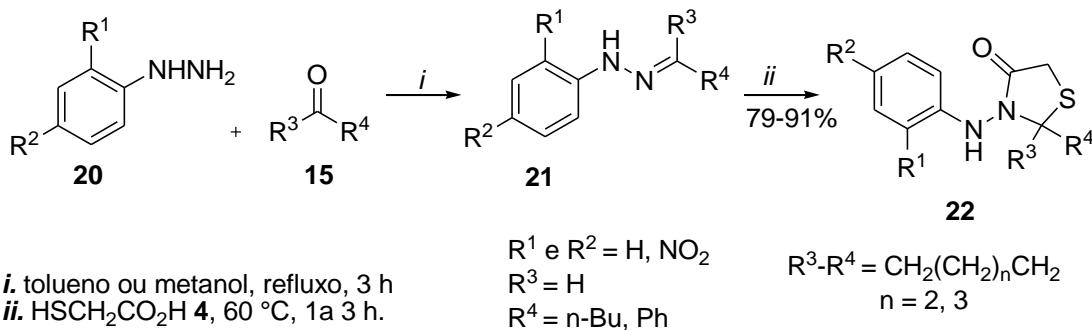
$3,4\text{-OCH}_3, 2\text{-Cl-6F}$

i. Tolueno, BF_3 : MeOH, peneiras moleculares, 80 °C, 3 h

ii. $\text{HSCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ **4**, peneira molecular, 80 °C, 16 h

Por outro lado, uma metodologia diferente de síntese livre de solvente foi descrita por Neuenfendt et al., 2010 a qual realizaram o procedimento sintético em duas etapas, primeiramente ocorreu à formação e isolamento da hidrazonas **21** através da reação de condensação entre a hidrazina **20** e o aldeído ou cetona **15** em refluxo de tolueno ou metanol por 3 horas, utilizando o aparelho de *Dean Stark* para a remoção da água, após realizou-se a segunda etapa a partir da hidrazonas **21** utilizando um excesso de ácido mercaptoacético **4** através da reação ciclocondensação, livre de solvente e a 60 °C durante um período de 1-3 horas, sendo obtido o produto **22** com bons rendimentos (Esquema 6).

Esquema 6.



i. tolueno ou metanol, refluxo, 3 h
ii. $\text{HSCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ **4**, 60 °C, 1a 3 h.

$\text{R}^1 \text{ e } \text{R}^2 = \text{H, NO}_2$

$\text{R}^3 = \text{H}$

$\text{R}^3\text{-R}^4 = \text{CH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_2$

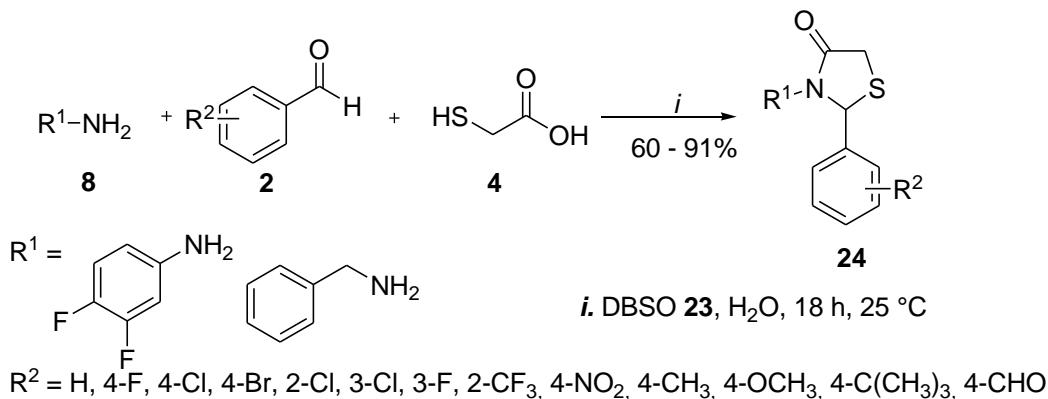
$\text{R}^4 = \text{n-Bu, Ph}$

$n = 2, 3$

Outro trabalho bastante interessante foi realizado por Prasad et al., 2012 o qual realizou uma série de tiazolidinonas através da reação multicomponente em

meio aquoso (3 mL). Na síntese da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona **24** utilizou aminas primárias alifáticas ou aromáticas **3** com benzaldeídos substituídos **2** e o ácido mercaptoacético **4** à temperatura ambiente com o ácido *p*-dodecilbenzenossulfônico (DBSA 10 %) **23** atuando como um eficiente surfactante catalisador ácido de Brønsted (Esquema 7). O catalisador possuir um interior hidrofóbico e um núcleo exterior hidrofílico aumentando a capacidade de formar gotículas de emulsão com substratos orgânicos em meio aquoso, eliminando do meio as moléculas de água geradas durante a reação.

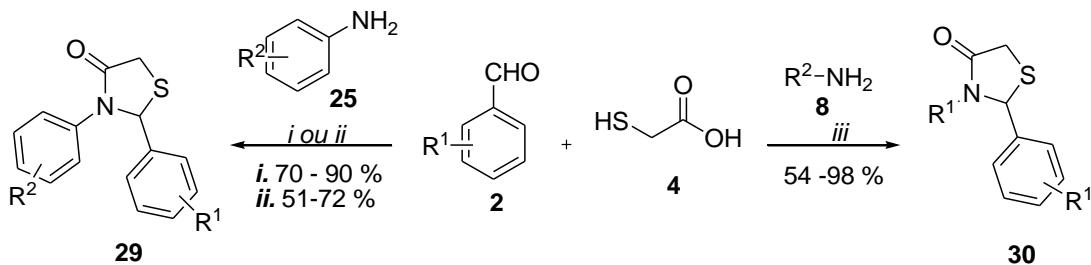
Esquema 7.



Além disso, diversas pesquisas na literatura revelam a utilização de catalisadores na obtenção da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona atuando a fim de acelerar a reação, como exemplo, o trabalho de Foroughifar et al., 2013 que emprega o catalisador metálico Bi(SCH₂COOH)₃ (10%) **26**, o trabalho de Zheng et al., 2013 utilizando a enzima tripsina de pâncreas de suínos **28** (PPT 20 mg) como biocatalisadores e o trabalho de Pratap et al., 2011 empregando a *Saccharomyces cerevisiae* **27** (fermento de pão) como biocatalisador, visto que é facilmente disponível e de baixo custo (Esquema 8).

O catalisador coordena-se ao oxigênio da carbonila aumentando a eletrofilicidade e facilitando a formação da imina e a formação do anel da tiazolidinona. Na reação empregando o catalisador metálico a síntese foi realizada através da reação em “one-pot” livre de solvente em temperatura ambiente por 2 horas. Na reação empregando biocatalisadores necessitou de diversos estudos reacionais para aperfeiçoar a reação, sendo realizada a síntese com o PPT em diclorometano a 35 °C por 4 horas e com fermento de pão em tetrahidrofurano (THF) a temperatura ambiente por 40 horas, ambos obtendo 4-tiazolidinona **29** e **30** com bons rendimentos.

Esquema 8.



- i. Bi(SCH₂COOH)₃ 10 % **26**, 25 °C, 2 h
- ii. *Saccharomyces cerevisiae* **27**, THF, 25 °C, 40 h
- iii. PPT 20 mg **28**, CH₂Cl₂, 35 °C, 3 h

2.3. Metodologias alternativas para a obtenção da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona

Além das rotas sintéticas de aquecimento convencional as 4-tiazolidinonas vêm sendo obtidas através de metodologias alternativas como por exemplo, o uso de ultrassom e de micro-ondas, que visam diminuir não somente o tempo de reação, mas também a geração de resíduos gerados pela síntese, com isso essas metodologias vem ganhando um espaço na química orgânica na busca de amenizar os danos ambientais, visando metodologias menos agressivas para a obtenção de moléculas orgânicas.

2.3.1. Ultrassom

A aplicação do ultrassom para a obtenção de produtos químicos é um processo chamado de sonoquímica, que tornou-se um campo interessante de pesquisa durante os últimos anos, o qual tem sido utilizado para acelerar uma variedade de reações químicas, como por exemplo a síntese de heterociclos (Duarte et al., 2010).

O ultrassom é definido como um som a uma frequência superior aquela que o ouvido humano pode perceber, com frequências sonoras iguais ou superiores a 20 Hz, e quando as ondas sonoras com suficiente amplitude se propagam através de sucessivos ciclos de compressão e expansão no líquido que está sujeito às mudanças de densidade alternando ondas propagadas no meio da reação (Figura 6) (Xu et al., 2013 e Golmohamadi et al., 2013).

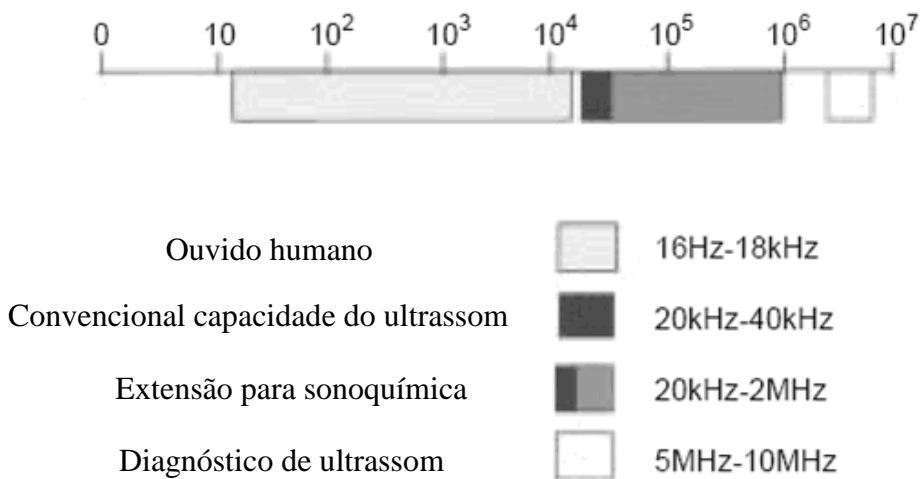


Figura 6: Frequências sonoras em (kHz).

Quando as ondas sonoras com suficiente amplitude se propagam através de um líquido surge uma interação direta entre as espécies químicas e as ondas sonoras de alta intensidade que pode ser utilizado para a produção de novos compostos. O aumento da eficiência para a obtenção de moléculas orgânicas por ultrassom é atribuído ao fenômeno de cavitação, o qual é responsável pela formação, crescimento e colapso de bolhas num líquido irradiado (Figura 7) (Xu et al., 2013 e Gouvêa et al., 2012).

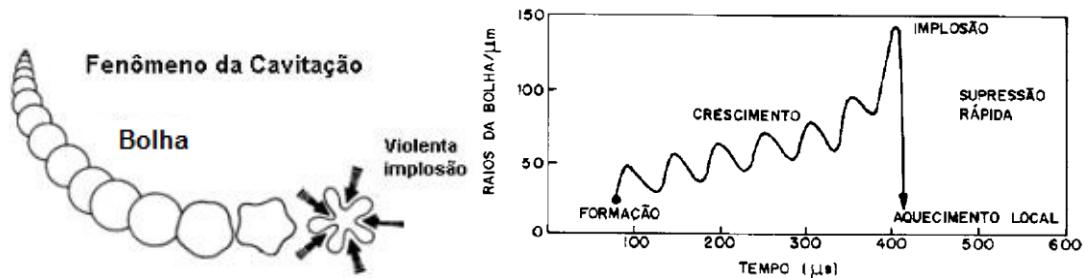


Figura 7: Fenômeno de cavitação.

No líquido irradiado contendo partículas sólidas dispersas ocorre à formação de bolhas ou fendas cheias de gás que oscilam devido ao campo sonoro aplicado. Os gases são absorvidos nos poros das partículas e durante os processos de compressão e expansão, sendo que o primeiro ocorre em pressão positiva e o segundo em pressão negativa, os gases irão migrar para fora da partícula formando cavidades ou microbolhas no centro do líquido. O crescimento da cavidade da bolha ocorre até atingir um tamanho crítico sendo liberada uma grande concentração de energia durante o colapso, o que resulta na produção de pontos quentes únicos que podem alcançar temperaturas superiores a 5000 K, pressões superiores 2000 atm,

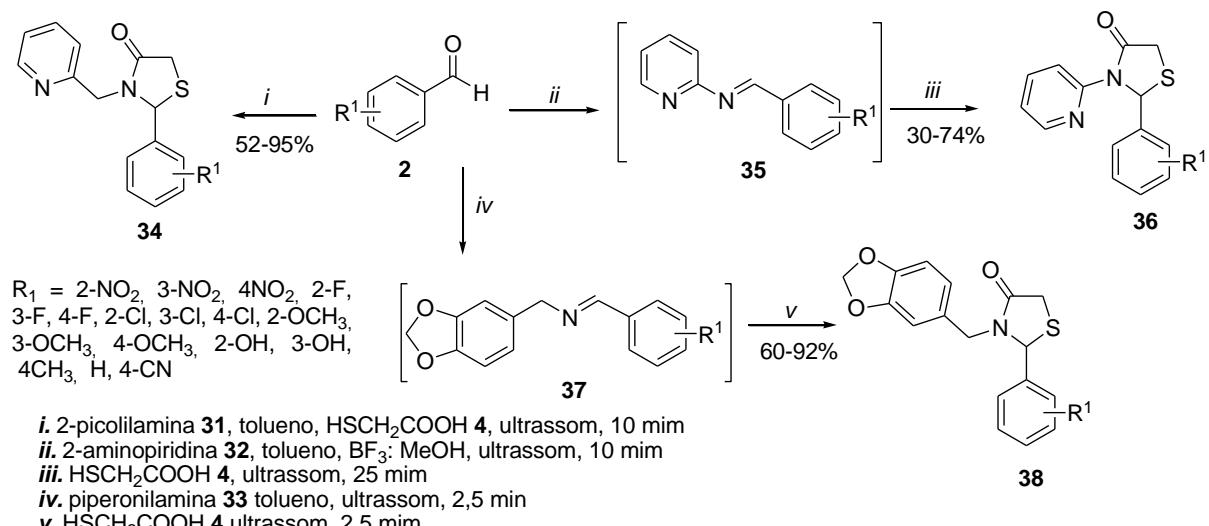
sendo esta energia dispersa para o meio reacional durante o colapso da bolha (Patel et al., 2010, Rooze et al., 2013 e Pal et al., 2013).

2.3.2. Síntese de 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona com o uso de ultrassom

O grupo de pesquisa LaQuiABio foi o primeiro a desenvolver uma metodologia sintética em ultrassom para a obtenção do anel da tiazolidinona. Assim, muitos estudos vêm sendo realizados pelo grupo empregando diferentes aminas, como por exemplo, no trabalho de Gouvêa et al., 2012 utilizando a 2-picolinilamina **31** e a 2-aminopiridina **32**, e no trabalho de Neuenfeldt et al., 2011, utilizando a piperonilamina **33** (Esquema 9).

A síntese da tiazolidinona **34** foi realizada através da reação em multicomponente utilizando benzaldeídos substituídos, ácido mercaptoacético e a 2-picolinilamina **31** em 10 min. A síntese também foi realizada através da reação em “one-pot” para as aminas 2-aminopiridina **32** e piperonilamina **33** onde o ácido mercaptoacético **4** foi adicionado após 10 mim e 2,5 mim de reação respectivamente, porém devido a baixa reatividade nucleofílica da amina aromática 2-aminopiridina **36** foi necessário a presença do ácido de Lewis (BF_3 : MeOH a 50%) para que ocorresse a formação da imina **35**, sendo o produto **36** e **38** obtido após 25 mim e 5 mim respectivamente.

Esquema 9.



2.3.3. Micro-ondas

A aplicação de micro-ondas em escala laboratorial vem ganhando espaço na síntese orgânica nos últimos anos. As primeiras reações eram realizadas em forno de micro-ondas de cozinha (multimodo), onde o frasco selado era colocado no aparelho, porém não se tinha um controle de pressão e o recipiente sofria dilatação ou explosão devido às condições de irradiação causando acidentes. Após esses relatos iniciais, inúmeros trabalhos foram realizados com o aperfeiçoamento dessa metodologia e as reações orgânicas foram possíveis de ser realizadas com sucesso (Sanseverino et al., 2002).

As micro-ondas são radiação eletromagnética que abrange as frequências entre 30 GHz e 300 MHz, isto é, abrange o intervalo de comprimentos de onda a partir de 1 m a 1 cm. A região de micro-ondas situa-se entre a região de infravermelho e ondas de rádio no espectro eletromagnético (Figura 8) (Horikoshi et al., 2014).

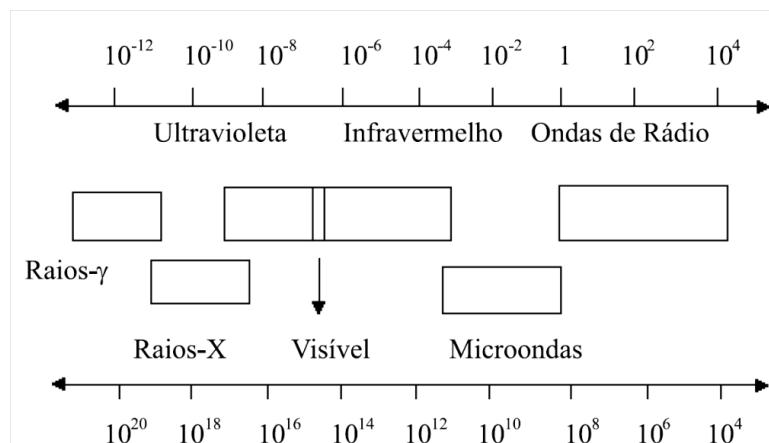


Figura 8: Localização da região de micro-ondas no espectro eletromagnético.

O surgimento de reatores de micro-ondas específicos para as reações orgânicas é uma tecnologia inovadora para a química e seu uso tornou-se difundido nos últimos anos, sendo uma tecnologia que continua a evoluir rapidamente. Essa metodologia tem como principal vantagem à possibilidade de controle de temperatura e pressão, além de poder utilizar a distribuição das micro-ondas de forma homogênea (monomodo) sobre a amostra garantindo segurança e reproduzibilidade dos experimentos (Brittany et al., 2002 e Sanseverino et al., 2002).

O aquecimento desses equipamentos, também chamado de aquecimento dielétrico, ou seja, ocorre por condução, irradiação e convecção, isso porque existem dois mecanismos capazes de transformar a energia eletromagnética em

calor. O primeiro deles está relacionado à rotação de dipolo onde as moléculas são alinhadas com um campo elétrico aplicado e outro mecanismo é de condução iônica onde o calor é gerado pelas perdas por fricção, ou seja, através da migração de íons dissolvidos e a interação destes com o solvente (Sanseverino et al., 2002).

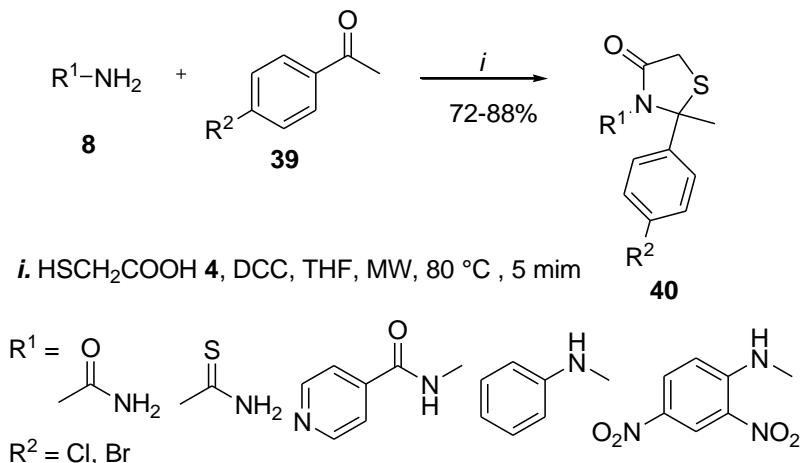
A escolha do solvente pode ser um fator crucial para o resultado, isso porque a polaridade do solvente desempenha um papel significativo nas reações assistidas por micro-ondas. Um solvente polar é necessário quando os reagentes não absorvem muito a energia de micro-ondas, sendo a mistura de reação mais polar, maior é a sua capacidade para acoplar com a energia de micro-ondas, conduzindo a um aumento mais rápido da temperatura interna. Por outro lado, o solvente apolar não absorve a energia de micro-ondas com muita eficiência, porém eles podem agir como um dissipador de calor. As misturas de reação que são sensíveis à temperatura se beneficiarão enormemente com essa capacidade, como o solvente apolar vai ajudar a afastar o calor térmico que está sendo produzido a partir da interação entre a energia de irradiação de micro-ondas, mas a sua temperatura interna permanecerá baixa (Brittany et al., 2002).

Na medida em que as micro-ondas são ondas eletromagnéticas que se movem nas moléculas polares o tempo para a geração de calor é consideravelmente reduzido em relação ao aquecimento convencional. Em geral substâncias polares absorvem bem micro-ondas, enquanto que substâncias menos polares ou com dipolo nulo absorvem micro-ondas fracamente (Horikoshi et al., 2014 e Sanseverino et al., 2002).

2.3.4. Síntese de 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona com o uso de micro-ondas

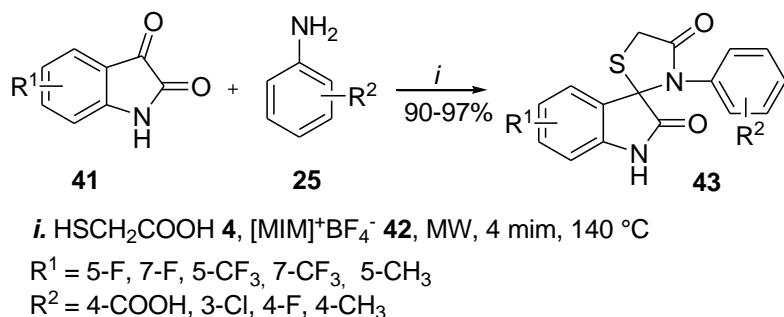
A técnica de irradiação de micro-ondas é atualmente usada para realizar uma ampla gama de reações químicas como por exemplo, a síntese das tiazolidinonas através da reação multicomponente. Assim, Senthilraja et al., 2014 realizaram uma série de 2,3-dissubstituídas-tiazolidin-4-onas **40** sintetizados a partir das aminas **8** apropriadas, cetonas substituídas **39** e ácido mercaptoacético **4** na presença de DCC em THF anidro com agitação vigorosa e submetida a calor sob irradiação de micro-ondas a temperatura de 80 °C durante 5 min, obtendo os produtos **40** com bons rendimentos (Esquema 10).

Esquema 10.



Arya et al., 2012 sintetizaram tiazolidinonas através da reação multicomponente num aparelho de micro-ondas (CEMDiscover) empregando na reação o líquido iônico como catalisador derivado do ácido de Brønsted, sendo otimizado para a realização da série o 1-metilimidazol tetrafluoroborato ($[\text{MIM}]^+\text{BF}_4^-$) **42**. Na síntese da espiro [índole-tiazolidinona] **43** utilizou-se indol-2,3-diona substituídas **41**, ácido mercaptoacético **4**, anilinas substituídas **25** e o líquido iônico **42** colocados em um recipiente apropriado com tampa de rosca de teflon, mantido por um tempo de 4 mim na temperatura de 140°C , sendo a reação livre de solvente (Esquema 11).

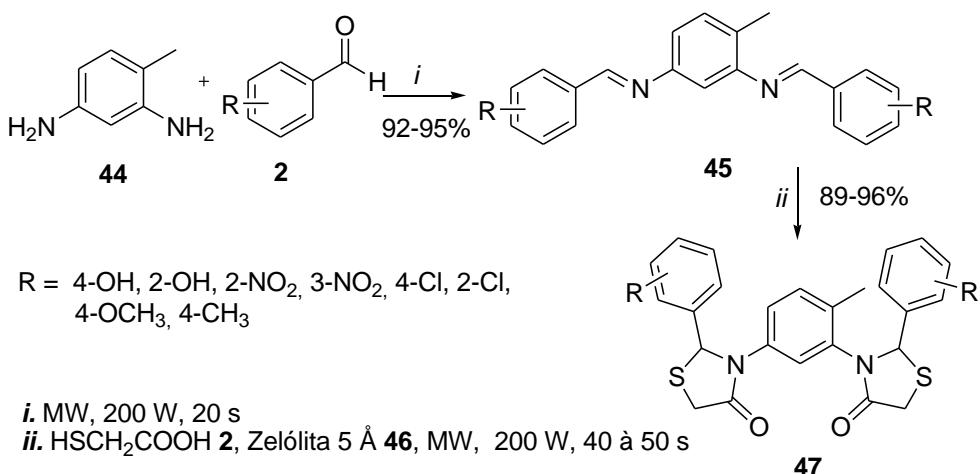
Esquema 11.



Em outro trabalho Meshram et al., 2010 realizaram a síntese de *bis*-tiazolidinonas **47**, livre de solvente, através da reação em duas etapas utilizando zeólitas 5 Å **46** como catalisador ácido sólido de alumina-silicato, o qual absorve as moléculas de água. Primeiramente, as bases de Schiff **45** foram obtidas utilizando tolueno-2,4-diamina **44** e benzaldeídos substituídos **2**, sendo realizada a em sistema aberto sob irradiação de micro-ondas na temperatura de 120°C , na potência de 200 W e durante 20 segundos, após a isolou-se a *bis*-imina **45** realizando a

recristalização em metanol. Posteriormente, sintetizou a *bis*-tiazolidinona **47** a partir da imina isolada com ácido mercaptoacético **4** e a zeólita 5 Å **46**, sob irradiação de micro-ondas na temperatura de 120 °C, na potência de 200 W e durante 40-50 segundos, onde o produto obtido foi recristalizado em metanol. A zeólita **46** foi recuperada por filtração podendo ser reutilizada por sete vezes, sem perder suas propriedades (Esquema 12).

Esquema 12.



2.4. Estereoquímica e reatividade da 4-tiazolidinonas

As 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas possuem um carbono assimétrico C2, o qual a molécula pode ser R ou S, dependendo do arranjo espacial. Além disso, esse núcleo possui duas conformações estruturais, sendo a mais estável na forma de envelope. Dentro desse contexto, Tripathi et al., 2014 descreveram um estudo conformacional da molécula com dois diastereoisômeros (Figura 9), o qual descobriram que a configuração descoberta mais estável era a estrutura **48**, em que o hidrogênio do carbono 2 esta em posição equatorial do anel, devido a presença do grupo fenila na posição axial evitando o impedimento estérico ao grupo piridina (Py).

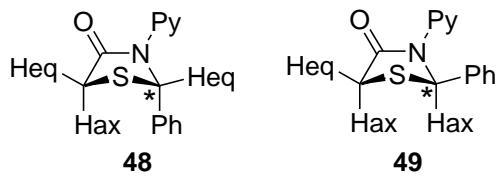


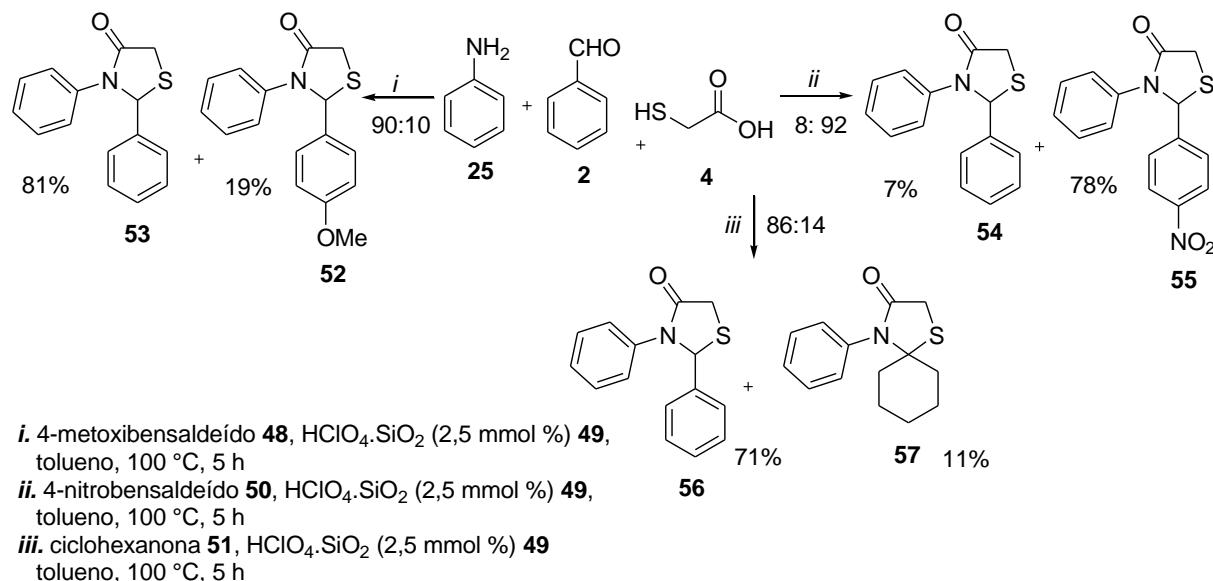
Figura 9: Estereoquímica da 4-tiazolidinona.

A estereoquímica de uma molécula é importante para compreender as interações que estão ocorrendo no anel, porém a formação da tiazolidinona depende

da natureza eletrofílica do carbono da carbonila e melhor nucleofilicidade da amina, para a obtenção do intermediário imina. Em vista disso, o trabalho de Kumar et al., 2013 verificou a seletividade das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona e desenvolveu um estudo utilizando aminas, benzaldeídos, cetonas e ácido mercaptoacético empregando diferentes ácidos próticos em sílica como catalisador da reação, sendo escolhido o $\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$ **49** na quantidade de 2,5 mmol%, na temperatura de 100 °C e como solvente o tolueno para a realização de uma série de tiazolidinonas.

Os autores realizaram a síntese das tiazolidinonas através da reação multicomponente entre a amina aromática **25**, benzaldeído **2**, ácido mercaptoacético **4** e cetonas **51** ou benzaldeído substituídos **48** e **50** com grupo retirador ou doador de elétrons (Esquema 13). A seletividade foi verificada na formação de um composto em maior proporção a outro após a purificação por cromatografia em coluna. O melhor resultado encontrado foi com para o produto **66**, sendo na razão seletiva de 8:92, onde a presença de grupos retiradores de elétrons deixa carbonila mais reativa, ou seja, mais eletrofílica favorável ao ataque do nucleófilo.

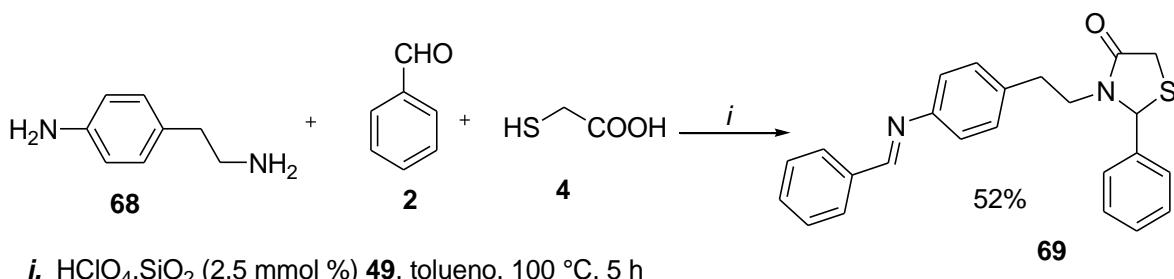
Esquema 13.



Posteriormente, realizou-se a síntese através da reação multicomponente entre benzaldeído, 4-(2-aminoetil)benzanamine **68** e o ácido mercaptoacético **4** para a obtenção da tiazolidinona **69** (Esquema 14). Na reação ocorre a formação de dois produtos, formados a partir da competição nucleofílica entre os nitrogênios da amina, com alta seletividade do produto formado a partir do ataque nucleofílico do

nitrogênio ligado ao carbono sp_3 . Visto que, o nitrogênio ligado a carbono sp_2 é menos reativo, uma vez que o par de elétrons encontra-se comprometido com o anel. Uma purificação por cromatografia em coluna foi realizada para a separação dos produtos.

Esquema 14.



2.5. Importância do heterociclo da 4-tiazolidinona na química medicinal

Quase todos os compostos que conhecemos contém anéis heterocíclicos como, por exemplo, fármacos, vitaminas e muitos produtos naturais. A importância dos compostos heterocíclicos, principalmente anéis de cinco e seis membros, têm sido muito reconhecidos no campo da química orgânica sintética e da química medicinal. A palavra grega heteros, que significa " diferente ", ressalta a presença de átomos na estrutura do anel, tais como N, O, S, Se, P, Si e B, denominados de heteroátomos. Assim, um exemplo, é o heterociclo da 4-tiazolidinona, contendo os átomos de N e S, sendo a unidade ativa ou grupo farmacofórico da molécula responsável por uma gama ampla de atividades farmacológicas como, por exemplo, a atividade antimicrobiana (Vinay et al., 2011 e Chandramohan et al., 2012).

Além disso, o aparecimento de resistência aos antifúngicos e antibióticos disponíveis atualmente no mercado, bem como o crescimento do número de casos de morte causados por infecções hospitalares, levou a procura por novos agentes terapêuticos. Por outro lado, o processo de criação de um novo medicamento é extremamente complexo e envolve vários fatores limitantes como por exemplo, a toxicidade. No entanto, a química medicinal busca estabelecer uma relação entre a estrutura química e a atividade biológica, sendo a área dedicada ao desenvolvimento e à descoberta de novos fármacos para o tratamento de inúmeras doenças (Vinay et al., 2011).

2.5.1. Estudo da atividade antimicrobiana da 4-tiazolidinona

Diferentes classes de agentes antibacterianos e antifúngicos foram descobertas durante os últimos vinte anos, porém a resistência microbiana tem restringido a eficácia dos mesmos, limitando a sua utilização. Essa situação evidencia a necessidade do desenvolvimento de novos, potentes e seguros agentes antimicrobianos (Shigade et al., 2013).

O núcleo da 4-tiazolidinona é descrito por Patel et al., 2014 como “núcleo maravilha” devido as diversas atividades biológicas descritas na literatura, tais como a antimicrobiana. Esta atividade também está presente na Base de Schiff, ou seja, a imina intermediária da reação desse anel heterociclo.

Desta forma, após sintetizar as 4-tiazolidinonas, avaliou-se através do método de microdiluição em caldo, a atividade antibacteriana contra cepas Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*) e Gram positivas (*S. aureus* e *S. pyogenes*) e a atividade antifúngica contra as cepas de *C. albicans*, *A. niger* e *A. clavatus*. Os fármacos utilizados como padrão foram a griseofulvina (antifúngico) e a ampicilina (antibacteriano).

Os resultados demonstraram excelente atividade antimicrobiana para os compostos **70** e **71** (Figura 10) com valor de concentração inibitória mínima (CIM) igual a 62,5 µg/mL contra a bactéria *E. coli*, obtendo resultado melhor que o do padrão (CIM=100 µg/mL). O composto **71** também teve resultado satisfatório contra a bactéria *S. pyogenes*, com valor de CIM=100 µg/mL comparado com o padrão (CIM=250 µg/mL). A atividade antifúngica dos compostos **72** e **70** contra o fungo *C. albicans* apresentaram valores de CIM=100 µg/mL e CIM=250 µg/mL, respectivamente, ambos melhores que o padrão (CIM=500 µg/mL).

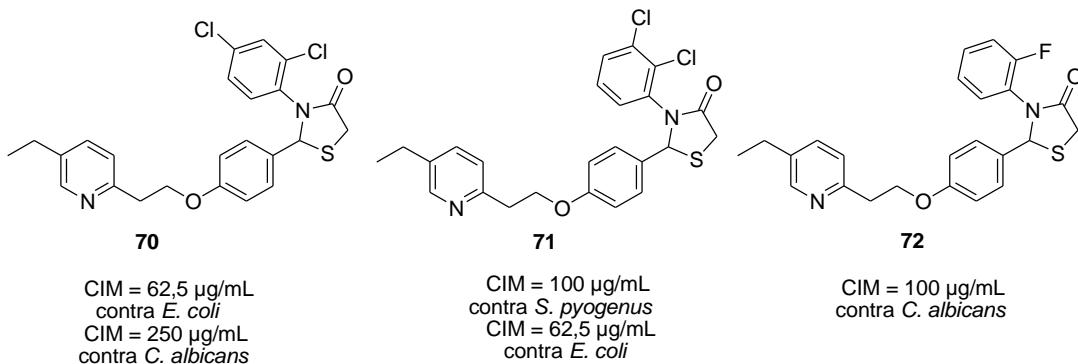


Figura 10: Estrutura da 4-tiazolidinona **70**, **71** e **72**.

Shingade et al., 2013 sintetizaram as 4-tiazolidinonas derivadas da piperazina que, de acordo com a literatura, apresentam diversas aplicações na química medicinal como a atividade antimicrobiana, visando assim potencializar a atividade do anel. O teste da atividade antimicrobiana foi realizado, pelo método de microdiluição em caldo, com cepas bacterianas de *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e fúngicas de *C. albicans*, *A. niger*, *A. flavus*, *R. solani*, *T. viride*, entre outras. Os fármacos utilizados como padrão foram a ciprofloxacina ($\text{CIM}=2,34 \mu\text{g/mL}$) para bactérias e o clotrimazol ($\text{CIM}=2,34 \mu\text{g/mL}$) para fungos.

O estudo foi realizado somente com grupos doadores de elétrons em diferentes posições, onde a presença destes grupos na posição 4 potencializou a atividade antimicrobiana. O composto **73** mostrou-se com melhor atividade antibacteriana ($\text{CIM}=4,68 \mu\text{g/mL}$) contra as diferentes bactérias *B. subtilis*, *P. vulgaris* e *E. coli*. Entretanto, o composto **74** foi o que apresentou melhor resultado para a atividade antifúngica ($\text{CIM}=9,37 \mu\text{g/mL}$) contra diferentes fungos *C. albicans*, *R. solani* e *A. flavus* (Figura 11).

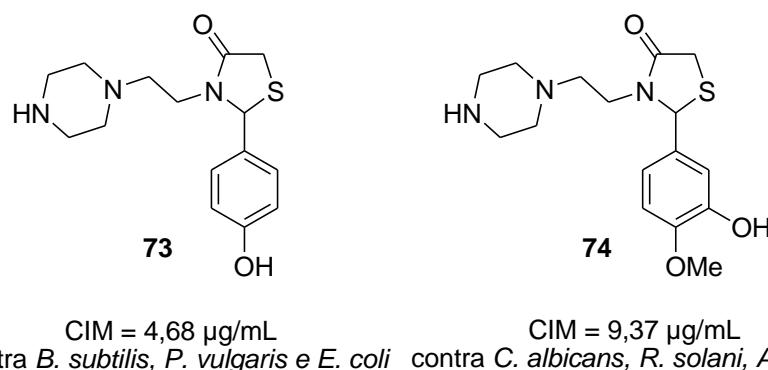


Figura 11: Estrutura da 4-tiazolidinona **73** e **74**.

Em outro trabalho, Nandagokula et al., 2013 sintetizaram as 4-tiazolidinonas derivadas de fenilhidrazonas devido as hidrazonas serem potentes agentes antimicrobianos, capazes de inibir uma variedade de espécies de bactérias e fungos. Com base nestes fatos os autores realizaram o estudo da atividade antimicrobiana contra as bactérias *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. cereus* e o fungo *C. albicans*, pelo método de diluição em série realizado em placa. Os fármacos penicilina ($\text{CIM}=0,12 \mu\text{g/mL}$) e fluconazol ($\text{CIM}=8,0 \mu\text{g/mL}$) foram utilizados como padrão para bactérias e fungo, respectivamente.

A investigação antibacteriana revelou que todos os compostos testados mostraram de moderada a boa atividade com uma variação de CIM entre 3,125 a 25 µg/mL contra todas as cepas de bactérias, sendo os compostos **75** e **77** os mais potentes para a *P. aeruginosa*.

Os dados da atividade antifúngica tiveram uma variação de 1,562 a 12,5 µg/mL, sendo o composto **76** com atividade cinco vezes maior que o padrão fluconazol (Figura 12). Portanto, realizou-se o teste de toxicidade para o composto **76**, onde esse foi considerado não tóxico até a dose de 2500 mg/Kg.

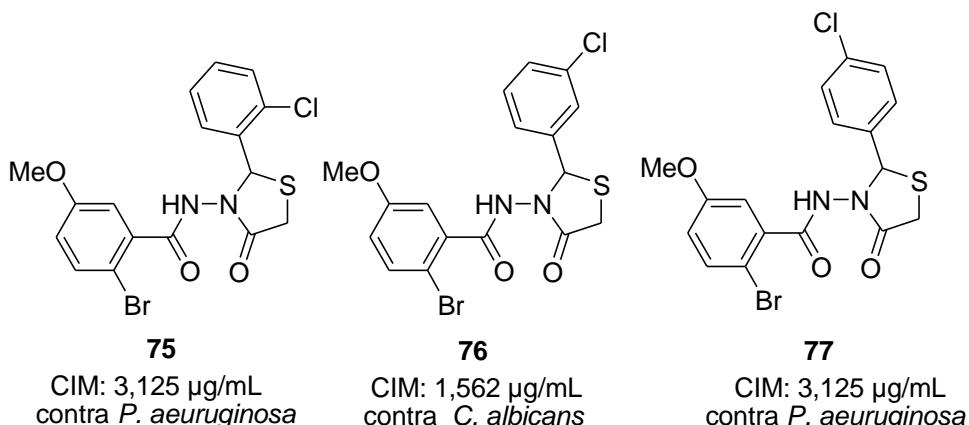


Figura 12: Estrutura da 4-tiazolidinona **75**, **76** e **77**.

A introdução de antifúngicos de azol representa um grande avanço no tratamento de infecções fúngicas, onde vários antifúngicos são utilizados no tratamento de candidíase. No entanto, existem relatos na literatura de resistência de algumas cepas a estes quimioterapêuticos.

Desta forma, recentemente, Marques et al., 2014 realizaram um estudo da atividade antifúngica, das 3-(heteroaril-2-ilmetil)tiazolidinonas de acordo com o método descrito no documento M27-A3 (CLSI, 2008), contra seis leveduras: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus laurentii*, *Trichosporon asahii* e *Rhodotorula*, sendo o fármaco fluconazol utilizado como padrão.

Além disso, também foi realizada a análise de citotoxicidade contra a linha de células de fibroblasto (NIH/3T3), a qual todos os compostos preservaram sua viabilidade, sendo não tóxicos mesmo em concentrações mais elevadas (787 µg/mL). Os resultados demonstraram os melhores valores de CIM para tiazolidinona **78** contra *T. asahii* (CIM=10,4 µg/mL) e contra *Rhodotorula sp* (CIM=35 µg/mL) (Figura 13).

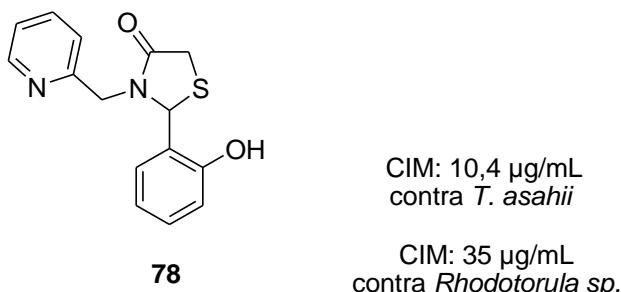


Figura 13: Estrutura da 4-tiazolidinona **78**.

No trabalho de Kunzler et al., 2013 realizou-se a síntese e a avaliação da atividade antifúngica de tiazolidinonas derivadas da piperidina, o qual estudos *in vitro* foram realizados contra sete espécies de fungos: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus laurentii*, *Geotrichum*, *Trichosporon asahii* e *Rhodotorula sp*, sendo o fármaco fluconazol utilizado como padrão. Os melhores resultados foram para os compostos **79** e **80** com CIM=16,5 µg/mL e o composto **81** com CIM=25 µg/ mL contra a cepa fúngica *Rhodotorula sp*, apresentando atividade melhor ou semelhante ao padrão. Além disso, as tiazolidinonas mostraram baixo efeito citotóxico em linhagem de células Vero. O composto **81** mostrou o melhor resultado, ou seja, o menos citotóxico da série, sendo este superior a 787 mg/mL (Figura 14).

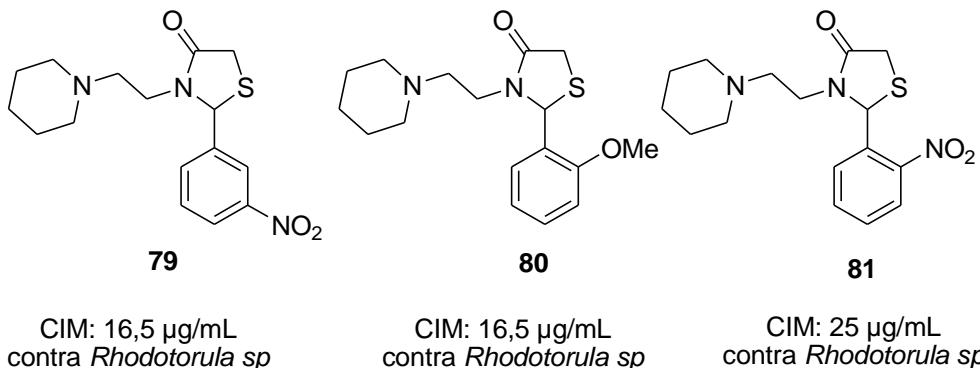


Figura 14: Estrutura da 4-tiazolidinona **79**, **80** e **81**.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Reagentes e solventes utilizados

3.1.1. Solventes

- ✓ Acetato de Etila
- ✓ Diclorometano
- ✓ Hexano
- ✓ Tolueno

3.1.2. Sais

- ✓ Bicarbonato de Sódio
- ✓ Sulfato de Magnésio

3.1.3. Reagentes

- ✓ Ácido mercaptoacético
- ✓ 1-(2-aminoetil)pirrolidina
- ✓ 2- Nitrobenzaldeído
- ✓ 3- Nitrobenzaldeído
- ✓ 4- Nitrobenzaldeído
- ✓ 2- Fluorobenzaldeído
- ✓ 3- Fluorobenzaldeído
- ✓ 4- Fluorobenzaldeído
- ✓ 2- Clorobenzaldeído
- ✓ 3- Clorobenzaldeído
- ✓ 4- Clorobenzaldeído
- ✓ 2- Metoxibenzaldeído
- ✓ 3- Metoxibenzaldeído
- ✓ 4- Metoxibenzaldeído
- ✓ *p*- tolualdeído
- ✓ salicilaldeído
- ✓ 3-Hidroxibenzaldeído
- ✓ 4-Hidroxibenzaldeído
- ✓ 2,3-metoxibenzaldeído

- ✓ 2,4-metoxibenzaldeído
- ✓ 2,6-diclorobenzaldeído
- ✓ 2-cloro-6-fluorobenzaldeído
- ✓ 2,4-clorobenzaldeído

3.2. Equipamentos utilizados

3.2.1. Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de 1D-RMN foram obtidos utilizando o espectrômetro Bruker Ac-200F (^1H de 200MHz e ^{13}C de 50 MHz), em clorofórmio deuterado (CDCl_3), contendo trimetilsilano (TMS) como padrão interno. As análises de 1D-RMN de próton ^1H e carbono ^{13}C , foram obtidas na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), para a caracterização dos compostos **5a-u**. Os espectros de 2D-RMN foram obtidos utilizando o espectrômetro Bruker Ac-200F (250 MHz) em clorofórmio deuterado (CDCl_3), contendo trimetilsilano (TMS) como padrão interno. As análises dos espectros em 2D-NMR Manager (COSY, HSQC and HMBC), foram obtidos na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) para o composto **5b**. O processamento dos espectros ocorreu por meio do arquivo FID utilizando o programa *Magnetic Ressonance Companion* (MestReC) NMR Manager e Advanced Chemistry Development (ACD 1D NMR Manager).

3.2.2. Espectrômetro de Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas

Os cromatogramas foram obtidos em um cromatógrafo a gás da marca *Shimadzu Gas Chromotograph CG-2010*, coluna de síntese HP-1 30 m x 0,32 mm x 0,25 μm . Os espectros de massas foram obtidos em um aparelho de *Shimadzu CG2010-plus*, com injetor automático CG-MS-QP2010SE System AOC-20i, coluna RDS-SMS 30 m x 0,32 mm x 0,25 μm , na Universidade Federal de Pelotas.

3.2.3. Espectrômetro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS)

Os espectros de massa foram obtidos em um espectrômetro de massa LTQ Orbitrap Discovery (Thermo Fisher Scientific). Este sistema híbrido encontra o íon linear espectrômetro de massa de armadilha de LTQ XL e analisador de massa Orbitrap. Os ensaios foram realizados através de infusão direta da amostra (fluxo: 10

$\mu\text{L}/\text{min}$) no modo de íon positivo usando ionização por eletronspray. Os cálculos da composição elementar para comparação foram executados utilizando a ferramenta específica incluída no QualBrowser do software Xcalibur (Thermo Fisher Scientific 2.0.7).

3.2.4. Aparelho de Ultrassom

O aparelho de ultrassom da marca Sonics Vibra-cell, modelo VC 500, serial Nº 480357, 500 W, frequência 20 Hz, 220 V com o uso de um probe com microtip cônicos de 3 mm (1/8 polegada, volume de 1-10 mL, intensidade ultra alta, amplitude máxima de 40 %, comprimento de 159 mm).

3.2.5. Aparelho de Micro-ondas

O aparelho de micro-ondas da marca CEMDiscovery-SP W/Activent, modelo Nº 909150, serial Nº DC8141, volts.: 90/140 vac Max Cur.: 7.3 A, freqüência 50/60 Hz, Max. PWR.: 725 W, MFG. DATA.: 32231, MAG. Freq.: 2455 MHz, Max. Microwave Power.: 300 W, Prod. Tag.: 2118141, 250 V.

3.2.6. Ponto de fusão

Os pontos de fusão das tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)pirrolidina, foram determinados em um aparelho da marca Fisatom, com três tubos capilares, modelo 430, 230 V, 60 Hz, 50 W. Termômetro até 360 °C.

3.3. Métodos experimentais

3.3.1. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas **5a-u** através da metodologia de aquecimento térmico convencional

Em um balão de 100 mL, conectado num sistema *Dean-Stark*, foi adicionado 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 1 mmol do benzaldeído substituído **2a-u**, sob agitação e refluxo de tolueno (70 mL) por 2 horas, para a formação do intermediário imina **3a-u**. Após, adicionou-se 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** e a reação foi mantida sob agitação e refluxo por mais 3 horas, para a formação da 4-tiazolidinona **5a-u**. A mistura de reação foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO_3 3 x 10 mL), sendo separada a fase orgânica, a qual foi seca com sulfato de magnésio anidro (MgSO_4) e o solvente removido no aparelho evaporador rotativo.

A purificação do produto bruto foi feita, quando necessário, por meio de lavagem a quente com hexano.

3.3.2. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas (5c, 5f, 5i, 5l, 5m e 5p) através da metodologia em ultrassom

Em um frasco apropriado, foi adicionado 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 1 mmol do benzaldeído *p*-substituído **2** e 10 mL de tolueno. A reação procedeu-se via sonoquímica, onde a mistura foi mantida por 3 minutos em ultrassom. Após foi adicionado 3 mmol de ácido mercaptoacético **4** e a mistura foi sonicada por mais 3 minutos. Em seguida, lavou-se a mistura de reação com solução saturada de NaHCO₃ (3 x 10 mL), recolhendo-se a fase orgânica, a qual foi seca com MgSO₄ e o solvente removido no aparelho evaporador rotativo. Os compostos **5c**, **5f**, **5i**, **5l** e **5m**, foram obtidos com excelente pureza, sem a necessidade de purificação, com exceção do composto **5p** que foi purificado com lavagem a quente de hexano/acetato de etila (8:2).

3.3.3. Procedimento geral de síntese das tiazolidinonas (5c, 5f, 5i, 5l, 5m e 5p) através da metodologia em micro-ondas

Em um frasco específico para micro-ondas, foi adicionado 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 1 mmol do benzaldeído *p*-substituído **2**, 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** e 15 mL de tolueno, sendo devidamente tampado. A reação ocorreu por meio do aparelho de micro-ondas (monomodo), onde a mistura foi mantida por 5 minutos em sistema fechado sem ar comprimido (Power Max) na temperatura de 100 °C e potência de 50 W. Posteriormente, a mistura de reação foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (3 x 10 mL) separando a fase orgânica, a qual foi seca com MgSO₄ e o solvente removido no aparelho evaporador rotativo. Os compostos **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p**, foram obtidos com excelente pureza, sem a necessidade de purificação.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Primeiramente será elucidada a numeração e a nomenclatura das 4-tiazolidinonas sintetizadas no trabalho. Em seguida, será apresentada a rota sintética empregada, onde serão discutidos o estudo das condições reacionais, metodologias utilizadas, purificação, rendimento e caracterização das substâncias.

4.1. Numeração e nomenclatura das substâncias sintetizadas

De acordo com as regras da IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) determinou-se a nomenclatura das sustâncias sintetizadas e também a partir da Tabela 1 estimou-se a numeração adotada para as 4-tiazolidinonas **5a-u** dessa dissertação.

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias sintetizadas.

	Estrutura	Nomenclatura
5a		2-(2-nitrofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-yl)etyl)tiazolidin-4-oná
5b		2-(3-nitrofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-yl)etyl)tiazolidin-4-oná
5c		2-(4-nitrofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-yl)etyl)tiazolidin-4-oná
5d		2-(2-fluorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-yl)etyl)tiazolidin-4-oná

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias sintetizadas (continuação).

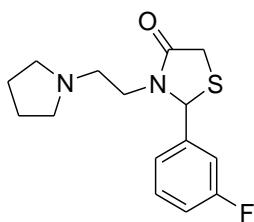
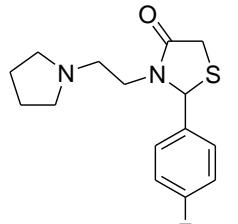
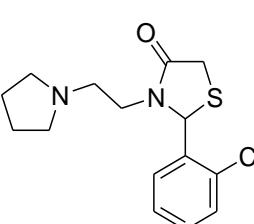
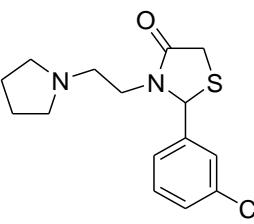
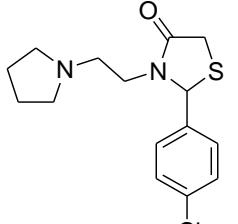
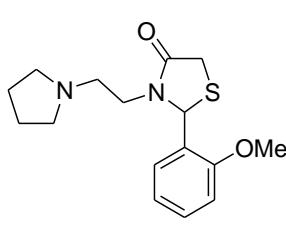
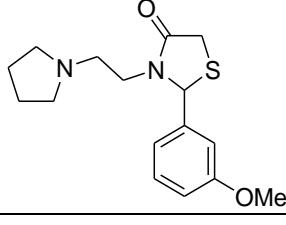
5e		2-(3-fluorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5f		2-(4-fluorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5g		2-(2-clorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5h		2-(3-clorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5i		2-(4-clorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5j		2-(2-metoxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on
5k		2-(3-metoxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)ethyl)tiazolidin-4-on

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias sintetizadas (continuação).

5l		2-(4-metoxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona
5m		3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)-2-p-tolylthiazolidin-4-ona
5n		2-(2-hidroxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona
5o		2-(3-hidroxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona
5p		2-(4-hidroxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona
5q		2-(2,3-dimetoxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona
5r		2-(2,4-dimetoxifenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias sintetizadas (continuação).

5s		2-(2,6-diclorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-oná
5t		2-(2-cloro-6-fluorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-oná
5u		2-(2,4-diclorofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-oná

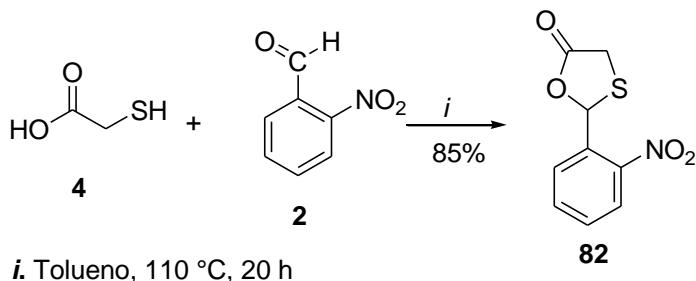
4.2. Síntese das moléculas propostas

A proposta para a síntese das 4-tiazolidinonas baseou-se em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa, a qual é realizada utilizando diferentes amina, benzaldeídos substituídos e ácido mercaptoacético. A variação da amina modifica o tempo de reação, isso porque a reatividade de aminas alifáticas é maior que aminas aromáticas. Outra questão relevante é o procedimento da reação, podendo esta ser de duas maneiras diferentes: multicomponente, onde todos os reagentes são adicionados juntos no início da reação; ou “one-pot”, onde ocorre a reação inicial entre a amina e o aldeído para a formação do intermediário imina *in situ*, com posterior adição do ácido mercaptoacético.

Nas reações de obtenção de 4-tiazolidinonas, é possível ocorrer à formação do subproduto oxatiolona **82** devido a competição nucleofílica entre o enxofre do ácido mercaptoacetico e o nitrogênio da amina. A oxatiolona é formada pela reação direta entre o ácido mercaptoacético **4** e o benzaldeído **2** (Esquema 15). O mecanismo da reação parte do ataque nucleofílico do enxofre à carbonila do benzaldeído com posterior ataque do oxigênio do benzaldeído à carbonila do ácido mercaptoacetico. A síntese desse subproduto foi realizada em refluxo de tolueno por

16 horas, de acordo com o trabalho de Cunico et al., 2008, sendo empregado como padrão na análise de Cromatografia Gasosa (CG).

Esquema 15:



4.3. Metodologia de aquecimento convencional para a síntese das 4-tiazolidinonas 5a-u

4.3.1 Estudo da Condição de Reação

O estudo da condição de reação foi baseado em trabalhos anteriores do LaQuiABio, (Neuenfeldt et al., 2010, Campos Jr et al., 2013, Kunzler et al., 2013 e Gomes et al., 2010). Kunzler et al., 2013 sintetizaram tiazolidinonas derivadas da 2-aminoetilpiperidina sendo esse um anel heterociclo semelhante ao anel da 1-(2-aminoetil)pirrolidina (Figura 15). A reação empregada no trabalho foi em “one-pot” utilizando a condição estequiométrica de 1 mmol da amina, 1 mmol de benzaldeído substituído e 3 mmol do ácido mercaptoacético, o qual foi adicionado após 2 horas do início da reação, permanecendo por um período total de 5 horas.

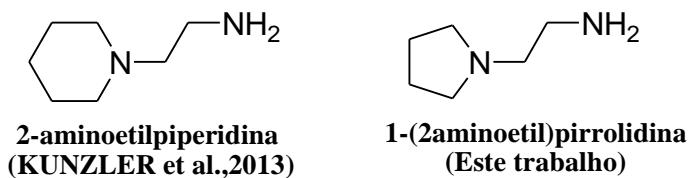


Figura 15: Moléculas de aminas heterocíclicas.

Por essa razão, as 4-tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)pirrolidina foram sintetizadas pela reação em “one-pot”, via refluxo de tolueno, utilizando o aparelho de *Dean-stark* para a remoção da água que é formada durante a reação, sendo esta removida na forma de uma mistura azeotrópica. Assim, estudaram-se diferentes condições de reação (Tabela 2), onde se escolheu o substituinte 2-nitrobenzaldeído **2a** para realizar as condições testes a fim de se obter a 4-tiazolidinona **5a**, visto que de acordo com os trabalhos realizados pelo grupo

normalmente as reações com este aldeído resultam na formação de produtos com baixos rendimentos. A possível explicação é devido à proximidade do grupo nitro a carbonila, dificultando o ataque nucleofílico do nitrogênio da amina.

A condição A enfatizou o trabalho de Kunzler et al., 2013 mantendo a mesma quantidade estequiométrica dos reagentes, adição posterior do ácido e tempo de reação. O resultado deste estudo foi bastante promissor revelando pureza elevada e um alto rendimento do produto. Porém, buscou-se estudar outras condições para verificar se a mudança na estequiometria, ou a redução do gasto energético melhorariam ou manteriam os mesmos resultados. Em vista disso, foram realizados mais três estudos de condições testes a fim de se obter o composto **5a**.

Na condição B utilizou-se 1 mmol da amina **1** e 1 mmol do 2-nitrobenzaldeído **2a**, a qual deixou-se reagir por uma hora para que ocorresse a formação do intermediário imina **3a**, e após esse período adicionou-se 1 mmol do ácido mercaptoacético **4** deixando-se reagir por mais 3 horas. A condição C foi realizada assim como a condição B, porém utilizou-se 2 mmol do ácido mercaptoacético. Por fim, testou-se uma última condição de reação utilizando excesso do aldeído (proporção equimolar 1:2:3) uma vez que o mesmo poderia sofrer oxidação. Assim, na condição D utilizou-se 1 mmol da amina **1** e 2 mmol do benzaldeído **2a**, sendo 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** adicionado após 1 hora do início da reação ficando num tempo total de 5 horas (Esquema 16). Em todas as condições testes foram realizados de hora em hora uma cromatografia (CCD).

Esquema 16:

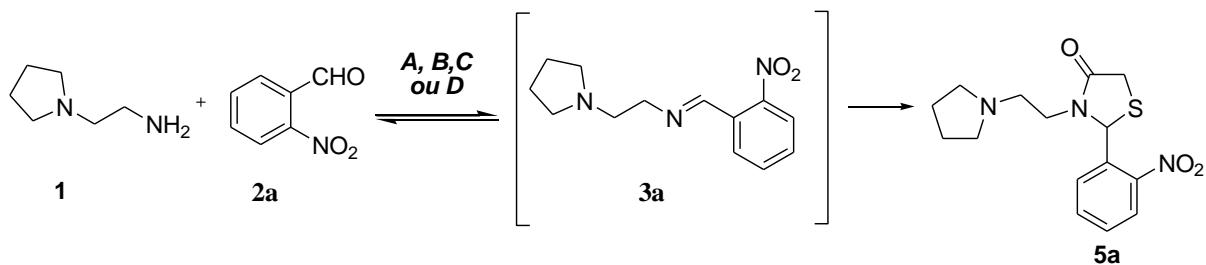


Tabela 2. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia de aquecimento térmico convencional^a.

Condição	Tempo (h)	Proporção Equimolar (amina:aldeído:ácido)	Análise por CG (%)	Conversão via CG (%)
A	2+3	1:1+3	97	89
B	1+3	1:1+1	81	69
C	1+3	1:1+2	96	76
D	1+4	1:2+3	83	70

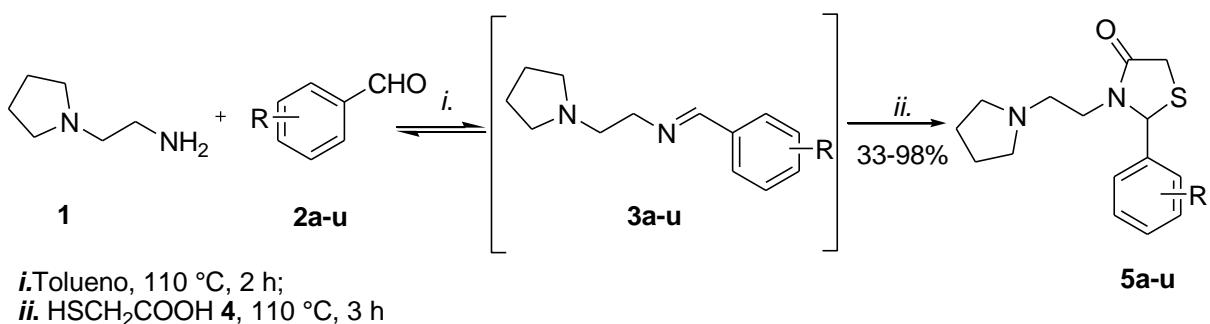
^aReação em tolueno, HSCH₂COOH (**4**) a 110 °C

Os resultados revelaram que a quantidade de ácido empregada na reação foi bastante relevante para a formação do produto, onde se verificou nas condições A e C, que o excesso do ácido auxiliou para o aumento no rendimento e pureza de acordo com a análise de CG do composto **5a**. No entanto, o aumento na quantidade de aldeído utilizado, na condição D em comparação com a condição A, não se mostrou satisfatório uma vez ocorreu redução do rendimento e de pureza. Assim, selecionou-se a condição A para a realização da série de 4-tiazolidinonas.

4.3.2. Síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas

Para a síntese das tiazolidinonas **5a-u** utilizou-se 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 1 mmol do benzaldeído **2a-u**, solubilizados em tolueno (Esquema 17), onde formou-se primeiramente o intermediário imina **3a-u**, posteriormente adicionou-se 3 mmol do ácido mercaptoacético **4**. A mistura de reação foi aquecida a temperatura de refluxo do solvente 110 °C e a reação foi monitorada por cromatografia (CCD) após 5 horas observou-se o consumo total dos reagentes.

Posteriormente, a mistura de reação foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (3x10mL), ocorrendo a formação de uma fase orgânica e outra aquosa. A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e o solvente removido no aparelho evaporador rotativo. Quando necessário realizou-se purificação dos produtos obtidos por meio de lavagem a quente de hexano ou hexano/acetato de etila (8:2).

Esquema 17:


De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, as 4-tiazolidinonas **5a-u** sintetizadas por meio da metodologia de aquecimento convencional, apresentaram bons a excelentes rendimentos.

Tabela 3. Rendimentos e pontos de fusão dos compostos sintetizados **5a-u**.

Produto	R	F.M.	P.M. (g/mol)	Rendimento ^a (%)	P.F. ^b (°C)
5a	2-NO ₂	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	321,39	89	71-73
5b	3-NO ₂	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	321,39	73	98-101
5c	4-NO ₂	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	321,39	81	Óleo
5d	2-F	C ₁₅ H ₁₉ FN ₂ OS	294,39	98	Óleo
5e	3-F	C ₁₅ H ₁₉ FN ₂ OS	294,39	64	Óleo
5f	4-F	C ₁₅ H ₁₉ FN ₂ OS	294,39	74	56-58
5g	2-Cl	C ₁₅ H ₁₉ CIN ₂ OS	310,84	69	Óleo
5h	3-Cl	C ₁₅ H ₁₉ CIN ₂ OS	310,84	97	Óleo
5i	4-Cl	C ₁₅ H ₁₉ CIN ₂ OS	310,84	69	83-86
5j	2-OCH ₃	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂ S	306,42	71	Óleo
5k	3-OCH ₃	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂ S	306,42	94	Óleo
5l^c	4-OCH ₃	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂ S	306,42	83	60-63
5m	4-CH ₃	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ OS	290,42	78	57-60
5n^c	2-OH	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂ S	292,40	71	Óleo
5o	3-OH	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂ S	292,40	85	Óleo
5p^d	4-OH	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O ₂ S	292,40	41	135-138
5q	2,3-OCH ₃	C ₁₇ H ₂₅ N ₂ O ₃ S	336,45	70	Óleo
5r	2,4-OCH ₃	C ₁₇ H ₂₅ N ₂ O ₃ S	336,45	80	Óleo

Tabela 3. Rendimentos e pontos de fusão dos compostos sintetizados **5a-u**.

5s^c	2,6-Cl	C ₁₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₂ OS	345,29	84	106-109
5t	2-Cl-6-F	C ₁₅ H ₁₈ ClFN ₂ OS	328,83	83	65-68
5u	2,4-Cl	C ₁₅ H ₁₉ Cl ₂ N ₂ OS	345,29	94	82-85

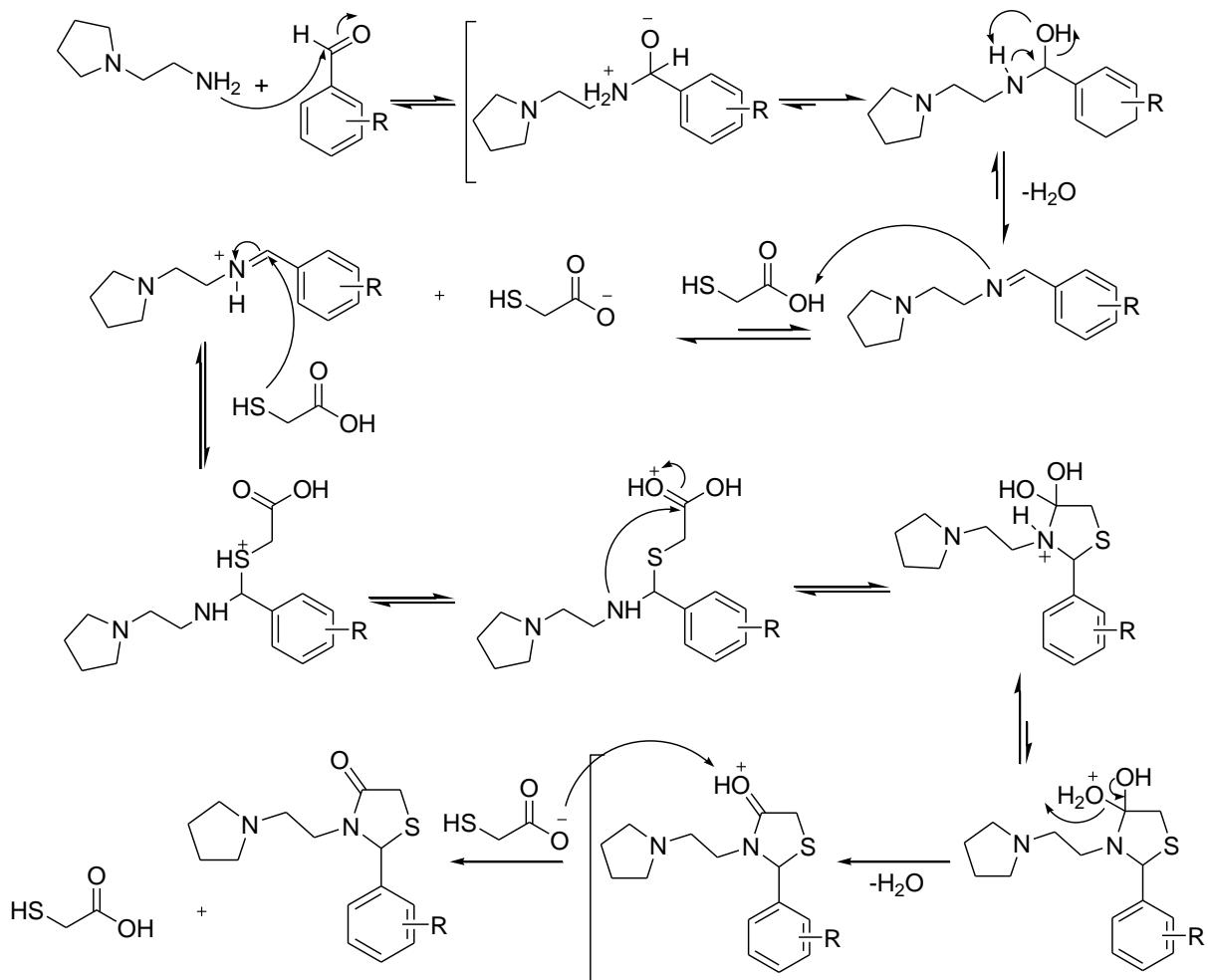
^aRendimento dos compostos isolados; ^bEquipamento não calibrado; ^cPurificou-se com hexano;
^dPurificou-se com hexano/acetato de etila (8:2).

Assim, foi possível a realização da síntese de vinte e uma 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas, inéditas na literatura, obtendo os compostos através da metodologia de aquecimento convencional.

4.3.3. Mecanismo proposto para a síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas em “one-pot”

A proposta de mecanismo envolvendo a formação do anel da 4-tiazolidinona está representada no Esquema 18. Primeiramente, o par de elétrons do nitrogênio da 1-(2-aminoetil)pirrolidina ataca o carbono da carbonila do benzaldeído, através de um mecanismo de reação de adição seguido de substituição para a formação do intermediário imina. O equilíbrio da reação é deslocado em favor do produto (imina) com a remoção da molécula de água por destilação da mistura azeotrópica. Após, a imina reage com o ácido mercaptoacético ocorrendo a protonação do nitrogênio imínico e formação da base conjugada. Posteriormente, o par de elétrons do enxofre do ácido mercaptoacético ataca o carbono parcialmente positivo da imina e os elétrons da ligação C-N migram para o nitrogênio formando outro intermediário tetraédrico. Em seguida, o par de elétrons do nitrogênio ataca a carbonila do ácido mercaptoacético, ocorrendo a ciclocondensação com liberação de mais uma molécula de água. Por fim, ocorre a desprotonação da carbonila pela base conjugada e a formação do anel 4-tiazolidinona.

A cinética da reação é afetada por diferentes fatores como a temperatura, o solvente e principalmente a estabilidade dos intermediários formados. Estudos da cinética da reação estão em andamento.

Esquema 18.


4.4. Metodologias alternativas para a síntese das 4-tiazolidinonas 5

Depois de sintetizadas as 4-tiazolidinonas pela metodologia de aquecimento convencional, buscou-se metodologias alternativas como o uso dos aparelhos ultrassom e micro-ondas visando reduzir o tempo de reação e a diminuição da quantidade de solvente utilizado na reação, o qual torna-se uma metodologia mais limpa com menor geração de resíduos.

4.4.1. Síntese das 4-tiazolidinonas por irradiação ultrassônica

No presente trabalho, as tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** foram sintetizadas também por via sonoquímica mantendo a estequiometria da reação. O estudo das condições de reação a fim de se obter o produto **5i** (Tabela 4), teve como

base os trabalhos já realizados pelo LaQuiABio como, por exemplo, o trabalho de Gouvêa et al., 2012 através de reações “one-pot” e multicomponente.

Por essa razão, iniciou-se o estudo da condição de reação através de reações em “one-pot”, onde na condição A utilizou-se 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1** e 1 mmol de benzaldeídos substituídos **2** em tolueno e sonicou-se a reação por 3 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 3 mmol do ácido mercaptoacético **4**, prosseguindo a reação por mais 3 minutos. Na condição B, assim como na condição A, o tempo inicial de reação foi em 3 minutos e após adicionou-se o ácido mercaptoacético **4** e sonicou-se por mais 6 minutos, visando obter o composto **5i** (Esquema 19).

Posteriormente, realizou-se o estudo da condição de reação através da reação em multicomponente, na qual se testou as condições C e D, onde todos os reagentes foram adicionados no inicio da reação ocorrendo a formação do produto via sonoquímica durante 5 e 3 minutos, respectivamente (Esquema 19).

Em cada condição de reação foi realizada a análise de cromatografia (CCD), onde pode-se observar o consumo total dos reagentes. Após, lavou-se a mistura com solução saturada de NaHCO_3 (3×10 mL), realizou-se a extração da fase orgânica separando da fase aquosa, secou-se com MgSO_4 e removeu-se o solvente no aparelho evaporador rotativo.

Esquema 19:

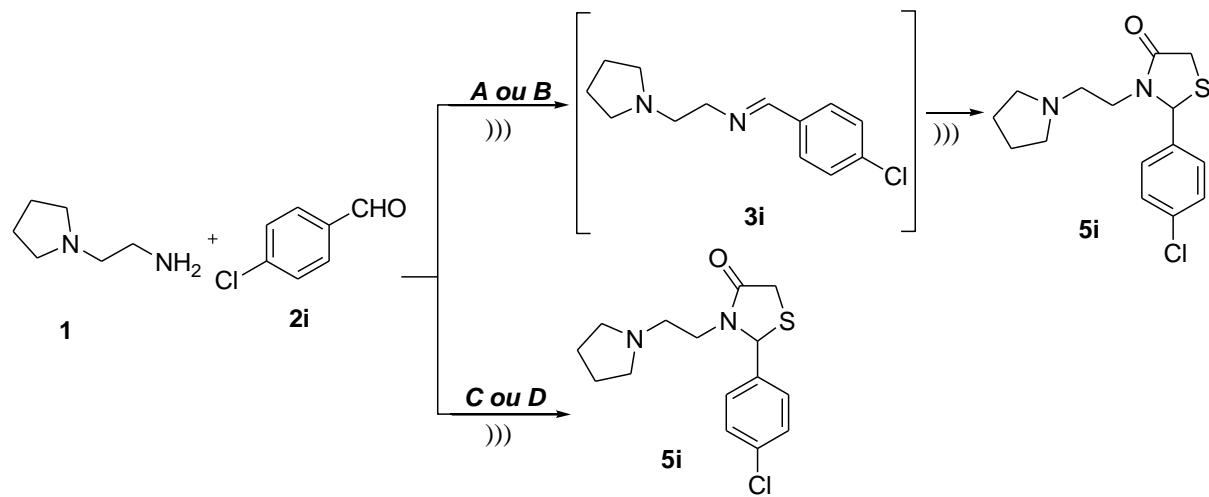


Tabela 4. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia em ultrassom^a.

Condição	Tempo (min)	Análise por CG (%)	Rendimento (%)
A	3+3	100	68
B	3+6	100	65
C	5	100	55
D	3	98	43

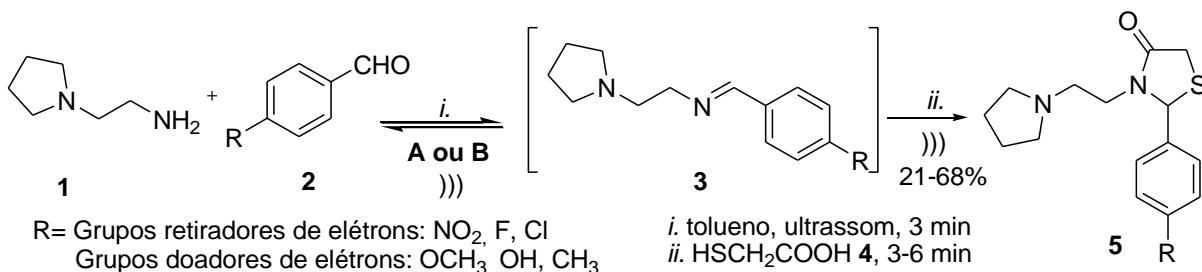
^aTolueno, HSCH₂COOH (**4**), ultrassom. ^bRendimento do produto isolado.

Os resultados demonstram excelente pureza em todos os testes realizados, com o melhor rendimento observado na condição A, sendo escolhida para a realização da série das 4-tiazolidinonas utilizando somente benzaldeídos *p*-substituídos.

Dessa forma, na síntese das 4-tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** utilizou-se 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1** e 1 mmol de benzaldeído *p*-substituído em tolueno (10 mL). Sonicou-se a mistura por 3 minutos, após adicionou-se 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** e sonicou-se por mais 3 minutos, ambas com a amplitude de 24 % (Esquema 20).

Posteriormente, verificou-se a formação do produto pela análise de cromatografia (CCD) e a mistura reacional foi lavada com uma solução de NaHCO₃ (3x10 mL) onde realizou-se a etapa de extração da fase orgânica, a qual secou-se com MgSO₄, filtrou-se e o solvente foi removido no aparelho evaporador rotativo.

Esquema 20:



No entanto, ao realizar a síntese das 4-tiazolidinonas verificou-se a necessidade de um tempo maior de reação para benzaldeídos com grupos doadores de elétrons, isso porque, na análise de cromatografia (CCD) ainda continha a presença de material de partida. Nestes casos, a condição B foi utilizada e para o composto **5p** foi necessário purificação por meio de lavagem a quente de hexano.

Os dados obtidos da síntese de tiazolidinonas via metodologia ultrassônica estão presentes na Tabela 5.

Tabela 5. Rendimentos dos compostos sintetizados **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** através da metodologia em ultrassom.

Produto	R	Rendimento ^a (%)
5c^b	4-NO ₂	54
5f^b	4-F	48
5i^b	4-Cl	68
5l^c	4-OCH ₃	59
5m^c	4-CH ₃	55
5p^{cd}	4-OH	21

^a Rendimento dos compostos isolados. ^b Condição A: Tolueno, 1eq. **2i**, 3 min, HSCH₂COOH (**4**), 3 min, ultrassom. ^c Condição B: Tolueno, 1eq. **2i**, 3 min, HSCH₂COOH (**4**), 6 min, ultrassom. ^d Purificação com hexano.

Os rendimentos das tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** obtidas pela metodologia de ultrassom apresentaram bons resultados e com elevada pureza, onde somente o composto **5p** necessitou de uma lavagem com hexano a quente. A principal vantagem da utilização da irradiação ultrassônica foi proporcionar considerável redução do tempo de reação comparada com a metodologia de aquecimento convencional de 5 horas para 6 e 9 minutos.

4.4.2. Síntese das 4-tiazolidinonas por micro-ondas

As tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** também foram sintetizadas por via micro-ondas, utilizando novamente somente moléculas *p*-substituídas. O substituinte na posição *para* exerce forte influência na reatividade da carbonila dependendo do efeito eletrônico de ressonância do grupo, onde grupos retiradores de elétrons deixam a carbonila mais reativa. Assim, realizou-se um estudo de condição de reação (Tabela 6) através da reação em multicomponente, onde se manteve a estequiometria e variou-se a temperatura (80 e 100 °C), tempo (15, 10 e 5 minutos) e potência, a fim de obter a tiazolidinona **5i** (Esquema 21).

Na condição A utilizou-se 1 mmol do 4-clorobenzaldeído **2i**, 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** e como solvente o tolueno (15 mL) em um recipiente apropriado. Colocou-se o recipiente no micro-ondas, em sistema fechado por um período de 15 minutos, sendo necessário a potência de 245 W para manter a temperatura de 100 °C e manteve-se o sistema

com ar comprimido ligado (Power Max). A função Power Max realiza o resfriamento do sistema com a utilização de um compressor de ar, porém a principal função para a reação é controlar a temperatura e a potência da micro-onda sobre a amostra. Em seguida, na mistura reacional realizou-se a análise de cromatografia (CCD) para verificar a formação do produto. Nas condições C e E, a reação se procedeu em temperatura de 100 °C com variação do tempo de reação de 10 e 5 minutos, respectivamente, em sistema fechado com potência de 50 W para manter a temperatura sendo realizada sem a presença do Power Max.

A condição B, D e F foram realizadas na temperatura de 80 °C também em sistema fechado, durante 15, 10 e 5 minutos, respectivamente, sendo necessária uma potência de 170 W para manter a temperatura com Power Max. Após, foi realizada a análise de cromatografia (CCD) para verificar a formação do produto.

Esquema 21.

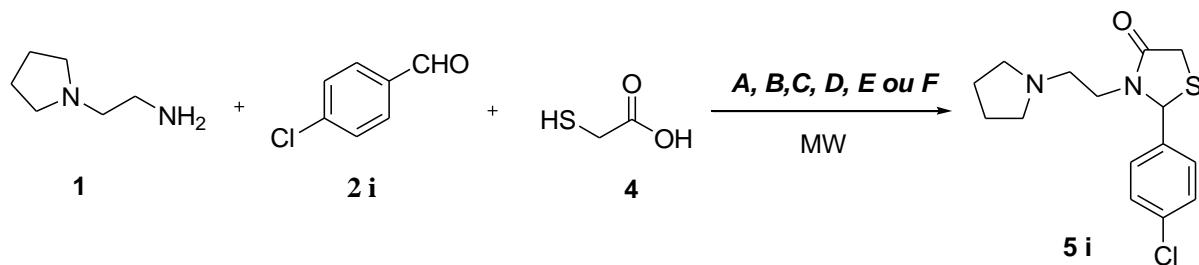


Tabela 6. Análise das condições de reação testadas por meio da metodologia em micro-ondas^a.

Condição	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Potência (W)	Análise por CG (%)	Rendimento (%)
A	15	100	245	97	72
B	15	80	170	100	51
C	10	100	50 ^b	95	76
D	10	80	170	99	55
E	5	100	50 ^b	100	70
F	5	80	170	98	53

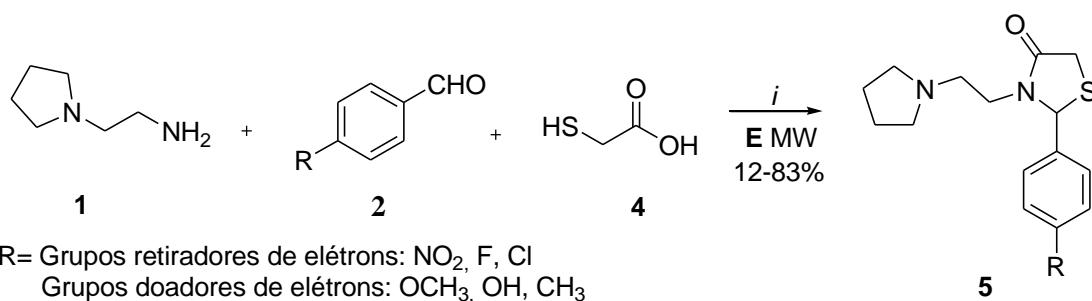
^aTolueno, HSCH₂COOH (**4**), micro-ondas. ^bExperimento realizado sem a função Power Max.

Os resultados revelam um aumento significativo do rendimento quando ocorreu o aumento da temperatura, onde a pureza de todos os compostos foi elevada.

Dentre as condições realizadas à 100 °C, a condição E, foi escolhida para a realização da série, uma vez que o composto **5i** foi obtido em menor tempo.

Assim, a síntese das 4-tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** (Tabela 7) foi realizada por meio da irradiação de micro-ondas, utilizando 1 mmol dos *p*-benzaldeídos substituídos **2**, 1 mmol da 1-(2-aminoetil)pirrolidina **1**, 3 mmol do ácido mercaptoacético **4** e como solvente o tolueno (15 mL) em um recipiente apropriado para sistema fechado, no tempo de reação de 5 minutos (Esquema 22). A mistura de reação foi lavada com uma solução de NaHCO₃ (3x10 mL) onde realizou-se a etapa de extração da fase orgânica, a qual secou-se com MgSO₄, filtrou-se e o solvente foi removido no aparelho evaporador rotativo.

Esquema 22.



i. tolueno, 100 °C, 50 W, 5 min

Tabela 7. Rendimentos dos compostos sintetizados **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** através da metodologia em micro-ondas e comparação com outras metodologias.

Produto	R	Rendimento	Rendimento Aquec.	Rendimento
		MW ^a (%)	Térm. Conv. ^a (%)	Ultrassom ^a (%)
5c	4-NO ₂	83	81	54
5f	4-F	47	74	48
5i	4-Cl	70	69	68
5l	4-OCH ₃	62	83	59
5m	4-CH ₃	50	78	55
5p	4-OH	12	41	21

^aRendimento dos compostos isolados.

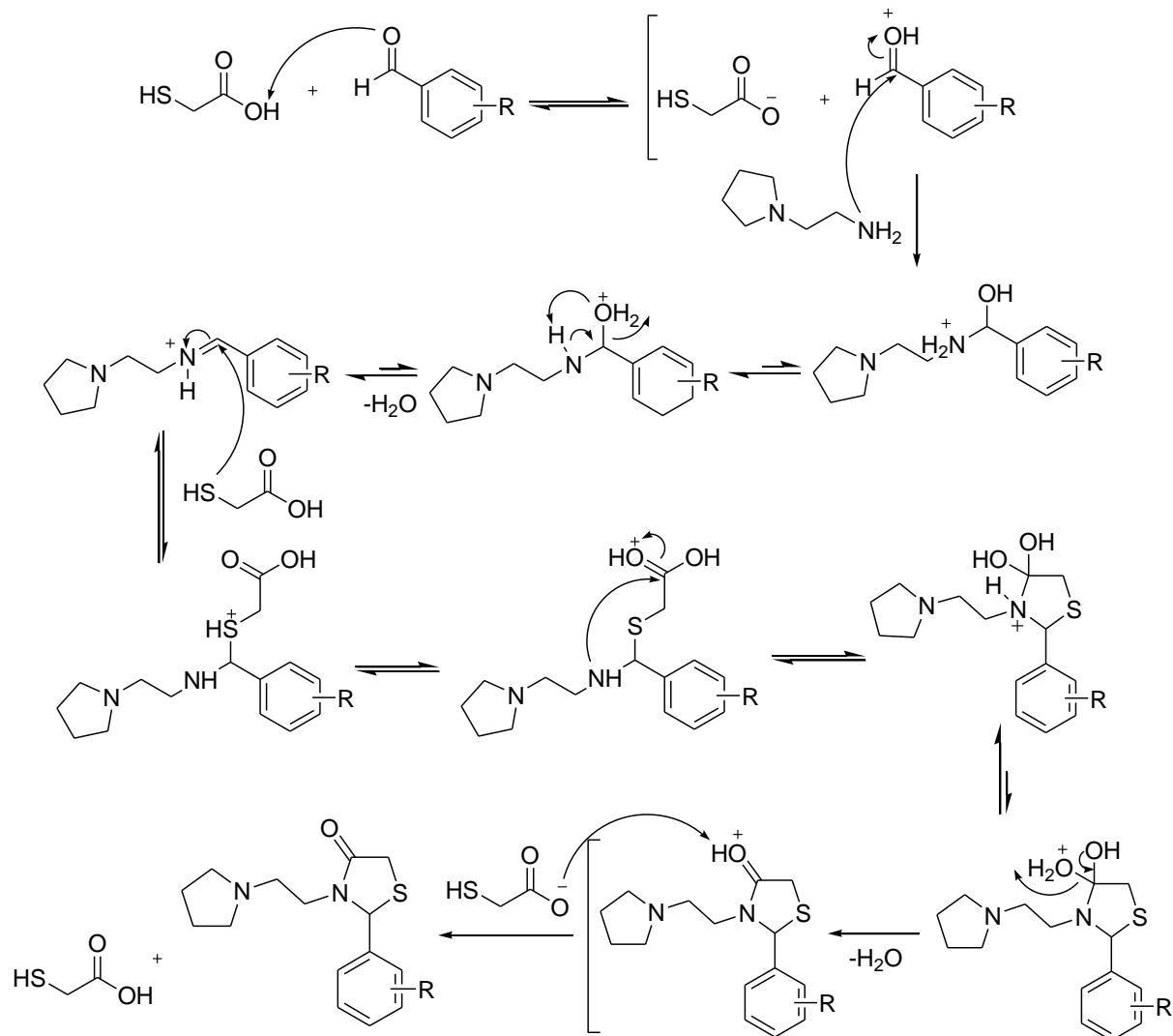
Os rendimentos das tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** obtidas pela metodologia de micro-ondas apresentaram bons resultados. A síntese da 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas em micro-ondas tem como principal vantagem à diminuição do tempo de reação comparada com a metodologia de aquecimento

convencional de 5 horas para 5 minutos. Por outro lado, comparando-se essa metodologia com a metodologia de ultrassom, verificou-se que o rendimento aumentou ou obteve-se um valor aproximado. Assim, é possível constatar que a metodologia de micro-ondas foi a mais eficiente para a síntese das 4-tiazolidinonas.

4.4.3. Mecanismo proposto para a síntese das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinonas através da reação multicomponente

A proposta de mecanismo envolvendo a formação do anel das 4-tiazolidinonas está representada no Esquema 23. O mecanismo da reação multicomponente possui similaridade com o mecanismo da reação em “one-pot” (Esquema 18). A principal diferença esta na protonação inicial da carbonila do aldeído pelo ácido mercaptoacético.

Esquema 23.



Assim, o ácido mercaptoacético protona o oxigênio da carbonila do benzaldeído deixando essa mais reativa, ou seja, mais parcialmente positiva. Em seguida, o par de elétrons do nitrogênio da 1-(2-aminoetil)pirrolidina ataca o carbono da carbonila do benzaldeído substituído, ocorrendo em equilíbrio, através de um mecanismo de reação de adição seguido de substituição e liberação de uma molécula de água formando o intermediário imina, onde rapidamente o par de elétrons do enxofre do ácido mercaptoacético ataca a carbono parcialmente positivo da imina ocorrendo a migração dos elétrons ao nitrogênio formando o intermediário tetraédrico, onde par de elétrons do nitrogênio ataca a carbonila do ácido mercaptoacético, ocorrendo a reação de ciclocondensação, com liberação de mais uma molécula de água e formação do anel da 4-tiazolidinona.

4.5. Identificação das substâncias sintetizadas

As estruturas das tiazolidinonas derivadas da 1-(2-aminoetil)pirrolidina foram caracterizadas e confirmadas por meio da análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , 2D-RMN de COSY, HMBC e HMQC, também por espectrometria de massas (CG-MS).

4.5.1. Identificação das 4-tiazolidinonas por RMN ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos foram obtidos em clorofórmio deuterado (CDCl_3), em tubos de 5 mm, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. A numeração do grupo etilpirrolidínico foi efetuada para a identificação dos sinais, sendo escolhida o composto 2-(3-nitrofenil)-3-(2-(pirrolidin-1-il)etyl)tiazolidin-4-ona **5b** na descrição mais abrangente de análise espectral.

Os principais sinais no espectro de RMN ^1H que confirmam a formação do produto são os hidrogênios H2 e H5 da tiazolidinona. No exemplo da tiazolidinona **5b** (Figura 16), o hidrogênio H2 aparece como um simpleto em 6,04 ppm, porém em alguns casos, foi possível observar o H2 como um duplet que acopla com o hidrogênio H5a.

Na maioria dos espectros obtidos, ocorre uma sobreposição de sinais na região de 3,60 a 4,00 ppm onde são encontrados os hidrogênios diasterotópicos H5 e um dos hidrogênios diasterotópicos do H6 (H6a). A Figura 17 apresenta a expansão desta região para uma melhor visualização. O sinal referente ao hidrogênio H5a é

identificado como um duploto duplo em 3,84 ppm acoplando com ambos hidrogênios H2 e H5b ($^4J=1,6$ Hz e $^2J=15,3$ Hz, respectivamente) e o H5b como um duploto ($^2J=15,5$ Hz) em 3,74 ppm.

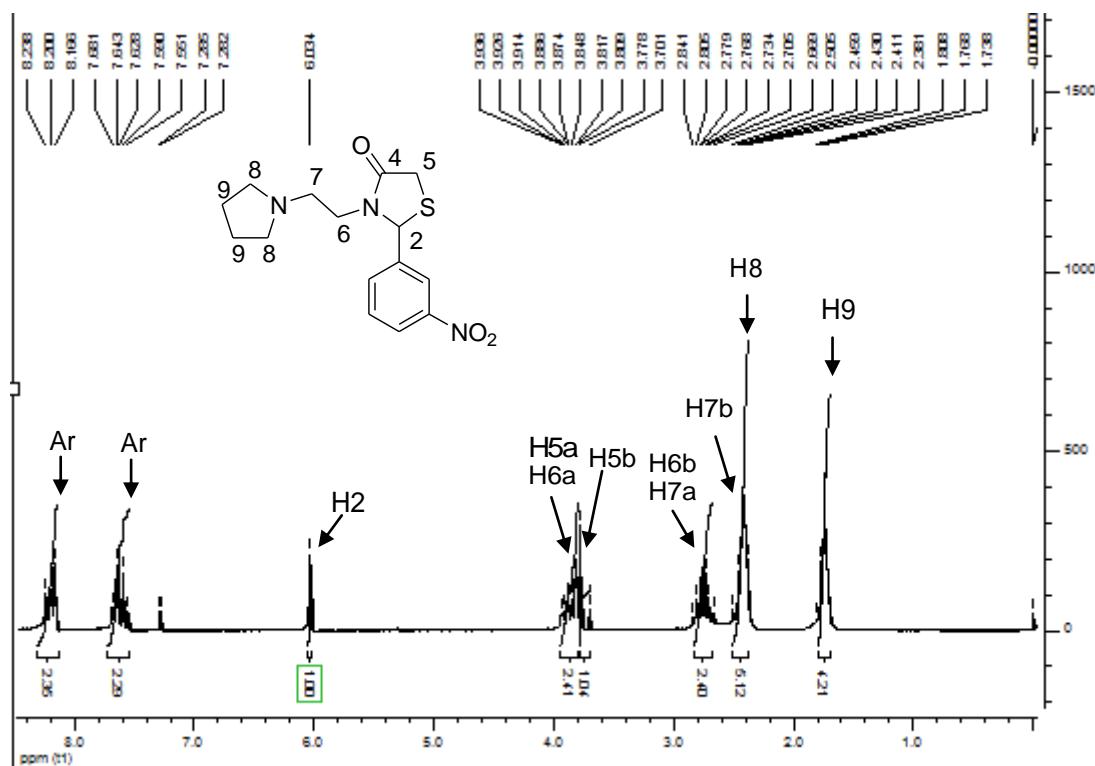


Figura 16: Espectro de RMN ^1H do composto da tiazolidinona **5b** (200 MHz).

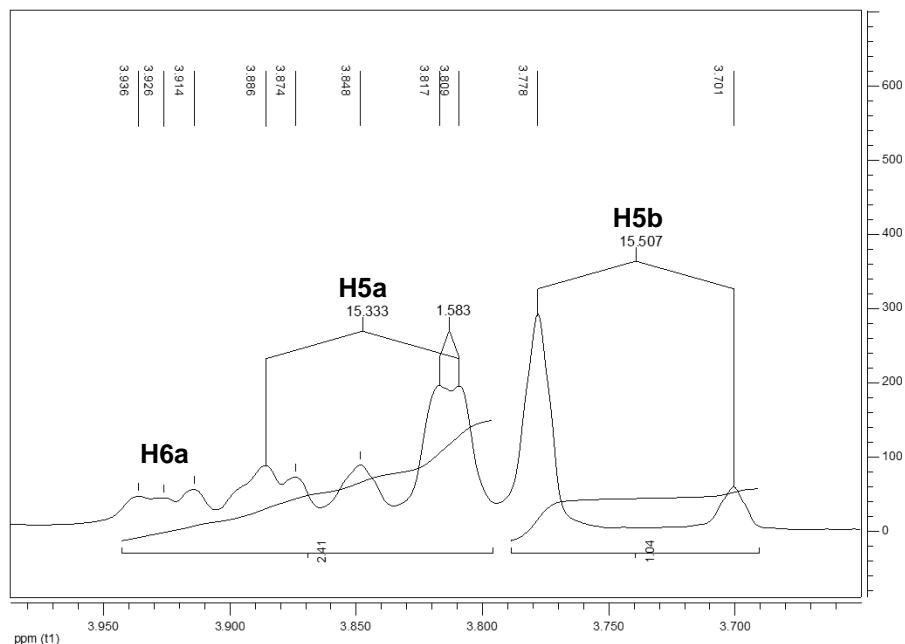


Figura 17: Expansão do espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5b** referente aos hidrogênios **H5a**, **H5b** e **H6a**.

Os hidrogênios diasterotópicos H6 e H7 aparecem como quatro sinais em distintas regiões do espectro (Figura 16). Os hidrogênios H6a e H6b vizinhos ao nitrogênio da amida possuem deslocamentos químicos mais desblindados em relação aos hidrogênios H7a e H7b vizinhos ao nitrogênio amino. Os sinais dos hidrogênios H6a em 3,89 ppm, H6b em 2,78 ppm, H7a em 2,70 ppm e H7b em 2,46 ppm são identificados como multipletos, teoricamente deveriam aparecer como dupletos triplos, uma vez que, o H6a acopla com o hidrogênio geminal (2J , H6b) e com dois hidrogênios vicinais (3J , H7a e H7b). Esse padrão não foi possível identificar devido à sobreposição de sinais.

Os sinais referentes aos hidrogênios H8 e H9 do anel da pirrolidina também foram identificados. De acordo com a Figura 2, o H8 está em torno de 2,40 ppm e o H9 em 1,74 ppm, ambos na forma de sinais alargados devido a sobreposição de sinais. Os hidrogênios aromáticos aparecem no campo mais desblindado do espectro, acima de 7,28 ppm. O sinal mais desblindado em 8,20 ppm pertence aos hidrogênios próximos ao grupo nitro devido ao forte efeito retirador de elétrons deste grupo.

No espectro de RMN ^{13}C também é possível confirmar a formação do produto através dos deslocamentos químicos dos carbonos C4, C2 e C5. O sinal do grupo carbonila C4 é o mais desblindado na região de 171,0 ppm, o carbono assimétrico C2 está na região de 62,9 ppm e o carbono metilênico C5 está em 32,7 ppm. O espectro apresenta também os sinais dos seis carbonos aromáticos na faixa de 148,5 a 122,0 ppm e os sinais referentes os carbonos da porção etila C7 em 53,6 ppm e C6 em 41,7 ppm. Além disso, em 54,1 ppm encontra-se o sinal do carbono C8 e em 23,4 ppm o sinal do carbono C9 pertencentes ao anel da pirrolidina (Figura 18).

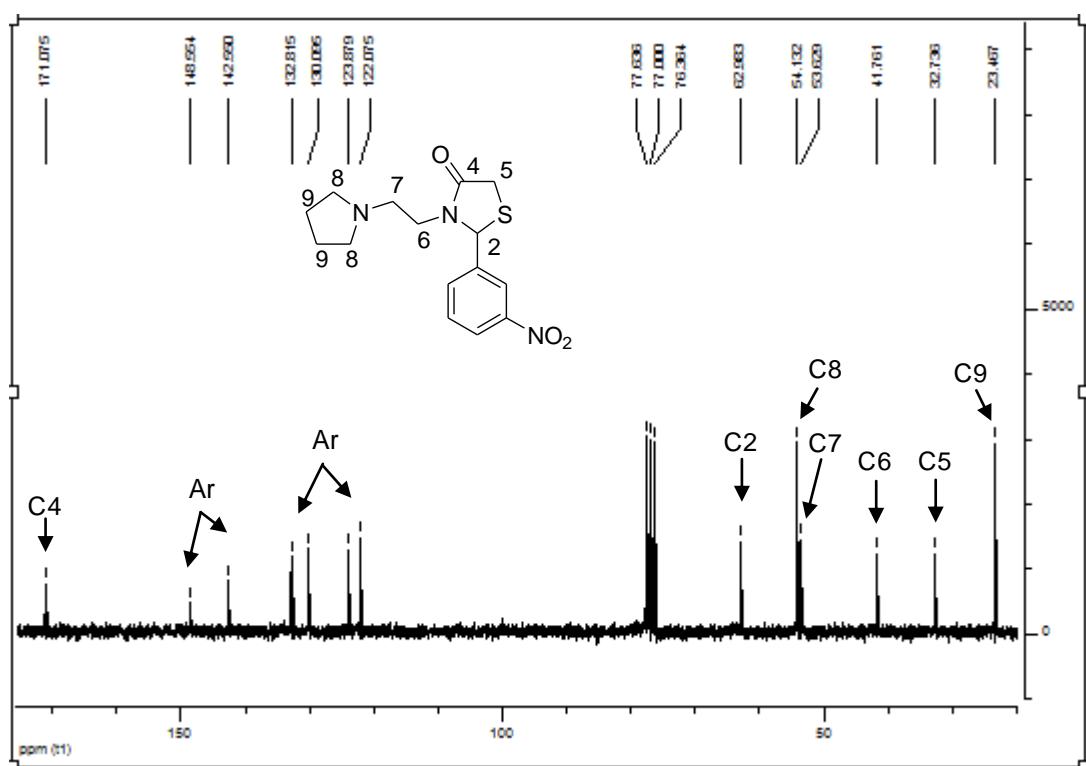


Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C do composto da tiazolidinona **5b** (50 MHz).

4.5.1. Identificação das 4-tiazolidinonas por 2D-RMN

A análise de 2D-RMN, de COSY (*Correlation Spectroscopy*), HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*) e HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*), foi importante para o completo assinalamento dos hidrogênios e de seus respectivos carbonos.

No espectro de COSY verificam-se os acoplamentos dos hidrogênios vizinhos ^1H - ^1H (Silverstein et al., 2013). O hidrogênio H2 em 6,00 ppm tem um acoplamento fraco com o hidrogênio H5 em 3,80 ppm, sendo esse sobreposto ao hidrogênio H6 (especificamente o H6a) (Quadro A). Os hidrogênios do anel da pirrolidina foram confirmados na região de 2,45 ppm para H8 e em 1,75 ppm para o H9, onde estes acoplam entre si gerando as manchas características como identificadas no espectro da Figura 19 (Quadro B).

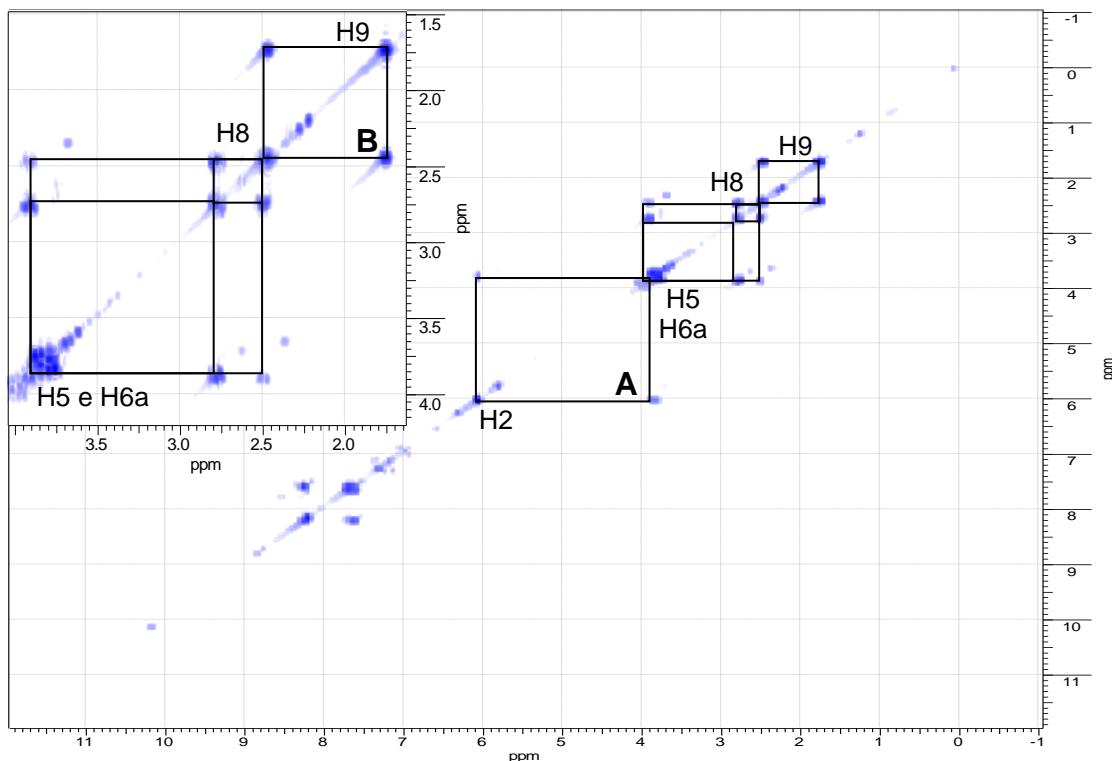


Figura 19: Espectro de 2D-RMN de COSY da tiazolidinona **5b**.

No espectro de HMQC verifica-se o acoplamento do carbono com seus respectivos hidrogênios (1J) (Silverstein et al., 2013). O HMQC foi importante para elucidar principalmente o assinalamento dos carbonos 6 e 7. Analisando o espectro (Figura 21) é possível assinalar o C6 em 41 ppm e o carbono C7 em 54 ppm. É importante salientar que ocorreu uma inversão de deslocamento comparado aos respectivos hidrogênios, ou seja, o H6 possui sinal desblindado em relação ao H7 e o C6 possui sinal blindado em relação ao C7. A explicação desse fato deve-se a molécula possuir liberdade conformacional, uma vez que o RMN é feito em solução, sendo necessário para a completa elucidação estrutural do composto **5b** uma análise de Raio-X, o qual demonstraria inclusive a conformação da molécula referente ao C2. Assim, uma das conformações possíveis da molécula que pode explicar a desblindagem do C7 esta na Figura 20 demonstrando que esse carbono está próximo ao oxigênio da carbonila.

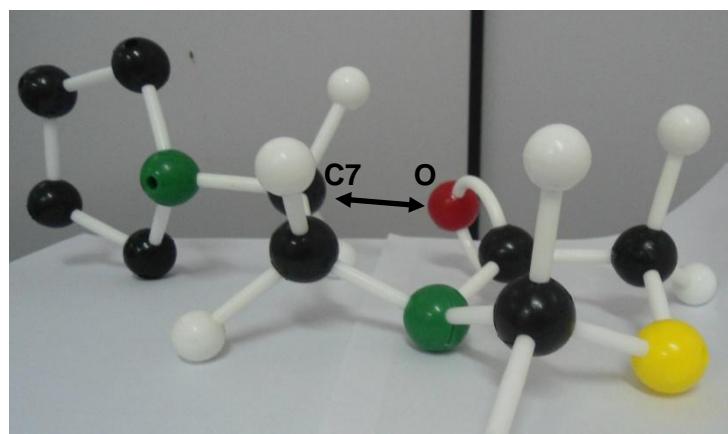


Figura 20: Configuração estrutural da tiazolidinona **5b**.

Além disso, no HMQC verificou-se o carbono dos hidrogênios diasterotópicos H5a e o H5b, o qual tem ressonância em 32 ppm.

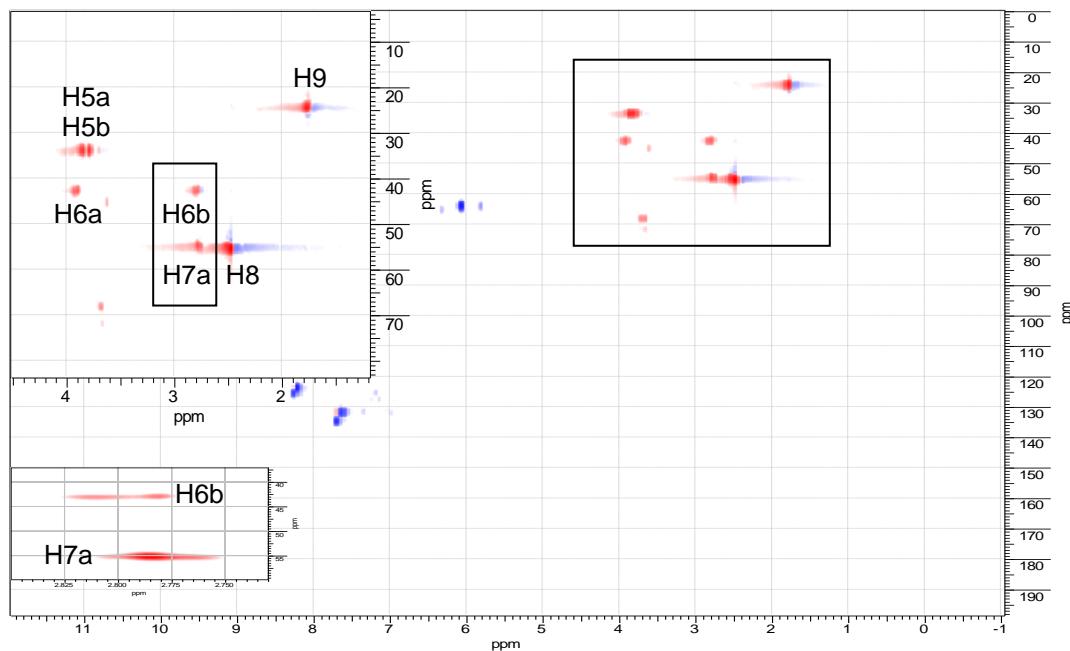


Figura 21: Espectro de 2D-RMN de HMQC da tiazolidinona **5b**.

No espectro de HMBC verifica-se o acoplamento do carbono com os hidrogênios próximos até 3 ligações (2J e 3J), porém foi possível observar o acoplamento de 1 ligação (1J) (Silverstein et al., 2013) e em alguns casos o acoplamento de 4 ligações (4J). O HMBC confirma o assinalamento do H7 que acopla com o carbono C8 e o C6 conforme o espectro da Figura 22. Também é importante destacar que o H7a apresenta acoplamento com o C4, provavelmente pela conformação representada na Figura 20.

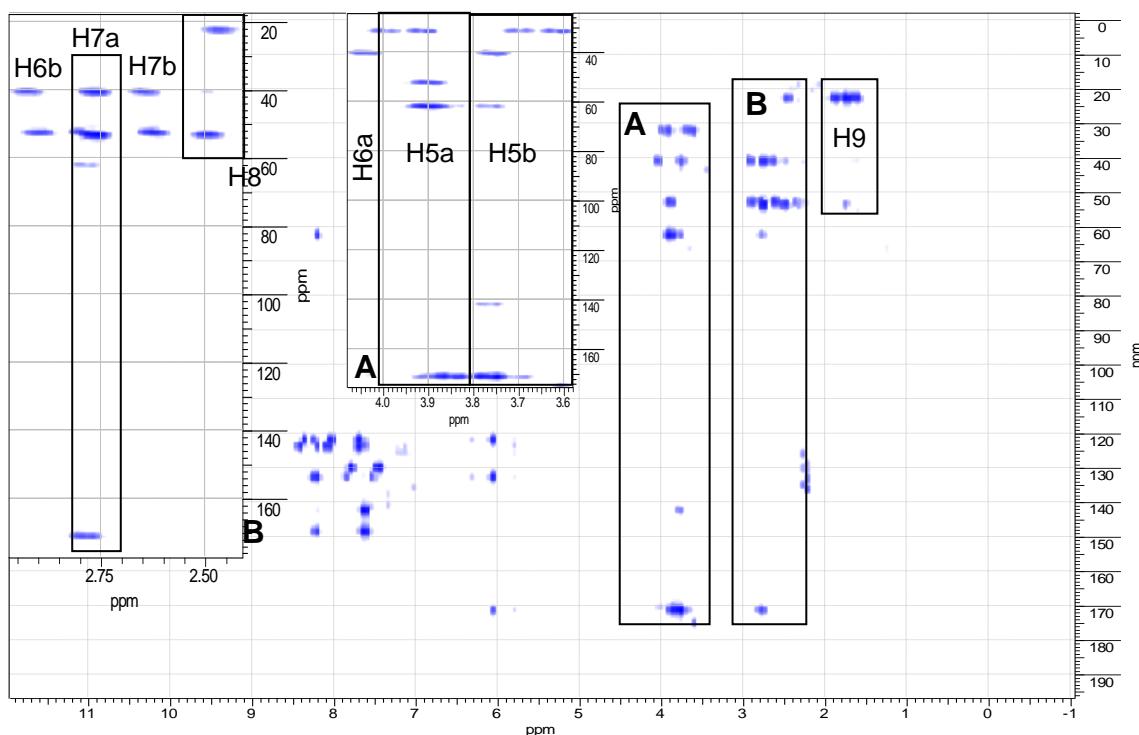


Figura 22: Espectro de 2D-RMN de HMBC da tiazolidinona **5b**.

4.5.3. Identificação das 4-tiazolidinonas por espectroscopia de massas CG/MS

Em geral, todas as tiazolidinonas mostraram um mesmo padrão de espectros, apresentando baixas intensidades para todos os fragmentos com exceção do pico base. O pico base para todas tiazolidinonas é o fragmento 84 que corresponde a porção metilpirrolidina. Na análise de CG/MS da substância **5b** observam-se esse padrão de fragmentação (Figura 23). Neste exemplo, o íon molecular apresentou intensidade de apenas 1 %.

O íon molecular não foi observado nos compostos **5a** e **5c**. No composto **5a** ocorre uma fragmentação do anel pirrolidina com um razão massa carga de $M^+ - 30$, referente à perda da porção etil. Já no composto **5c** ocorre à fragmentação do anel da tiazolidinona com um razão massa carga de $M^+ - 114$ referente à perda da amina.

Line#:1 R.Time:24.842(Scan#:2562)
 MassPeaks:33
 RawMode:Averaged 24.608-25.175(2534-2602) BasePeak:84.15(380274)
 BG Mode:None Group 1 - Event 1

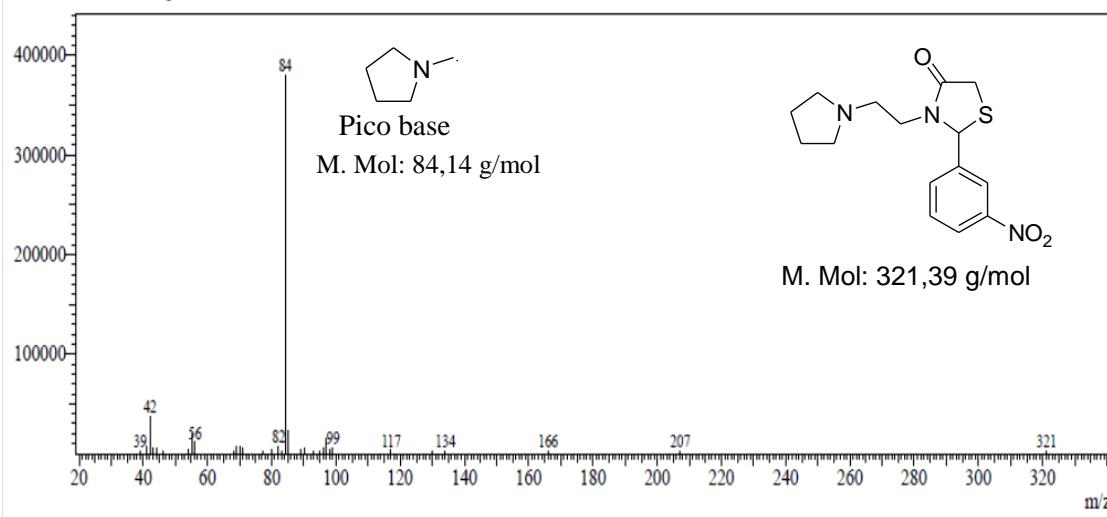


Figura 23: Espectro de massas CG/MS da substância **5b**.

Alguns dos fragmentos de espectrometria de massas estão demonstrados na Figura 24 referente à tiazolidinona **5b**.

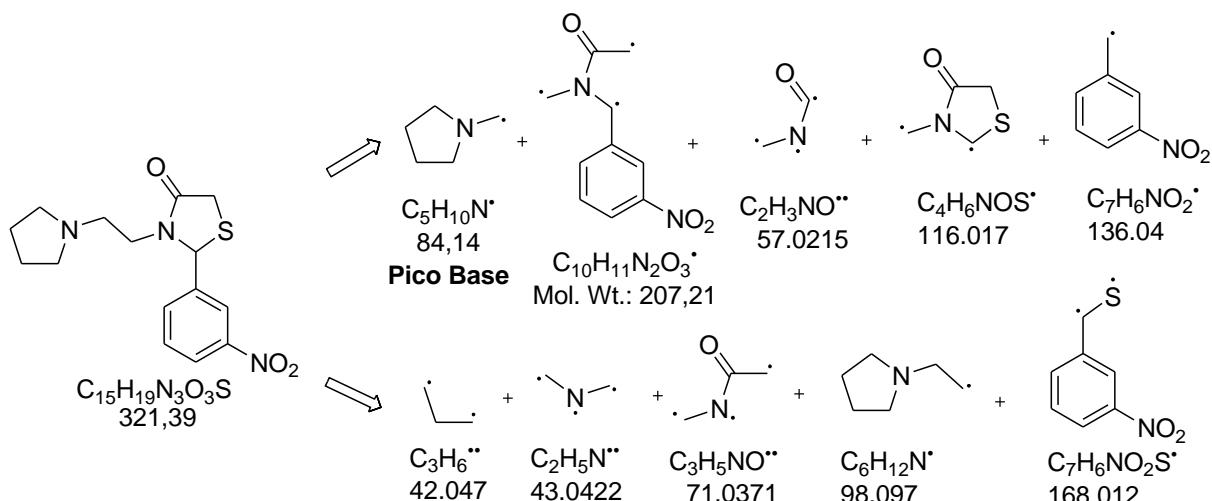


Figura 24: Fragmentação de massas da tiazolidinona **5b**.

4.5.4. Identificação das 4-tiazolidinonas por espectroscopia de massas de alta resolução ESI-FTMS.

As tiazolidinonas **5c**, **5f**, **5i**, **5m** e **5o** também foram caracterizadas através da análise de espectrometria de massas de alta resolução (ESI-FTMS). Como exemplo a Figura 25 mostra o espectro da tiazolidinona **5f**. Analisando os sinais observados experimentalmente e os sinais calculados foi possível comprovar a presença do íon

molecular e de um sinal que corresponde uma fragmentação da molécula sem a porção pirrolidina. Esse perfil foi obsevado para os demais compostos.

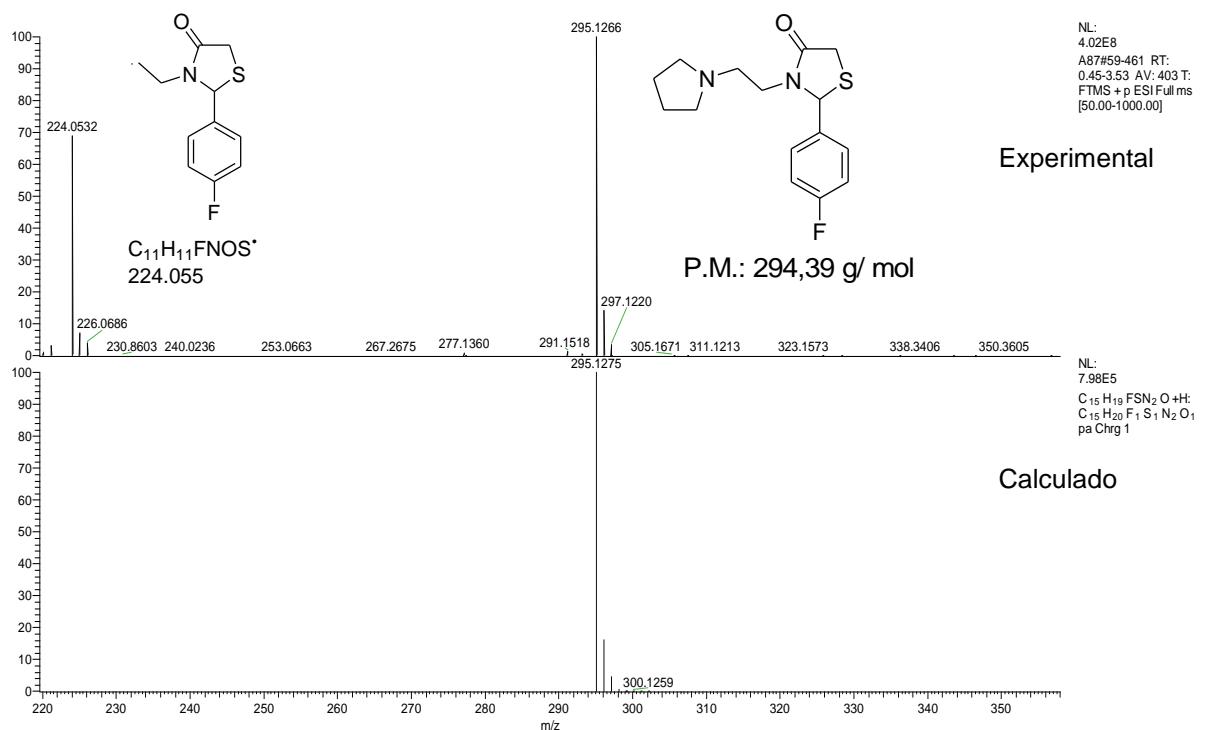


Figura 25: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona **5f**.

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H das tiazolidinonas **5a-u^a**.

	R	Aromático	H2	H5a	H5b	Alifático	R	
5a	2-NO ₂	8,09 (dd, 1H, $^3J=8,1$, e $^4J=1,3$), 7,69 (td, 1H, $^3J=7,5$ e $^4J=1,2$), 7,51 (td, 1H, $^3J=7,5$ e $^4J=1,4$), 7,30 (dd, 1H, $^3J=7,8$ e $^4J=1,6$)	6,54 (d, 1H, $^4J=1,4$)	3,77 (dd, 1H, $^2J=15,6$ e $^4J=1,5$)	3,62 (d, 1H, $^2J=15,6$)	3,93- 4,02 (m, 1H, H6a), 2,77-2,93 (m, 2H, H6b e H7a), 2,39-2,57 (m, 5H, H7b e H8), 1,67-1,73 (m, 4H, H9)	-	-
5b	3-NO ₂	8,15-8,23 (m, 2H), 7,51-7,68 (m, 2H)	6,03 (s,1H)	3,84 (dd, 1H, $^4J=1,6$ e $^2J=15,3$)	3,74 (d, 1H, $^2J=15,4$)	3,80-3,93 (m, 2H, H6a, H5a), 2,66-2,84 (m, 2H, H6b e H7a), 2,38-2,50 (m, 5H, H7b e H8), 1,70-1,80 (m, 4H, H9)	-	-
5c	4-NO ₂	8,24 (d, 2H, $^3J=8,7$), 7,47 (d, 2H, $^3J=8,7$)	6,03 (s, 1H)	-	3,73 (d, 1H, $^2J=15,5$)	3,78- 3,96 (m, 2H, H5a e H6a), 2,70-2,87 (m, 2H, H6b e H7a), 2,47-2,60 (m, 5H, H7b e H8), 1,74-1,80 (m, 4H, H9)	-	-
5d	2-F	7,03-7,38 (m, 4H)	6,16 (d, 1H, $^4J=1,6$)	-	3,68 (d, 1H, $^2J=15,4$)	3,77- 3,94 (m, 2H, H5a e H6a), 2,70-2,87 (m, 2H, H6b e H7a), 2,47-2,60 (m, 5H, H7b e H8), 1,74-1,80 (m, 4H, H9)	-	-
5e	3-F	7,37 (dt, 1H, $^3J = 8,6$, $^4J = 1,7$), 7,09 (dt, 3H, $^4J = 2,1$ e $^3J = 7,9$)	5,90 (s, 1H)	-	3,73 (d, 1H, $^2J=15,5$)	3,79-3,89 (m, 2H, H5a e H6a), 2,76 (dt, 1H, H6b, $^3J=6,7$ e $^2J=13,5$), 2,66 (dt, 1H, H7a, $^3J=6,4$ e $^2J=12,8$), 2,46-2,51 (m, 5H, H7b e H8), 1,76-1,78 (m, 4H, H9)	-	-

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H das tiazolidinonas **5a-u^a** (continuação).

5f	4-F	7,02-7,12 (m, 2H), 7,26-7,34 (m, 2H)	5,86 (s, 1H)	-	3,71 (d, 1H, $^2J=15,5$)	3,75- 3,88 (m, 2H, H5a e H6a), 2,65-2,88 (m, 2H, H6b e H7a), 2,46-2,60 (m, 5H, H7b e H8), 1,74-1,80 (m, 4H, H9)	-
5g	2-Cl	7,42 (dd, 1H, $^3J=7,3$ e $^4J=2,1$), 7,31 (dt, 2H, $^3J=8, 5$ e $^4J=1,8$)	6,37 (s, 1H)	3,68 (dd, 1H, $^4J=1,3$ e $^2J=15,6$)	3,72 (d, 1H, $^2J=15,5$)	3,99- 4,00 (m, 1H, H6a), 2,78-2,92 (m, 2H, H6b e H7a), 2,56-2,61 (m, 5H, H7b e H8), 1,68-1,72 (m, 4H, H9)	-
5h	3-Cl	7,19-7,21 (m, 1H), 7,28-7,32 (m, 3H)	5,87 (s, 1H)	-	3,72 (d, 1H, $^2J=16,1$)	3,76- 3,94 (m, 2H, H5a e H6a), 2,76-2,95 (m, 2H, H6b e H7a), 2,65-2,73 (m, 5H, H7b e H8), 1,80-1,84 (m, 4H, H9)	-
5i	4-Cl	7,24 (d, 2H, $^3J=8, 5$), 7,35 (d, 2H, $^3J=8, 5$)	5,86 (s, 1H)	3,78 (dd, 1H, $^4J=1,6$ e $^2J=13,0$)	3,70 (d, 1H, $^2J=15,4$)	3,75- 3,88 (m, 2H, H5a e H6a), 2,80 (dt, 1H, H6b, $^3J=6,6$ e $^2J=13,3$), 2,69 (dt, 1H, H7a, $^3J=6,5$ e $^2J=12,7$), 2,38-2,52 (m, 5H, H7b e H8), 1,72-1,60 (m, 4H, H9)	-
5j	2-OCH ₃	7,26-7,34 (m, 1H), 7,12 (dd, 1H, $^3J=7,5$ e $^4J=1,7$) 6,89-6,99 (m, 2H)	6,16 (d, 1H, $^4J=1,5$)	3,74 (dd, 1H, $^4J=1,6$ e $^2J=15,3$)	3,61 (d, 1H, $^2J=15,3$)	3,81- 3,96 (m, 4H, H6a e OCH ₃), 2,67-2,92 (m, 2H, H6b e H7a), 2,45-2,57 (m, 5H, H7b e H8), 1,71-1,89 (m, 4H, H9)	3,86 (s, 3H, OCH ₃)

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H das tiazolidinonas **5a-u^a** (continuação).

5k	3-OCH ₃	7, 27 (t, 2H, $^3J=7,6$), 6,84-6,89 (m, 2H)	5,84 (s, 1H)	-	-	3,74- 3,92 (m, 6H, H5a, H5b, H6 e OCH ₃), 2,77-2,99 (m, 2H, H6b e H7a), 2,64-2,74 (m, 5H, H7b e H8), 1,78-1,85 (m, 4H, H9)	3,79 (s, 3H, OCH ₃)
5l	4-OCH ₃	7,22-7,28 (m, 2H), 6,87-6,91 (m, 2H)	5,81 (s, 1H)	-	3,70 (d, 1H, $^2J=15,7$)	3,74- 3,91 (m, 6H, H5a, H5b, H6 e OCH ₃), 2,83 (dt, 1H, H6b, $^3J=6,7$ e $^2J=13,4$), 2,67 (dt, 1H, H7a, $^3J=6,6$ e $^2J=13,2$), 2,64-2,74 (m, 5H, H7b e H8), 1,78-1,85 (m, 4H, H9)	3,81 (s, 3H, OCH ₃)
5m	4-CH ₃	7,18 (s, 4H)	5,83 (s, 1H)	3,79 (dd, 1H, $^4J=1,9$ e $^2J=14,4$)	3,69 (d, 1H, $^2J=15,4$)	3,80-3,87 (m, 1H, H6a), 2,61-2,88 (m, 2H, H6b e H7a), 2,40-2,48 (m, 5H, H7b e H8), 1,70-1,77 (m, 4H, H9)	2,35 (s, 3H, CH ₃)
5n	2-OH	Aguardando análise					
5o	3-OH	7,17 (t, 1H, $^3J=7,6$), 6,68-6,75 (m, 3H)	5,68 (s, 1H)	3,76 (dd, 1H, $^4J=1,6$ e $^2J=15,8$)	3,64 (d, 1H, $^2J=15,4$)	3,72-3,88 (m, 2H, H6a, H5a), 2,63-2,96 (m, 2H, H6b e H7a), 2,45-2,61 (m, 5H, H7b e H8), 1,71-1,80 (m, 4H, H9)	5,57 (s, 1H, OH)

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H das tiazolidinonas **5a-u^a** (continuação).

5p	4-OH	Aguardando análise					
5q	2,3-OCH ₃	7,06 (t, 1H, $^3J=7,9$), 6,75 (d, 1H, $^3J=7,7$), 6,90 (d, 1H, $^3J=8,1$)	6,18 (s, 1H)	3,78 (dd, 1H, $^4J=1,0$ e $^2J=16,1$)	3,65 (d, 1H, $^2J=15,3$)	3,91-3,99 (m, 1H, H6a), 2,58-2,90 (m, 2H, H6b e H7a), 2,50-2,58 (m, 5H, H7b e H8), 1,72-1,78 (m, 4H, H9)	3,87 (s, 3H, OCH ₃), 3,89 (s, 3H, OCH ₃)
5r	2,4- OCH ₃	Aguardando análise					
5s	2,6-Cl	7,14-7,35 (m, 3H),	6,80 (d, 1H, $^4J=1,9$)	-	3,74 (d, 1H, $^2J=15,0$)	3,80-3,95 (m, 2H, H6a, H5a), 2,59-2,75 (m, 2H, H6b e H7a), 2,42-2,49 (m, 5H, H7b e H8), 1,70-1,76 (m, 4H, H9)	-
5t	2-Cl-6-F	Aguardando análise					-
5u	2,4-Cl	7,35 (s,1H), 7,22 (d, 1H, $^3J=8,5$), 7,06 (d,1H, $^3J=8,4$)	6,24 (s, 1H)	3,62 (s, 1H)	3,58 (d, 1H, $^2J=15,6$)	3,81-3,92 (m, 1H, H6a), 2,70-2,79 (m, 2H, H6b e H7a), 2,49-2,59 (m, 5H, H7b e H8), 1,69-1,75 (m, 4H, H9)	-

^a ^1H RMN (CDCl₃, 200 MHz) frequência de 200 MHz em TMS

Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C das tiazolidinonas **5a-u^a**.

	R	C4	Aromático	C2	C5	C6	C7	C8	C9	R
5a	2-NO ₂	172,3	147,1, 136,8, 134,3, 129,0, 125,9, 125,6	58,8	31,6	41,6	53,4	53,9	23,3	-
5b	3-NO ₂	171,1	148,5, 142,5, 132,8, 130,1, 123,9, 122,1	62,9	32,7	41,7	53,6	54,1	23,5	-
5c	4-NO ₂	171,3	148,1, 147,3, 127,7, 124,3 160,9 (d, $^1J_{\text{C-F}}=248,7$), 130,5 (d, $^3J_{\text{C-F}}=8,5$), 128,0	62,7	32,6	41,6	53,3	54,0	23,4	-
5d	2-F	171,1	(d, $^4J_{\text{C-F}}=2,8$), 127,0 (d, $^2J_{\text{C-F}}=11,1$), 124,7 (d, $^4J_{\text{C-F}}=3,5$), 116,1 (d, $^2J_{\text{C-F}}=21,5$) 163,1 (d, $^1J_{\text{C-F}}=247,9$), 142,6 (d, $^3J_{\text{C-F}}=6,8$), 130,7	57,4(d, $^4J_{\text{C-F}}=4,1$)	32,6	41,5	52,9	53,9	23,4	-
5e	3-F	171,3	(d, $^3J_{\text{C-F}}=8,1$), 122,6 (d, $^4J_{\text{C-F}}=2,7$), 116,1 (d, $^2J_{\text{C-F}}=21,5$), 113,9 (d, $^2J_{\text{C-F}}=21,4$)	63,3(d, $^4J_{\text{C-F}}=1,5$)	32,8	41,6	53,3	54,1	23,5	-
5f	4-F	171,3	162,9 (d, $^1J_{\text{C-F}}=247,7$), 135,3 (d, $^4J_{\text{C-F}}=3,2$), 129,1 (d, $^3J_{\text{C-F}}=8,5$), 116,0 (d, $^2J_{\text{C-F}}=21,8$)	63,2	32,9	41,2	52,9	54,0	23,4	-
5g	2-Cl	172	137,2, 132,8, 130,4, 129,7, 127,6	60,1	32,3	41,6	53,2	54,1	23,5	-
5h	3-Cl	171,4	141,8, 134,9, 130,3, 129,3, 127,1, 125,2	63,0	32,7	40,9	52,6	53,9	23,4	-
5i	4-Cl	171,1	138,3, 134,8, 129,2, 128,4	63,3	32,8	41,5	53,2	54,1	23,5	-
5j	2-OCH ₃	172,0	156,9, 129,8, 127,7, 126,7, 120,0, 111,0	58,3	32,6	41,7	52,9	54,0	23,4	55,5
5k	3-OCH ₃	171,6	160,1, 141,0, 130,0, 119,2, 114,6, 112,5	63,7	32,8	52,5	40,9	53,9	23,3	55,3
5l	4-OCH ₃	171,2	160,1, 131,2, 128,6, 114,3	63,7	33,0	41,4	53,0	54,0	23,4	55,3
5m	4-CH ₃	171,2	139,0, 136,6, 129,7, 126,9	63,8	32,9	41,5	53,2	54,1	23,5	21,2

Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C das tiazolidinonas **5a-u^a** (continuação).

5n	2-OH	Aguardando análise									
5o	3-OH	171,8	157,7, 140,7, 130,2 , 118,1, 110,5, 113,7	63,9	32,9	41,5	52,5	54,0	23,3	-	
5p	4-OH	Aguardando análise									
5q	2,3-OCH ₃	171,7	152,8, 146,9, 133,4, 124,3, 118,3, 112,7	61,1	32,6	41,7	52,9	54,0	23,4	57,8, 55,8	
5r	2,4-OCH ₃	Aguardando análise									
5s	2,6-Cl	171,4	135,5, 135,1, 132,6, 130,9, 130,0, 128,8	58,9	34,1	41,7	53,0	54,0	23,5	-	
5t	2-Cl-6-F	Aguardando análise									
5u	2,4-Cl	171,9	135,0, 134,9, 133,5, 130,3, 127,9,128,8	59,7	32,1	41,4	52,9	53,8	23,4	-	

^a ^{13}C RMN (CDCl₃, 50 MHz)

Tabela 10. Dados de espectrometria de massas (CG/MS) das tiazolidinonas **5a-u**.

R	Número	Análise CG/MS
2-NO ₂	5a	291 (M-30, 2%); 97 (4%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (11%)
3-NO ₂	5b	321 (M ⁺ , 1%); 97 (4%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (10%)
4-NO ₂	5c	207 (M ⁺ -114, 1%); 97 (4%); 84 (100%); 55 (6%); 42 (16%)
2-F	5d	294 (M ⁺ , 1%); 97 (10%); 84 (100%); 70 (3%); 42 (10%)
3-F	5e	294 (M ⁺ , 1%); 97 (7%); 84 (100%); 69 (3%); 42 (10%)
4-F	5f	294 (M ⁺ , 1%); 109 (8%); 97 (6%); 84 (100%); 42 (17%)
2-Cl	5g	310 (M ⁺ , 1%); 97 (10%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (9%)
3-Cl	5h	310 (M ⁺ , 1%); 97 (10%); 84 (100%); 70 (2%); 42 (9%)
4-Cl	5i	310 (M ⁺ , 1%); 97 (6%); 84 (100%); 69 (2%); 55 (5%); 42 (9%)
2-OCH ₃	5j	306 (M ⁺ , 2%); 97 (18%); 84 (100%); 70 (5%); 42 (9%)
3-OCH ₃	5k	306 (M ⁺ , 2%); 97 (12%); 84 (100%); 70 (4%); 55 (5%); 42 (8%)
4-OCH ₃	5l	306 (M ⁺ , 1%); 97 (11%); 84 (100%); 70 (6%); 42 (8%)
4-CH ₃	5m	290 (M ⁺ , 1%); 97 (11%); 84 (100%); 70 (5%); 55 (4%); 42 (9%)
2-OH	5n	292 (M ⁺ , 3%); 97 (14%); 84 (100%); 55 (6%); 42 (11%)
3-OH	5o	292 (M ⁺ , 1%); 97 (9%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (10%)
4-OH	5p	292 (M ⁺ , 1%); 97 (10%); 84 (100%); 70 (4%); 55 (5%); 42 (11%)
2,3-OCH ₃	5q	336 (M ⁺ , 2%); 97 (18%); 84 (100%); 70 (6%); 55 (4%); 42 (8%)
2,4- OCH ₃	5r	336 (M ⁺ , 4%); 97 (19%); 84 (100%); 70 (6%); 55 (4%); 42 (10%)
2,6-Cl	5s	344 (M ⁺ -1, 1%); 97 (14%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (11%)

Tabela 10. Dados de espectrometria de massas (CG/MS) das tiazolidinonas **5a-u** (continuação).

2-Cl-6-F	5t	328 (M^+ , 2%); 97 (15%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (13%)
2,4-Cl	5u	344 (M^+-1 , 1%); 97 (7%); 84 (100%); 55 (5%); 42 (13%)

Tabela 11. Dados do espectro de massas em alta resolução (ESI-FTMS) das tiazolidinonas **5c, 5f, 5i, 5m e 5o**.

Composto	R	Experimental	Calculado
5c	4-NO ₂	322,1210	322,1220
5f	4-F	295,1266	295,1275
5i	4-Cl	311,0971	311,0979
5m	4-CH ₃	291,1517	291,1526
5o	3-OH	293,1309	293,1318

4.6. Aplicações das 2,3-disubstituída-4-tiazolidinona em relação há à atividade antimicrobiana e teste de citotoxicidade

O núcleo da tiazolidinona possui uma gama de atividades biológicas amplamente relatadas na literatura. No trabalho de Kunzler et al., 2013 foi realizado o estudo da atividade antifúngica para as tiazolidinonas derivadas da piperidina, além deste, no trabalho de Shingade et al., 2013 foi realizado um estudo da atividade para as tiazolidinonas derivadas da piperazina. Os heterociclos de ambos os trabalhos possuem estrutura semelhante ao anel da pirrolidina (Figura 26), justificando o estudo da atividade antimicrobiana das tiazolidinonas obtidas nesta dissertação. Para tanto tiazolidinonas contendo grupos doadores ou retiradores de elétrons foram estudadas com o intuito de encontrar uma relação estrutura atividade.

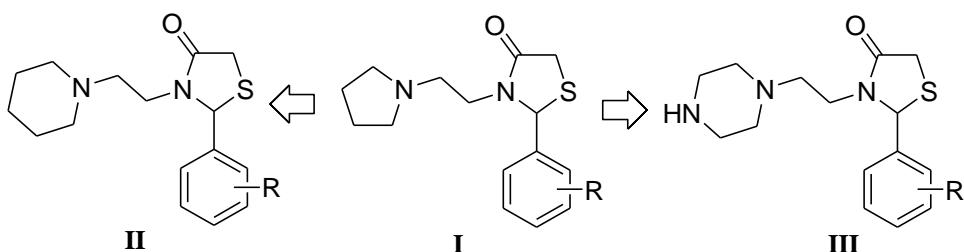


Figura 26: Estruturas das tiazolidinonas frente à atividade antifúngica.

4.6.1. Avaliação da atividade antimicrobiana das 4-tiazolidinonas

Nesse estudo, foram realizados testes de atividade antimicrobiana, pelo Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFPel, onde foram utilizadas doze cepas de caráter patogênico: *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 29214, *Candida albicans* ATCC 62342 e isolados clínicos orais de espécies de *Candida albicans* (3) e não-albicans (*C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. lipolytica*, *C. famata*) isoladas da cavidade bucal de pacientes com Candidase Atrófica Crônica (CAC) atendidos no Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca da própria instituição e armazenadas na Micoteca do Laboratório de Microbiologia.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada através da técnica de Microdiluição em Caldo de acordo com os documentos de referência M27-A3 (CLSI, 2008) e M7-A7 (CLSI, 2006). Os compostos foram primeiramente diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) e, a partir da solução-mãe, as concentrações foram obtidas

por diluições sucessivas em uma progressão geométrica de 0,5, obtendo-se desse modo dez concentrações (100 mg/mL a 0,2 mg/mL). Posteriormente, as concentrações foram diluídas em uma razão de 1:100 em meio de cultura (RPMI para fungos e Mueller-Hinton para bactérias).

As cepas repicadas 24 horas antes foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril até a turvação correspondente a turvação 0,5 do padrão de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Em seguida, a suspensão foi ajustada para 10^7 UFC/mL, diluindo-se essa suspensão inicial em salina estéril em uma razão de 1:100 e, posteriormente, em uma razão de 1:40 em meio de cultura.

O teste de susceptibilidade foi realizado em microplacas plásticas estéreis de 96 poços, constituídas de oito séries identificadas de A a H, cada qual com doze poços. A cada micropoço da placa foi adicionado 100 µL do inóculo final e 100 µL de cada concentração dos compostos, obtendo concentrações finais de 1 a 500 µg/mL. As colunas de controle positivo e negativo receberam respectivamente 100 µL de inóculo mais 100 µL de meio de cultura, e 100 µL das concentrações dos compostos mais 100 µL de meio de cultura. A concentração final de DMSO não excedeu 0,5 % em cada poço. Neste estudo, os fármacos utilizados como referência foram fluconazol (antifúngico), tetraciclina e cloranfenicol (antimicrobiano).

As microplacas foram lidas em leitor de microplaca (Thermo Plate Reader Plus ELX800G) a 590 nm para fungos e a 630 nm para bactérias ($t=0$), posteriormente foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 h (para bactérias) e 48 horas (para fungos) e novamente lidas ($t=1$). A atividade antimicrobiana foi expressa em porcentagem de atividade (% AE) através da fórmula:

$$\% \text{ AE} = 100 - (\text{AE} - \text{AEB} / \text{AC} - \text{ACB}) \times 100.$$

Onde:

AE = Abs dos poços testes após incubação ($t=1$)

AEB = Abs dos poços testes no $t=0$

AC = Abs do poço controle positivo após incubação (100% crescimento)

ACB = Abs do poço controle no $t=0$

Posteriormente, plotou-se um gráfico absorbância x concentração onde todos os valores de IC₅₀ e CIM foram calculados por regressão não-linear no programa GraphPad Prism. Assim, determinou-se o IC₅₀ como a primeira concentração dos compostos que resultou em redução do crescimento do inóculo em 50% em relação ao poço controle positivo, e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi considerada

a menor concentração capaz de produzir 100 % de inibição do crescimento das cepas em relação ao poço controle positivo. Os valores de IC₅₀ referentes à atividade antimicrobiana dos compostos das tiazolidinonas estão representados na Tabela 12, e a concentração inibitória mínima (CIM) das amostras foi verificada com valor maior que 500 µg/mL devido ao crescimento em todos os poços, assim não foram determinados os valores de concentração microbicida mínima (CMM), porque este é calculado a partir do valor de CIM.

4.6.2. Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas

A citotoxicidade das tiazolidinonas sintetizadas foi avaliada em relação há linhagem de células normais de fibroblastos de camundongos (NIH/3T3) provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro, através do ensaio colorimétrico MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio), nas concentrações de 31,25 a 500 µg/mL. Dessa forma 20 µL de cada concentração foram diluídos em 1980 µL de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM). Este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pelo composto em estudo no metabolismo celular de glicídeos usualmente através da avaliação da atividade de desidrogenases mitocondriais.

A viabilidade mitocondrial, e consequentemente, a viabilidade celular, é quantificada pela redução do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração roxa e insolúvel em água) pela atividade daquelas enzimas. Dessa forma, a redução do MTT a formazan, será diretamente proporcional à atividade mitocondrial e a viabilidade celular (Nedel et al., 2010; Fernández et al., 2010).

O meio de cultivo celular utilizado foi o meio essencial de DMEM com suplemento de 10 % de soro fetal bovino (SFB). A linhagem imortalizada de fibroblastos utilizada para o ensaio foi mantida em garrafas de cultivo celular em estufa a 5 % de CO₂ a 37 °C. Para o teste de viabilidade celular, foram utilizadas microplacas de 96 poços. Em cada poço foram adicionadas 2x10⁴ células suspensas em 100 µL de DMEM e a placa incubada em estufa a 5 % de CO₂ a 37 °C, por 24 horas. Em seguida, as células foram incubadas com 100 µL de diferentes concentrações do material experimental por 24 e 48 horas.

Após este período, os produtos foram removidos e, em seguida, 180 µL de DMEM e 20 µL de MTT foram adicionados em cada poço e a placa incubada por

mais 3 horas. Passado o período, o meio foi descartado e os cristais de formazan ressuspensos em 200 µL de DMSO. Subsequentemente, os resultados foram lidos em leitor de microplaca (MR-96A, Mindray Shenzhen, China) a um comprimento de onda de 492 nm (Nedel et al. 2012). Os ensaios foram realizados em quadruplicata nos tempos de 24 e 48 horas e os valores de absorbância (u.a.) foram considerados como indicadores da viabilidade celular.

Os dados dos efeitos da inibição da linhagem celular NIH/3T3 exposta a 24 e 48 horas são expressos como média e desvio padrão (\pm SEM) de diferentes tipos de concentrações dos compostos. A avaliação da citotoxicidade foi através do Teste de Tukey, o qual é um teste de múltiplas comparações que analisa as variações entre todos os resultados, sendo a diferença significativa considerada de $p<0,05$. Nas Figuras 27 e 28, as letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tempos de exposição e letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações testadas.

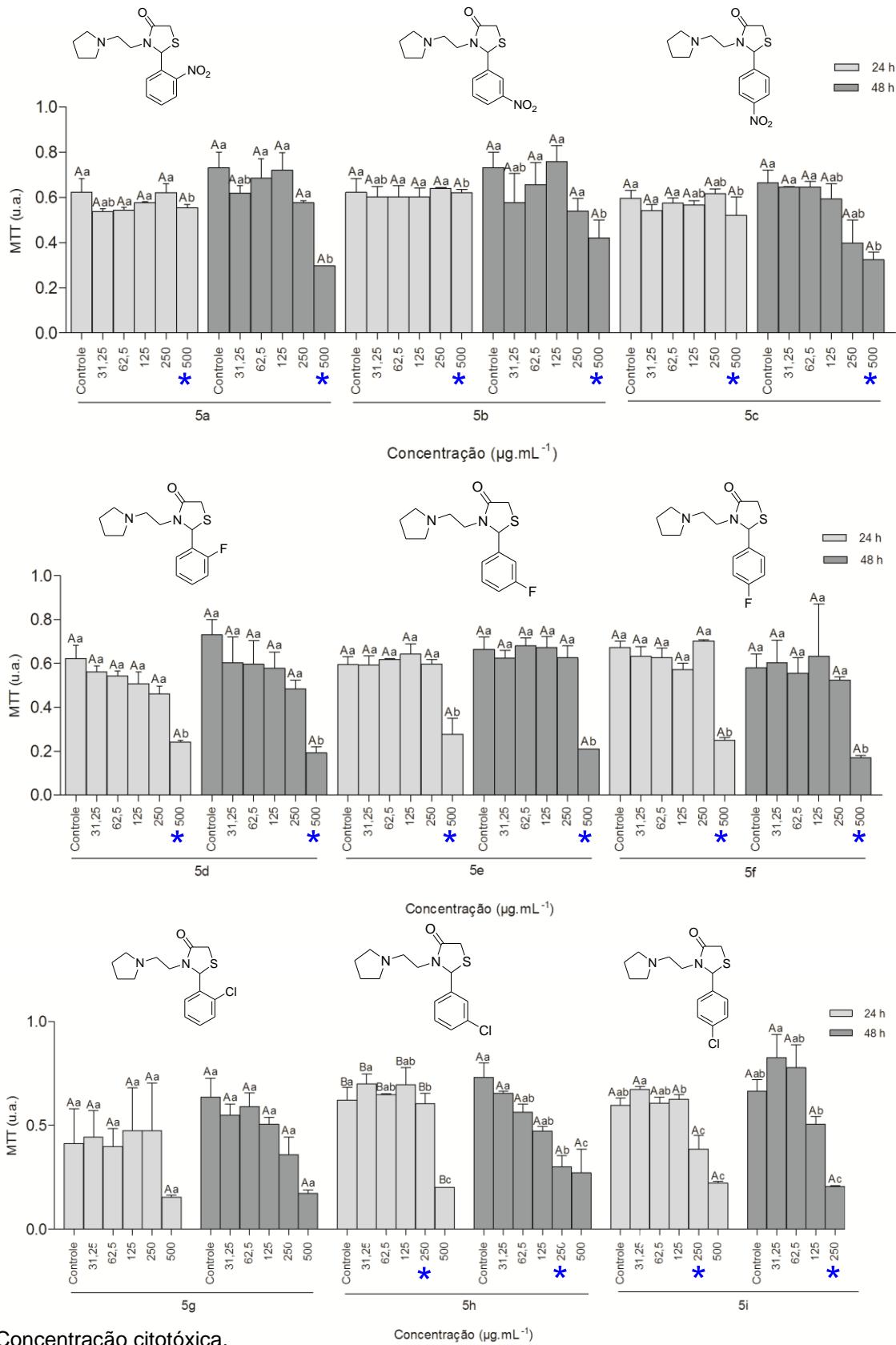
Tabela 12. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos compostos e fármacos de referência sobre patógenos humanos.

Tabela 12. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos compostos e fármacos de referência sobre patógenos humanos (continuação).

5k	3-OMe	IC_{50}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
5l	4-OMe	IC_{50}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
5m	4-CH ₃	IC_{50}	—	—	—	—	7,81	—	—	191,4	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	nd	—	—	—	—	—	—	—	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
5o	3-OH	IC_{50}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	nd	—	—	—	—	—	—	—	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
5q	2,3-OMe	IC_{50}	—	458,4	—	—	—	—	295,5	488,8	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	nd	—	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
5s	2,6-Cl	IC_{50}	—	—	—	—	195,2	—	135,4	70,95	—	—	—	—	
		CIM	—	—	—	—	nd	—	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
		CMM	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Fármacos de Referência															
Fluconazol		IC_{50}	5,34	21,21	<1	<1	<1	14,58	<1	<1	nt	nt	nt	nt	
Cloranfenicol		CIM	—	—	1,95	31,25	3,9	125	3,9	3,9	nt	nt	nt	nt	
Tetraciclina		CMM	nd	nd	62,5	31,25	7,8	250	7,8	3,9	nt	nt	nt	nt	
Cloranfenicol		IC_{50}	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	2,1	148,7	1,92	1,94	
Tetraciclina		CIM	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	3,9	250	3,9	3,9	
Tetraciclina		CMM	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	62,5	500	31,25	31,25	
Tetraciclina		IC_{50}	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	<1	36,39	<1	<1	
Tetraciclina		CIM	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	<1	62,5	<1	<1	
Tetraciclina		CMM	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	3,9	500	3,9	15,62	

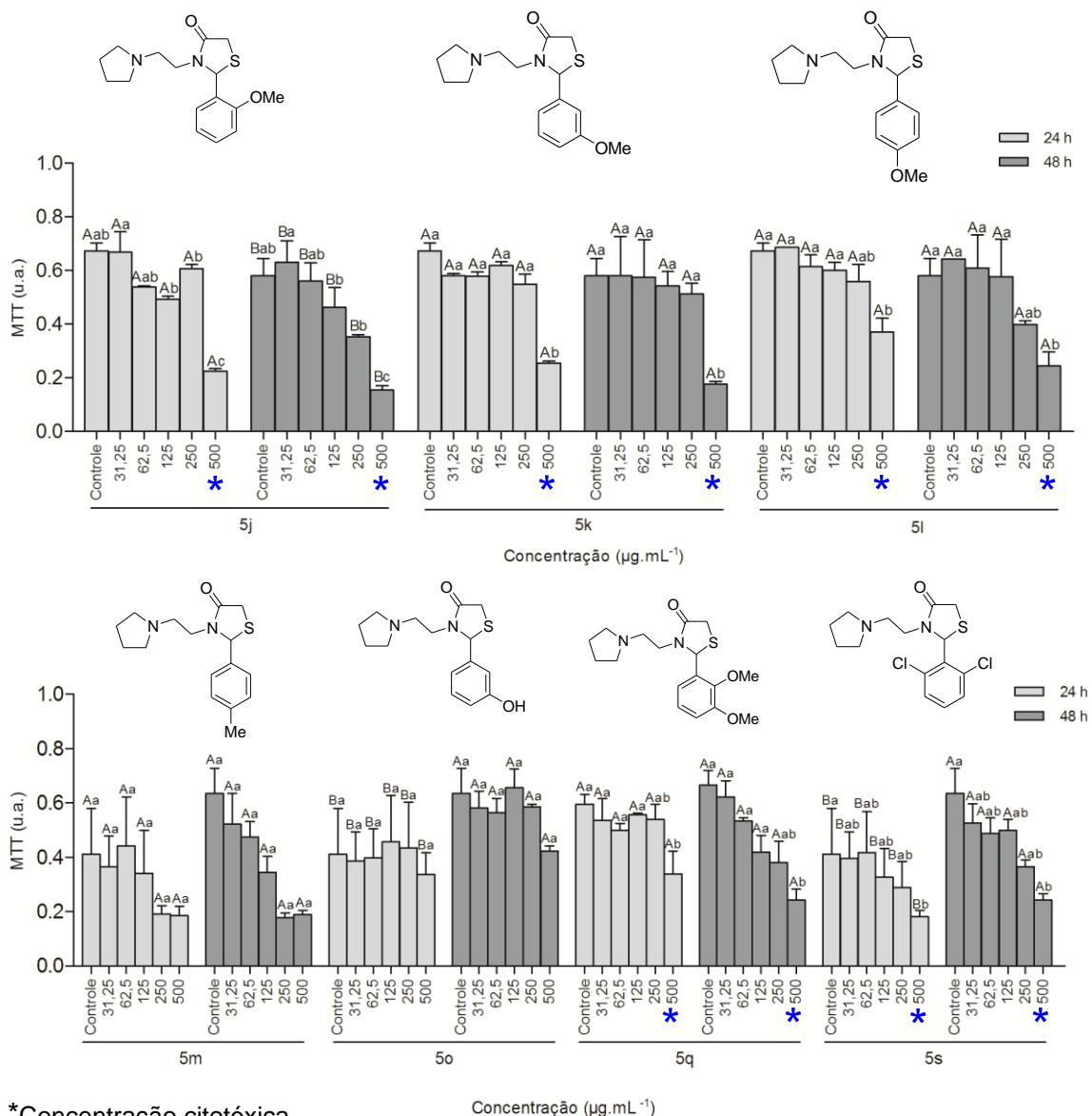
(-): > 500 μ g mL⁻¹; nd: não determinado como CIM foi maior que 500 μ g mL⁻¹; nt: não testado

Microrganismos: C.a: *Candida albicans* ATCC62342, C.a1: *Candida albicans* isolado clínico 1, C.a2: *Candida albicans* isolado clínico 2, C.a3: *Candida albicans* isolado clínico 3, C.p: *Candida parapsilosis* isolado clínico, C.g: *Candida glabrata* isolado clínico, C.l: *Candida lipolytica* isolado clínico, C.f: *Candida famata* isolado clínico, S.a: *Staphylococcus aureus* ATCC19095, E.c: *Escherichia coli* ATCC29214, P.a: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC902.



*Concentração citotóxica.

Figura 27: Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas **5a-i**.



*Concentração citotóxica.

Concentração ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Figura 28: Avaliação da citotoxicidade das 4-tiazolidinonas **5j-m**, **5o**, **5q** e **5s**.

4.6.3. Resultados frente à atividade antimicrobiana e citotoxicidade das 4-tiazolidinonas

Os compostos sintetizados das 4-tiazolidinonas **5a-m**, **5o**, **5q** e **5s** demonstraram moderada atividade antifúngica frente às diferentes cepas de *Candida* testadas. Os compostos **5b**, **5e**, **5i** e **5m** apresentaram seletividade por algumas cepas, já os compostos **5b**, **5g** e **5h** foram os que apresentaram atividade antifúngica para diferentes cepas de *Candida*. Outro resultado relevante nesse estudo foi para o composto **5m**, o qual se revelou o mais potente antifúngico da série das 4-tiazolidinonas sintetizadas, com valor de IC₅₀ de 7,81 µg/mL contra *Candida parapsilosis*. Ainda, o composto **5d** apresentou resultado significativo com valor de IC₅₀ de 47,9 µg/mL, contra a mesma espécie, porém ambos com resultados menores que o padrão fluconazol (Figura 29).

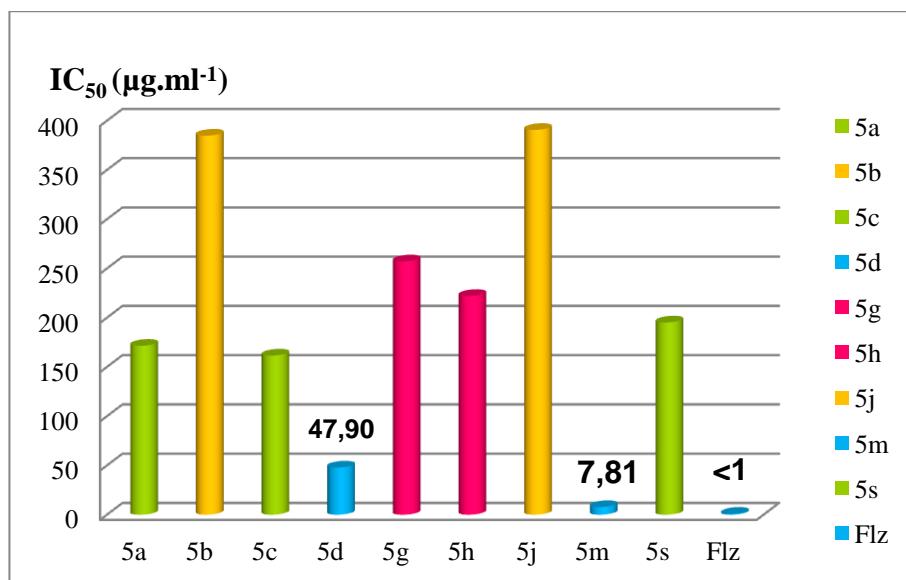


Figura 29: Estudo da atividade antimicrobiana contra *Candida parapsilosis*.

A *Candida parapsilosis* é considerada uma importante causa de infecções invasivas, que afeta principalmente pacientes em unidades de tratamento intensivo. A resistência das espécies de *Candida* aos fármacos antifúngicos é ainda um grande desafio para o estabelecimento do tratamento e da profilaxia (Miceli et al., 2011).

O aparecimento e aumento de cepas resistentes entre infecções comunitárias adquiridas e aos fármacos clinicamente existentes, levou a necessidade urgente da descoberta de novos agentes antimicrobianos ativos. O aumento da resistência antimicrobiana deve-se diretamente ao uso extensivo e muitas vezes inapropriado dos antibióticos, além do aumento do número de pacientes imunocomprometidos.

Assim, durante os últimos 50 anos, esforços significativos no diagnóstico e tratamento de doenças microbianas foram realizados (Jin et al., 2012 e Guimarães et al., 2010).

Neste trabalho o estudo da avaliação da atividade antibacteriana frente aos compostos das 4-tiazolidinona apresentaram baixos resultados comparado com a atividade antifúngica e com os padrões cloranfenicol e tetraciclina. Essa atividade somente foi observada nos compostos **5d** e **5g**, porém ainda assim o composto **5d** apresentou melhor atividade antifúngica do que bacteriana (Figura 30).

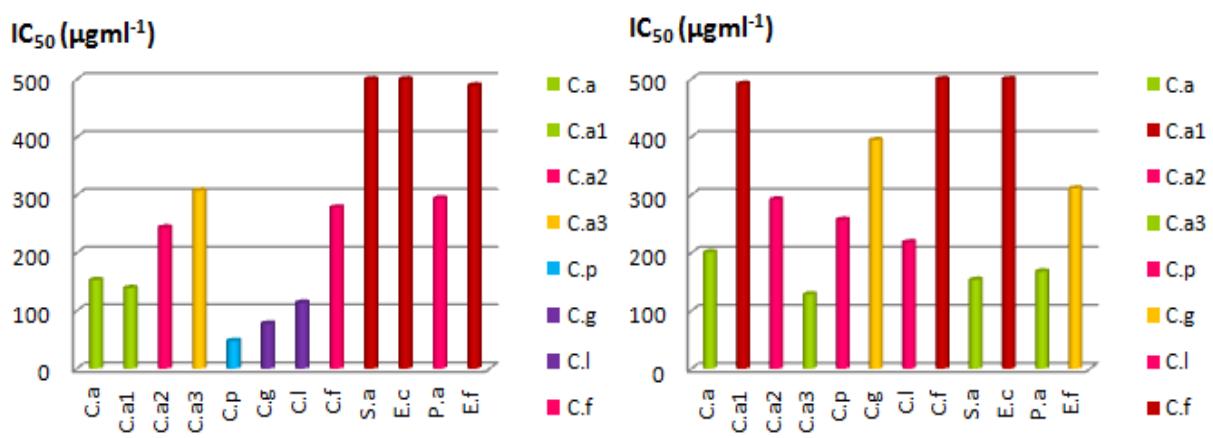
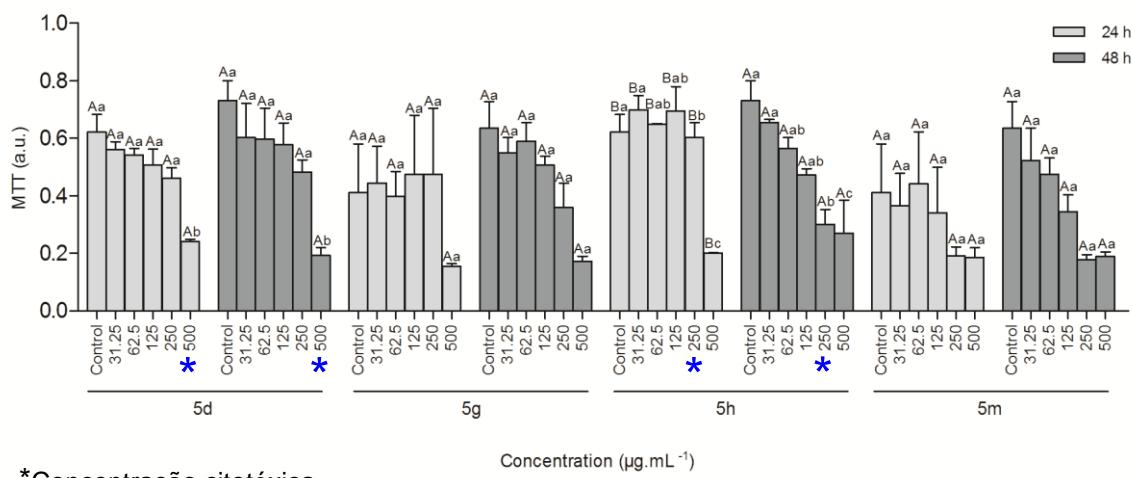


Figura 30: Estudo da atividade antimicrobiana dos compostos **5d** e **5g**.

Além disso, as tiazolidinonas sintetizadas não apresentaram citotoxicidade frente a células normais de fibroblastos de camundongos (NIH/3T3), visto que não exibiram diferença significativa de viabilidade celular até a dose de 250 µg/mL. Na Figura 31 estão destacados os gráficos da citotoxicidade dos compostos **5d**, **5g**, **5h** e **5m** que apresentaram melhor atividade antimicrobiana.



*Concentração citotóxica.

Figura 31: Estudo da citotoxicidade dos compostos **5d**, **5g**, **5h** e **5m**.

Assim, analisando os resultados em comparação com o controle, o composto **5g** não apresentou citotoxicidade até 500 $\mu\text{g/mL}$ e o composto **5h** apresentou a partir da dose de 250 $\mu\text{g/mL}$. Comparando os resultados da atividade antimicrobiana com os de citotoxicidade podemos afirmar que o composto **5d** teve o melhor resultado da série, visto que revelou atividade de amplo espectro contra com diferentes cepas fúngicas, sem apresentar citotoxicidade até a concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$, além do composto **5m** que revelou o melhor resultado antifúngico e não apresentou citotoxicidade até 500 $\mu\text{g/mL}$.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos deste trabalho, e frente aos resultados após análises, pode-se verificar que:

» Foram sintetizadas 21 novas 4-tiazolidinonas **5a-u** derivadas da 1-(2-aminoetil)pirrolidina, pela metodologia de aquecimento térmico convencional, por meio da reação em “one-pot”, pelo período de 5 horas, sendo os compostos **5d**, **5h**, **5k** e **5u** os que apresentaram os melhores rendimentos da série superiores a 90%, porém de maneira geral todos os compostos apresentaram bons rendimentos. A identificação e caracterização dos novos compostos foram realizadas por meio das análises de CG e CG-MS e RMN de ^1H e ^{13}C e 2D-RMN de COSY, HMBC, HMQC.

» Também foi possível obter as tiazolidinonas *p*-substituídas **5c**, **5f**, **5i**, **5l**, **5m** e **5p** por meio de irradiação ultrassônica e micro-ondas, a partir da reação em “one-pot” e multicomponente, respectivamente, pelo período de 5, 6 e 9 minutos, com rendimentos de moderados a bons. Assim o uso de metodologia alternativa mostrou-se bastante eficiente frente à redução de resíduos e de energia. A metodologia em micro-ondas foi a mais eficiente por apresentar rendimentos próximos ou superiores às outras metodologias, além da redução de tempo para 5 minutos comparado com a metodologia convencional, o qual foi de 5 horas.

» Os melhores resultados antimicrobianos foram obtidos para as tiazolidinonas **5a-m**, **5o**, **5q** e **5s** testadas contra o fungo *Candida parapsilosis*. Destaque para a substância **5d** e **5m**, que apresentaram as melhores atividades antifúngicas e não apresentaram citotoxicidade até 250 µg/mL conta células de NIH/3T3, porém os compostos **5d** e **5g** destacaram-se por apresentar atividade de amplo espectro principalmente para os fungos testados. A grande maioria dos compostos não apresentou citotoxicidade em células NIH/3T3 até a concentração de 250 µg/mL, um fator relevante para o estudo de outras atividades farmacológicas do núcleo da 4-tiazolidinona.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADKI, N.; RAVI, G.; KUMAR, S. S.; RAO, G. N. Synthesis of new biologically active compounds containing linked thiazolyl-thiazolidinone heterocycles. **Organic Communications**, v. 4, p. 160–170, 2012.
- AHMED, O.; SHARMA, P.; SINGHVI, I. Anticonvulsant Activity of Some Novel Substituted Thiazolidinone Derivatives. **International Journal for Pharmaceutical Research Scholars**, v. 3, n. 1, p. 289–294, 2014.
- ARUN, Y.; BHASKAR, G.; BALACHANDRAN, C.; IGNACIMUTHU, S.; PERUMAL, P. T. Facile one-pot synthesis of novel dispirooxindole-pyrrolidine derivatives and their antimicrobial and anticancer activity against A549 human lung adenocarcinoma cancer cell line. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 6, p. 1839–1845, 2013.
- ARYA, K.; DANDIA, A. Synthesis of biologically important novel fluorinated spiro heterocycles under microwaves catalyzed by montmorillonite KSF. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 128, n. 3, p. 224–231, 2007.
- BRITTANY L.; HAYES, P. D. **Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light**, USA, CEM Publishing, 2002.
- CAMPOS JR., J. C.; GOUVÊA, D. P.; RIBEIRO, C. S.; DUTRA, F. S. P.; STEFANELLO, F. M.; PEREIRA, C. M. P.; CUNICO, W.; SIQUEIRA, G. M. Efficient Synthesis and Antioxidant Evaluation of 2-aryl-3-(pyrimidin-2yl)-thiazolidinones. **J Biochem Molecular Toxicology**, p. 1–6, 2013.
- CHANDRAMOHAN, S.; ELAYARAJA, R.; SALINI, S. T.; ELAVARASAN, A.; KUMAR, R. S. Synthesis, characterization and biological evaluation of some novel thiazolidinones derivatives. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 5, p. 1516–1519, 2012.
- CHAU, C. M.; CHUAN, T. J.; LIU, K. M. A highly efficient one-pot method for the synthesis of thioureas and 2-imino-4-thiazolidinones under microwave conditions. **RSC Advances**, v. 4, n. 3, p. 1276–1282, 2014.
- CUNICO, W. GOMES C. R. B.; AND VELLASCO JR. W. T. Chemistry and Biological Activities of 1,3-Thiazolidin-4-ones. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 5, p. 336–344, 2008.
- DRAWANZ, B. B.; RIBEIRO, C. S.; MASTELOTO, H. G.; NEUFELDT, P. D.; PEREIRA, C. M. P.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W. Sonochemistry: A good, fast and clean method to promote the synthesis of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1615–1617, 2014.
- DESAI, N. C.; PANDYA, D. D.; BHATT, K. A.; KOTADIYA, G. M. Synthesis, antimicrobial, and cytotoxic activities of novel benzimidazole derivatives bearing cyanopyridine and 4-thiazolidinone motifs. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, p. 3823–3835, 2014.

- DUARTE, A.; CUNICO, W.; PEREIRA, C. M. P.; FLORES, A. F. C.; FREITAG, R. A.; SIQUEIRA, G. M. Ultrasound promoted synthesis of thioesters from 2-mercaptobenzoxa(thia)zoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, n. 2, p. 281–283, 2010.
- FERNÁNDEZ M. R., CARVALHO R. V., OGLIARI F. A., BEIRA F. A., ETGES A., BUENO M. Cytotoxicity and genotoxicity of sodium percarbonate: a comparison with bleaching agents commonly used in discoloured pulpless teeth. **International Endodontic Journal**. v. 43, n. 2, p.102-108, 2010.
- FOROUGHIFAR, N.; EBRAHIMI, S. One-pot synthesis of 1,3-thiazolidin-4-one using Bi(SCH₂COOH)₃ as catalyst. **Chinese Chemical Letters**, v. 24, n. 5, p. 389–391, 2013.
- GOLMOHAMADI, A.; MÖLLER, G.; POWERS, J.; NINDO, C. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1316–1323, 2013.
- GOUVÉA, D. P.; BAREÑO, V. D. O. BOSENBECKER, J.; DRAWANZ, B. B.; NEUENFELDT, P. D.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W. Ultrasonics promoted synthesis of thiazolidinones from 2-aminopyridine and 2-picolinamine. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, n. 6, p. 1127–1131, 2012.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010.
- HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Role of microwaves in heterogeneous catalytic systems. **Catalysis Science & Technology**, v. 4, n. 5, p. 1197-1210, 2014.
- JAIN, A. K., VAIDYA A., RAVICHANDRAN, V., KASHAW, S. K., AGRAWAL, R. K. Recent developments and biological activities of hiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 3378–3395, 2012.
- JIN, X.; ZHENG, C. J.; SONG, M. X.; WU, Y.; SUN, L. P.; LI, Y. J.; YU, L. J.; PIAO, H. R. Synthesis and antimicrobial evaluation of L-phenylalanine-derived C5-substituted rhodanine and chalcone derivatives containing thiobarbituric acid or 2-thioxo-4-thiazolidinone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, p. 203–9, 2012.
- KAMIŃSKI, K.; OBNISKA, J.; CHLEBEK, I.; WIKLIK, B.; RZEPKA, S; Design, synthesis and anticonvulsant properties of new N-Mannich bases derived from 3-phenylpyrrolidine-2,5-diones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 21, p. 6821–6830, 2013.
- KUMAR, D.; SONAWANE, M.; PUJALA, B.; JAIN, V. K.; BHAGAT, S.; CHAKRABORTI, A. K. Supported protic acid-catalyzed synthesis of 2,3-disubstituted thiazolidin-4-ones: enhancement of the catalytic potential of protic acid by adsorption on solid supports. **Green Chemistry**, v. 15, n. 10, p. 2872-2884, 2013.

- KUNZLER, A.; NEUENFELDT, P. D.; NEVES, A. M.; PEREIRA, C. M. P.; MARQUES, G. H.; NASCENTE, P. S.; FERNANDES, M. H. V.; HÜBNER, S. O.; CUNICO, W. Synthesis, antifungal and cytotoxic activities of 2-aryl-3-((piperidin-1-yl)ethyl)thiazolidinones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 74–80, 2013.
- MACCARI, R.; VITALE, R. M.; OTTANÀ, R.; ROCCHICCIOLI, M.; MARRAZZO, A.; CARDILE, V.; GRAZIANO, A. C. E.; AMODEO, P.; MURA, U.; DEL CORSO, A. Structure-activity relationships and molecular modelling of new 5-arylidene-4-thiazolidinone derivatives as aldose reductase inhibitors and potential anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 81c, p. 1–14, 2014.
- MARQUES, G. H.; KUNZLER, A.; BAREÑO, V. D. O.; DRAWANZ, B. B.; MASTELLOTO, H. G.; LEITE, R. M.; NASCIMENTO, G. G.; NASCENTE, P. S.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W. Synthesis, characterization, and biological evaluation of some N-aryl hydrazones and their 2,3-disubstituted-4-thiazolidinone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 1, p. 253–266, 2013.
- MASOUD, G. N.; YOUSSEF, A. M.; KHALEK , M. M. A.; WAHAB, A. E. A.; LABOUTA, I. M.; HAZZAA, A. B. Design, synthesis, and biological evaluation of new 4-thiazolidinone derivatives substituted with benzimidazole ring as potential chemotherapeutic agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 2, p. 707–725, 2013.
- MESHRAM, J.; ALI, P.; TIWARI, V. Zeolite as an efficient and recyclable activation surface for the synthesis of bis-thiazolidinones: theoretical screening owing to experimental biology. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 3, n. 3, p. 195–200, 2010.
- MICELI, M.H.; DÍAZ, J.A.; LEE, S.A. Emerging opportunistic yeast infections. **Lancet Infectious Disease**, v.11, p.142–51, 2011.
- NANDAGOKULA, C.; POOJARY, B.; VITTAL, S.; SHENOY, S.; SHETTY, P.; TANGAVELU, A. Synthesis, characterization, and biological evaluation of some N-aryl hydrazones and their 2,3-disubstituted-4-thiazolidinone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 1, p. 253–266, 2013.
- NEDEL F., SOKI F. N., CONDE M. C., ZEITLIN B. D., TARQUINIO S. B., NÖR J. E., SEIXAS F. K., DEMARCO F. F. Comparative analysis of two colorimetric assays in dental pulp cell density. **International Endodontic Journal**. v. 44, n. 1, p. 59-64, 2010.
- NEDEL F., CAMPOS V. F., ALVES D., MCBRIDE A. J., DELLAGOSTIN O. A., COLLARES T., SAVEGNAGO L., SEIXAS F. K. Substituted diaryl diselenides: cytotoxic and apoptotic effect in human colon adenocarcinoma cells. **Life Sciences**, v. 24, n. 91, p. 345-352, 2012.
- NEUENFELDT, P. D.; DRAWANZ, B. B.; SIQUEIRA, G. M.; GOMES, C. R. B.; WARDELL, S. M. S. V.; FLORES, A. F. C.; CUNICO, W. Efficient solvent-free

- synthesis of thiazolidin-4-ones from phenylhydrazine and 2,4-dinitrophenylhydrazine. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 23, p. 3106–3108, 2010.
- NEUENFELDT, P.; DRAWANZ, B.; AGUIAR, A.; FIGUEIREDO JR., F.; KRETTLI, A.; CUNICO, W. Multicomponent Synthesis of New Primaquine Thiazolidinone Derivatives. **Synthesis**, v. 2011, n. 23, p. 3866–3870, 2011.
- NEUENFELDT, P. D; DUVAL, A. R.; DRAWANZ, B. B.; ROSALES, P. F.; GOMES, C. R. B.; PEREIRA, C. M. P.; CUNICO, W. Efficient sonochemical synthesis of thiazolidinones from piperonilamine. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 65–67, 2011.
- NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HÄBICH, D. Antibacterial natural products in medicinal chemistry--exodus or revival **Angewandte Chemie**, v. 45, n. 31, p. 5072–5129, 2006.
- PAL, P.; DAS, J. K.; DAS, N.; BANDYOPADHYAY, S.; Synthesis of NaP zeolite at room temperature and short crystallization time by sonochemical method. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 314–321, 2013.
- PATEL, V. K.; SEN, D. J.; PATEL, H. U.; PATEL, C. N. Sonochemistry : The effect of sonic waves on chemical systems. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 2, p. 573–580, 2010.
- PATEL, D.; KUMARI, P.; PATEL, N. Synthesis and biological evaluation of some thiazolidinones as antimicrobial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, p. 354–362, 2012.
- PATEL, N. B.; PATEL, H. R.; SHAIKH, F. M.; RAJANI, D. New 4-thiazolidinones from 5-ethyl pyridine-2-ethanol: their antibacterial, antifungal, and antitubercular activity. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 3, p. 1360–1370, 2014.
- PATRICK, G.L. **An introduction to medicinal chemistry**, 4 ed. New York, Oxford University Press, 2009.
- PRASAD, D.; KUMAR, A.; SHUKLA, P. K.; NATH, M. Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel 2-aryl-thiazolidin-4-one derivatives. **Organic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2011.
- PRASAD, D.; PREETAM, A.; NATH, M. DBSA catalyzed, one-pot three-component “on water” green protocol for the synthesis of 2,3-disubstituted 4-thiazolidinones. **RSC Advances**, v. 2, n. 7, p. 3133-3140, 2012.
- PRATAP, U. R.; JAWALE, D. V.; BHOSLE, M. R.; MANE, R. A. Saccharomyces cerevisiae catalyzed one-pot three component synthesis of 2,3-diaryl-4-thiazolidinones. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 14, p. 1689–1691, 2011.
- RANGANATHA, V. L.; BEGUM, A B.; NAVNEEN, P. Synthesis, Xanthine Oxidase Inhibition, and Antioxidant Screening of Benzophenone Tagged Thiazolidinone Analogs. **Archiv der Pharmazie**, v. 347, p. 1–10, 2014.

RAZA, S.; SRIVASTAVA, S. P.; SRIVASTAVA D. S.; SRIVASTAVA A. K.; HAQ, W.; KATTI, S. B. Thiazolidin-4-one and thiazinan-4-one derivatives analogous to rosiglitazone as potential antihyperglycemic and antidyslipidemic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.63, p.611-620, 2013.

Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Document M27-A3, Approved Standard, 3th ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Wayne, PA, USA, v. 28, n. 14, p. 25, 2008.

Reference Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically. Document M7-A7, Approved Standard, 7th ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Wayne, PA, USA, v. 26, n. 2, p. 16, 2006.

ROOZE, J.; REBROV, E. V. SCHOUTEN, J. C.; KEURENTJES, J. T. F. Dissolved gas and ultrasonic cavitation-a review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 1–11, 2013.

SANSEVERINO, A. M. Microondas em Síntese Orgânica. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 660–667, 2002.

SENTHILRAJA, M.; ALAGARSAMY, V.; SOLOMON, V. R. 2 , 3-Disubstituted Thiazolidin-4-ones : Novel Class of Anticonvulsant Agents. **Letters in Drug Design & Discovery**, n. 20, p. 731–735, 2012.

SHALINI, K.; KUMAR, N.; DRABU, S.; SHARMA, P. K. Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 7, p. 668–677, 2011.

SHAHID B., SUKHBIR K., Cefepime and its role in pediatric infections, **Frontiers in Anti-Infective Drug Discovery**, v. 1, p. 261-268, 2010.

SHI, W.; MA, H.; DUAN, Y.; AUBART, K.; FANG, Y.; ZONIS, R.; YANG, L.; HU, W. Design, synthesis and antibacterial activity of 3-methylenepyrrolidine formyl hydroxyamino derivatives as novel peptide deformylase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 3, p. 1060–1063, 2011.

SHIGADE, S. G.; BARI S. B. Synthesis and antimicrobial screening of 4-thiazolidinone and 2-azetidinone derivatives of piperazine. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, p. 699-706, 2013.

SHRIVASTAVA, S. P; SEELAM, N.; RAI, R. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Thiazolidinone Derivatives With the use of γ -Ferrite Catalyst, **E-Journal of Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 825-831, 2012.

SILVA, E. U. A Importância do Controle da Prescrição de Antimicrobianos em Hospitais para Melhoria da Qualidade, Redução dos Custos e Controle da Resistência Bacteriana. **Pratica Hospitalar**, v. 57, n. 57, p. 101–106, 2008.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 7 ed., Rio de Janeiro, LTC, 2013.

THAKARE M. P.; KUMAR P.; KUMAR N.; PANDEY S. K. Silica gel promoted environment-friendly synthesis of 2,3-disubstituted 4-thiazolidinones. **Tetrahedron Letters**, v. 55, n.15, p. 2463–2466, 2014.

THEOPHIL E.; SIEGFRIED H.; ANDREAS S. **The Chemistry of Heterocycles**, Further Reading from Wiley-VCH, 2. ed., Federal Republic of Germany, Weinheim, 2003.

TRIPATHI, A. C.; GUPTA, S. J.; FATIMA, G. N.; SONAR, P. K.; VERMA, A.; SARAF, S. K. 4-Thiazolidinones: The advances continue. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 72, p. 52-77, 2014.

VINAY, V.; LAKSHIKA, K. A review on anti microbial activity of 4-thiazolidinone derivatives. **International Journal of Research in Pharmacy and Science**, v. 1, p. 17–27, 2011.

VINTONYAK, V. V.; WARBURG, K.; KRUSE, H.; GRIMME, S.; HÜBEL, K.; RAUH, D.; WALDMANN, H. Identification of thiazolidinones spiro-fused to indolin-2-ones as potent and selective inhibitors of the Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase B. **Angewandte Chemie**, v. 49, n. 34, p. 5902–5905, 2010.

XU, H.; ZEIGER, B. W.; SUSLICK, K. S. Sonochemical synthesis of nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 7, p. 2555–2567, 2013.

WU, J.; YU, L.; YANG, F.; LI, J.; WANG, P.; ZHOU, W.; QIN, L.; LI, Y.; LUO, J.; YI, Z.; LIU, M.; CHEN, Y. Optimization of 2-(3-(arylalkyl amino carbonyl) phenyl)-3-(2-methoxyphenyl)-4-thiazolidinone derivatives as potent antitumor growth and metastasis agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 80, p. 340–351, 2014.

ZHENG, H.; MEI, Y. J.; DU, K.; SHI, Q. Y.; ZHANG, P. F. Trypsin-Catalyzed One-Pot Multicomponent Synthesis of 4-Thiazolidinones. **Catalysis Letters**, v. 143, n. 3, p. 298–301, 2013.

ANEXO I – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C

Anexo I: Espectroscopia de RMN

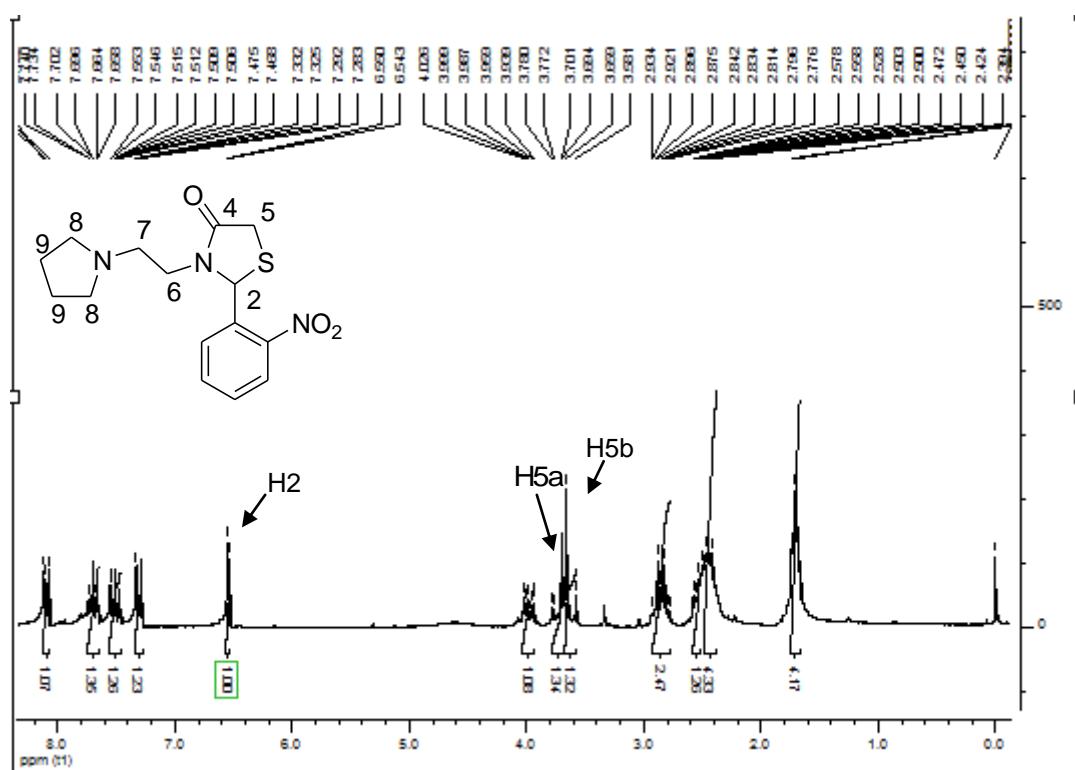


Figura 32: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5a** (200 Hz).

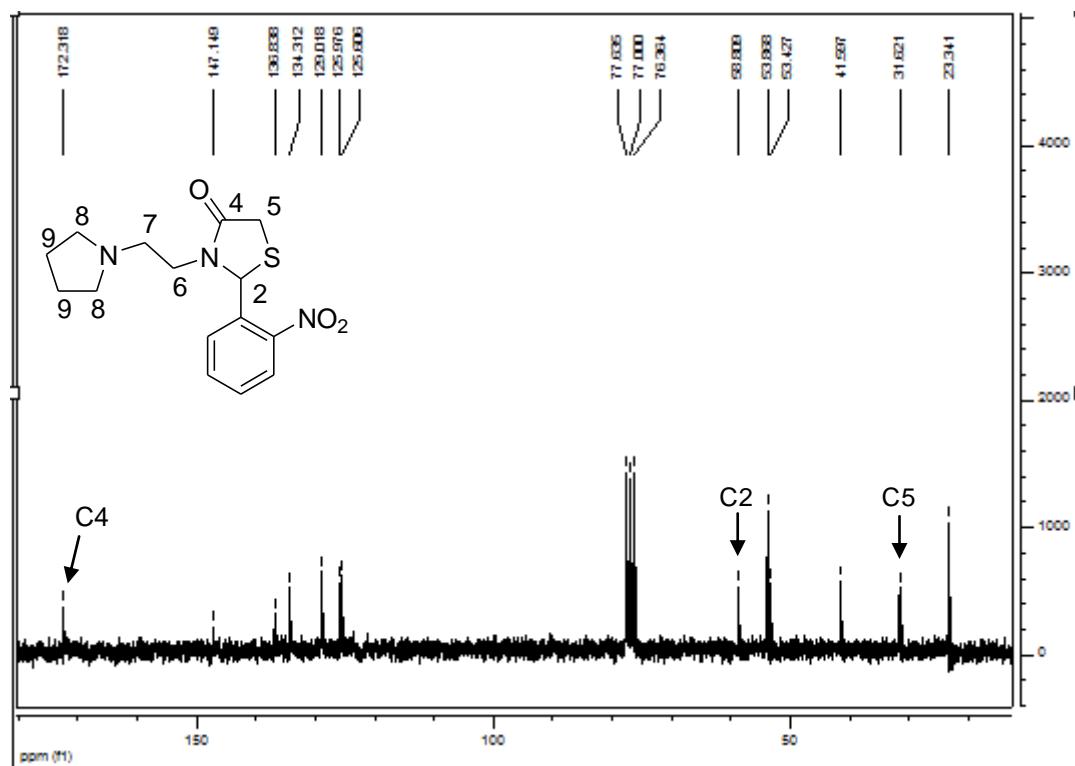
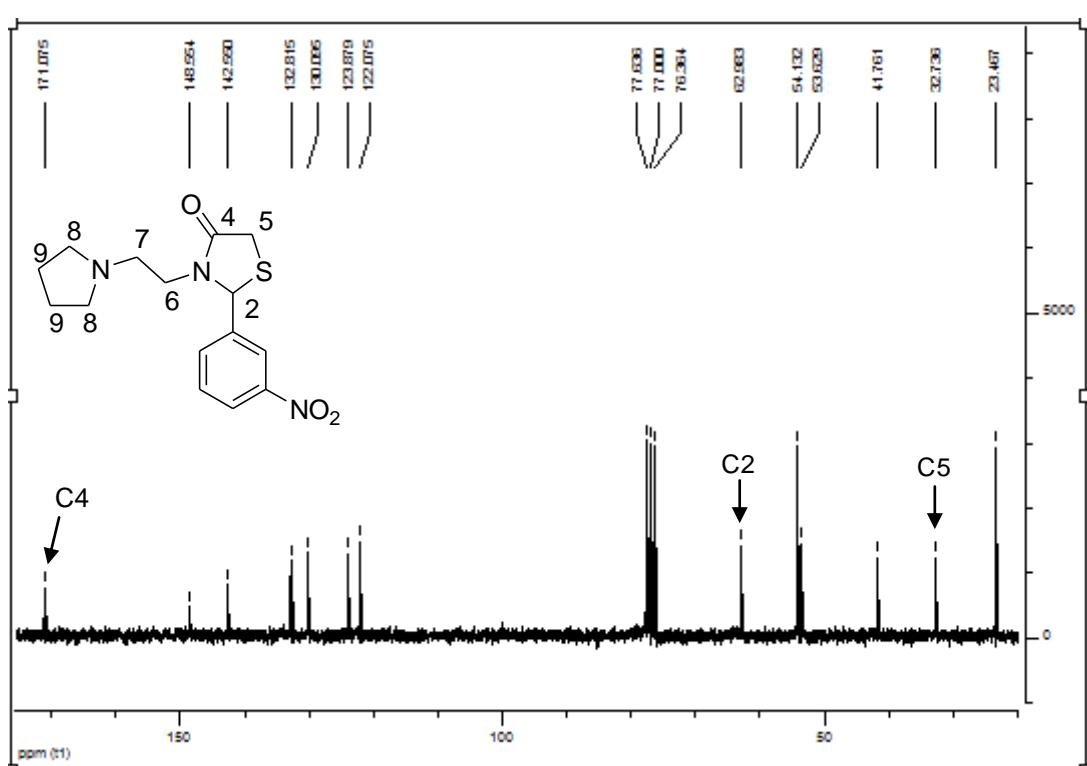
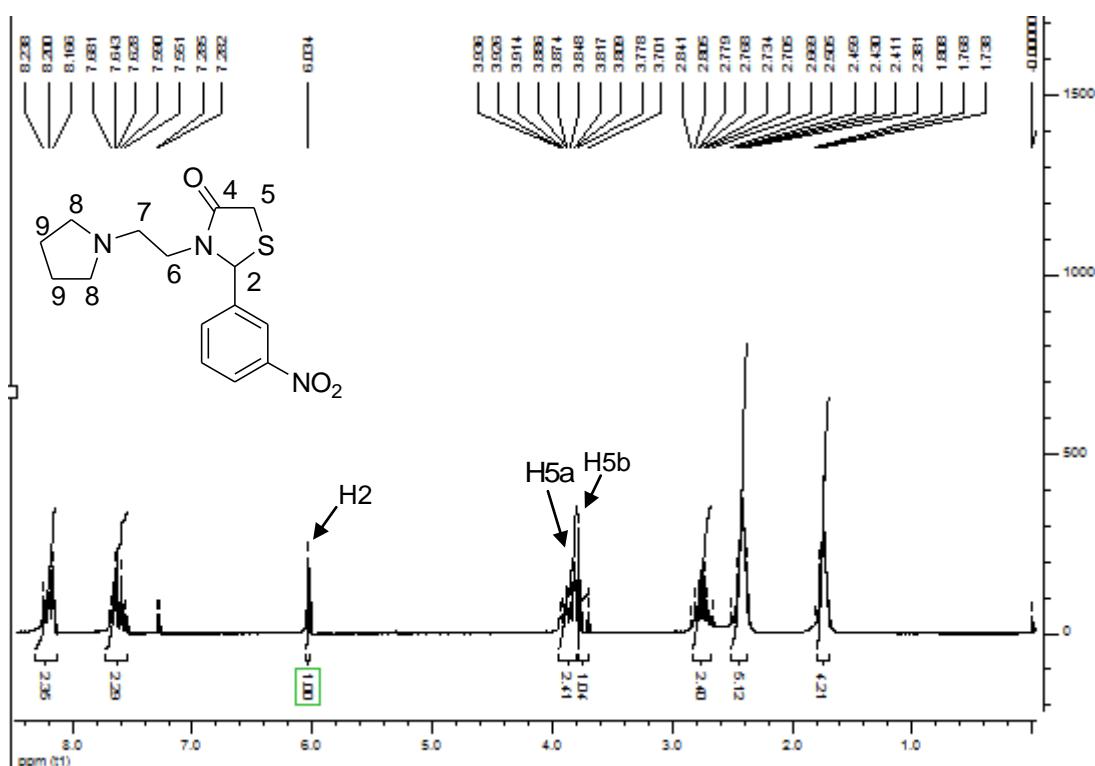
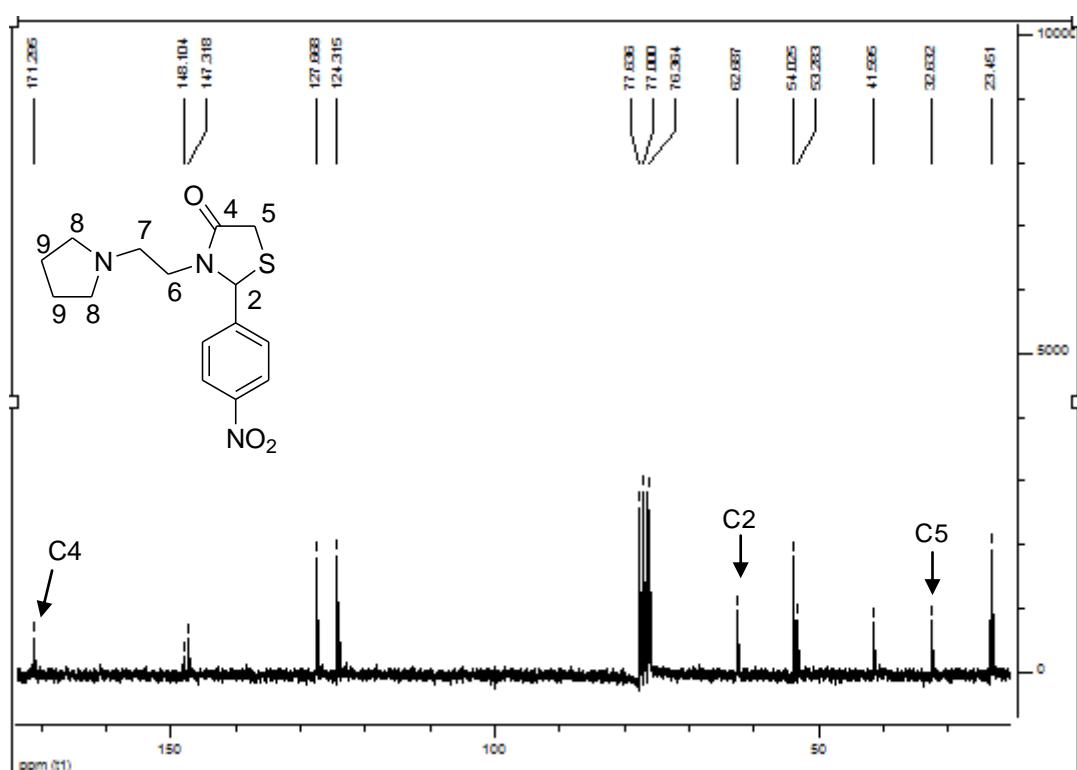
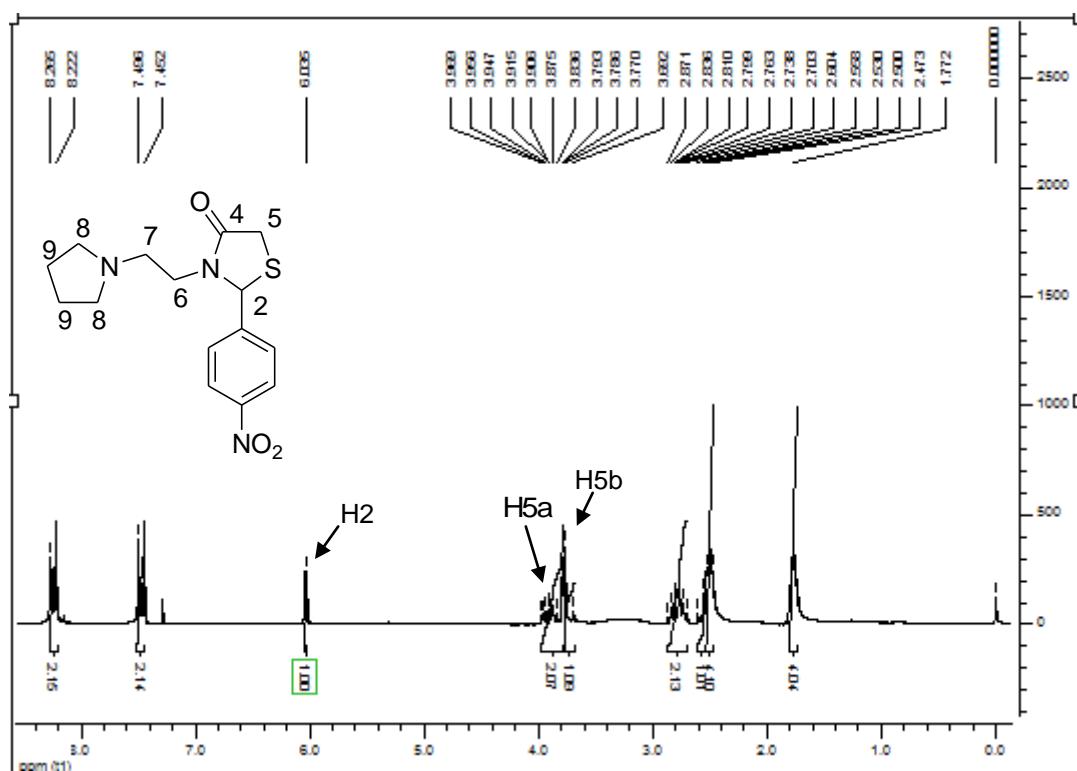


Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5a** (50 Hz).

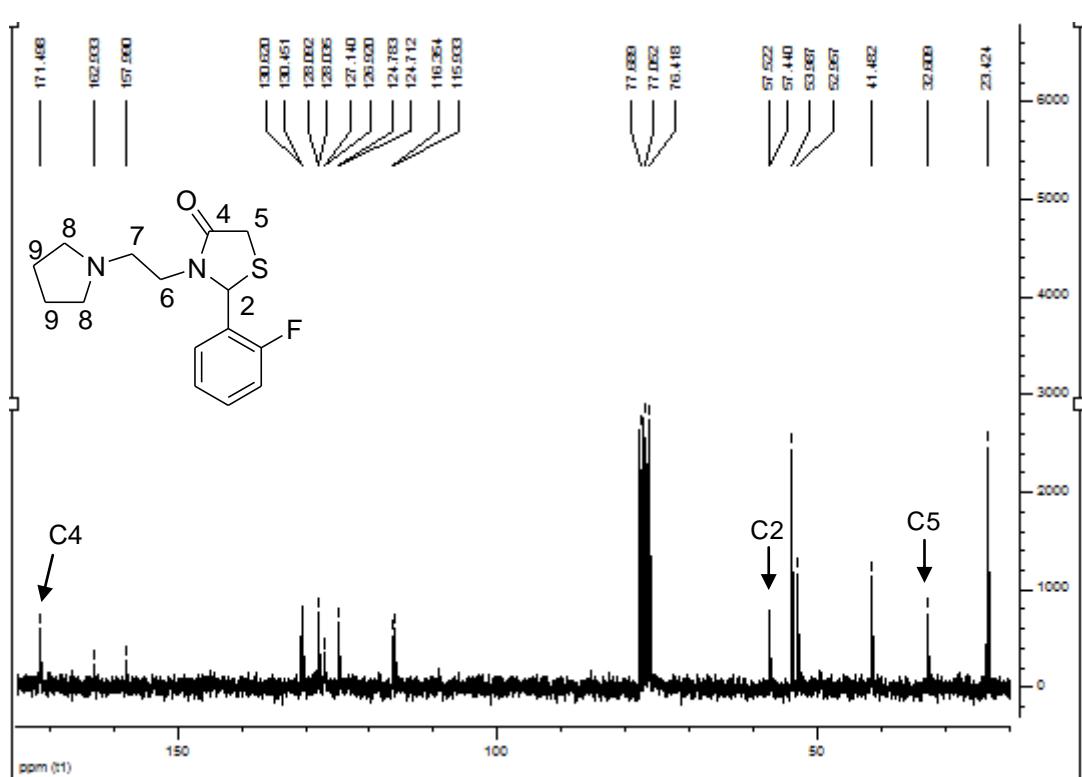
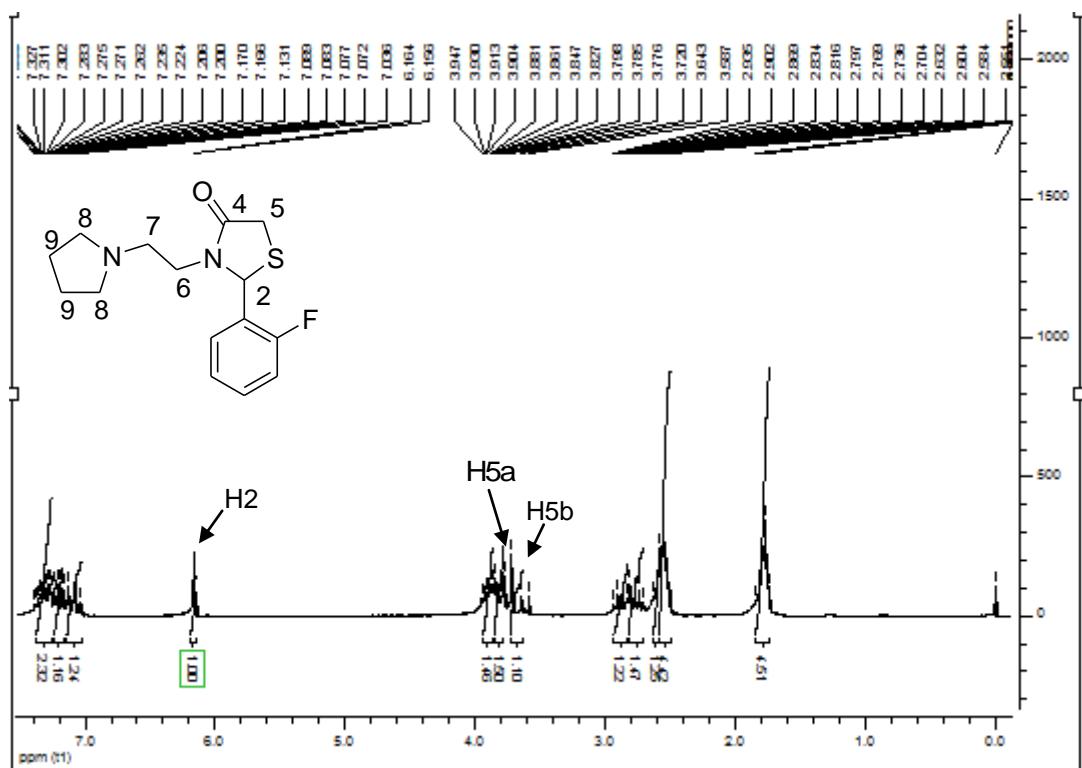
Anexo I: Espectroscopia de RMN



Anexo I: Espectroscopia de RMN



Anexo I: Espectroscopia de RMN



Anexo I: Espectroscopia de RMN

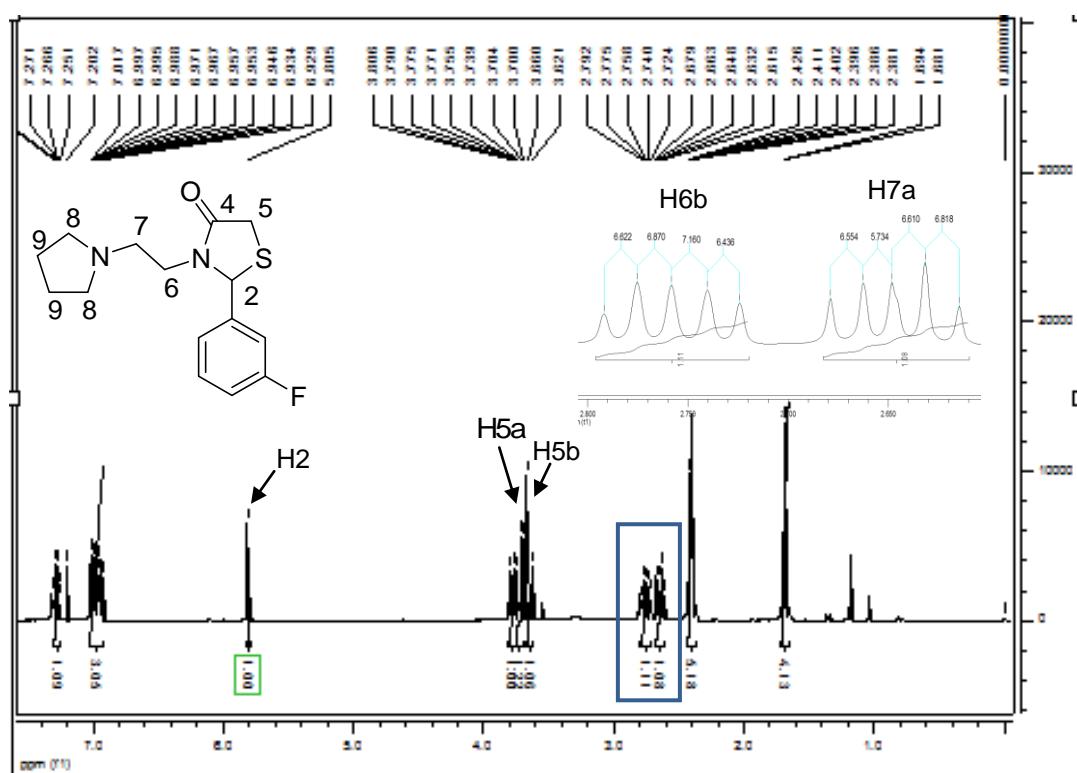


Figura 40: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5e** (200 Hz).

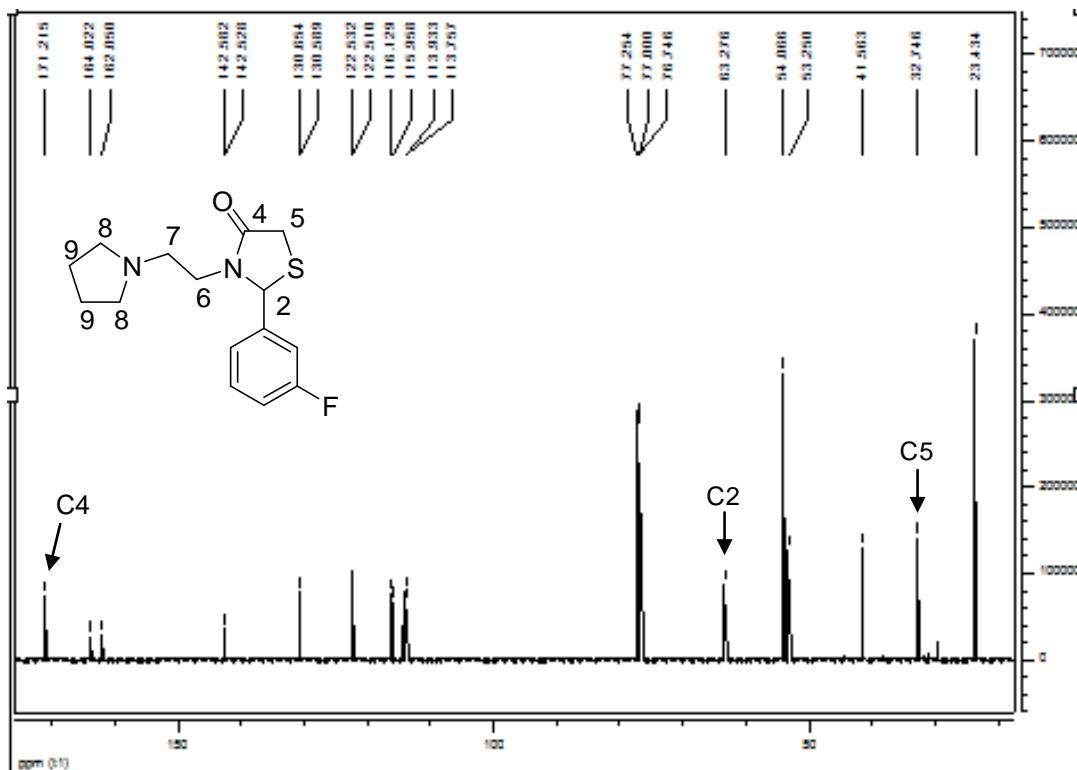


Figura 41: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5e** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

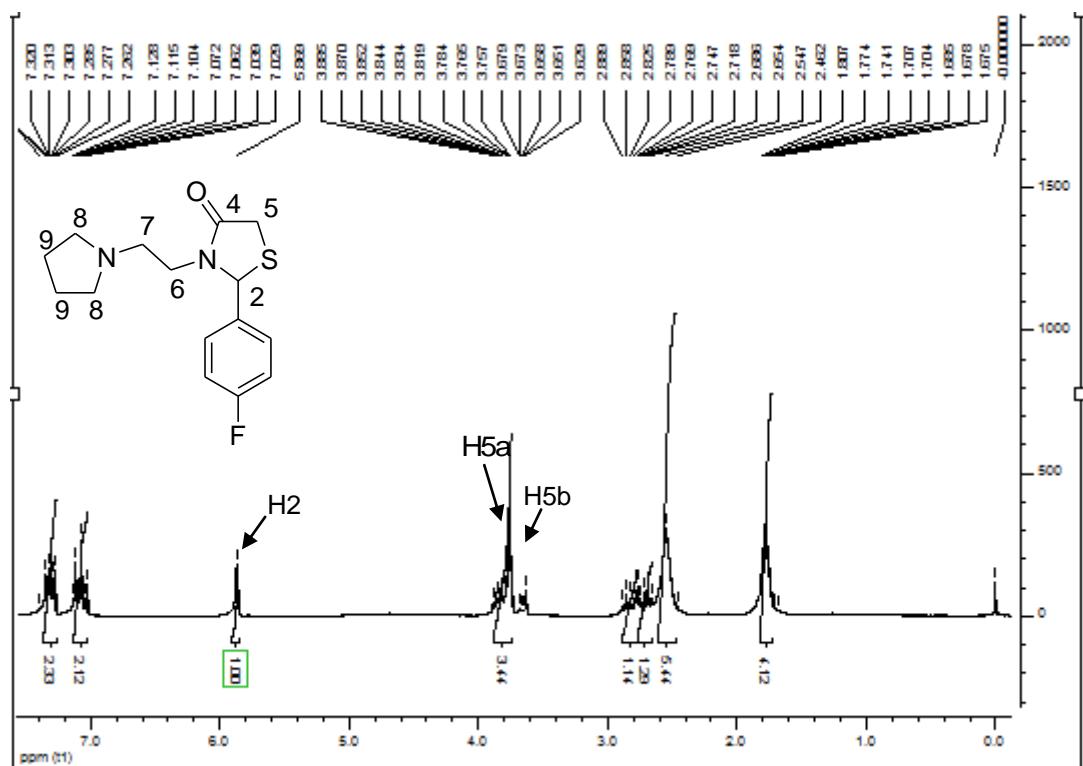


Figura 42: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5f** (200 Hz).

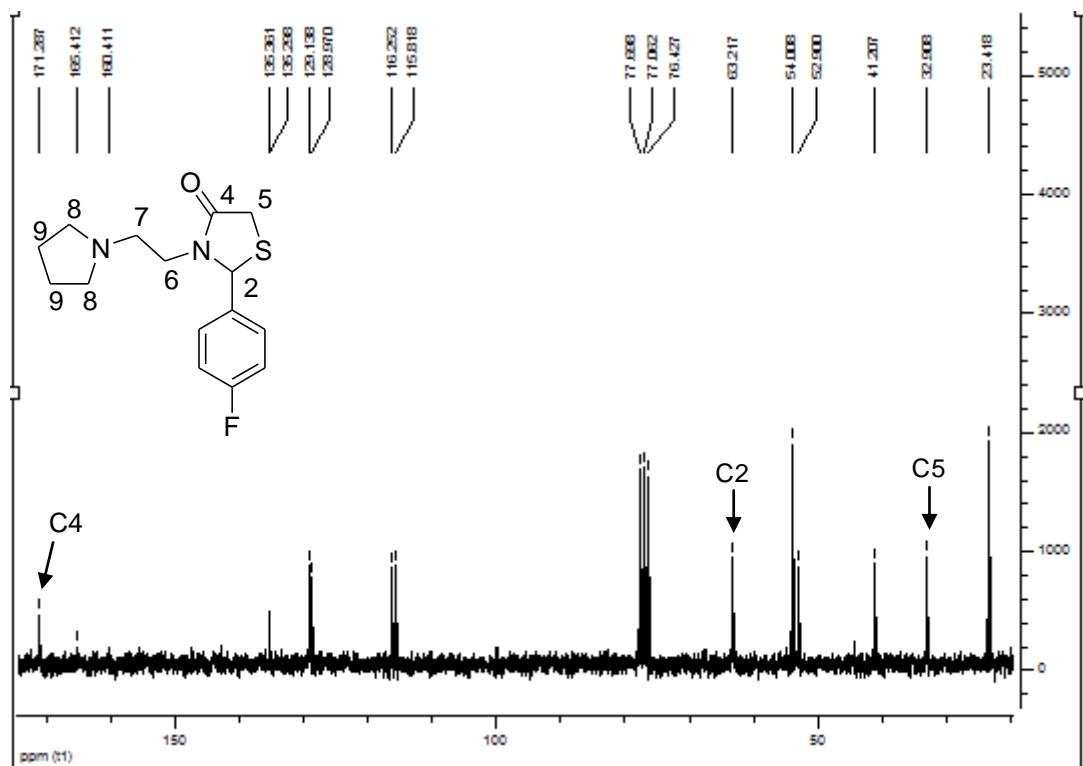


Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5f** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

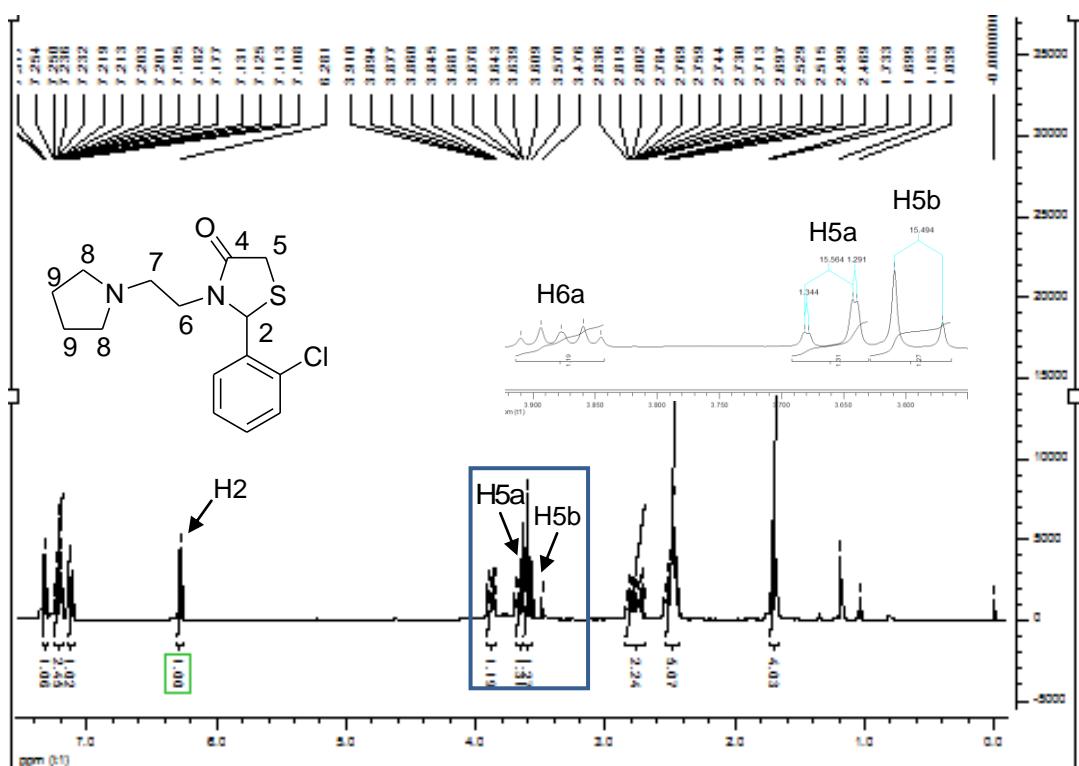


Figura 44: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5g** (200 Hz).

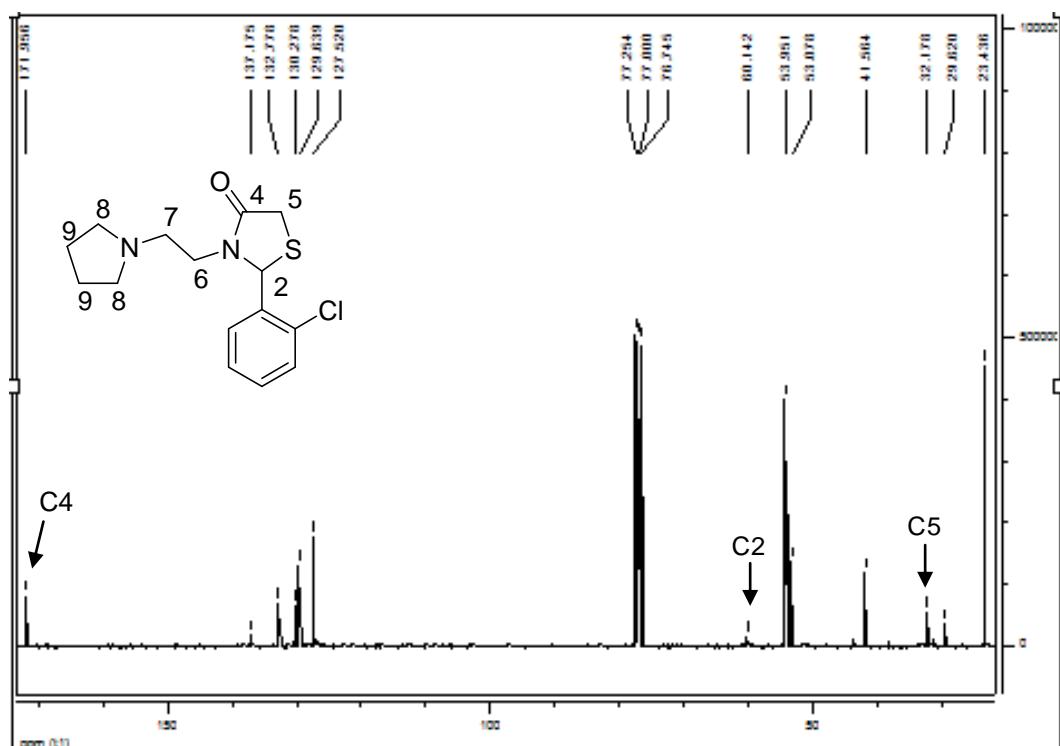


Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5g** (200 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

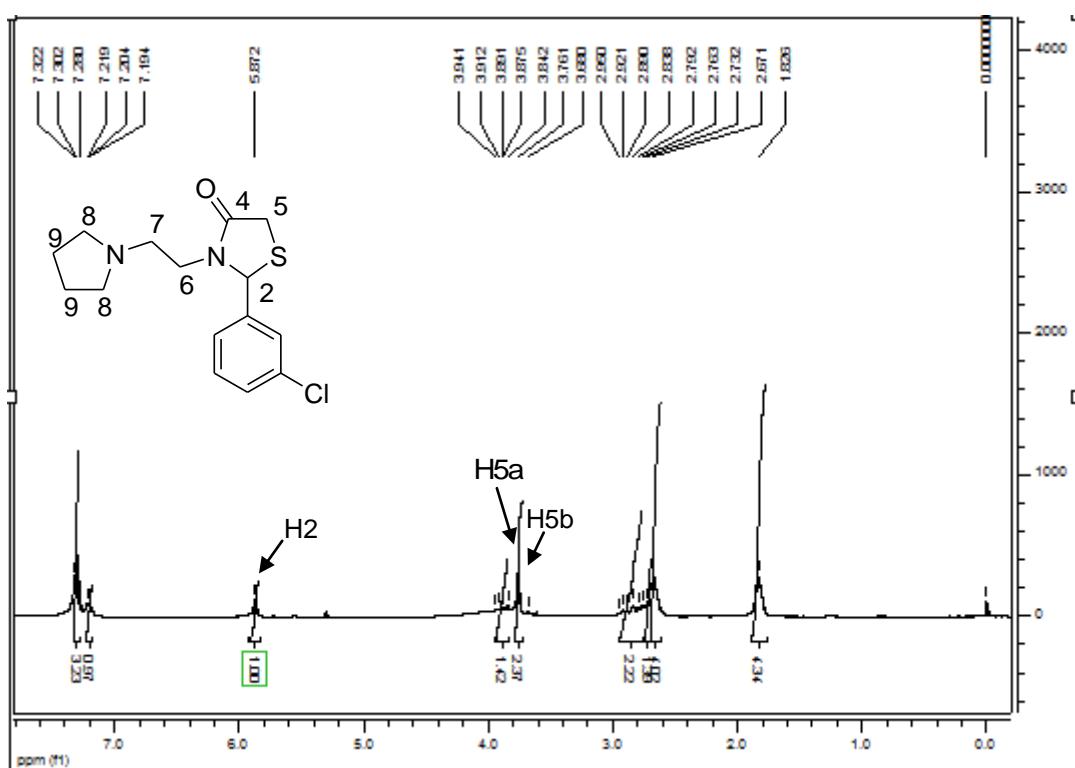


Figura 46: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5h** (200 Hz).

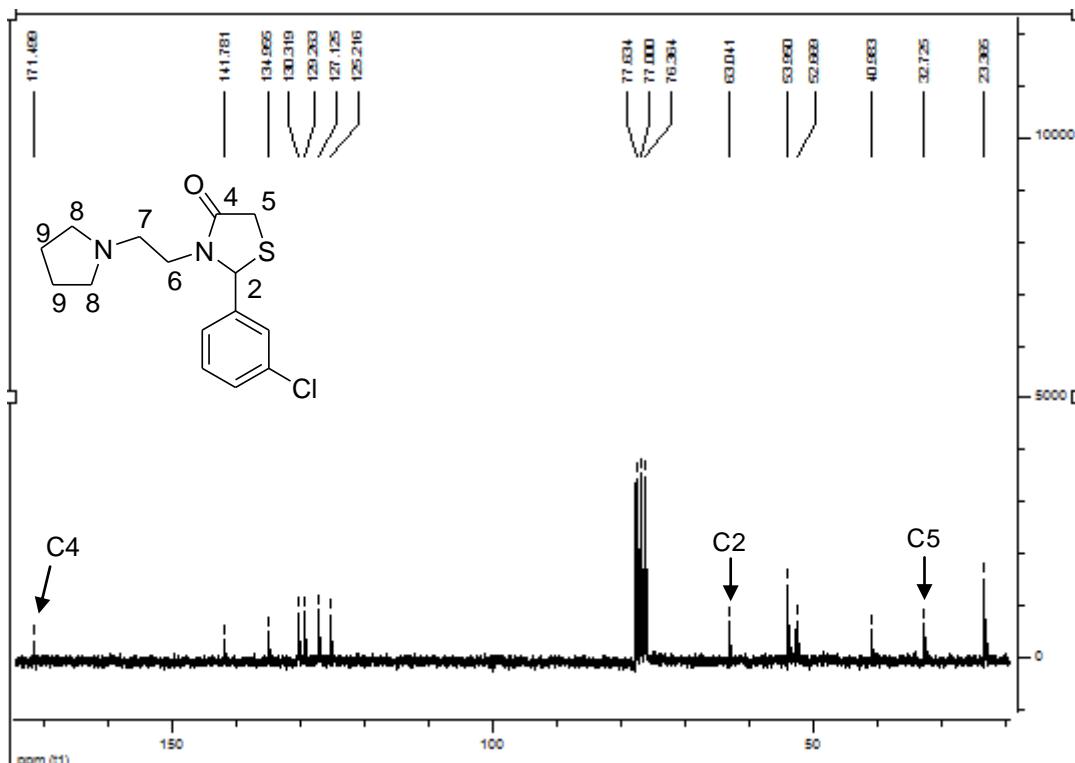


Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5h** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

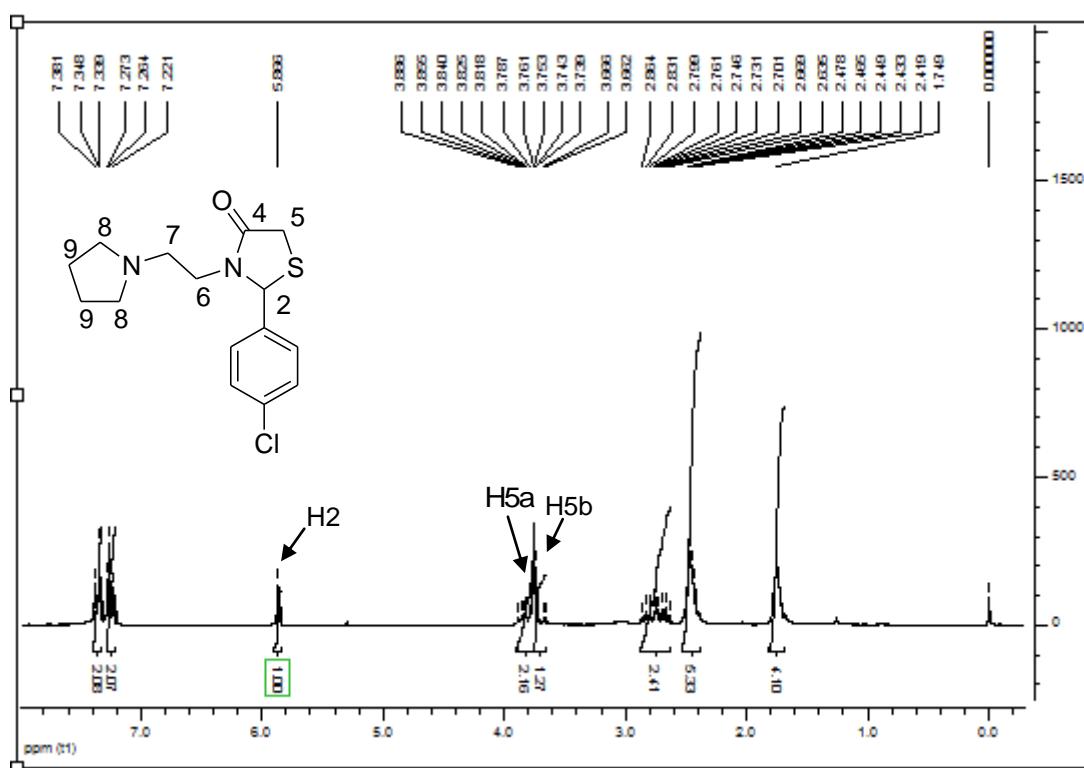


Figura 48: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5i** (200 Hz).

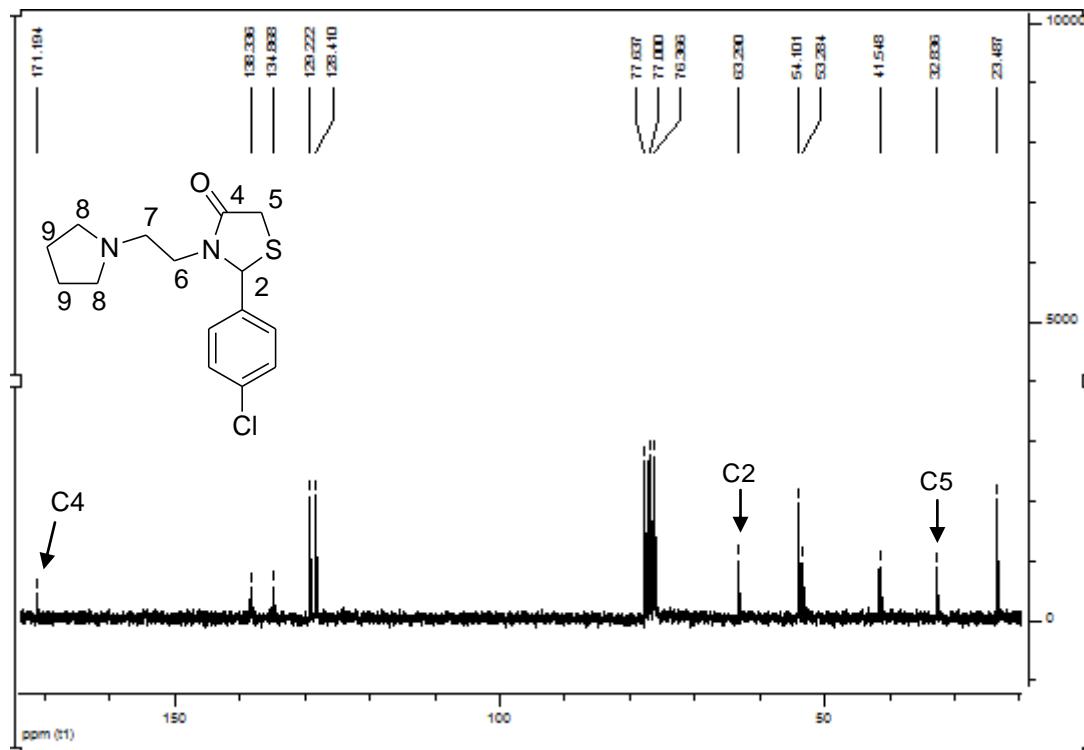
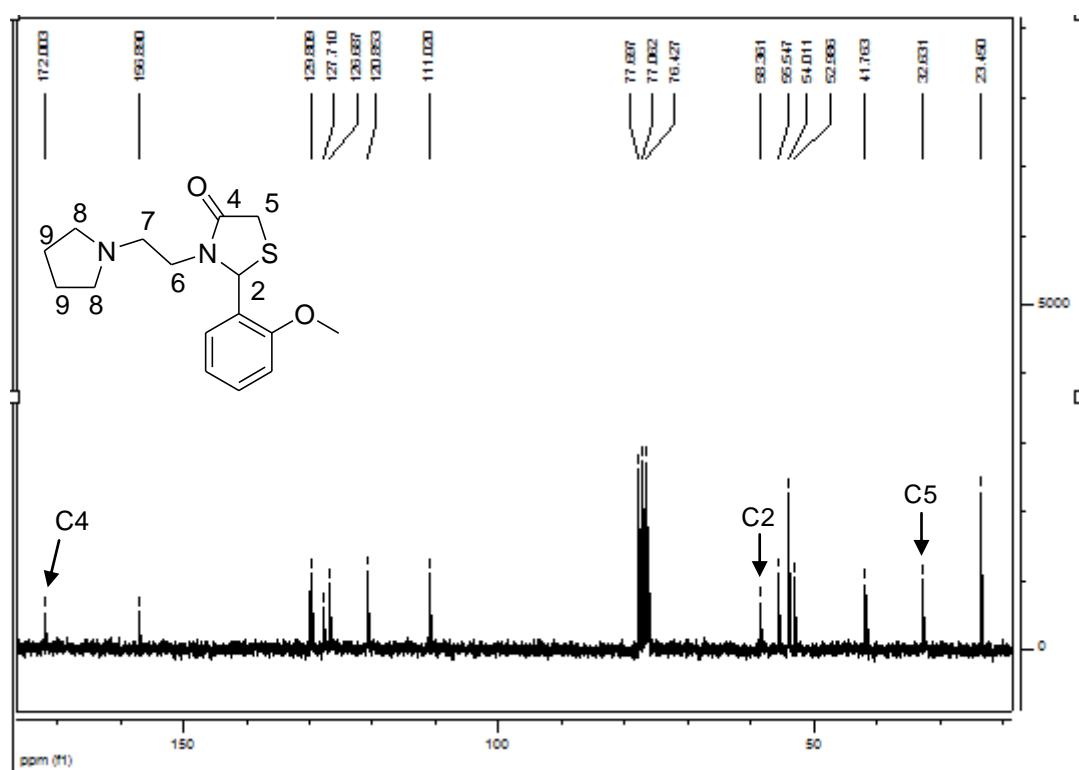
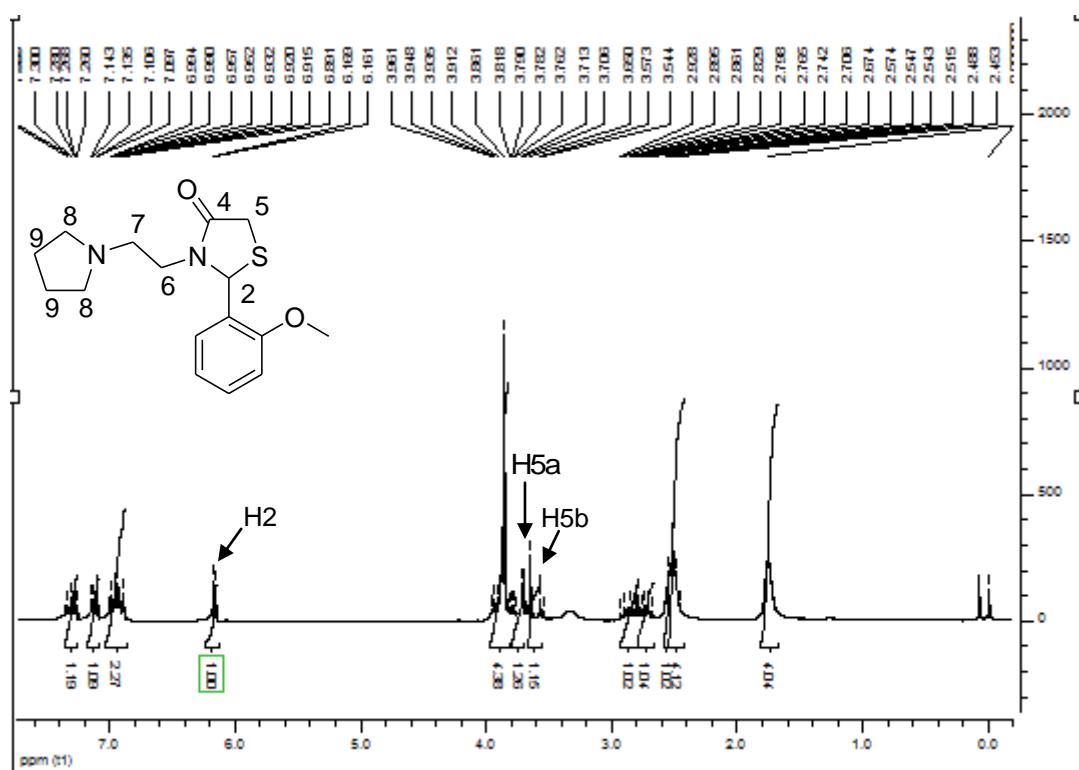


Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5i** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN



Anexo I: Espectroscopia de RMN

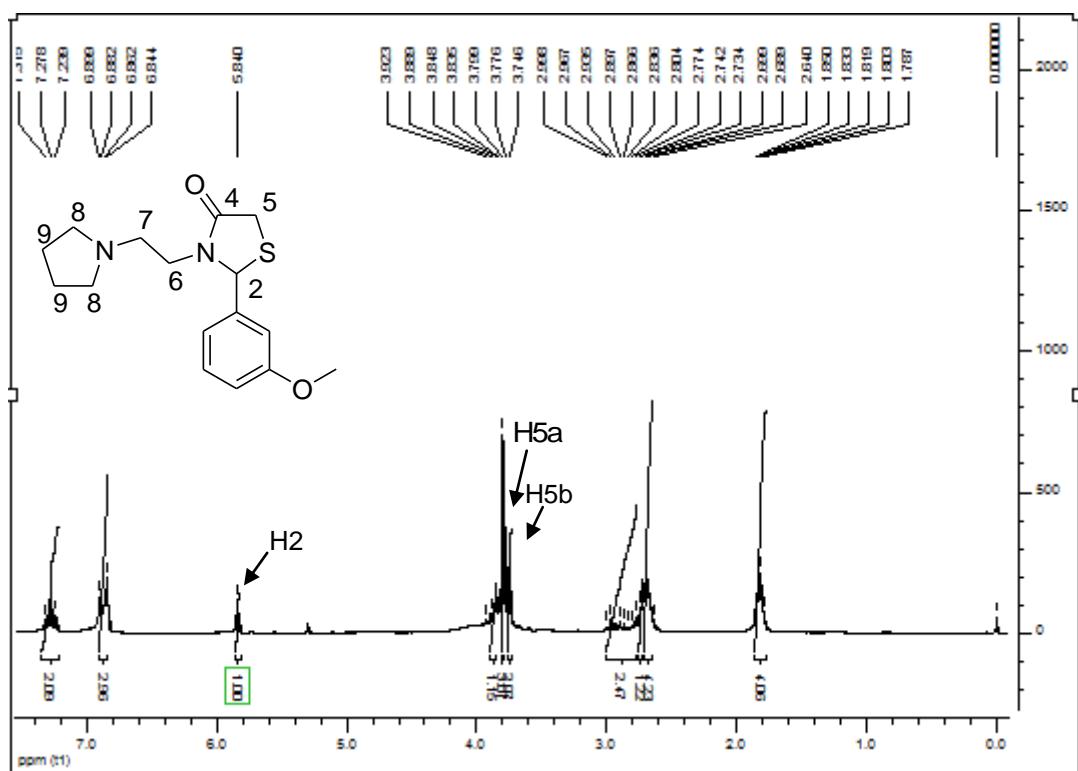


Figura 52: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5k** (200 Hz).

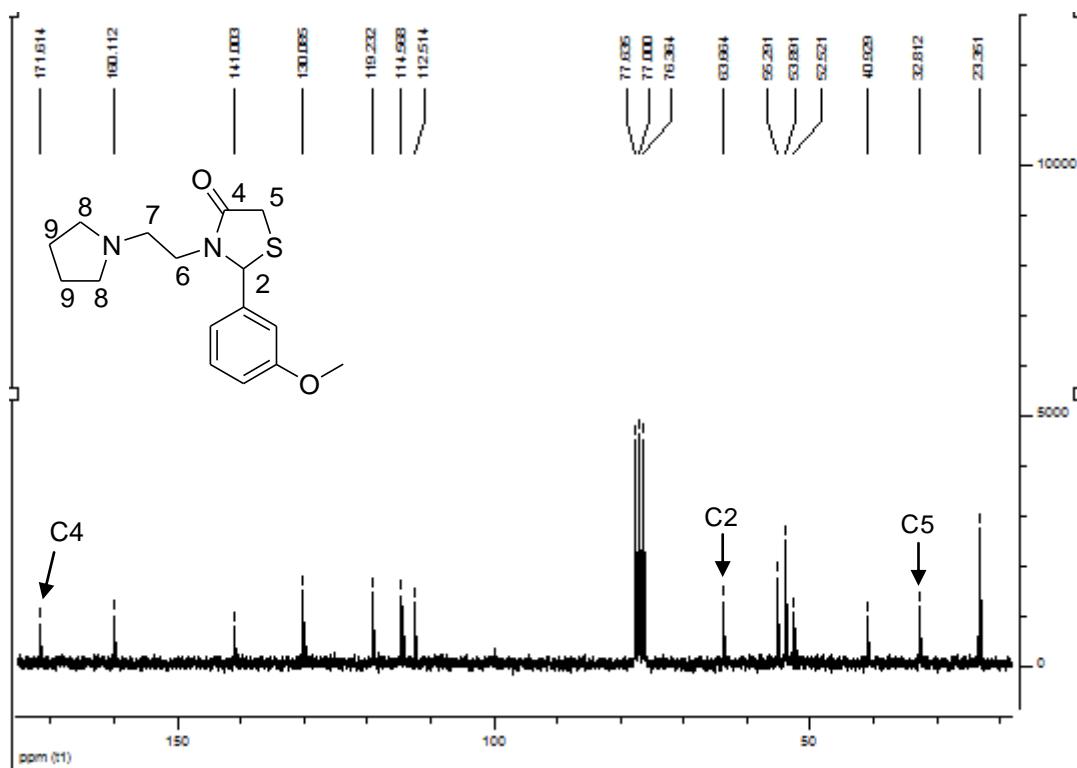


Figura 53: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5k** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

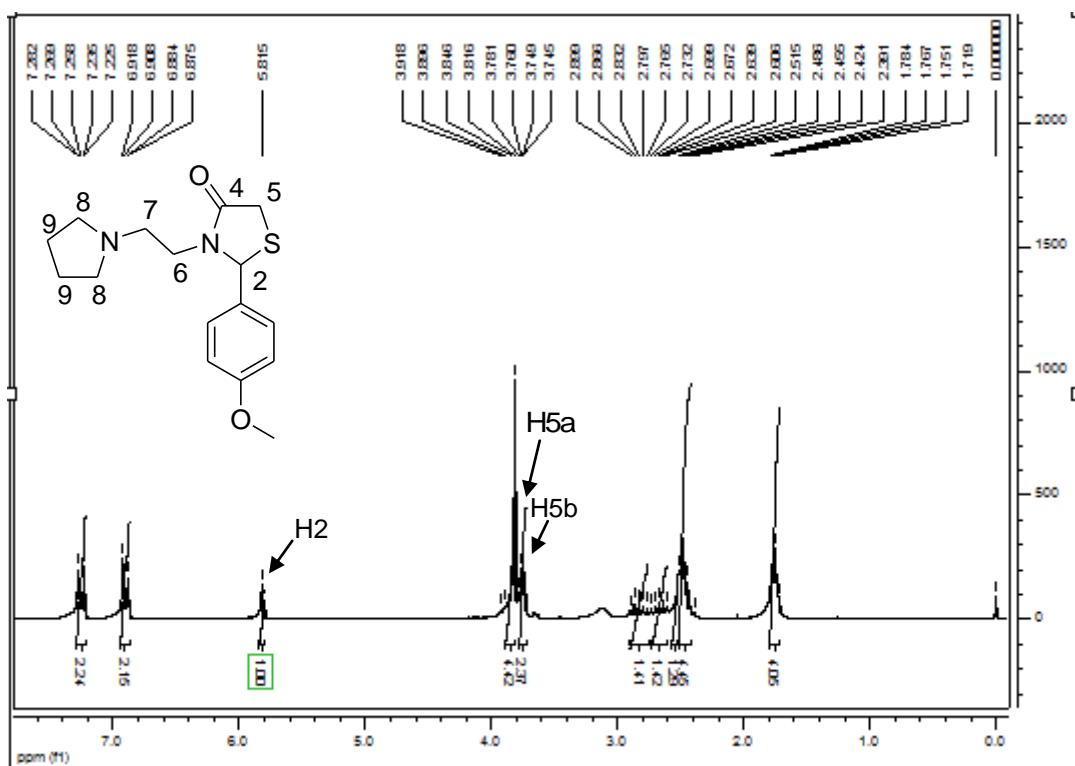


Figura 54: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5I** (200 Hz).

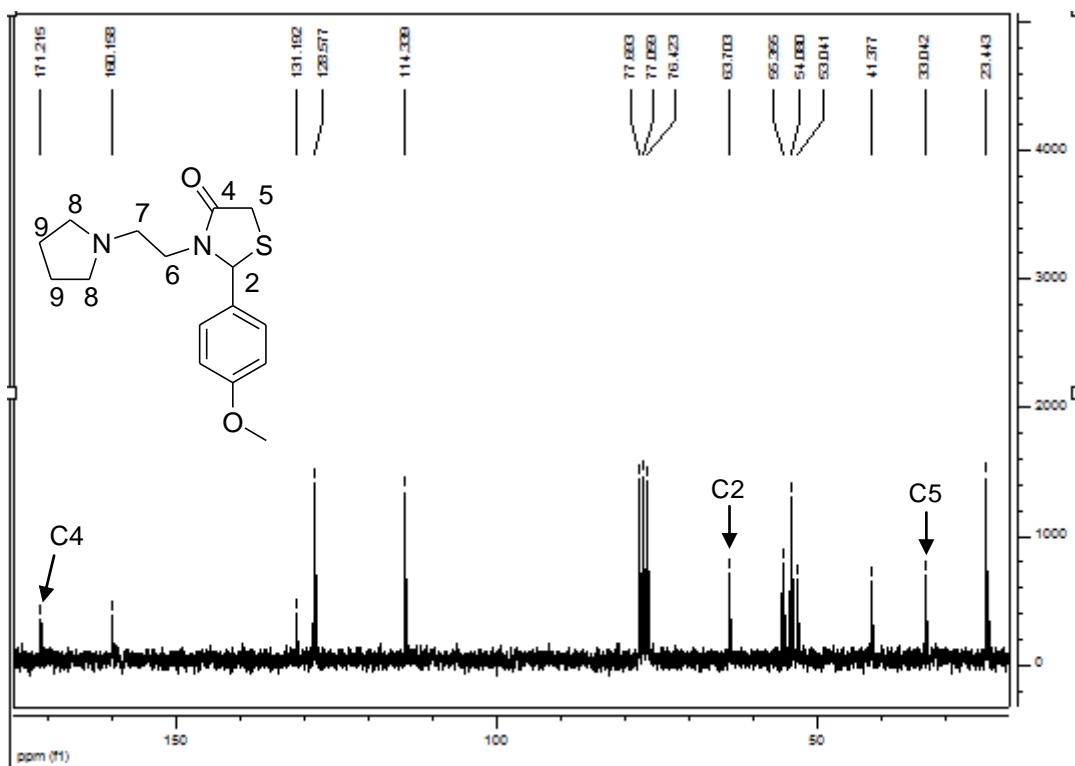


Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5I** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

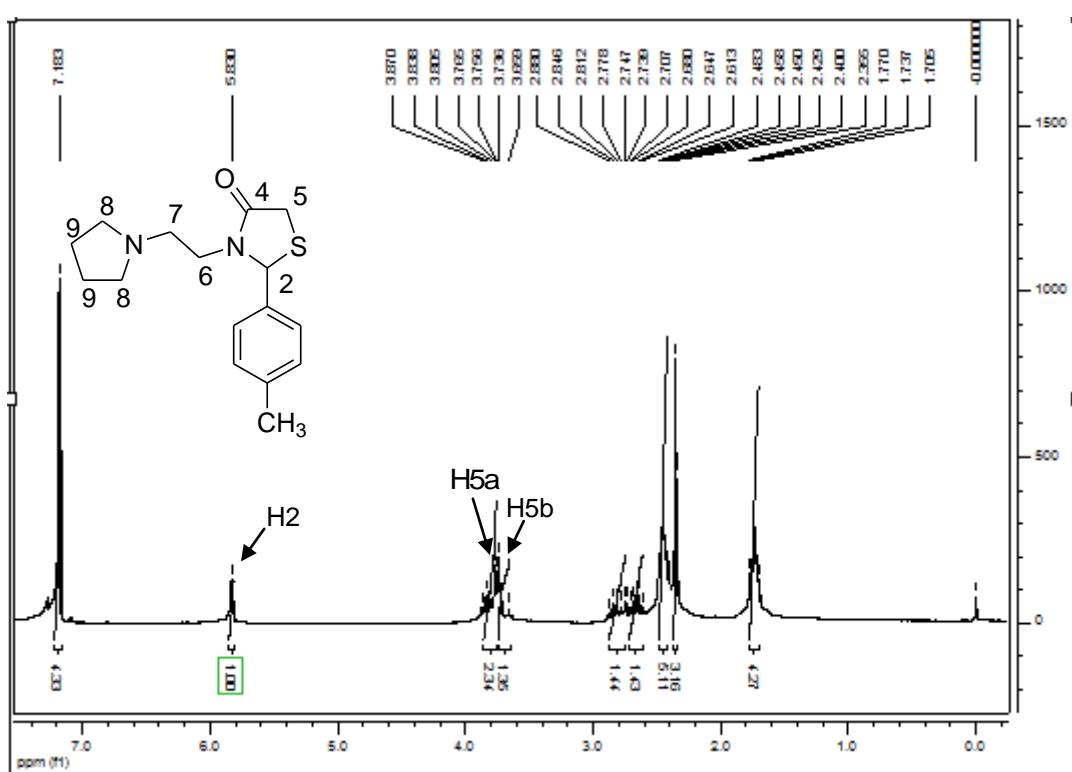


Figura 56: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5m** (200 Hz).

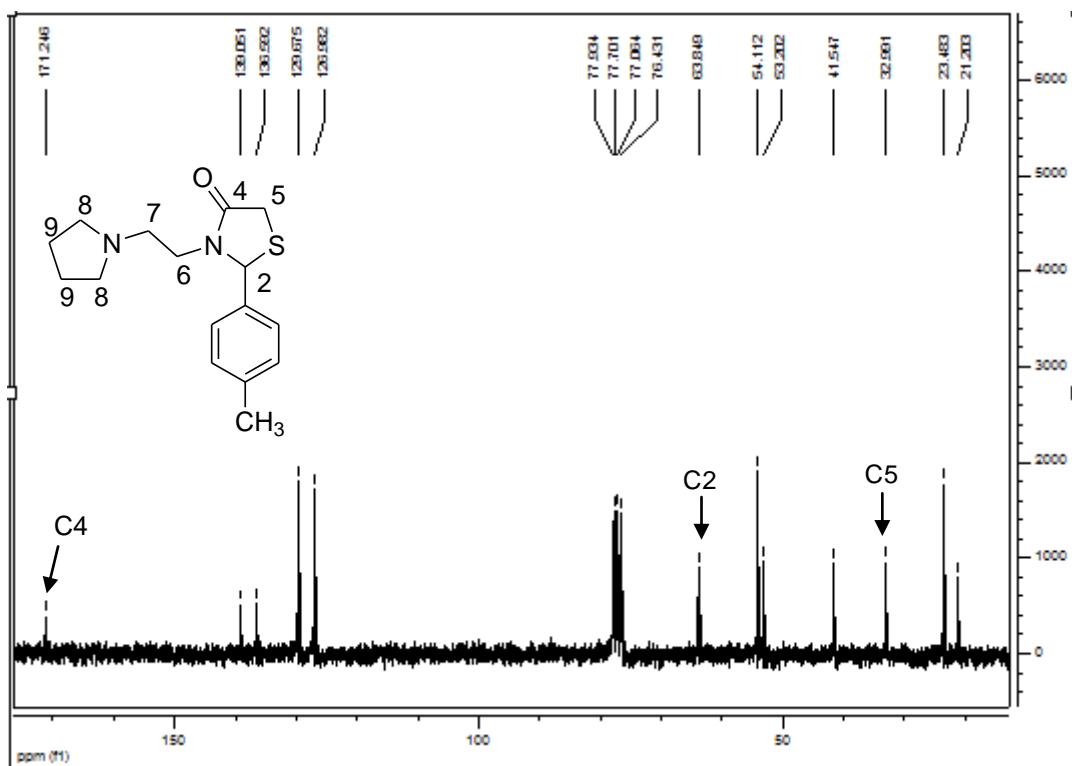
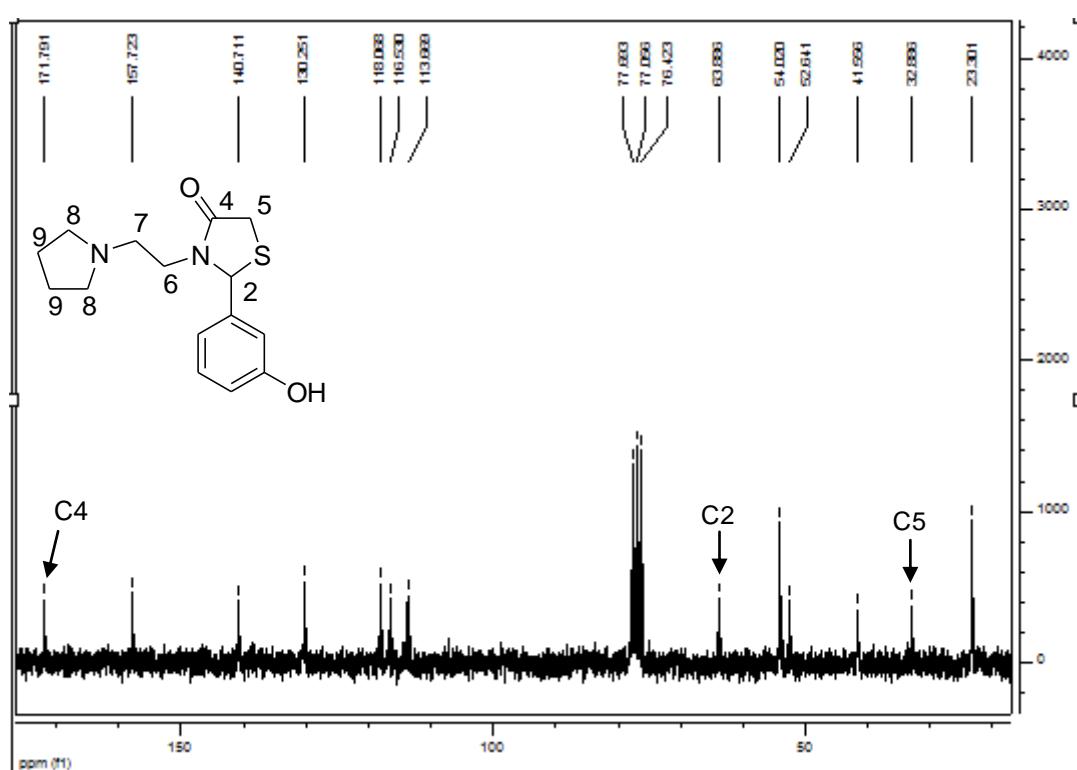
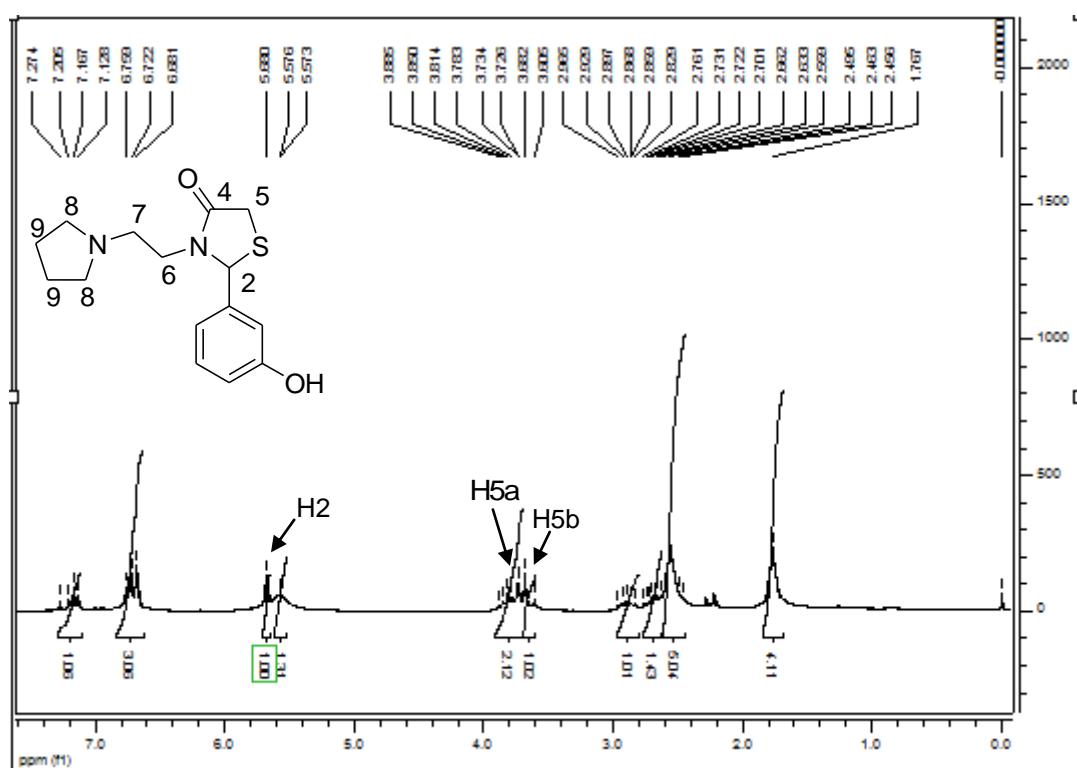


Figura 57: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5m** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN



Anexo I: Espectroscopia de RMN

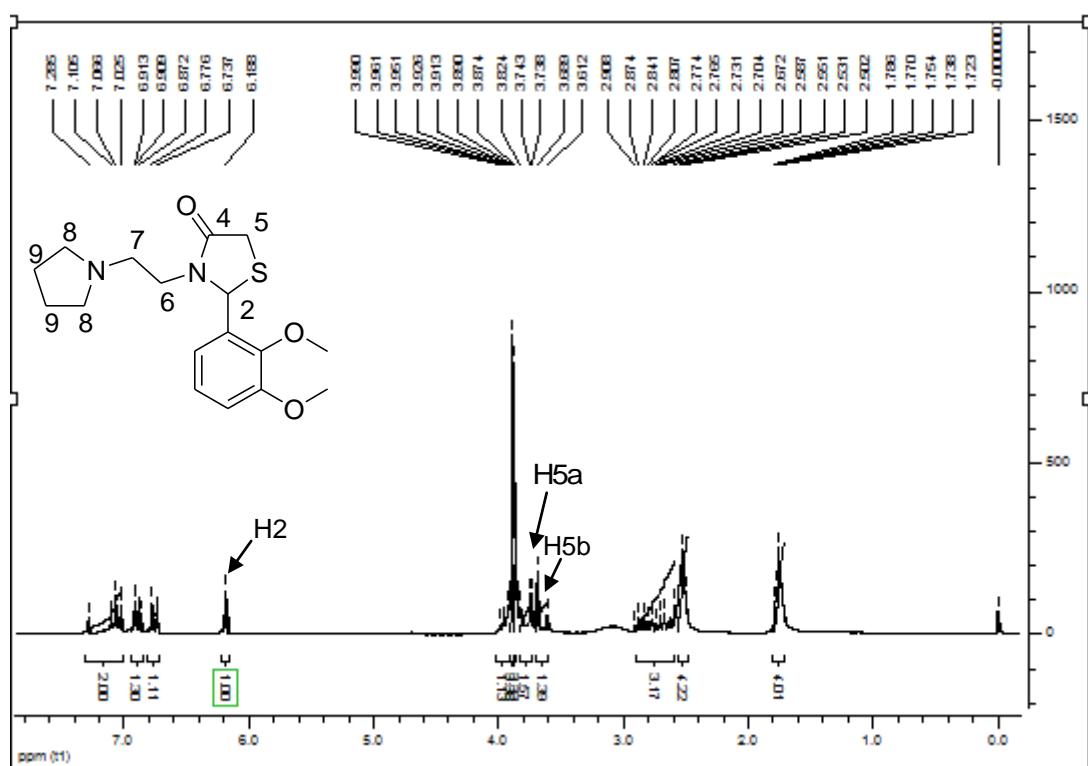


Figura 60: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5q** (200 Hz).

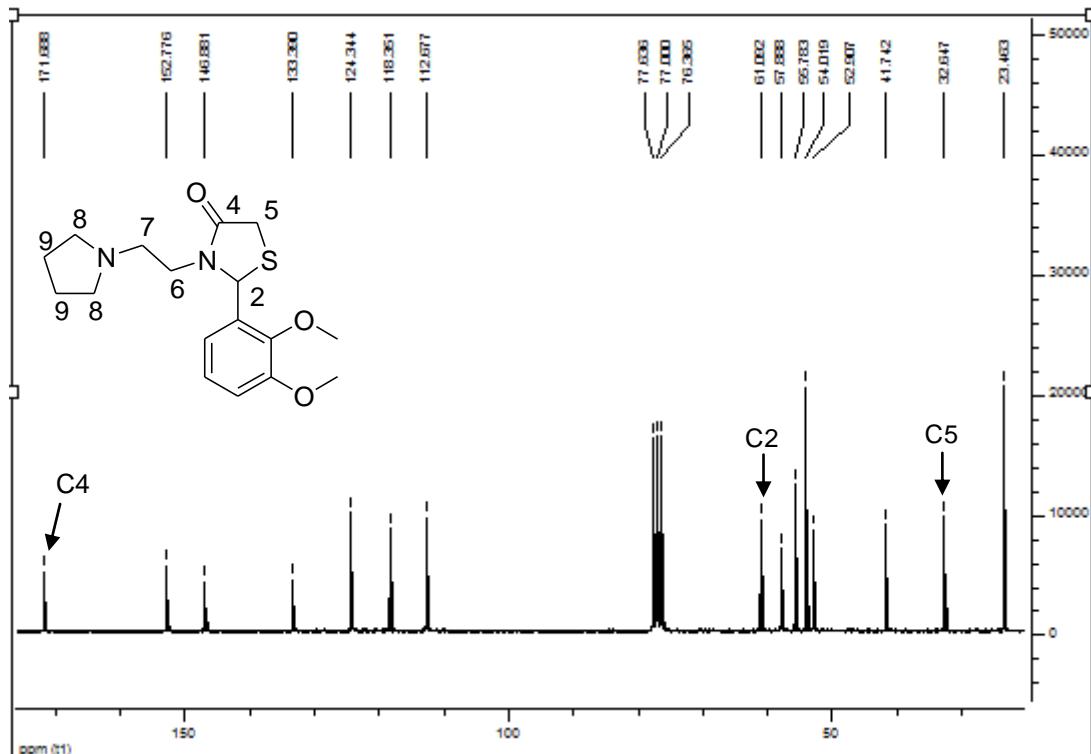


Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5q** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

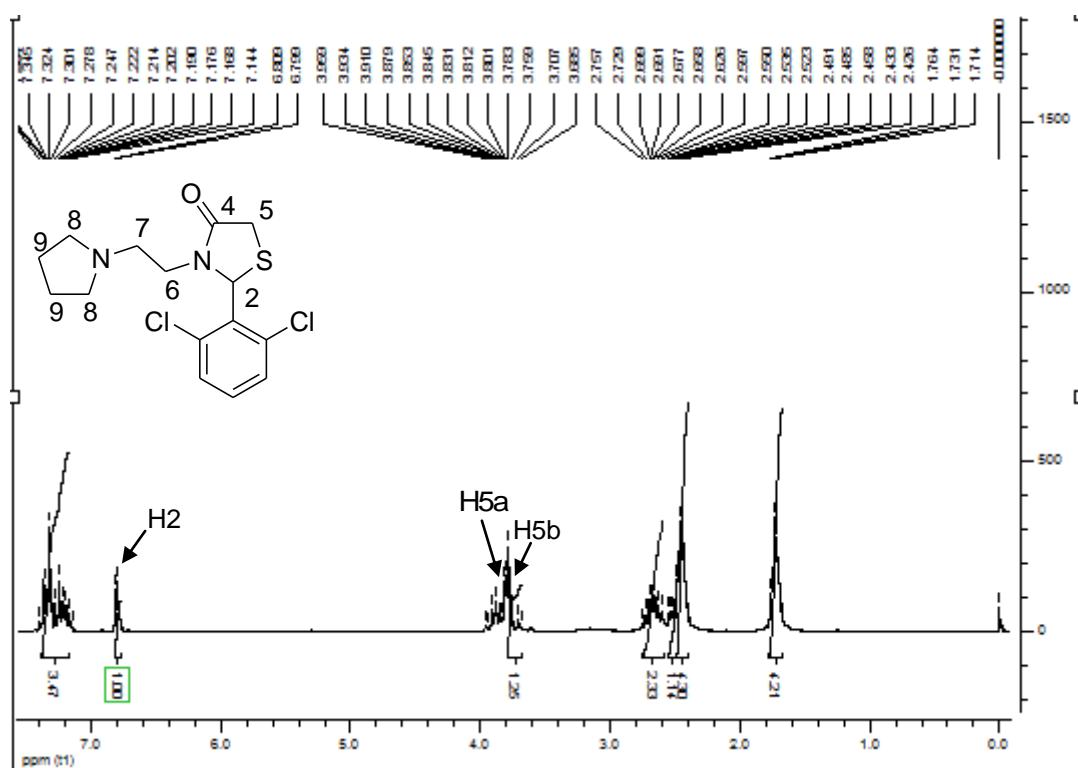


Figura 62: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5s** (200 Hz).

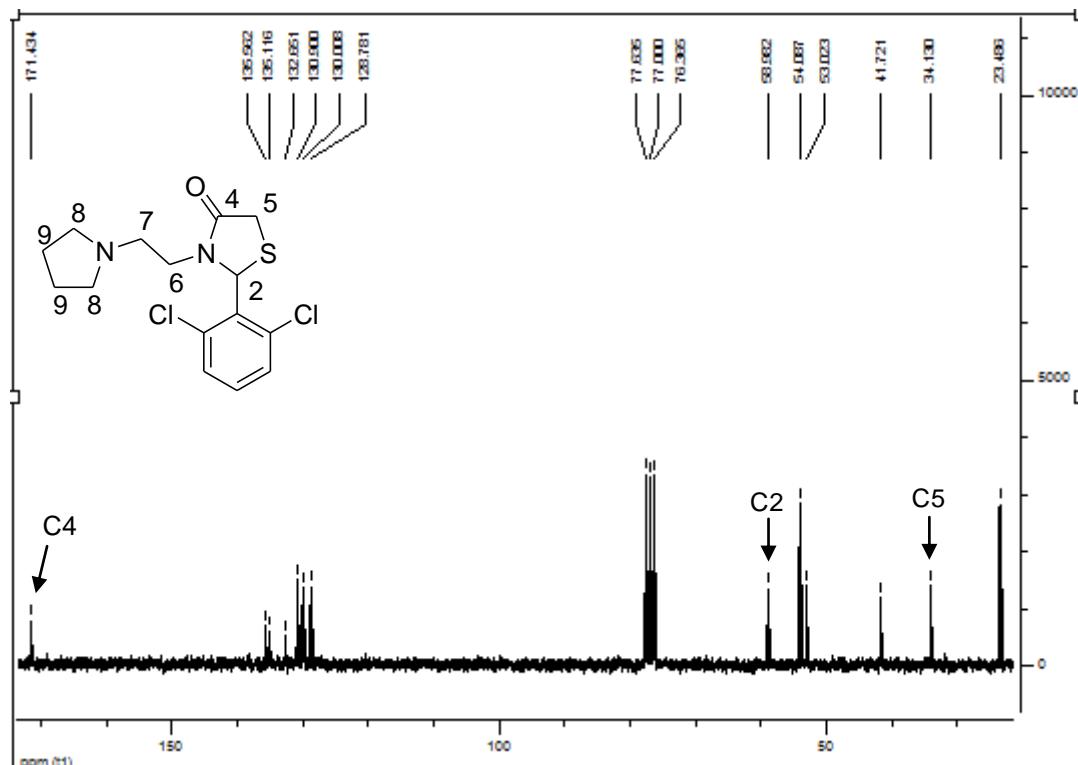


Figura 63: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5s** (50 Hz).

Anexo I: Espectroscopia de RMN

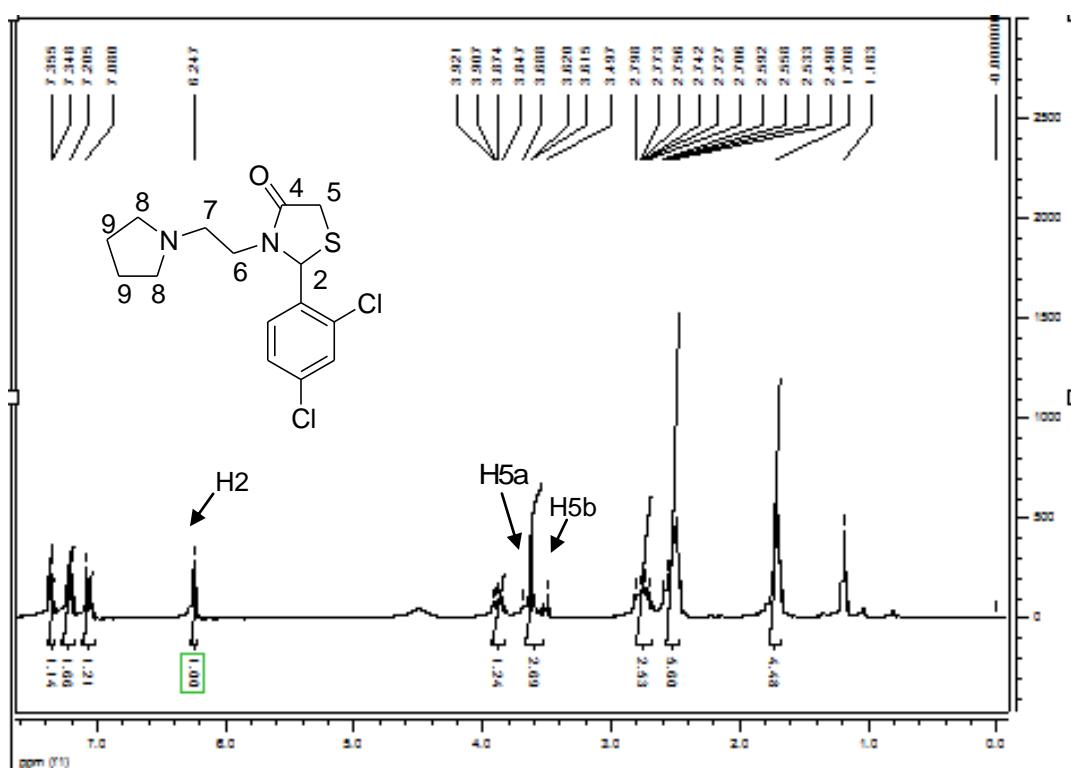


Figura 64: Espectro de RMN ^1H da tiazolidinona **5u** (200 Hz).

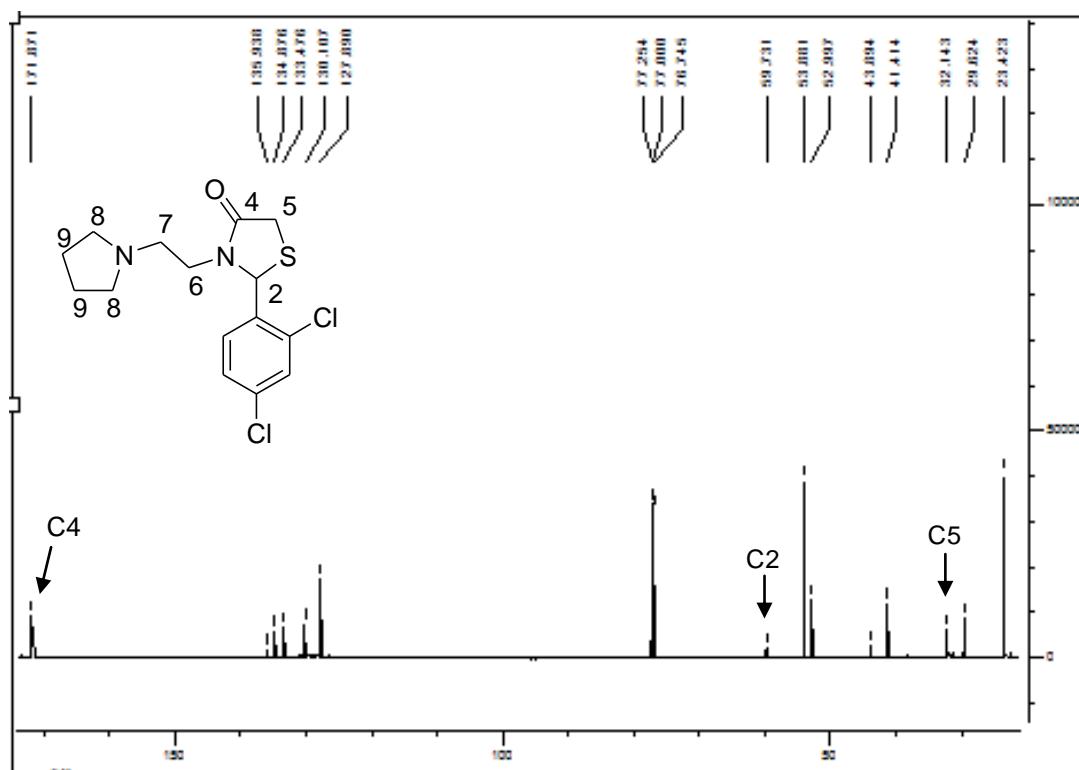


Figura 65: Espectro de RMN ^{13}C da tiazolidinona **5u** (50 Hz).

ANEXO II – Espectros de CG/ CG-MS

Anexo II: Espectrometria de Massas

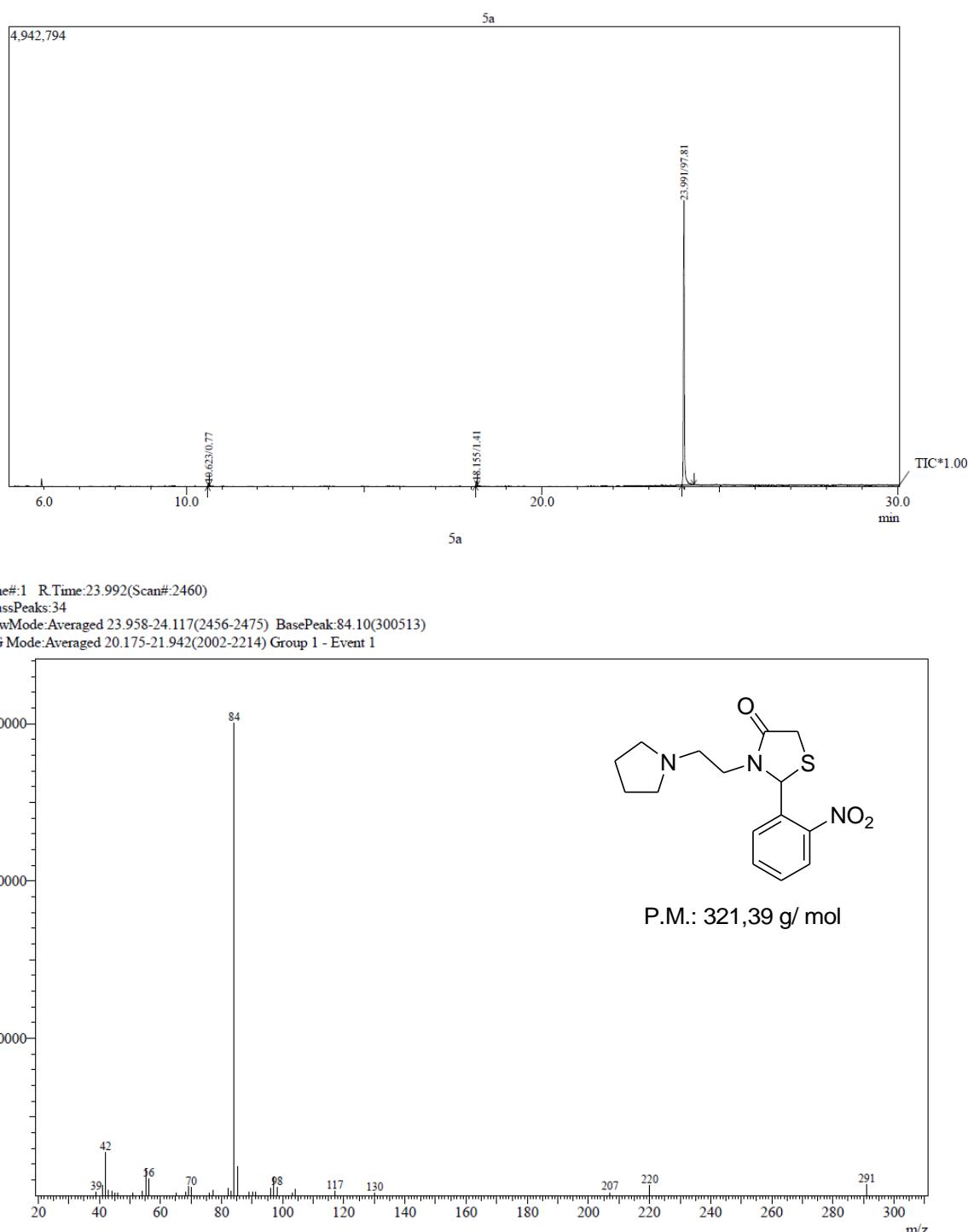


Figura 66: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5a.

Anexo II: Espectrometria de Massas

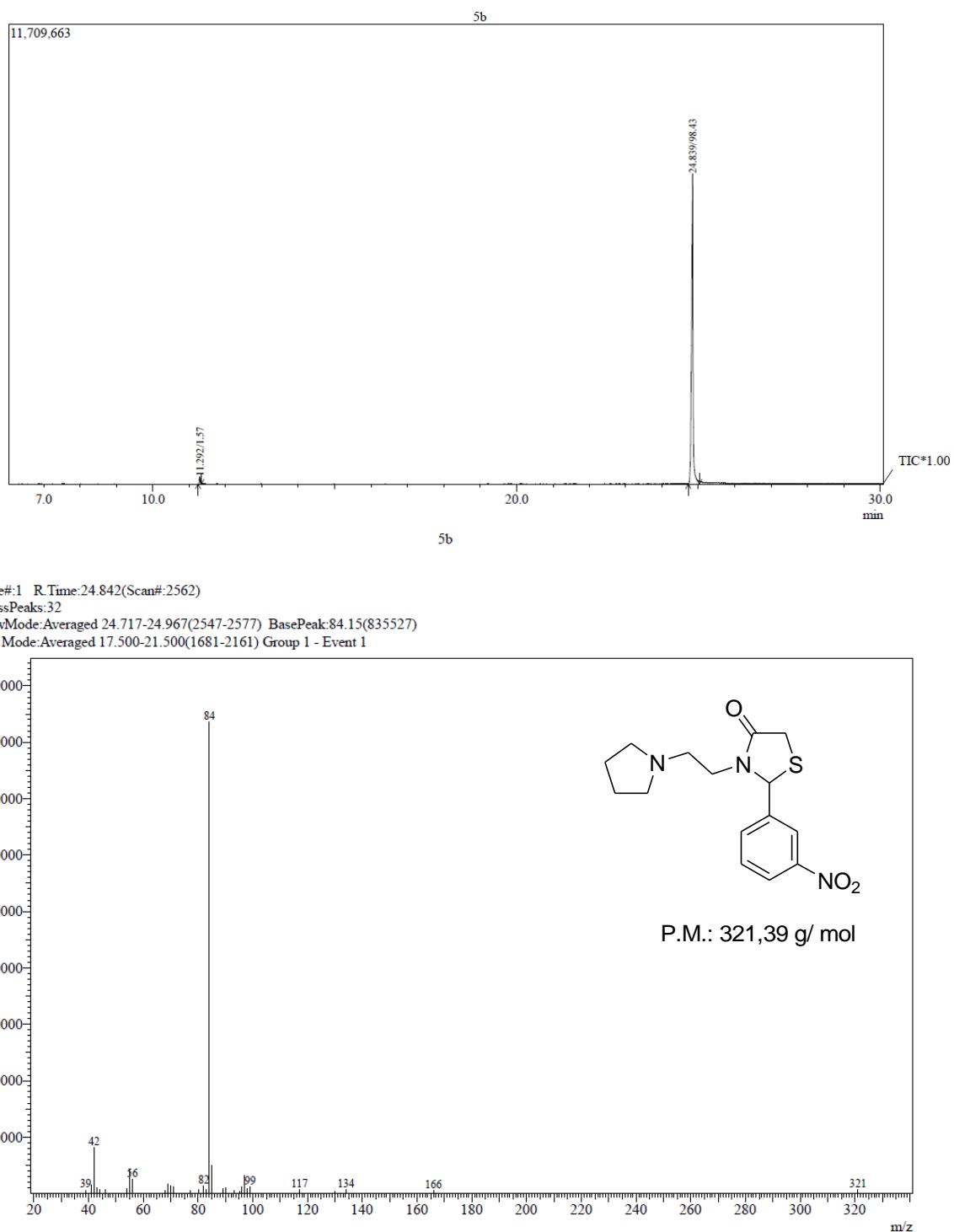


Figura 67: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5b**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

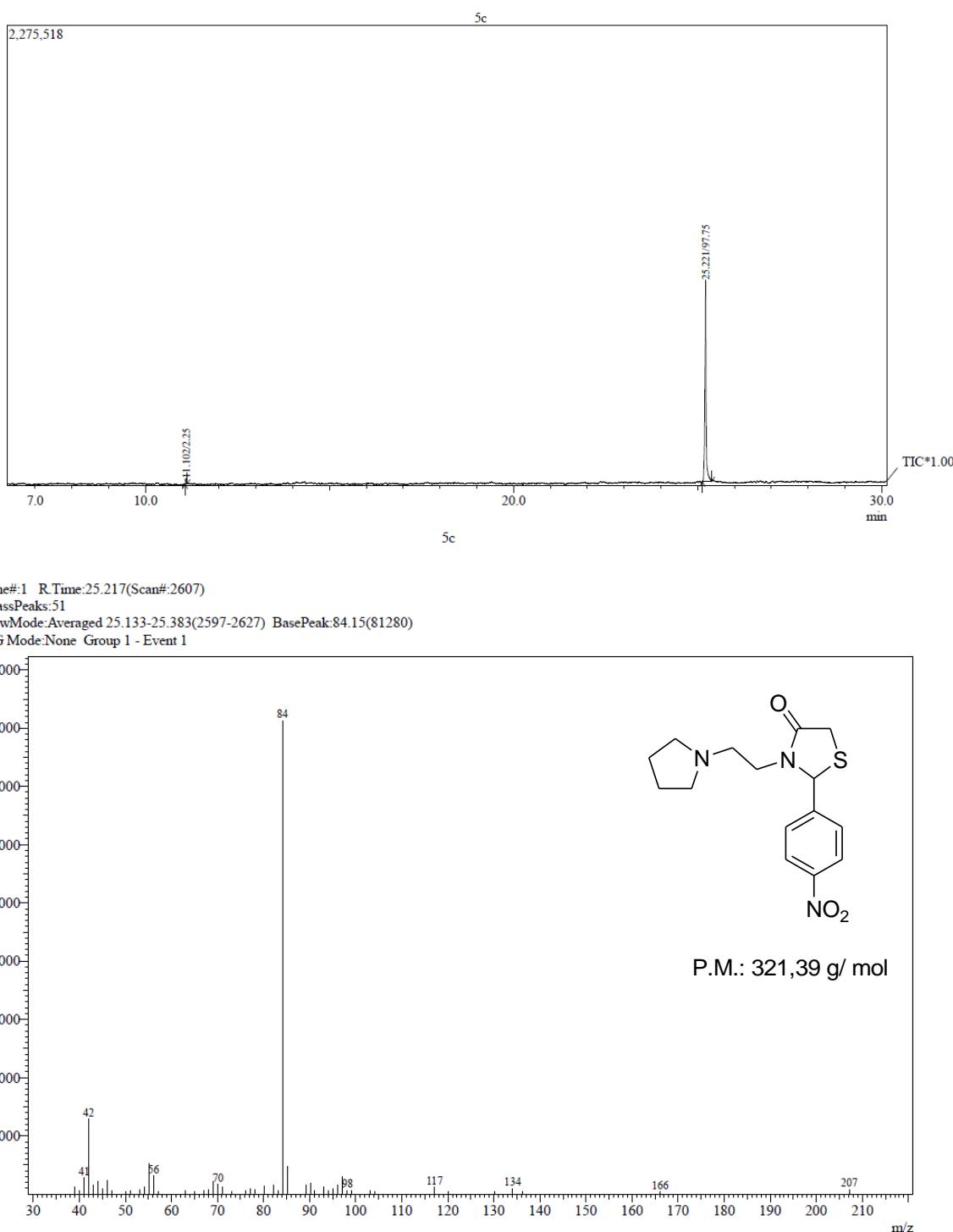


Figura 68: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5c.

Anexo II: Espectrometria de Massas

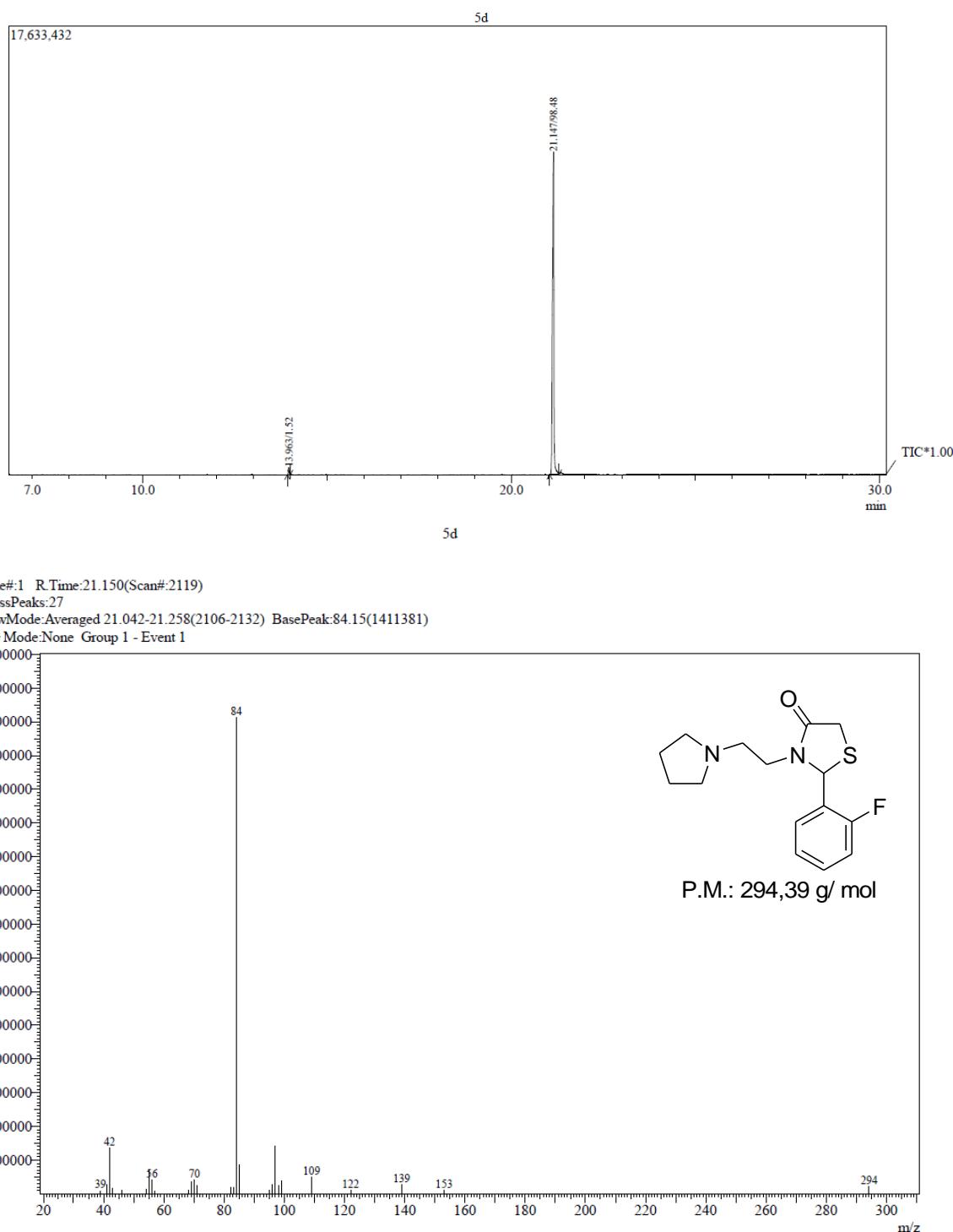


Figura 69: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5d.

Anexo II: Espectrometria de Massas

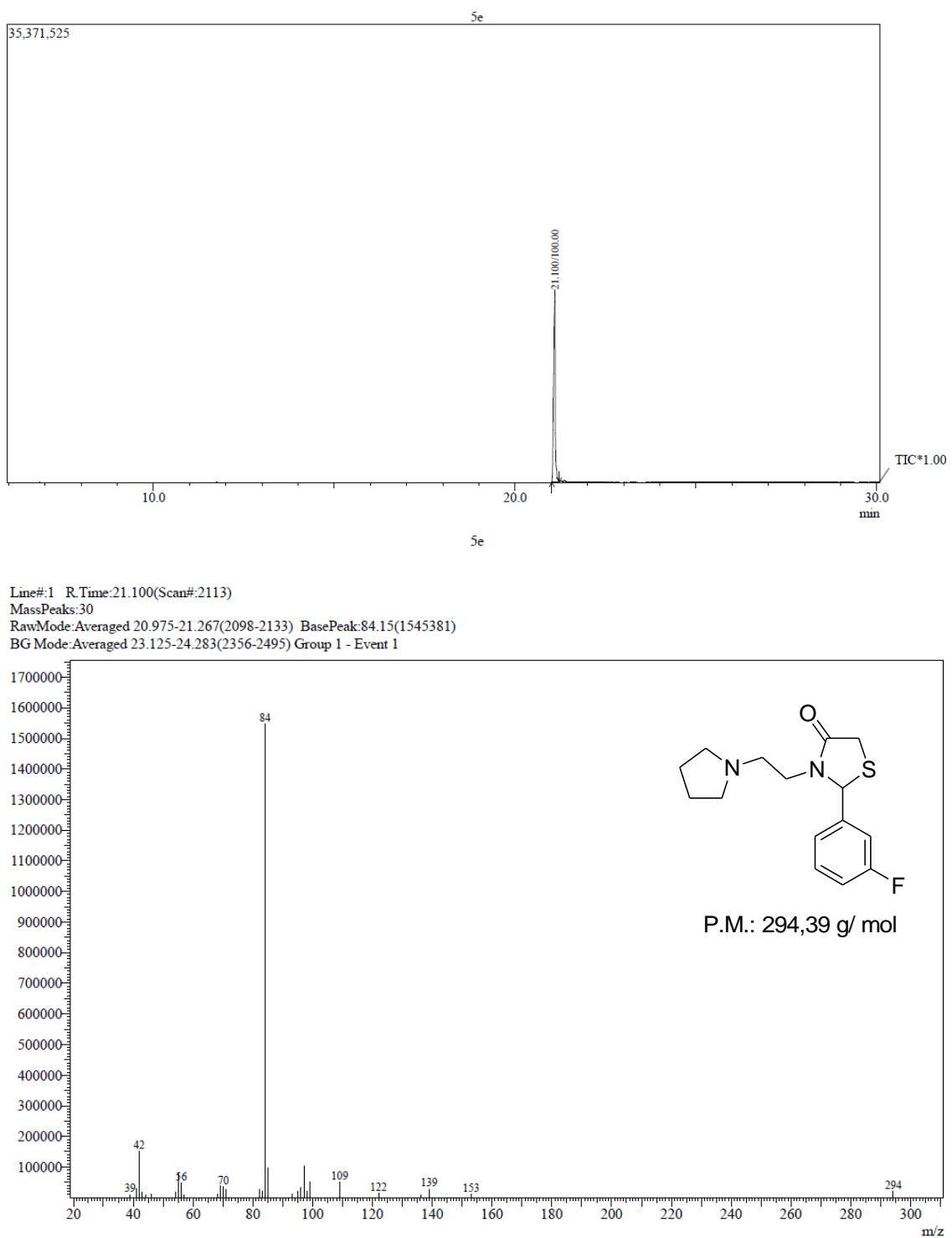
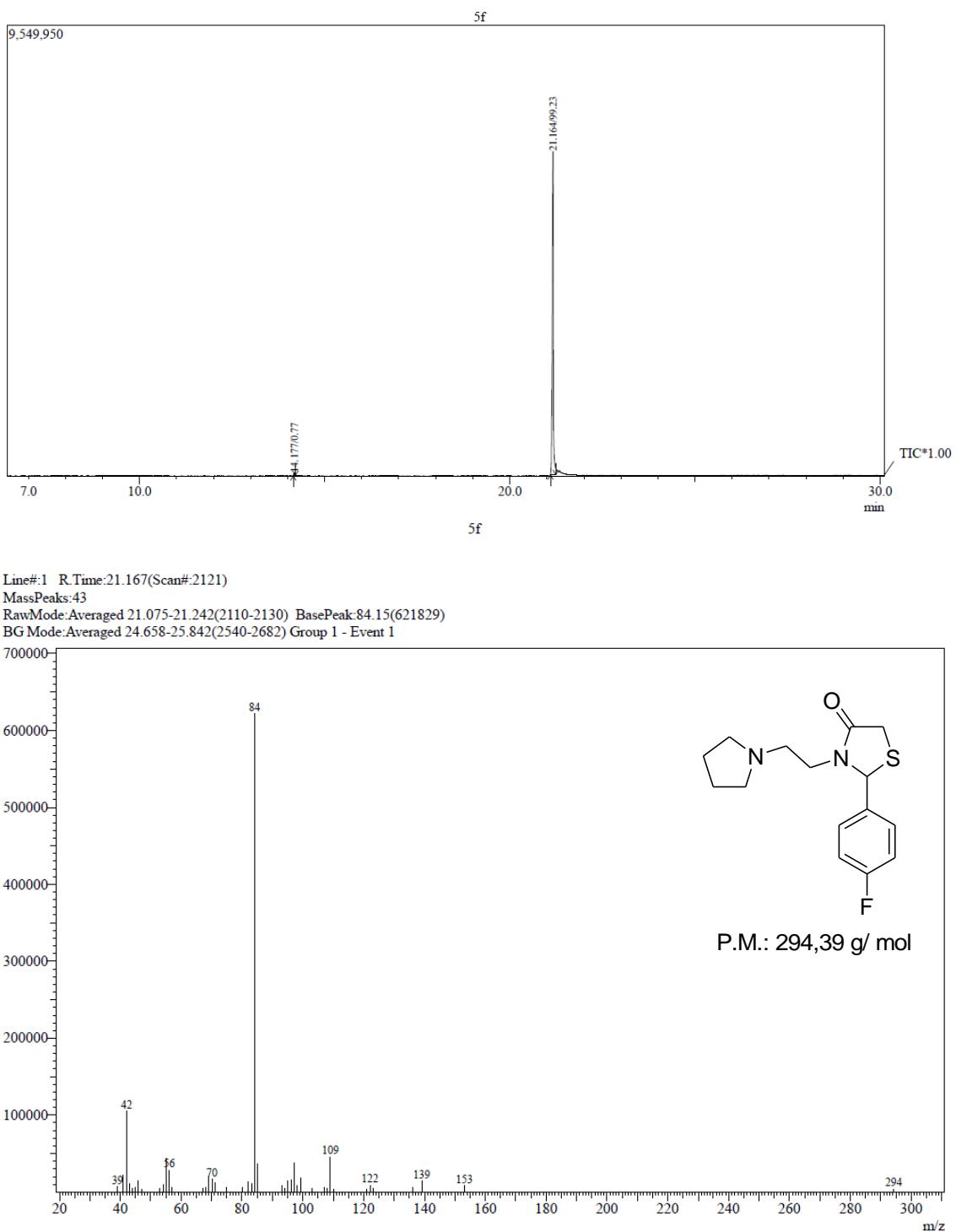


Figura 70: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5e.

Anexo II: Espectrometria de Massas



Anexo II: Espectrometria de Massas

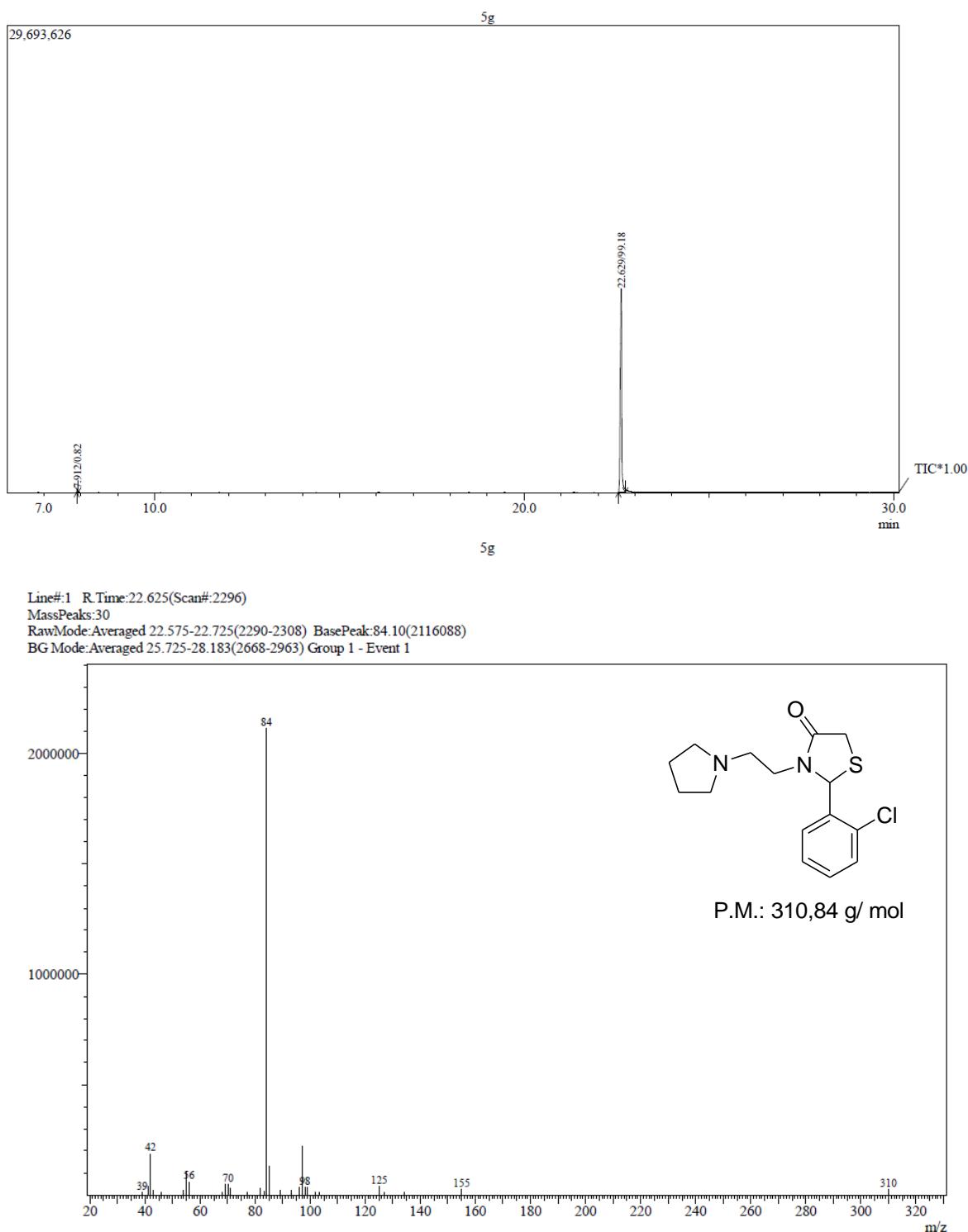


Figura 72: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5g**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

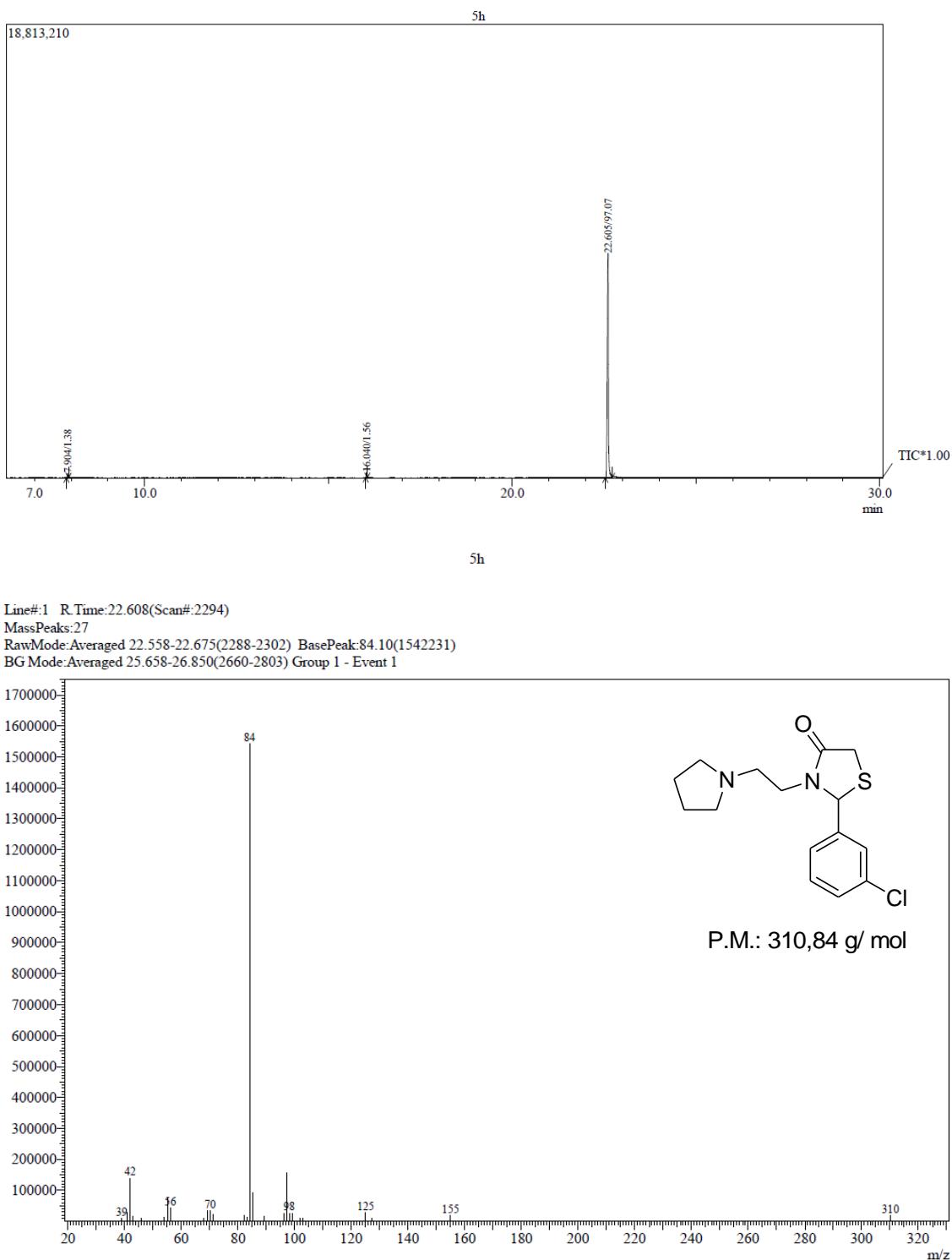


Figura 73: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5h**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

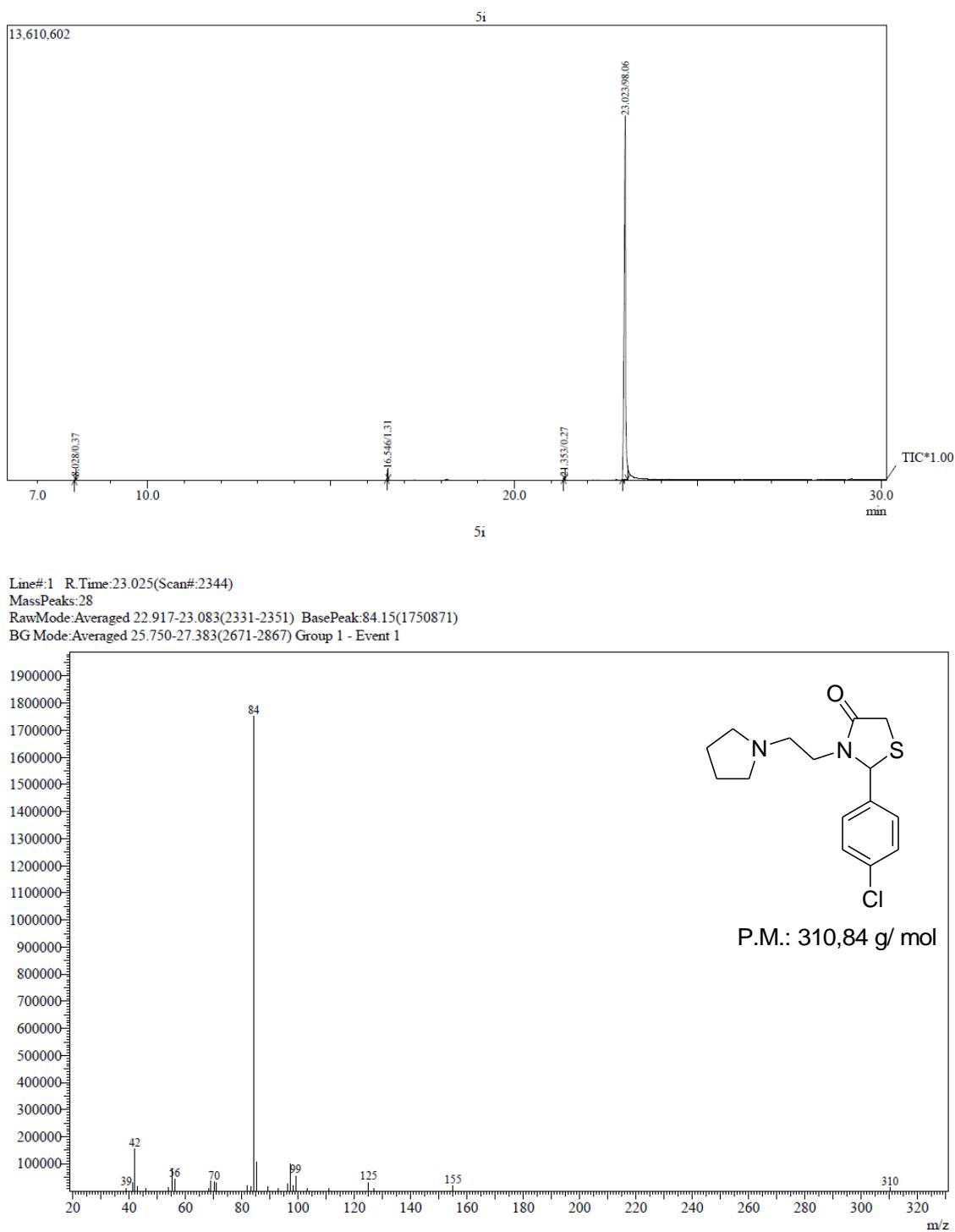


Figura 74: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5i**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

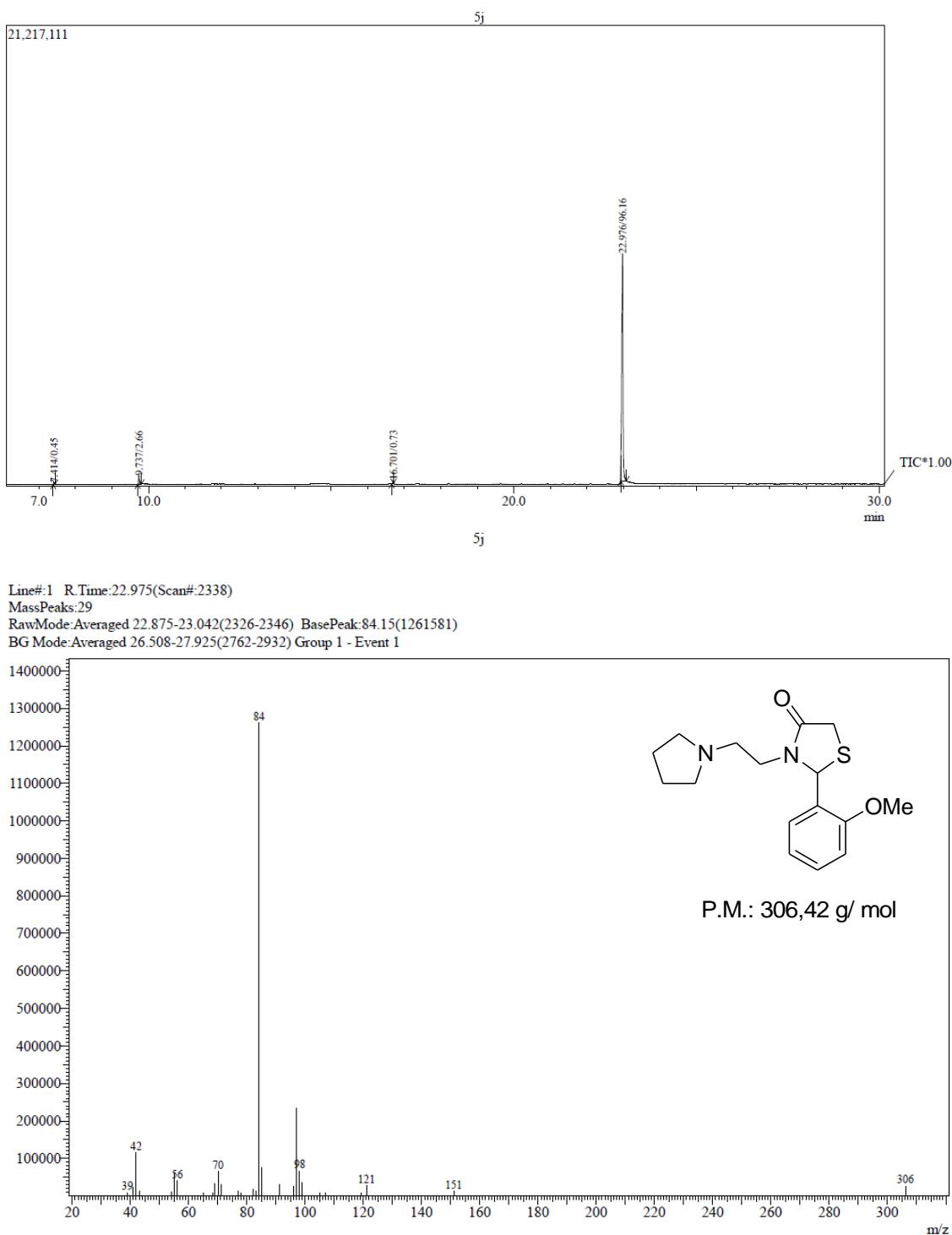


Figura 75: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5j.

Anexo II: Espectrometria de Massas

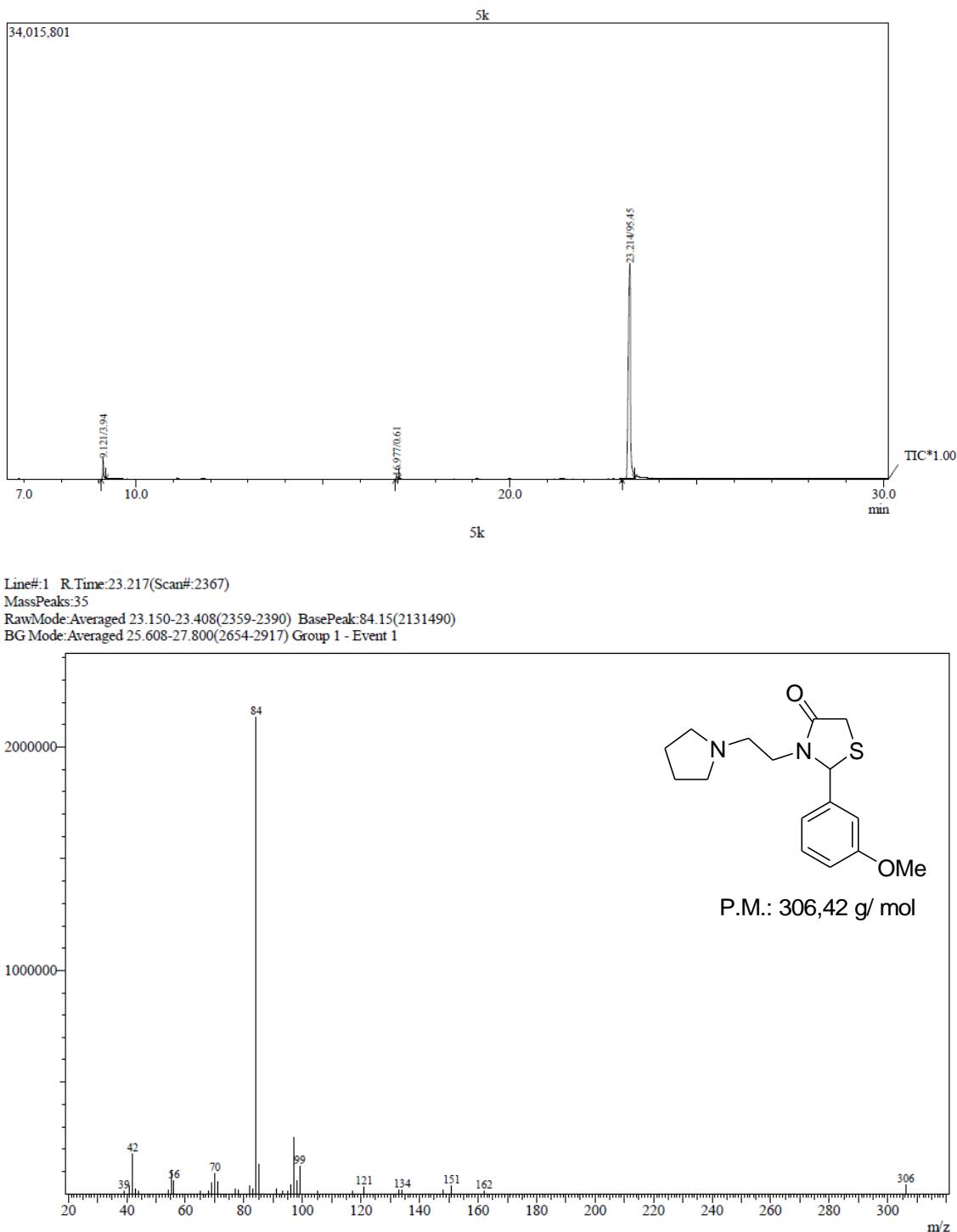


Figura 76: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5k**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

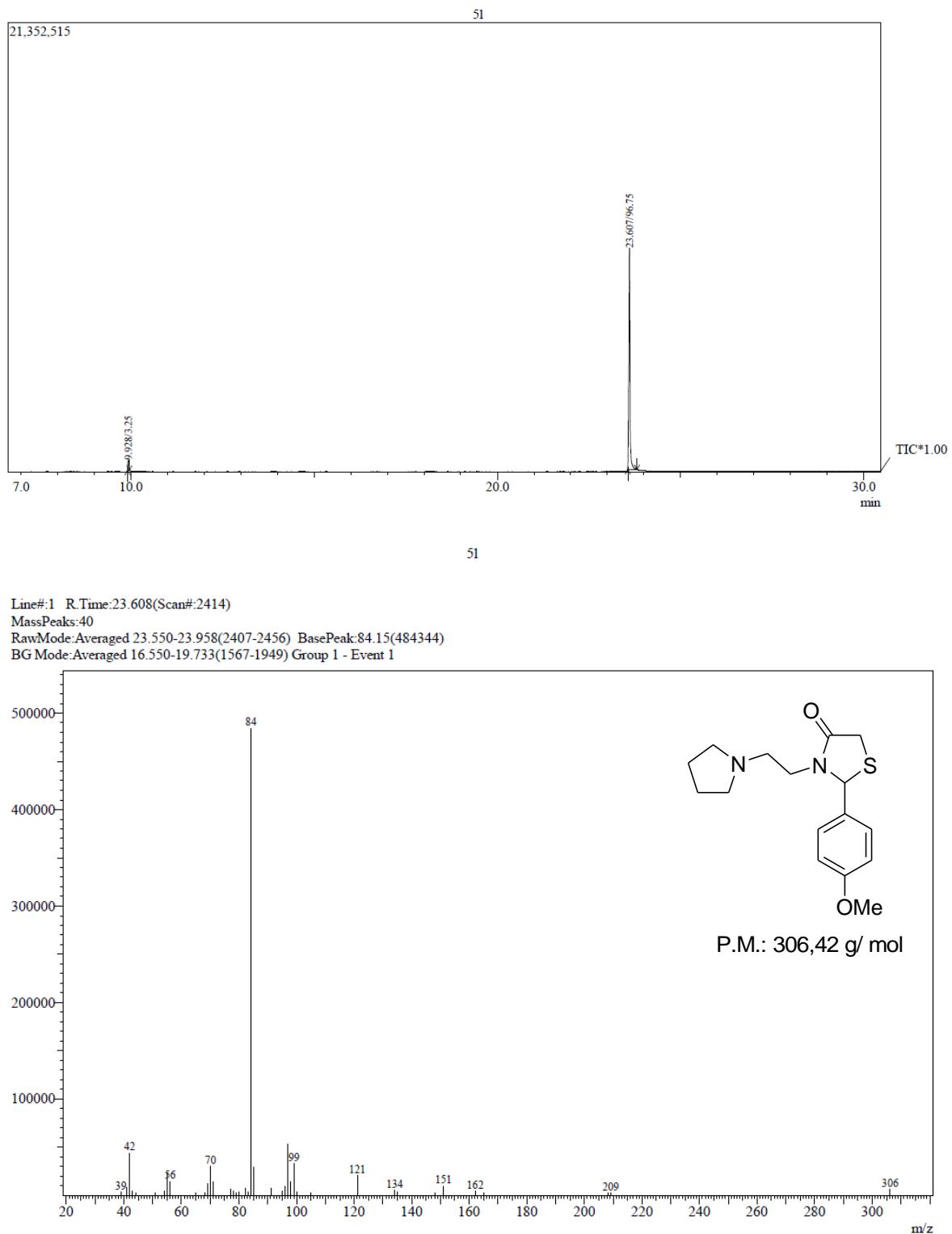


Figura 77: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5I**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

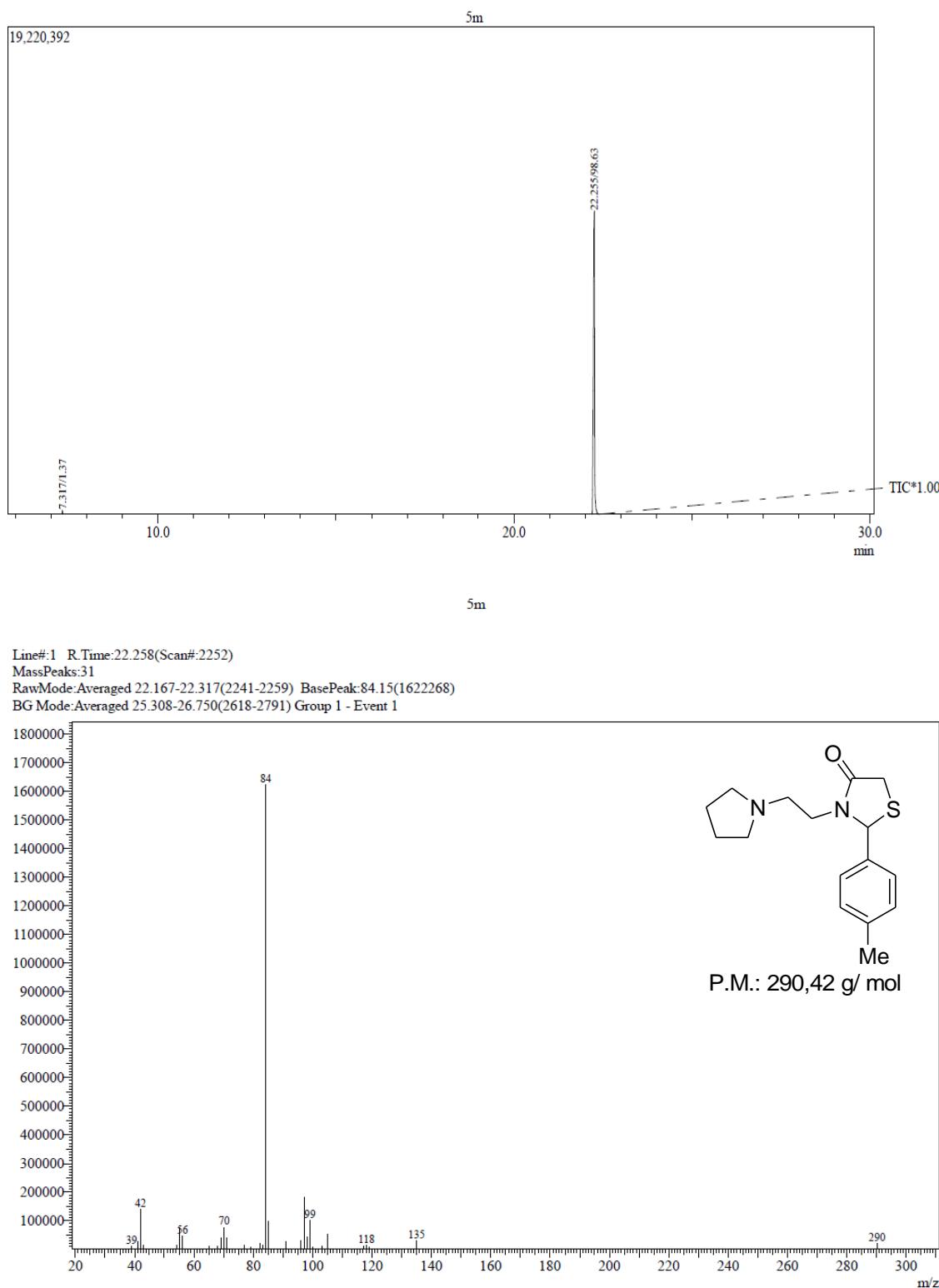


Figura 78: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5m**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

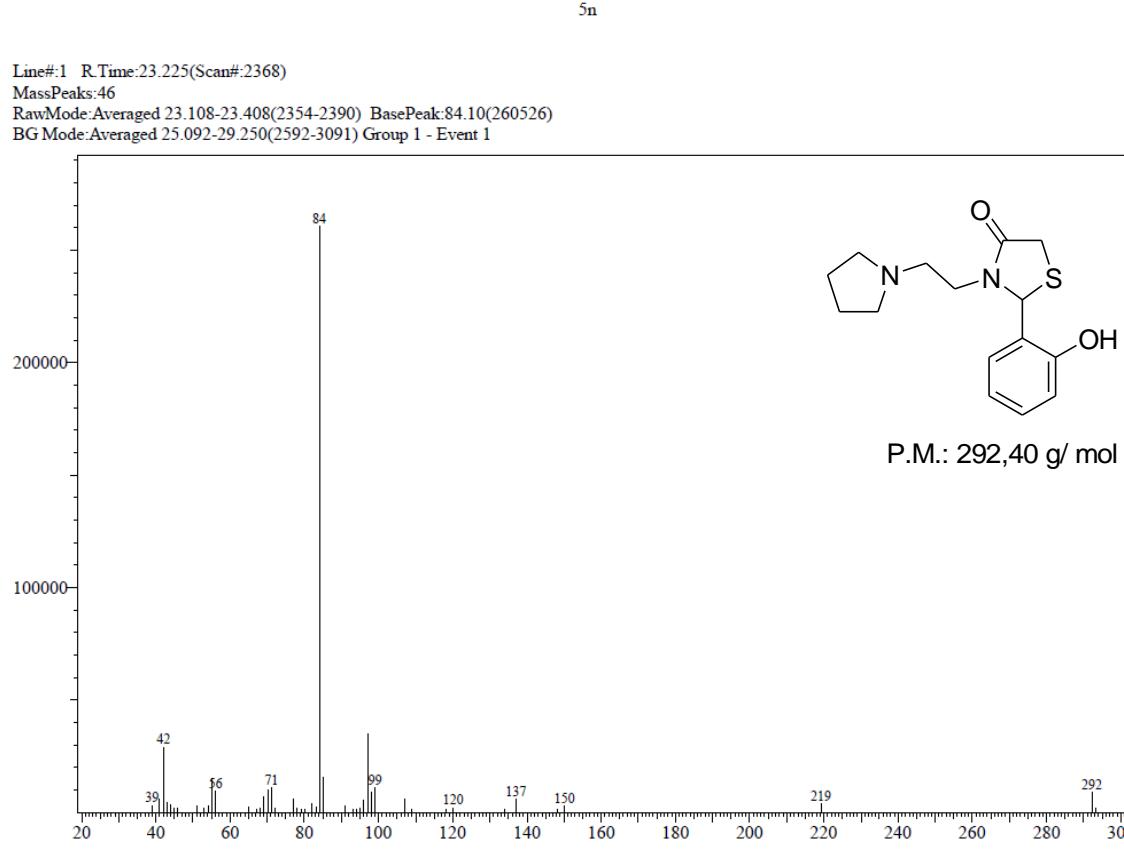
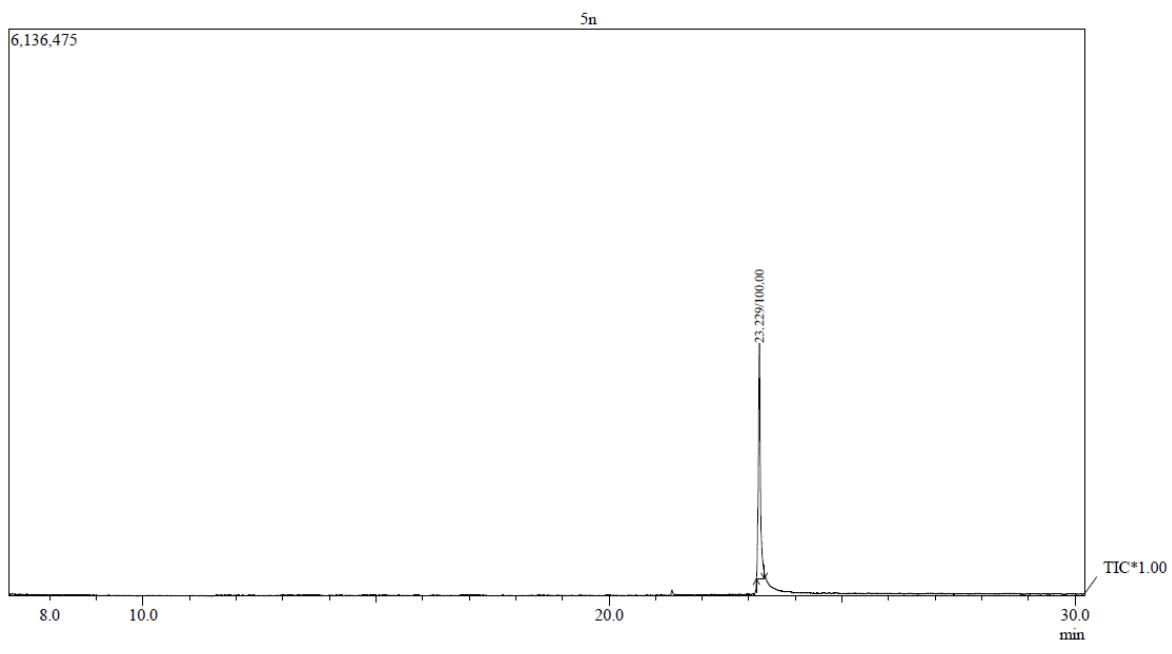


Figura 79: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5n**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

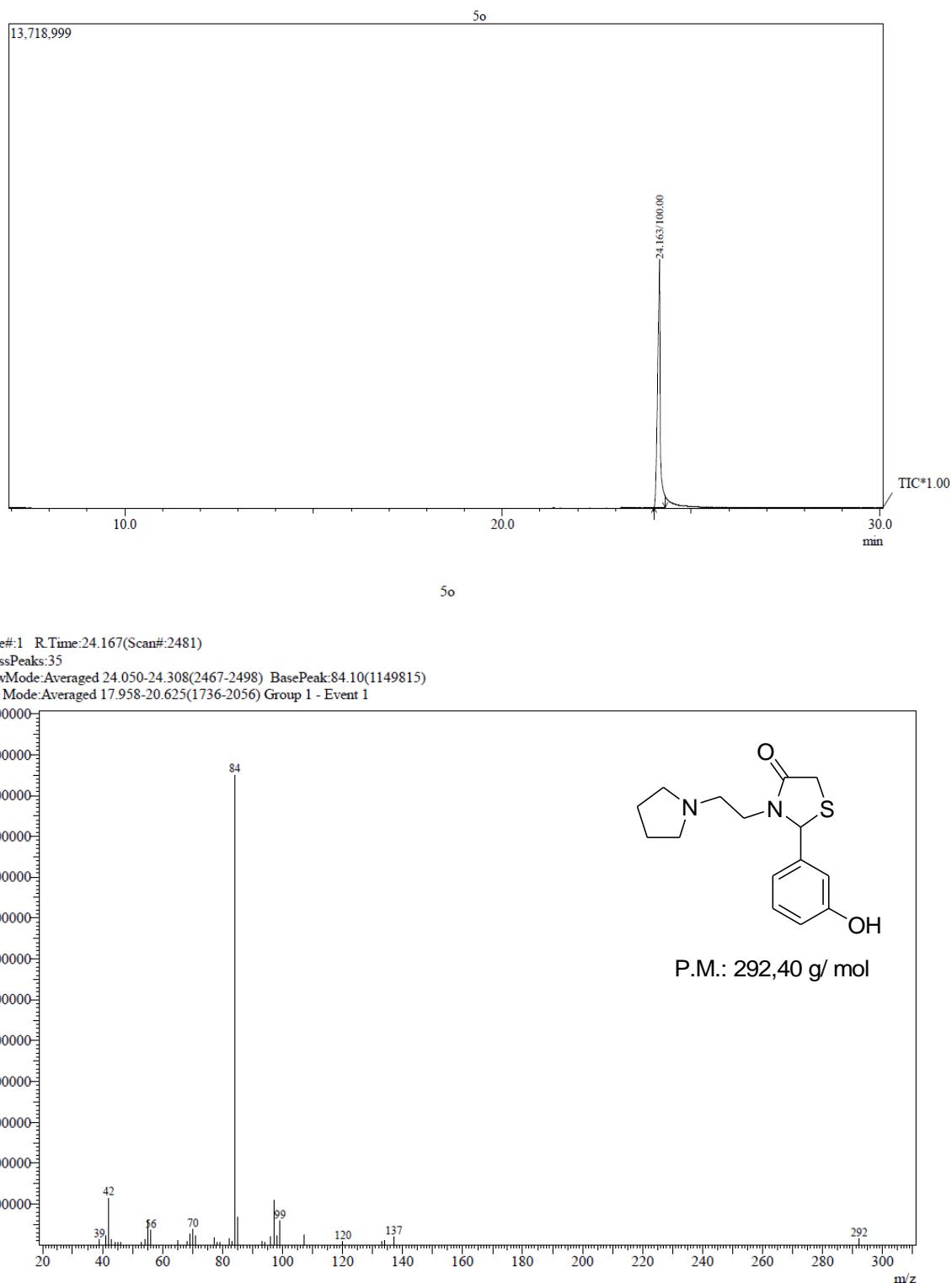


Figura 80: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5o**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

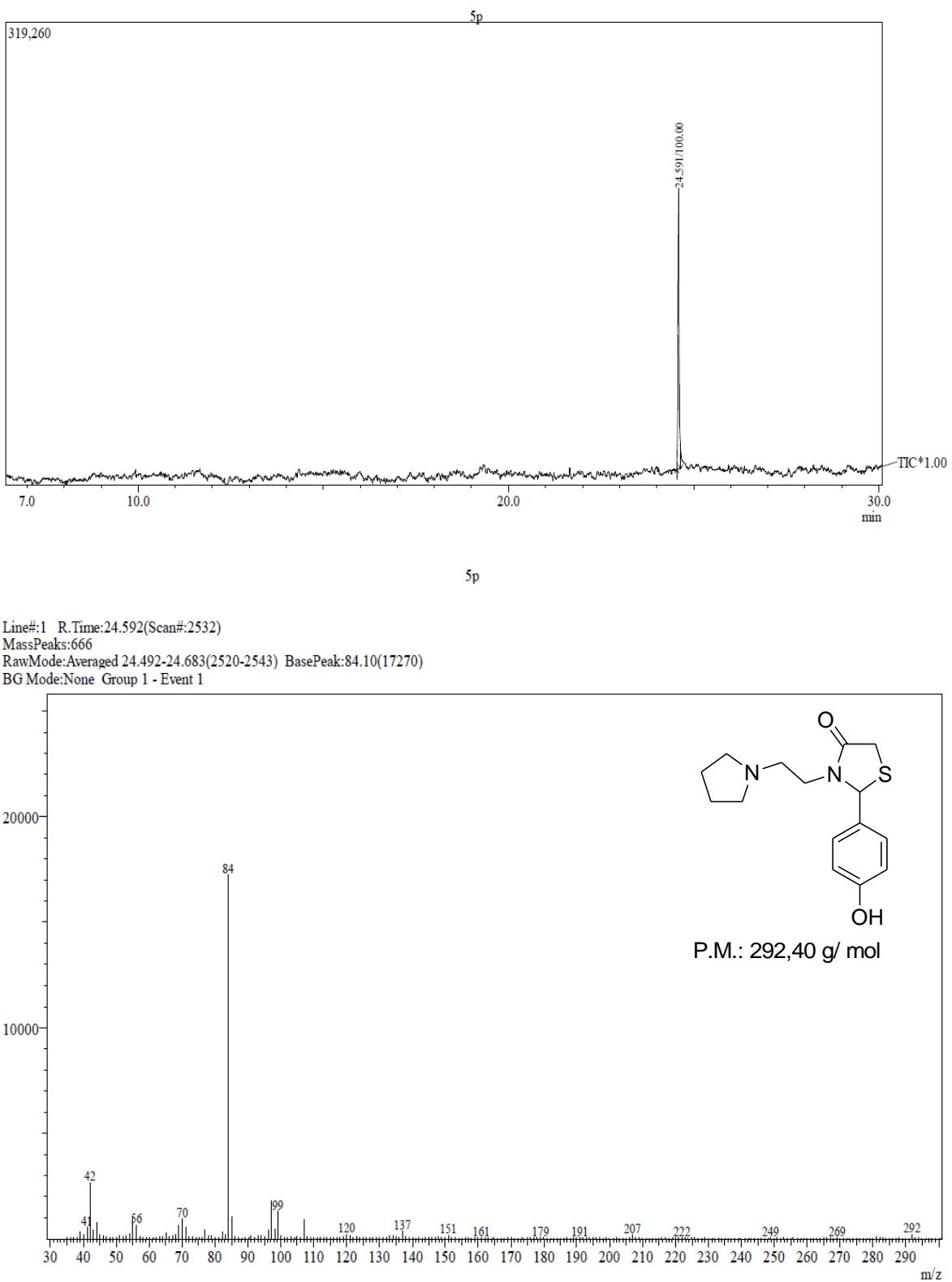


Figura 81: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5p.

Anexo II: Espectrometria de Massas

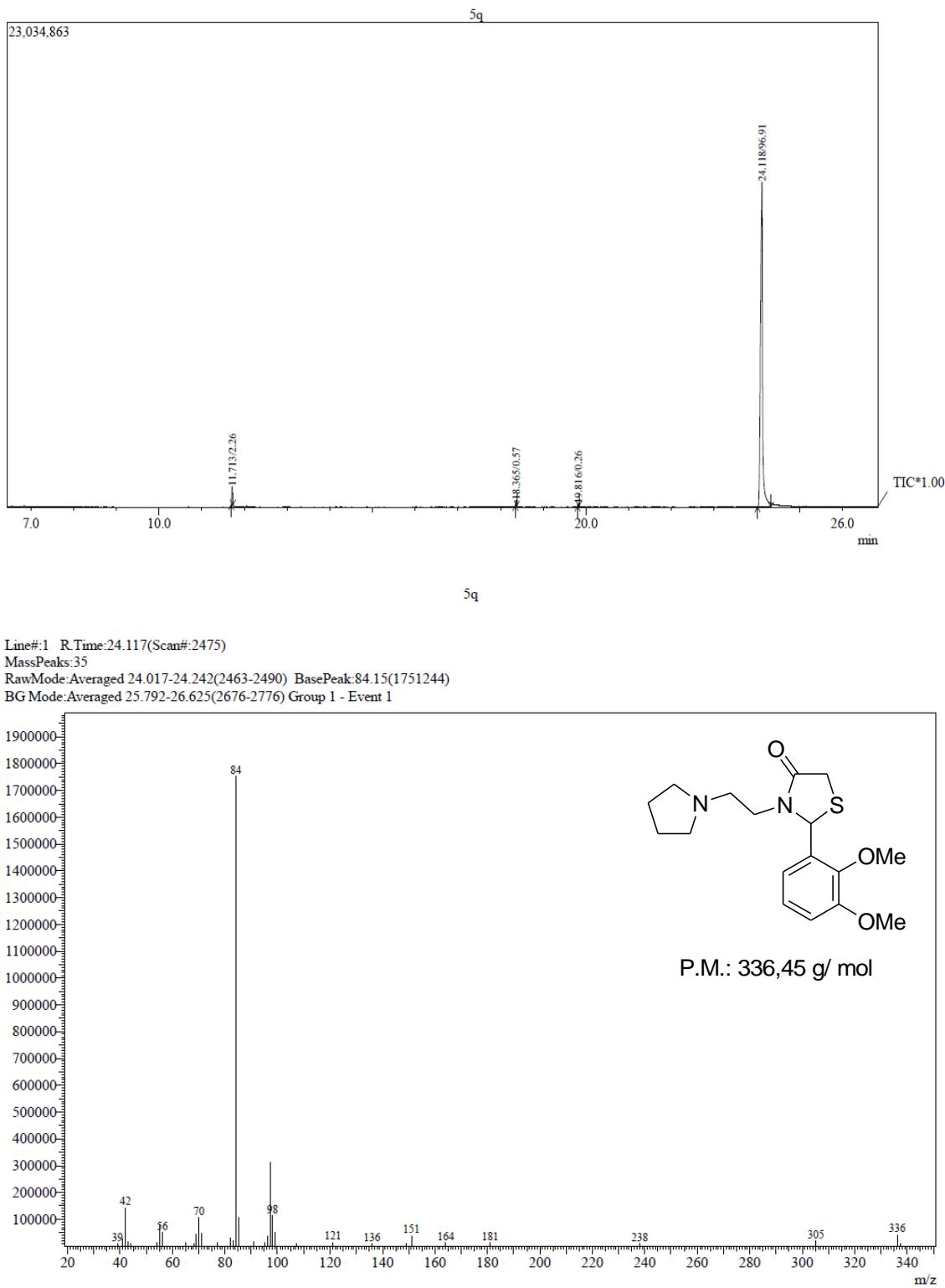


Figura 82: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5q.

Anexo II: Espectrometria de Massas

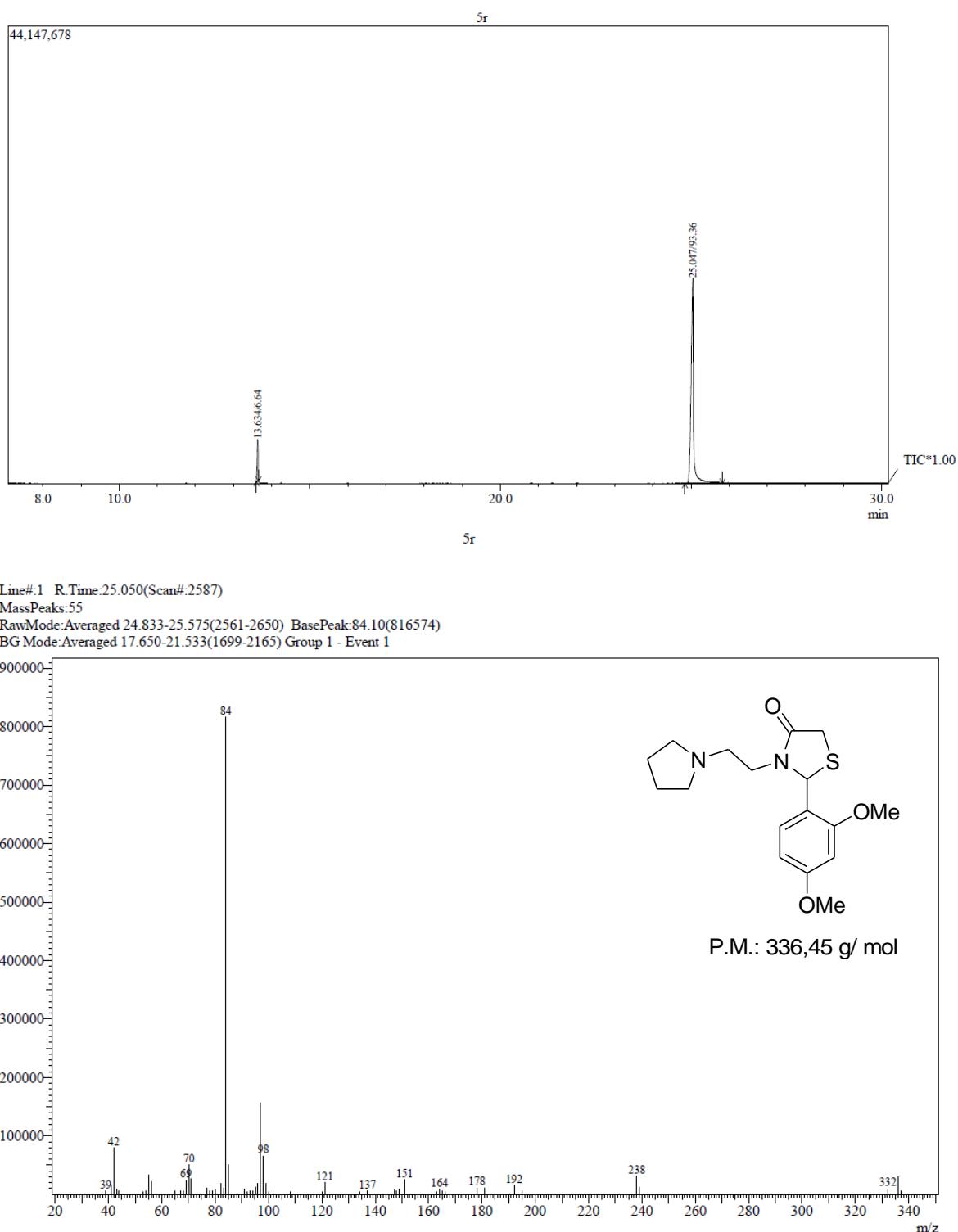


Figura 83: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona 5r.

Anexo II: Espectrometria de Massas

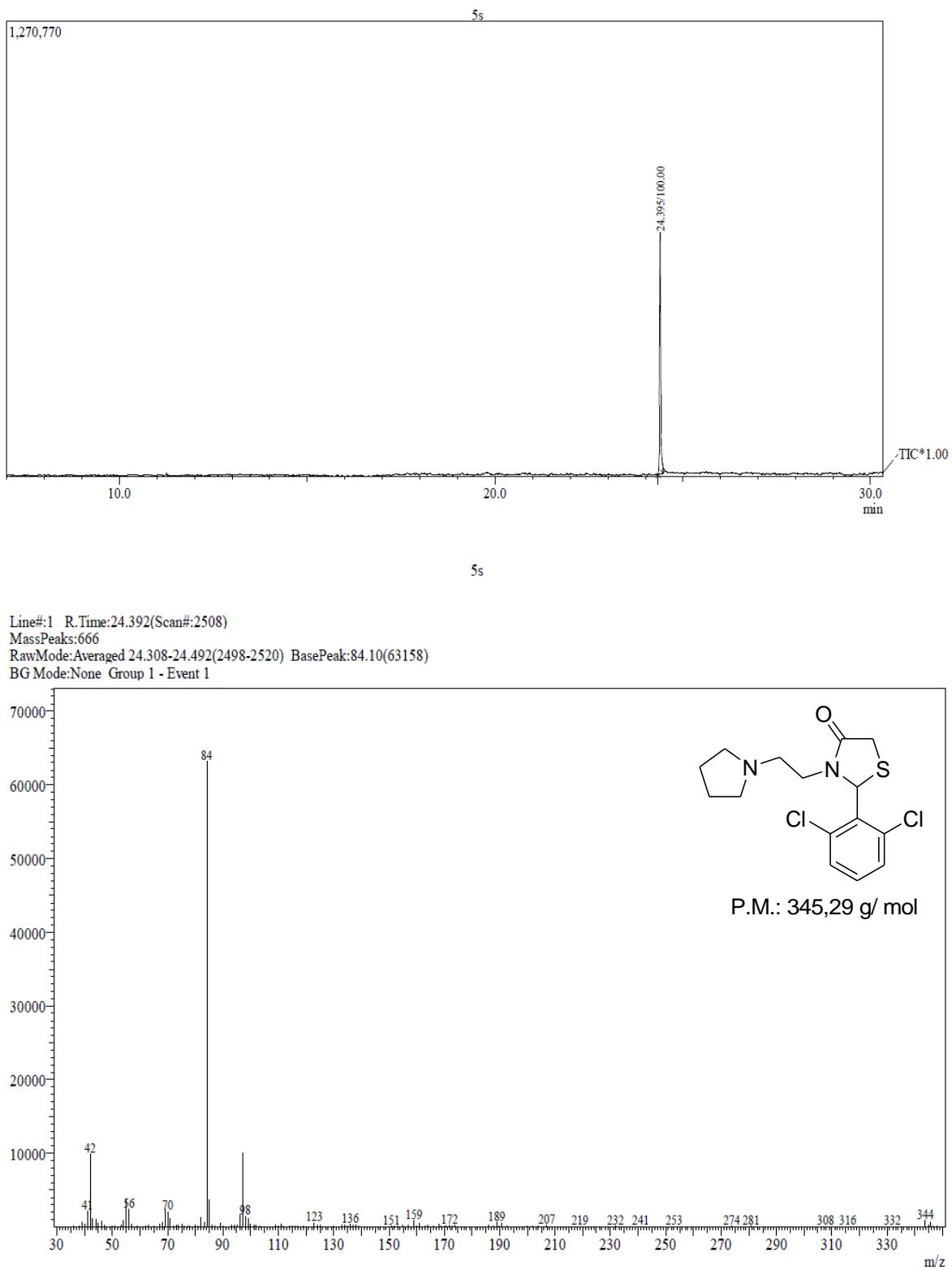


Figura 84: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5s**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

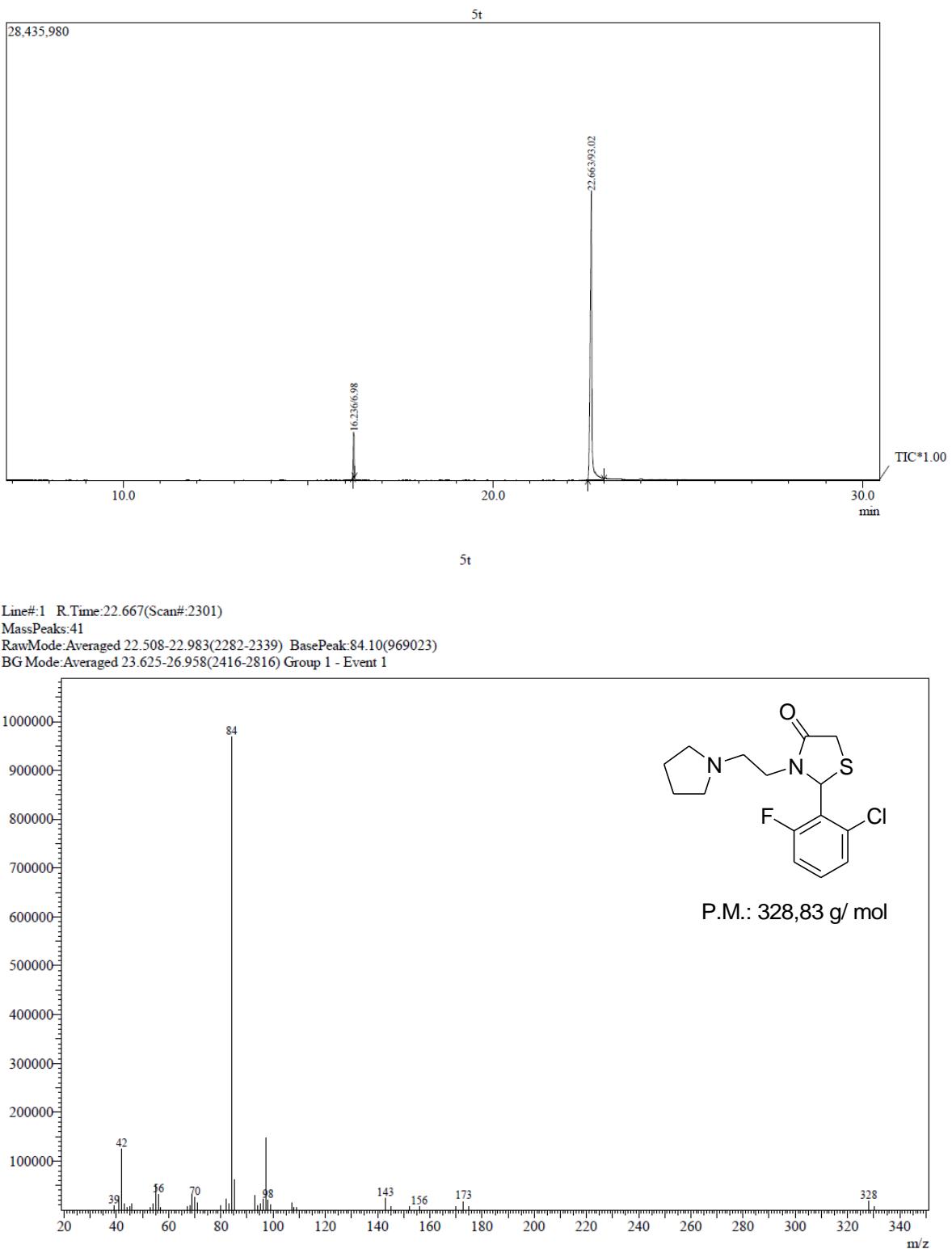


Figura 85: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5t**.

Anexo II: Espectrometria de Massas

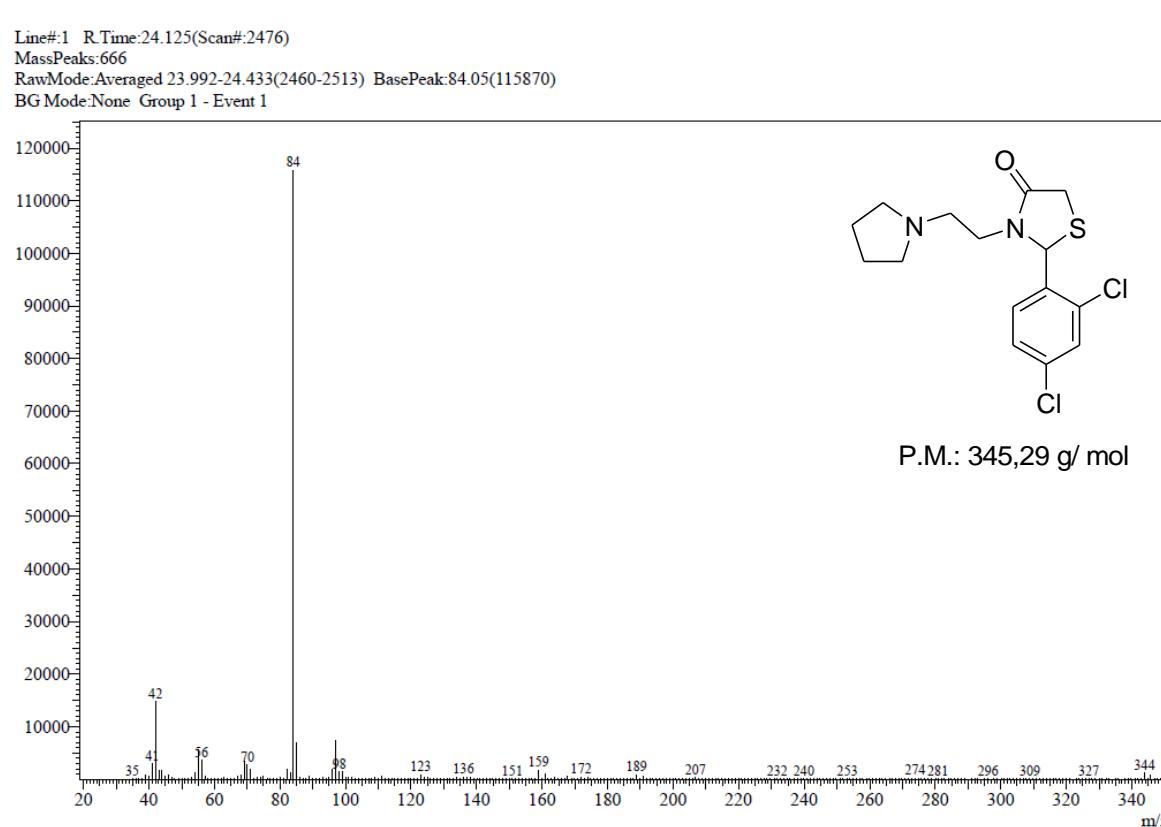
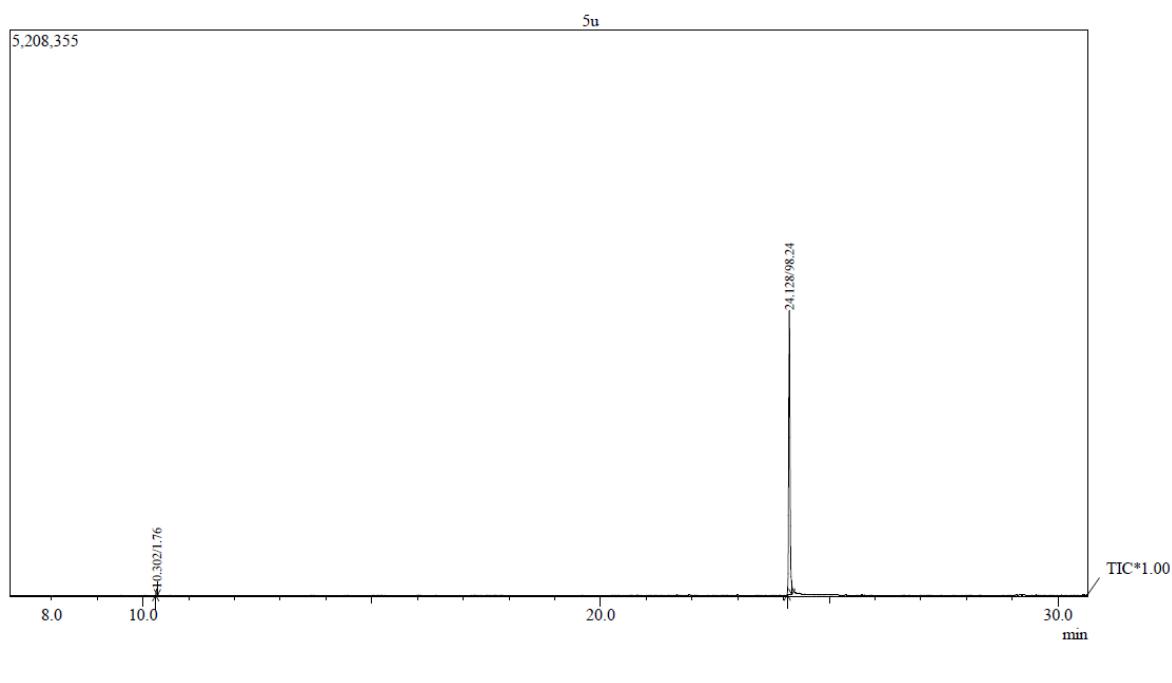


Figura 86: Espectro de CG/ CG-MS tiazolidinona **5u**.

ANEXO III – Espectros de ESI-FTMS

Anexo III: Espectrometria de Massas em Alta Resolução

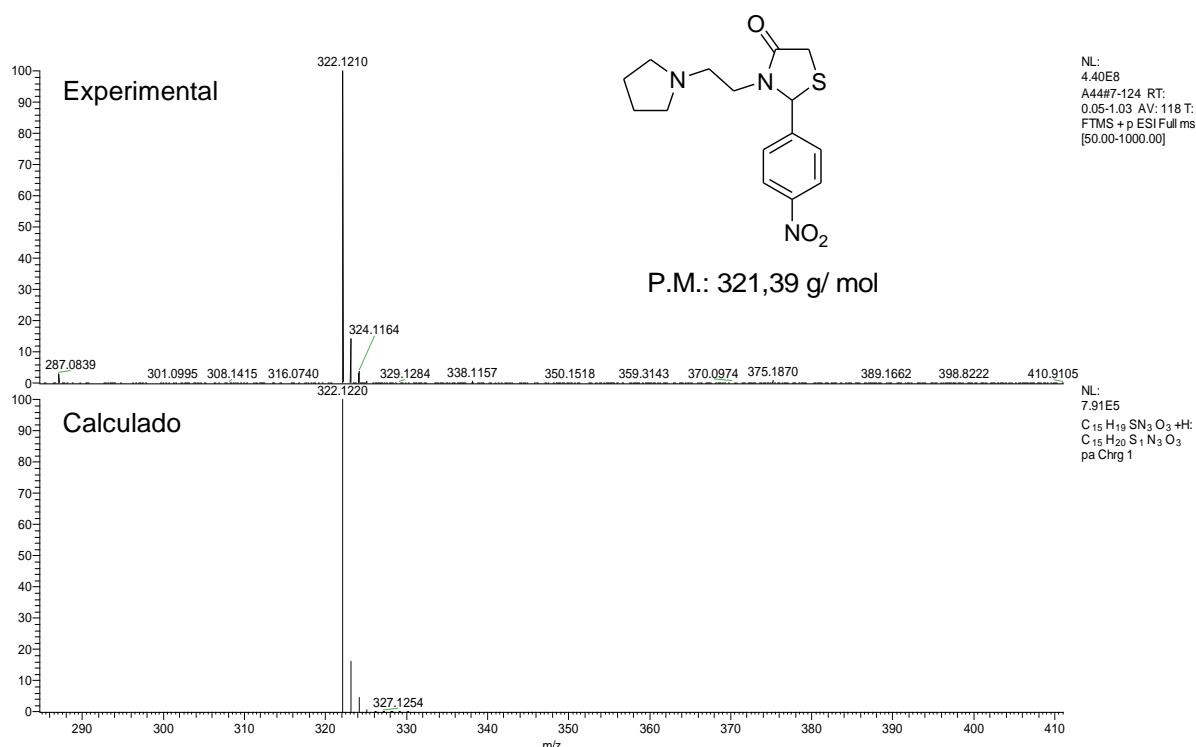


Figura 87: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona **5c** (Experimental e Calculado).

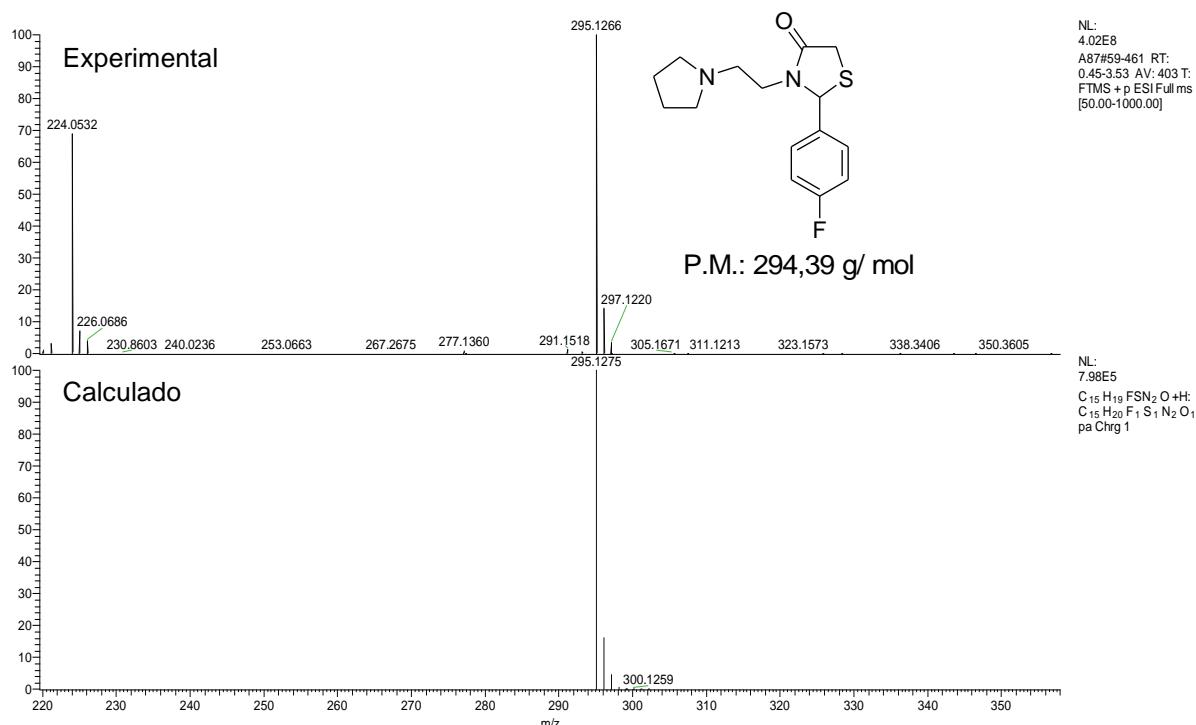


Figura 88: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona **5f** (Experimental e Calculado).

Anexo III: Espectrometria de Massas em Alta Resolução

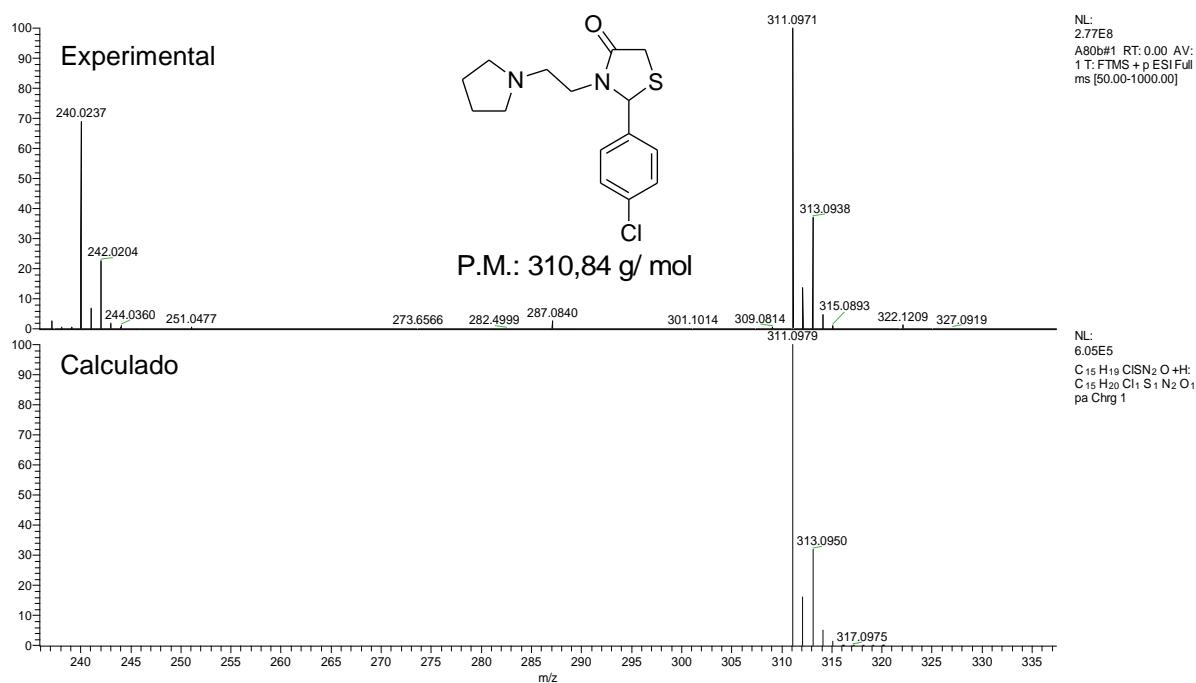


Figura 89: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona **5i** (Experimental e Calculado).

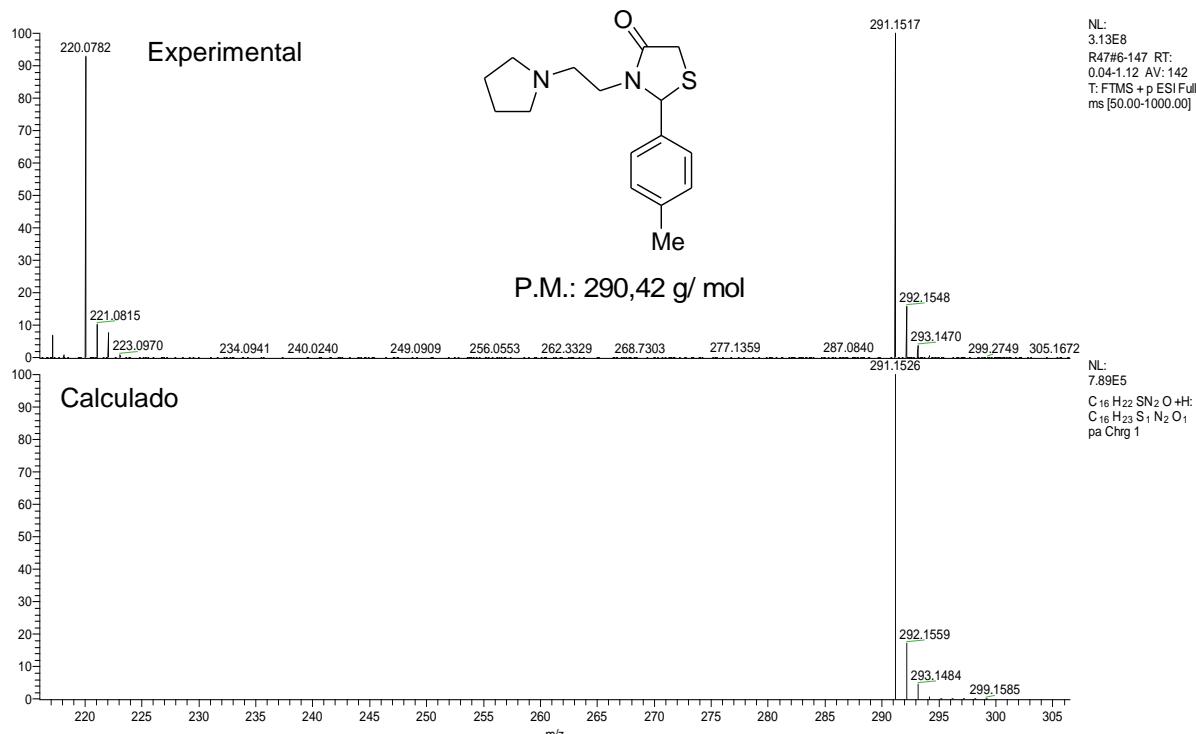


Figura 90: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) da tiazolidinona **5m** (Experimental e Calculado).

Anexo III: Espectrometria de Massas em Alta Resolução

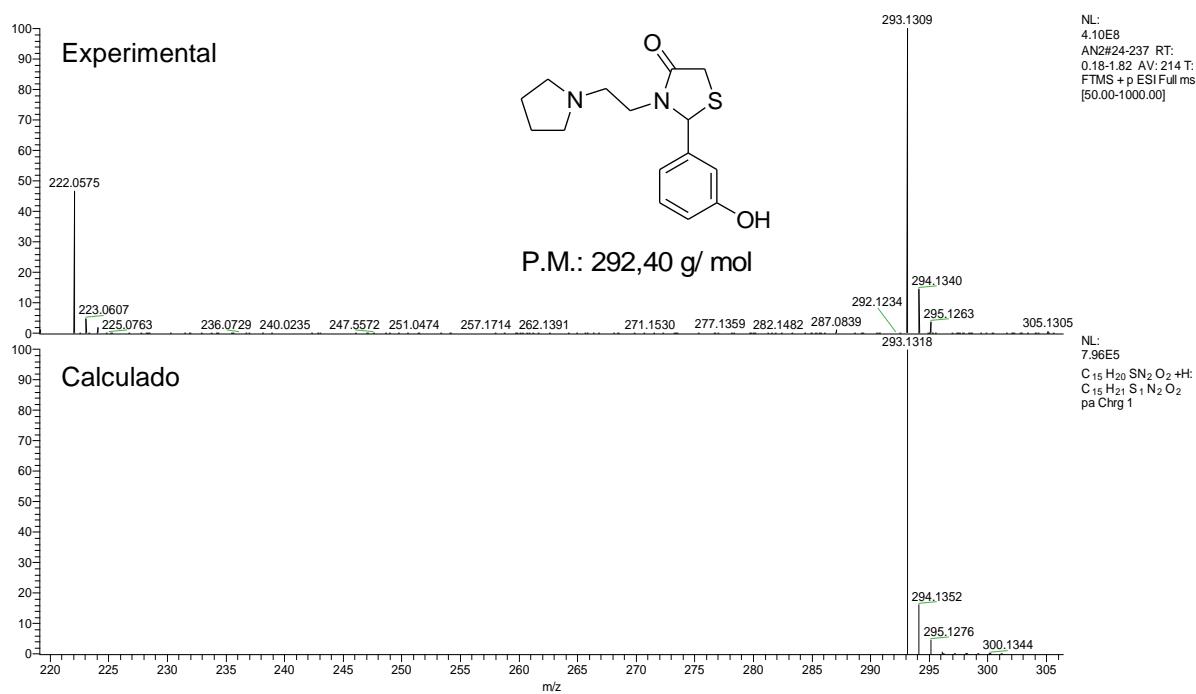


Figura 91: Espectro de Massas em alta resolução (ESI-FTMS) do composto **5o** (Experimental e Calculado).