

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CAMPUS V – MINISTRO ALCIDES CARNEIRO
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JAISMARY GONZAGA BATISTA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE, PURIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E
AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE NOVOS DERIVADOS 2-
[(BENZILIDENO)AMINO]-5,6-DIIDRO-4H-CICLOPENTA[b]TIOFENO-
3-CARBONITRILA EM BIOENSAIOS DE *Artemia salina***

JOÃO PESSOA – PB

2011

JAISMARY GONZAGA BATISTA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE, PURIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO
ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE
NOVOS DERIVADOS 2-[(BENZILIDENO)AMINO]-5,6-
DIIDRO-4*H*-CICLOPENTA[b]TIOFENO-3-
CARBONITRILA EM BIOENSAIOS DE *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

JOÃO PESSOA – PB

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL CAMPUS V – UEPB

O46s

Oliveira, Jaismary Gonzaga Batista de.

Síntese, purificação, caracterização estrutural e avaliação da citotoxicidade de novos derivados de 2-[(benzilideno)amino]-5, 6-diidro-4H ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila em bioensaios de *Artemia salina*/ Jaismary Gonzaga Batista de Oliveira. – 2011.

65f. : il. color

Digitado.

Trabalho Acadêmico Orientado (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Departamento de Ciências Biológicas, 2011.

“Orientação: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior”.

1. *Artemia salina*. 2. 2-Aminotiofeno. 3. Citotoxicidade. I. Título.

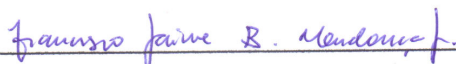
21. ed. CDD 595.32

JAISMARY GONZAGA BATISTA DE OLIVEIRA

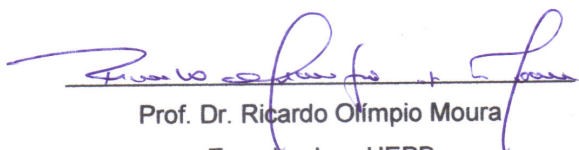
**SÍNTESE, PURIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA
CITOTOXICIDADE DE NOVOS DERIVADOS 2-[(BENZILIDENO)AMINO]-5,6-
DIIDRO-4H-CICLOPENTA[b]TIOFENO-3-CARBONITRILA EM BIOENSAIOS DE
*Artemia salina***

Aprovado em 29 de 06 de 2011

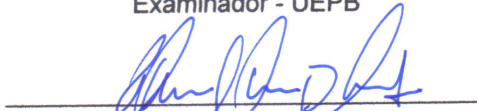
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior
Orientador - UEPB



Prof. Dr. Ricardo Olímpio Moura
Examinador - UEPB



Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino
Examinador - UFPE

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo seu amor incondicional, por me mostrar o caminho, nunca me deixando fraquejar, me conduzindo e sendo completamente responsável por o que sou hoje.

A minha família, em especial **meus pais**, por seus inúmeros conselhos e preocupações com minha formação acadêmica. Sempre me mostrando que o estudo é o bem mais precioso que possuímos. Esse trabalho é a concretização de que a educação que me deram geraram frutos.

Ao meu orientador, **Francisco Jaime**, por seus sábios ensinamentos, pela companhia de tardes a fio no laboratório, por fazer milagres com pouquíssimas vidrarias e condições de infra-estrutura que tínhamos no começo do curso, por ter me ensinado desde pipetar a interpretar um espectro de RMN e IV. Sendo sempre um grande exemplo para mim, esse trabalho não seria possível sem seu apoio e dedicação.

Ao grande companheiro de laboratório **Ricardo Olímpio**, por sua paciência e disponibilidade a todos os estagiários do LSVM. Por sempre me instruir a pensar nas soluções dos possíveis problemas, nunca dando a resposta, mas mostrando o caminho para que eu chegasse lá. Me amparou em momentos de desespero, compartilhou manhãs de risadas no laboratório e sempre incentivou a construção desse trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, **Frederico Fávaro** e **Rodrigo Aquino**, pelo companheirismo nos mais diversos laboratórios que já passamos devido às mudanças de campus, por ter me ensinado também com seus erros e por me ajudar a entender o método estatístico utilizado nesse trabalho. Em especial a **Rayssa Marques**, por ser companheira de laboratório, turma e congressos. Pelos inúmeros momentos que compartilhamos durante essa caminhada, sempre uma apoiando e incentivando a outra.

A minha amiga **Ryldene Marques**, pela sua companhia na hora de contar artêmias e lavar vidrarias nas férias, além de ser também uma companheira de congressos.

A minha colega de classe **Paola Simões**, por sempre estar presente durante toda trajetória do curso se tornando uma grande amiga, pelos conselhos, por tantos trabalhos em grupo, dividindo alegrias e angústias, disciplinas empolgantes e entediantes.

A todos os estagiários do LSVM que não citei um por um, porém participaram dessa caminhada e crescemos juntos dentro do laboratório, sempre compartilhando os erros e acertos.

Ao pessoal do LTF por nos ceder espaço para realização de parte desse trabalho quando nosso laboratório ainda estava sendo montado. A **Vicente** por ter solubilizado tantas amostras e posto no espectrômetro, gerando os espectros de RMN para mim.

RESUMO

O avanço da química orgânica proporcionou maior competitividade dos produtos sintéticos quando comparados aos produtos naturais em diversos setores industriais. Na terapêutica atual, por exemplo, predomina-se o uso de fármacos de origem sintética. A química medicinal permite através da técnica de modificação molecular a obtenção de novos medicamentos. Os compostos heterocíclicos são atualmente bastante utilizados como base para essa modificação molecular, visto que correspondem a cerca de 65% dos fármacos empregados na terapêutica, de onde 95% desses apresentam-se nitrogenados, e outros 25% apresentam átomos de enxofre em sua composição química. Dentre esses, os derivados 2-aminotiofeno apresentam uma enorme gama de atividades biológicas já comprovadas, porém testes de toxicidade são relativamente escassos. Dessa forma, esse trabalho visa a síntese, caracterização, assim como a avaliação da citotoxicidade de derivados 2-[(benzilideno)amino]-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila. Para obtenção dos compostos finais desejados, foi planejada uma síntese em duas etapas, partindo da obtenção do intermediário 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila, que foi obtido através da reação de Gewald, em seguida esse foi posto a reagir com 11 diferentes aldeídos aromáticos através de uma condensação ácido catalisada gerando os compostos finais em excelentes rendimentos (71-99%), demonstrando a viabilidade sintética e a boa adequação da metodologia de síntese, com grande facilidade e rapidez de purificação. Todos os compostos foram caracterizados e tiveram suas estruturas confirmadas por análises de RMN ¹H e Infravermelho. Em seguida foram realizados os testes de citotoxicidade através do bioensaio de letalidade utilizando *Artemia salina* Leach como bioindicador. Foram utilizadas cinco diferentes concentrações dos compostos teste (0,1, 1, 10, 100 e 1000 µg/mL), e a determinação das CL₅₀ foi feito através do método estatístico PROBIT. Os bioensaios de citotoxicidade demonstraram que cinco compostos se mostraram atóxicos, enquanto sete se mostraram tóxicos na faixa de concentração avaliada. Os compostos 5CN04 e 5CN03 destacaram-se como os compostos mais tóxicos (CL₅₀ de 0,42 µg/mL e 5,99 µg/mL, respectivamente). Enquanto que os compostos 5CN05, 5CN06, 5CN07, 5CN10 e 5CN11 mostraram-se atóxicos com CL₅₀ superiores a 1000 µg/mL.

Palavras-chave: 2-Aminotiofeno, *Artemia salina* Leach, citotoxicidade, ciclopenta[*b*]tiofeno.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Rota de obtenção do composto de partida 5CN (Aduto de Gewalt).....	23
Esquema 2. Rota de obtenção das iminas derivadas do aduto de Gewalt.....	23
Esquema 3. Rota de obtenção do 2-amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila realizada por Gewalt.....	30
Esquema 4. Rota de obtenção do 2-amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carboxilato de metila.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do composto heterocíclico – tiofeno.....	15
Figura 2. Derivado com atividade antibactericida.....	15
Figura 3. Derivado com atividade antifúngica.....	16
Figura 4. Derivados com atividade antitumoral.....	16
Figura 5. Derivados com atividade antifúngica.....	17
Figura 6. Derivado do benzo[<i>b</i>]tiofeno com atividade antifúngica.....	17
Figura 7. Indivíduo adulto da espécie <i>Artemia salina</i>	18
Figura 8. Derivado sintetizado por Gewald em 1965 e 1966.....	30
Figura 9. Derivado análogo ao composto de partida.....	31
Figura 10. Espectro de I.V. do composto 5CN01	32
Figura 11. Espectro RMN ¹ H do composto 5CN07	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos sintetizados e seus respectivos aldeídos.....	24
Tabela 2. Teste realizado com a molécula 5CN08.....	27
Tabela 3 – características físico-químicas dos compostos tiofênicos	29
Tabela 4 – Dados dos espectros de IV.....	33
Tabela 5 – Dados dos espectros de RMN ¹ H. (δ em ppm).....	34
Tabela 6. Valores de CL ₅₀ dos compostos sintetizados.....	36
Tabela 7. Ordem de toxicidade dos compostos e seus substituintes.....	37

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Referencial Teórico.....	13
2.1. Avanço da Química Medicinal.....	13
2.2. Modificação Molecular.....	14
2.3. Importância dos Derivados Tiofênicos.....	15
2.4. Importância de Testes de Citotoxicidade.....	18
2.5. Testes em <i>Artemia salina</i>	18
3. Objetivos.....	20
3.1. Objetivo Geral.....	20
3.2. Objetivos Específicos.....	20
4. Metodologia.....	21
4.1. Parte Química.....	21
4.1.1. Materiais.....	21
4.1.2. Síntese do composto de partida.....	23
4.1.3. Síntese dos novos compostos.....	23
4.1.4. Caracterizações.....	24
4.2. Parte Biológica.....	26
4.2.1. Teste de citotoxicidade.....	26
4.2.2. Preparação do Bioensaio com <i>Artemia salina</i>	26
4.2.3. Realização dos Ensaio.....	26
4.2.4. Contagem de Náuplios e Análise dos Dados.....	27
5. Resultados e Discussão.....	29
5.1. Parte Química.....	29
5.2. Parte Biológica.....	36
6. Conclusões.....	38
Referências.....	39
Anexos.....	45

1. Introdução

O avanço da química orgânica propiciou o destaque em diversidade e competitividade dos produtos sintéticos quando comparados aos produtos naturais em diversos setores industriais. Na terapêutica, por exemplo, atualmente predomina-se o uso de fármacos de origem sintética enquanto que o uso de produtos naturais predominou na primeira metade do século passado (FERREIRA et al., 1997).

A síntese orgânica desenvolveu-se mais rapidamente na segunda metade do século XX, devido a descoberta de muitas reações novas, novos catalizadores, condições reacionais (por exemplo: síntese em fase sólida, microondas) (AMARAL & MONTANARI, 2002). Os principais alvos escolhidos ao longo dos anos foram os produtos cuja complexidade estrutural, potência e diversas atividades biológico-farmacológicas despertassem grandes interesses científicos e medicinais, permitissem o desenvolvimento de novos medicamentos e beneficiassem a sociedade (CORREIA et al., 2002).

A química medicinal, por sua vez, através da técnica de modificação molecular, permite a obtenção de novos medicamentos. Esta técnica consiste na realização de pequenas modificações na estrutura de um composto possuidor de estrutura química e atividades biológicas bem conhecidas (mantendo constante seu grupo farmacofórico) obtendo-se novos compostos análogos ou homólogos, sem perda das principais propriedades do grupo farmacofórico (MONTANARI, 1995).

Os compostos heterocíclicos são atualmente bastante utilizados como base para essa modificação molecular, visto que correspondem a cerca de 65% dos fármacos empregados na atual terapêutica, de onde 95% desses apresentam-se nitrogenados, e outros 25% apresentam átomos de enxofre em sua composição química (BARREIRO & FRAGA, 2001).

Como umas das fases na descoberta de novos fármacos, faz-se necessário a realização de testes de toxicidade, de forma a avaliar ou prever os possíveis efeitos tóxicos de substâncias nos sistemas biológicos. Dentre esses testes de toxicidade, os testes que utilizam o microcrustáceo *Artemia salina* Leach são bastante conhecidos para determinar a toxicidade em bioensaios que utilizam a CL_{50} (concentração letal média) para a avaliação de atividades biológicas (NUNES, 2008).

Tendo em vista a necessidade da constante busca por medicamentos mais eficazes, potentes, seguros e com menores efeitos colaterais, esse trabalho visa a síntese, caracterização e avaliação da citotoxicidade de derivados 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (que apresentaram promissora ação antifúngica (ARAÚJO, 2010) através de

bioensaios realizados com *Artemia salina* por meio do cálculo da CL_{50} (concentração letal média).

2. Referencial Teórico

2.1. Avanço da Química Medicinal

De acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), a Química Medicinal, é uma disciplina que se baseia na química, mas que envolve as ciências: biológica, médica e farmacêutica (GUIDO, ANDRICOPULO & OLIVA, 2010). Esta disciplina objetiva o planejamento, descoberta, invenção, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos (protótipos), o estudo do metabolismo, interpretação do mecanismo de ação a nível molecular e a construção das relações entre a estrutura química e a atividade biológica (LIMA, 2007).

O avanço significativo da química e biologia propiciou a melhor compreensão das vias bioquímicas e metabólicas, dos alvos moleculares e dos mecanismos que levam ao aparecimento e desenvolvimento de doenças. Esse avanço tornou possível a descoberta de inovações terapêuticas, proporcionando melhorias na qualidade de vida da população mundial (LIMA, 2007).

Nas últimas décadas, o processo da descoberta de fármacos utilizou e beneficiou-se do advento destas novas tecnologias. Sua introdução levou à obtenção de um número maior de fármacos, com redução de custos (LIMA, 2007). Grande maioria dos fármacos utilizados na terapêutica atual derivaram da utilização da estratégia de modificação molecular, cuja técnica permite fazer o melhoramento da estrutura do protótipo, através de modificações planejadas.

Essas reações são agora realizadas de forma a serem mais eficientes, seletivas, menos poluentes e que possam ser conduzidas em condições simples de trabalho, melhorando os processos de síntese já conhecidos (NAVARRO et al., 2005).

2.2. Modificação Molecular

A estratégia da modificação molecular caracteriza-se pela utilização da estrutura química básica de um composto protótipo com comprovada atividade biológica (farmacóforo), e a partir deste, da realização de pequenas modificações estruturais que geralmente promovem pequenas modificações no perfil farmacocinético ou farmacodinâmico do composto protótipo, gerando compostos análogos e homólogos, sem no entanto promover perdas muito significativas em sua atividade biológica inicial. (MONTANARI, 1995).

Para que um protótipo seja considerado um candidato a fármaco, alguns fatores devem ser considerados, tais como: simplicidade estrutural - com possibilidade de modificações, visando a otimização de seu perfil farmacoterapêutico; possuir situação patentária favorável e apresentar boa propriedade farmacocinética (SIQUEIRA, 2010).

Os derivados 2-amino-tiofênicos apresentam além da simplicidade estrutural, o que permite que sejam realizadas modificações em sua estrutura, diversas atividades biológicas associadas já descritas na literatura, como por exemplo: atividades antibacterianas, antivirais (anti- HIV), atividade anticancerígena (câncer de fígado) entre outras (SIQUEIRA et al., 2010).

2.3. Importância dos Derivados Tiofênicos

O tiofeno é um hidrocarboneto cíclico, de fórmula molecular C_4H_4S (Figura 1). Trata-se também de um composto heteroaromático visto que um dos pares de elétrons livres do enxofre tem potencial para participar da ressonância conjuntamente com elétrons π das duplas ligações.

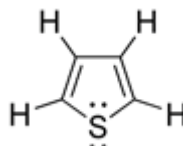


Figura 1. Estrutura do composto heterocíclico - tiofeno

Atualmente, a síntese de compostos contendo átomos de enxofre em sua composição é de grande interesse, tanto pelo seu uso como intermediário sintético como pelo seu potencial biológico.

Atividades antitumorais (NAIR & ABRAHAM, 1993), antivirais (BONINI et al., 2004) e antiglaucomas (BALDWIN et al., 1989; DANTANARAYANA et al., 1997) já são relatadas na literatura.

Destacam-se também as atividades: analgésicas e antiinflamatórias (HARRINGTON et al., 1972; DURETTE et al., 1987; MATSUO et al., 1996; MENG et al., 1998; TALLEY et al., 2006), antibacterianas, antifúngicas e herbicida.

Foram evidenciadas atividades antibacterianas em derivados tiofeno-4,5-dibromados (HARRINGTON et al., 1972, ELBE et al., 1998) e tri- e tetra- substituídos (I) (BERGE et al., 2006), sendo que a atividade antimicrobiana desses últimos se dá por inibição do RNA β bacteriano metionil sintetase (MRS) (Figura 2).

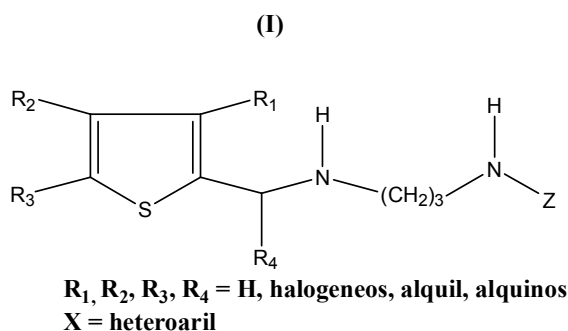
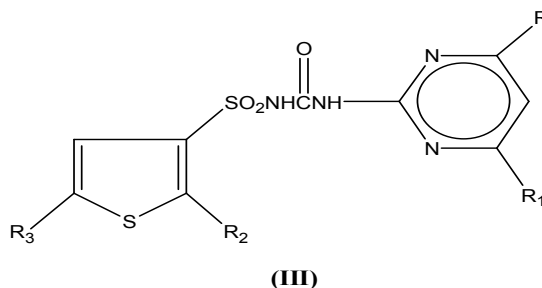


Figura 2. Derivado com atividade antibactericida

Outros derivados foram empregados com sucesso como fungicidas para agricultura e horticultura (HIROTA et al., 1984) onde se destacaram os derivados 3-sulfoniluréias substituídos (estrutura geral **III**) (SHAPIRO, 1984; SHAPIRO, 1985; SHAPIRO, 1987) (Figura 3).



R = H, Cl, Br, Etil, SMe
R₁ = Me, OMe
R₂, R₃ = H, Cl, Br, Me

Figura 3. Derivado com atividade antifungida

Recentemente Dallemagne et al. (2003) relataram a síntese e a citotoxicidade de vários novos compostos relacionados ao ciclopenta[*c*]tiofeno, entre os quais alguns exerceram uma atividade antitumoral *in vivo* (Figura 4).

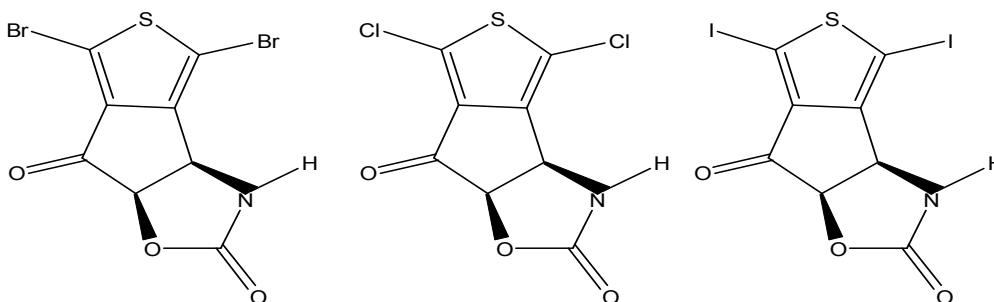
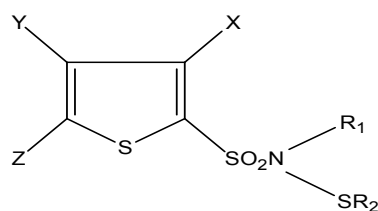


Figura 4. Derivados com atividade antitumoral

Derivados 2-(*N*-haloalquiltiosulfonamido)-tiofenos (**VI**) (Figura 5) (EDWARDS, 1976) entre outros (NAGAI et al., 1983; SANDMEIER & SECKINGER, 1984; EURKART et al., 1989) demonstram importante atividade antifúngica, com atividade *in vivo* superior às drogas referências miconazol e clotrimazol frente à diversas cepas de microorganismos dos gêneros *Candida* e *Trichophyton*.



(VI)

X, Y, Z = H, alquil, halogênio, nitro
R₁ = H, alquil, aril
R₂ = haloalquil

Figura 5. Derivados com atividade antifúngica

O derivado benzo[*b*]tiofeno (Figura 6) apresentou também moderada atividade antifúngica contra espécies do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*) e espécies do gênero *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, e *A. flavus*) (PINTO et al., 2008).

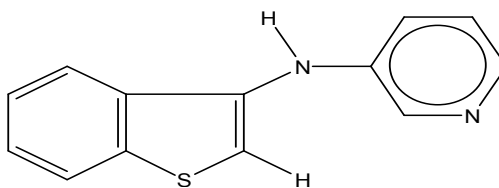


Figura 6. Derivado do benzo[*b*]tiofeno com atividade antifúngica

Outras importantes atividades de derivados do anel de tiofeno também são encontradas na literatura, como a potente atividade leishmanicida de derivados de tiofeno contra *Leishmania infantum* LV9 (RAM et al., 1997), atividade antiprotozoária de derivados de tiofeno para promastigotas de *Leishmania amazonensis*, *L. brasiliensis* e *L. infantum* com 100% de lise a 100 mg/mL (LIMA et al., 2009).

2.4. Importância de Testes de Citotoxicidade

A avaliação de toxicidade geral é considerada fundamental como bioensaio preliminar no estudo de substâncias com propriedades biológicas. Os testes de toxicidade são ferramentas confiáveis para estimar as concentrações nas quais produtos tóxicos podem provocar efeitos deletérios sobre os organismos (BARBIERI, 2004).

Várias técnicas são utilizadas para a verificação da toxicidade de substâncias, dentre elas a obtenção de dados a partir da utilização de microrganismos, animais de laboratório ou seres humanos (FARIAS; IMADA; KATAYAMA, 2010). Sendo assim, se trata de um bioensaio preliminar essencial no estudo de substâncias com atividade biológica que visa simular suas possíveis interações com o organismo (CAVALCANTE et al, 2000).

O primeiro tipo de teste toxicológico a ser realizado é de agudo-letal, que visa analisar a exposição de 24h a 48h do composto com o organismo bioindicador. Nesse teste analisa-se a taxa de sobrevivência deste ao produto testado, ou seja, se observa os danos causados ao organismo teste e a concentração que provoca a morte de 50% dos mesmos, representada pela sigla CL_{50} (CAVALCANTE et al, 2000; BAROSA et al, 2003). Neste trabalho, a *Artemia salina* Leach foi utilizada como bioindicador.

2.5. Testes em *Artemia salina*

A *artemia sp* é um microcrustáceo da ordem Anostraca que vive em águas salgadas e salinas. É também uma das espécies que não sofreu modificações ao longo do tempo, permanecendo com a mesma estrutura por milhões de anos (Figura 7) (FARIAS; IMADA; KATAYAMA, 2010).



Figura 7. Indivíduo adulto da espécie *Artemia salina*

Figura extraída de: <http://andrerossanez.blogspot.com/2009/09/arthropoda-3.html>

São de fácil acesso, seus cistos são encontrados facilmente em lojas de aquarismo, e apresentam um ciclo de vida rápido, cerca de 24 a 48 horas para eclodir (FARIAS; IMADA; KATAYAMA, 2010). Ela é bastante utilizada em testes de toxicidade aguda devido à sua capacidade para formar cistos dormentes, sua praticidade de manuseio e cultivo, por ser um método rápido e barato, além de ser um bioindicador capaz de uma avaliação toxicológica pré-clínica (BAROSA et al, 2003).

O teste de toxicidade de uma substância a partir da *Artemia sp* é um teste rápido e de baixo custo, requer pouca quantidade da amostra e não necessita de métodos assépticos ou equipamentos especiais. O teste visa verificar a relação entre a taxa de sobrevivência da *Artemia sp* em relação a concentração da substância a ser misturada na água de controle (FARIAS; IMADA; KATAYAMA, 2010).

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar novas moléculas derivados de 2-[(benzilideno)amino]-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila e avaliar sua citotoxicidade através de bioensaios realizados com *Artemia salina*.

3.2. Objetivos Específicos

- Promover a síntese química de novos compostos derivados do tiofeno;
- Verificar as características físico-químicas e rendimentos dos novos compostos sintetizados;
- Caracterizar estruturalmente os novos compostos obtidos através de diferentes métodos espectroscópicos;
- Avaliar a citotoxicidade dos compostos em bioensaios utilizando *Artemia salina* através do cálculo da CL₅₀ (concentração letal média), através do método estatístico PROBIT.

4. Metodologia

4.1. Parte Química

4.1.1. Materiais

Reagentes

- Ciclopentanona;
- Malononitrila;
- Morfolina;
- Enxofre;
- Benzaldeído;
- 4-bromo-benzaldeído;
- 3,4-dicloro-benzaldeído;
- 2,6-dicloro-benzaldeído;
- 2,3-dicloro-benzaldeído;
- 2,4-dicloro-benzaldeído;
- 3,4,5-trimetóxi-benzaldeído;
- 5-bromo-2-metóxi-benzaldeído;
- 4-nitro-benzaldeído;
- 4-cloro-benzaldeído;
- 4-metóxi-benzaldeído.

Solventes

- Clorofórmio Deuterado (CDCl_3);
- Dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6);
- Etanol;
- Ácido Acético;
- Hexano;
- Acetato de etila;
- Tween 20;
- Água Destilada.

Equipamentos

Ponto de Fusão - Micro química modelo MQAPF-302

Balança - OHAUS modelo Adventurer

I.V. – Espectrofotômetro modelo IRPrestige-21

R.M.N. – Espectrofotômetro Varian Mercury/200 MHz

Softwares

R.M.N. - MestReC 4.8.6.0.

I.V. - Origin 6.0

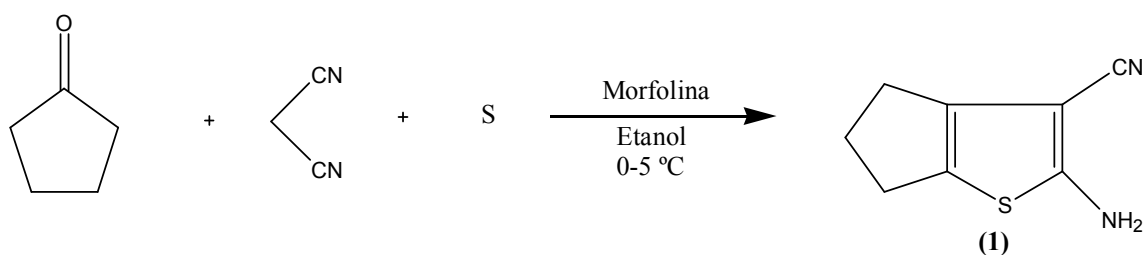
Excel – Windows 7

Cromatografia

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas Fluka sílica gel 60 F254 nm, de 0,2mm de espessura. As revelações foram feitas por luz ultravioleta (254 ou 366 nm). Todos os solventes utilizados nos sistemas de eluição possuíam especificação P.A.

4.1.2. Síntese do composto de partida

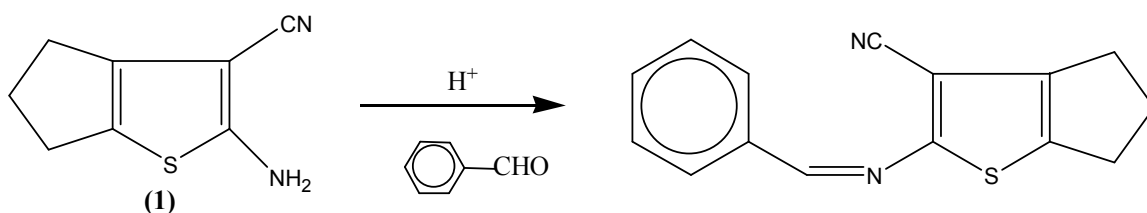
O composto 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila foi obtido através da clássica reação de Gewald (Esquema 1), que consiste na condensação multicomponentes de uma cetona cíclica (ciclopentanona) com um composto metileno ativo (malononitrila) em meio etanólico e enxofre elementar na presença catalítica de uma base (morfolina). Essa reação foi realizada em banho de gelo, a morfolina foi adicionada durante um intervalo de vinte minutos a temperatura de 0-5 °C. Após duas horas de reação comprovada por cromatografia em camada delgada (CCD) em um sistema 7:3 hexano/acetato, foi verificado o término da reação. A reação foi posta no rotaevaporador para diminuição do volume (metade do volume inicial) e em seguida foi posta no refrigerador para formação de cristais. Os cristais formados foram filtrados em funil sinterizado e a purificação se deu através de lavagens sucessivas com etanol gelado.



Esquema 1. Rota de obtenção do composto de partida 5CN (Aduto de Gewald)

4.1.3. Síntese dos novos derivados

Utilizando como produto de partida o composto (1), novos derivados de tiofenos foram obtidos. Para tanto foram realizadas reações de substituição na função 2-amino (Esquema 2) através da condensação com aldeídos aromáticos, fornecendo as respectivas iminas (Tabela 1).



Esquema 2. Rota de obtenção das iminas derivadas do aduto de Gewald

Tabela 1. Compostos sintetizados e seus respectivos aldeídos

Compostos	R
5CN	-
5CN01	H
5CN03	4-Bromo-benzaldeído
5CN04	2,3-Dicloro-benzaldeído
5CN05	3,4-Dicloro-benzaldeído
5CN06	2,4-Dicloro-benzaldeído
5CN07	2,6-Dicloro-benzaldeído
5CN08	3,4,5-Trimetóxi-benzaldeído
5CN09	2-Metóxi-5-bromo-benzaldeído
5CN10	4-Nitro-benzaldeído
5CN11	4-Cloro-benzaldeído
5CN12	4- Metóxi-benzaldeído

O procedimento reacional foi o mesmo para todos os onze novos derivados. Os componentes da reação foram utilizados na proporção 1:1, em temperatura ambiente sob agitação e meio ácido. Após a constatação do término da reação, através de placas de cromatografia delgada, os compostos foram filtrados e lavados com água destilada.

4.1.4. Caracterizações

- **Infravermelho**

Misturou-se uma amostra do composto (1-2mg) a um sal purificado (KBr). A mistura foi triturada e prensada com o auxílio de uma prensa hidráulica de sete toneladas, formando uma pastilha translúcida. Essas pastilhas foram lidas em um aparelho de espectrofotômetro de infravermelho, gerando os espectros das moléculas. O tratamento dos espectros foi feito no software Origin 6.0.

- **RMN ¹H**

Separou-se amostras de aproximadamente 10 mg de cada um dos compostos e essas foram solubilizadas no solvente de escolha: dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) ou clorofórmio deuterado (CDCl₃). As soluções foram lidas por um aparelho de espectrômetro de RMN, gerando os espectros das moléculas. O tratamento dos espectros foi feito no software MestReC 4.8.6.0.

4.2. Parte Biológica

4.2.1. Teste de citotoxicidade

O teste de citotoxicidade foi realizado com o microcústáceo *Artemia salina* Leach, obtido através de lojas de aquarismo, utilizando-se a metodologia descrita por Meyer et al. (1982) modificada. Os cistos de artêmias foram eclodidos em água marinha sintética (marca Real Sea®).

4.2.2. Preparação do Bioensaio com *Artemia salina*

Foram preparados 1L de água marinha sintética, dissolvendo-se 33,3 g de sal marinho em 1 litro de água destilada. Para a eclosão dos cistos foi utilizado um aquário retangular (20 comprimento x 11cm de largura x 13 cm de altura– área total de 220cm² e volume total de 2860cm³) – com uma divisória central com poros de 2 mm. Foram acrescentados aproximadamente 1,5 gramas de cistos de artêmia em um dos lados do aquário e o mesmo foi escurecido e protegido da luz. Com um feixe de luz artificial, foi mantida a claridade no lado oposto durante 48 horas. Por serem fototrópicas, as artêmias ao eclodirem migram em direção à luz.

O aquário foi oxigenado com auxílio de uma bomba de ar, para a interferência mínima na eclosão natural dos cistos e viabilidade dos náuplios. Decorrido o tempo necessário, 24-48h, as artêmias foram coletadas do lado iluminado do aquário. Foram separados grupos com 10 artêmias, que foram colocadas em tubos de ensaios contendo 2mL da mesma solução salina sintética, com o auxílio de uma pipeta.

4.2.3. Realização dos Ensaios

Os compostos teste foram solubilizados em TWEEN 20 (2,5%) e diluídos com água destilada em 5 diferentes concentrações (1000 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL e 0,1 µg/mL) que foram testadas em quintuplicata. Foi realizado também um controle negativo, contendo apenas solvente, para verificar se a mortalidade das artêmias estaria exclusivamente relacionada a toxicidade dos compostos em questão.

Em seguida, o volume de cada tubo de ensaio foi completado com água salina sintética até atingir o volume de 10 ml. Os tubos foram em seguida deixados sob luz artificial.

4.2.4. Contagem de Náuplios e Análise dos Dados

Após 24 horas, o conteúdo de cada um dos tubos de ensaio foi vertido sobre placas de petri, e com auxílio de uma lupa foi realizada a contagem do número de náuplios vivos e mortos em cada tubo. Foram considerados mortos, todos os náuplios que não apresentavam qualquer movimento em até 10 segundos de observação.

A determinação da citotoxicidade foi realizada através do cálculo do percentual de mortalidade das larvas. E a CL_{50} foi estimada utilizando o Método de Análise PROBIT descrito por Finney (1971). No exemplo (Tabela 2), o teste realizado com uma molécula fictícia utiliza a concentração dos testes realizados, a porcentagem da média de náuplios mortos, log da concentração e o valor PROBIT tabelado.

Tabela 2. Teste realizado com a molécula 5CN08

Concent. $\mu\text{g/ml}$	% de mortos	Log	PROBIT
1000	30	3	4,48
100	22	2	4,23
10	20	1	4,16
1	12	0	3,82
0,1	2	-1	2,95

Para determinação da CL_{50} , foram utilizados os dados do logaritmo da concentração e o valor PROBIT, para gerar um gráfico de dispersão com eixos X e Y, representados por valores de log da concentração e PROBIT respectivamente. Subsequente, foi feita a regressão linear dos dados (Gráfico 1) que permite a obtenção de uma reta, da equação da reta, e do coeficiente de linearidade (R^2).

A equação da reta permite o cálculo da CL_{50} . E o valor do coeficiente de linearidade nos dá a precisão e confiabilidade dos dados (R^2). Quanto mais próximo esse valor de 1 (um) melhor e mais confiável é o modelo. Neste exemplo, a molécula apresentou R^2 igual a 0,85, demonstrando assim uma boa confiança e correlação dos dados.

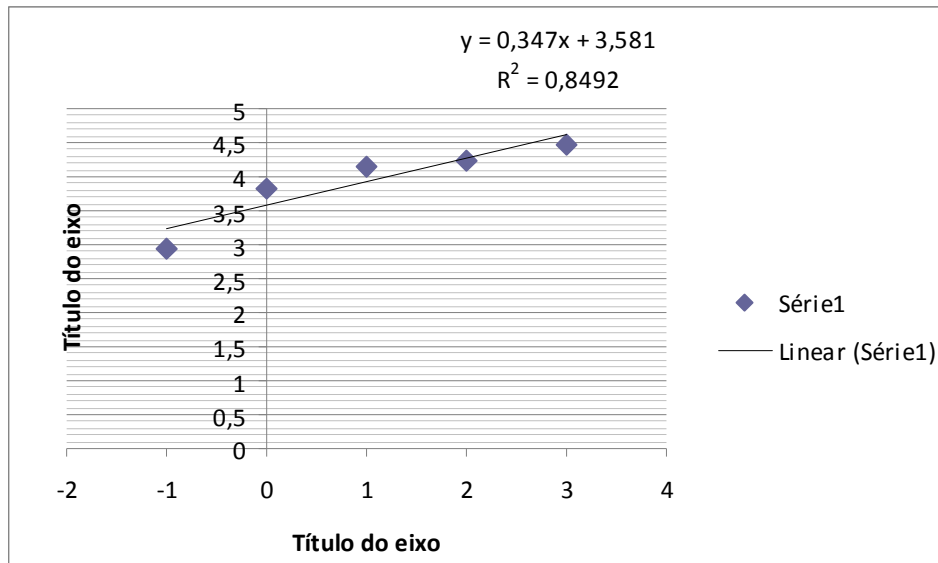


Gráfico 1. Gráfico e fórmula da regressão linear

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Parte Química

Os resultados obtidos com as etapas sintéticas foram satisfatórios, uma vez que os compostos foram obtidos em bons rendimentos variando de 66% a 99% (Tabela 3). Observou-se também uma coloração característica amarela em todos os novos compostos sintetizados, com exceção do aduto de Gewald (intermediário sinético) que apresentou aparência marrom clara.

Os resultados referentes aos rendimentos e características físico-químicas dos compostos sintetizados encontram-se descritos na Tabela 3.

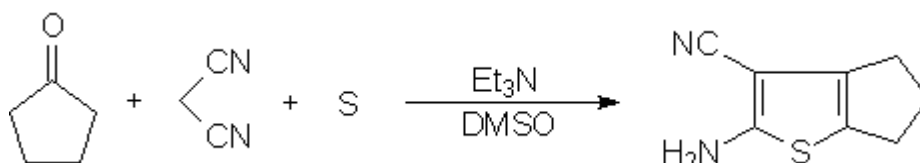
Tabela 3 – Características físico-químicas dos compostos tiofênicos.

COMP.	APARÊNCIA	REND. (%)	P.F. (°C)	R _f	F.M.	M.M.
5CN	Pó marrom claro	66	147-155	0,52	C ₈ H ₈ N ₂ S	164
5CN01	Pó amarelo escuro	94	178-183	0,83	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ S	252
5CN03	Pó amarelo	71,8	138-140 150-152	0,57	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ SBr	343
5CN04	Pó amarelo	63,5	190-193 207-209	0,67	C ₁₅ H ₉ N ₂ SCl ₂	335
5CN05	Pó amarelo	99	190-194	0,44	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ SCl ₂	320
5CN06	Pó amarelo	91	186,5-189 189-191	0,82	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ SCl ₂	320
5CN07	Pó amarelo	79	158-160	0,68	C ₁₅ H ₁₀ N ₂ SCl ₂	320
5CN08	Pó amarelo escuro	99	182-187	0,21	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	342
5CN09	Pó amarelo	91	173-178	0,48	C ₁₆ H ₁₃ N ₂ OSBr	360,9
5CN10	Pó laranja escuro	80,1	191-193	0,35	C ₁₅ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	297
5CN11	Pó amarelo escuro	82,3	160-162	0,53	C ₁₅ H ₁₁ N ₂ SCl ₂	286,5
5CN12	Pó amarelo escuro	87,3	180-186	0,62	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ OS	282

P.F. – Ponto de fusão, R_f – Fator de retenção, calculado em sistema de eluição hex/AcOEt (8:2), F.M. – Fórmula molecular, M.M. – massa molecular

A faixa de fusão dos compostos, conforme a Tabela 3, foi pequena, oscilando entre 0,3°C a 5°C, indicando um alto grau de pureza destes. No entanto, a maioria dos compostos apresentaram uma larga faixa de fusão, o que pode ser interpretado pela existência de diferentes formas cristalinas da mesma molécula, caracterizado de mais de uma faixa de fusão no compostos 5CN03, 5CN04 e 5CN06.

O composto que serviu de origem de partida para a síntese destas novas moléculas, 5CN, já se encontra descrito na literatura, e teve sua síntese realizada através da clássica reação de Gewald (GEWALD, 1965), (Esquema 3).



Esquema 3. Rota de obtenção do 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila realizada por Gewald

Utilizando o esquema reacional de Gewald, o composto 5CN apresentou um rendimento de 66%. Nas mesmas condições, essa reação de Gewald já foi realizada por outros autores e apresentou um rendimento de 55% (SRIDHAR, M. et al., 2007).

O derivado 2-amino-4,5,6,7-tetraidro-benzo[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (Figura 9) é um análogo a esse composto de partida, diferindo apenas seu ciclo de seis membros associado ao anel tiofeno. O mesmo foi obtido a um rendimento de 70% (GEWALD, 1965) e 86-90% (GEWALD, K. et al., 1966).

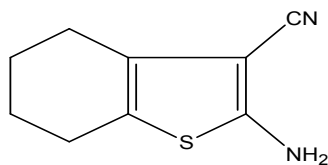
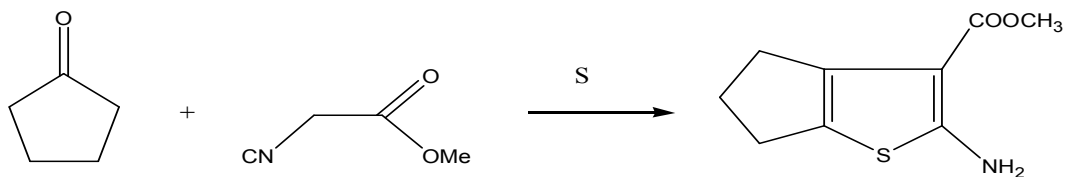


Figura 8. Derivado sintetizado por Gewald em 1965 e 1966

Uma reação semelhante foi realizada (Esquema 4), baseada também na reação de Gewald, consistiu na condensação de ciclopentanona, cianoacetato de metila e enxofre para obtenção da 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carboxilato de metila, apresentando um rendimento de 65% , próximo ao rendimento de 66% do composto 5CN (ASIRI, 2003).



Esquema 4. Rota de obtenção do 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carboxilato de metila

O éster etílico do ácido 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carboxílico (Figura 10) é outro aduto de Gewald, que já foi obtido com rendimento de 45-52%, inferior ao rendimento do composto 5CN (GEWALD, K. et al., 1966).

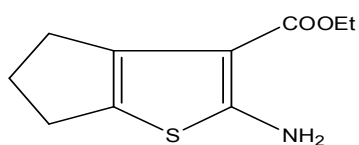


Figura 9. Derivado análogo ao composto de partida.

A espectroscopia no infravermelho (IV) é uma técnica simples que evidencia a presença dos grupos funcionais em uma molécula. O espectro de IV é também chamado de “impressão digital” da molécula, pois a possibilidade de dois compostos diferentes apresentarem o mesmo espectro de IV é extremamente pequena, pelo fato de que os espectros de IV apresentarem muitos picos (SOLOMONS; FRYHLE, 2005). Desta forma, em compostos orgânicos, pode-se afirmar que os compostos são diferentes com base em seus espectros de IV diferentes.

Já a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é outra técnica espectroscópica, em que por utilização de campos magnéticos e radio-freqüência é possível se diferenciar os átomos de uma molécula. No caso de RMN de hidrogênio, é possível se determinar a quantidade e a localização dos hidrogênios de uma dada molécula.

Dessa forma, e para o estudo dos compostos químicos sintetizados nesse trabalho, as interpretações dos espectros de IV e RMN ¹H proporcionam riqueza de informação e são suficientes para caracterização destas moléculas.

Os dados referentes à caracterização dos compostos sintetizados encontram-se descritos na Tabela 4 (Infravermelho) e Tabela 5 (RMN). No exemplo, o gráfico de IV do composto 5CN01 (Figura 11) e de RMN¹H do composto 5CN07 (Figura 12). Os gráficos referentes aos demais espectros de RMN ¹H e Infravermelhos encontram-se em anexo.

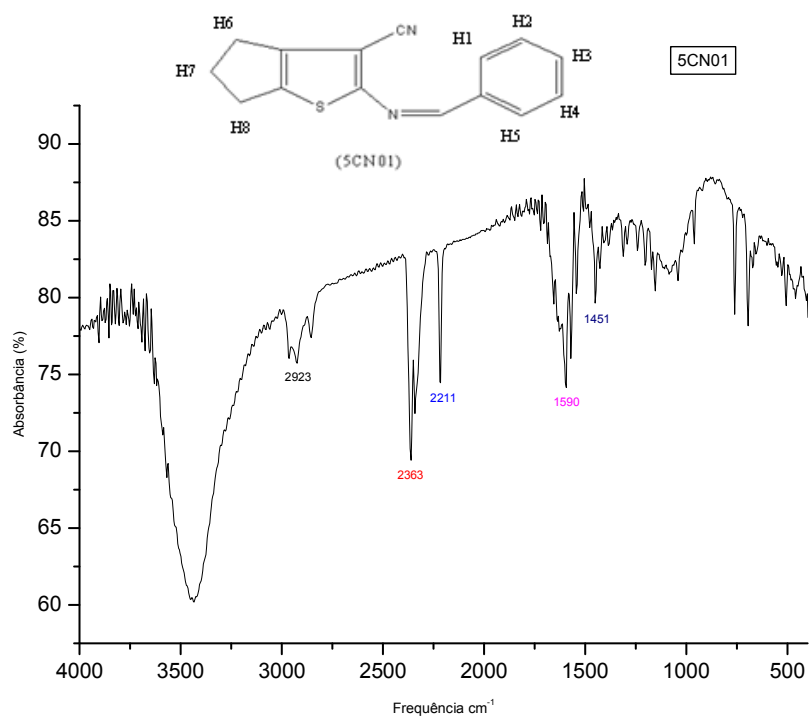


Figura 11. Espectro de I.V. do composto 5CN01.

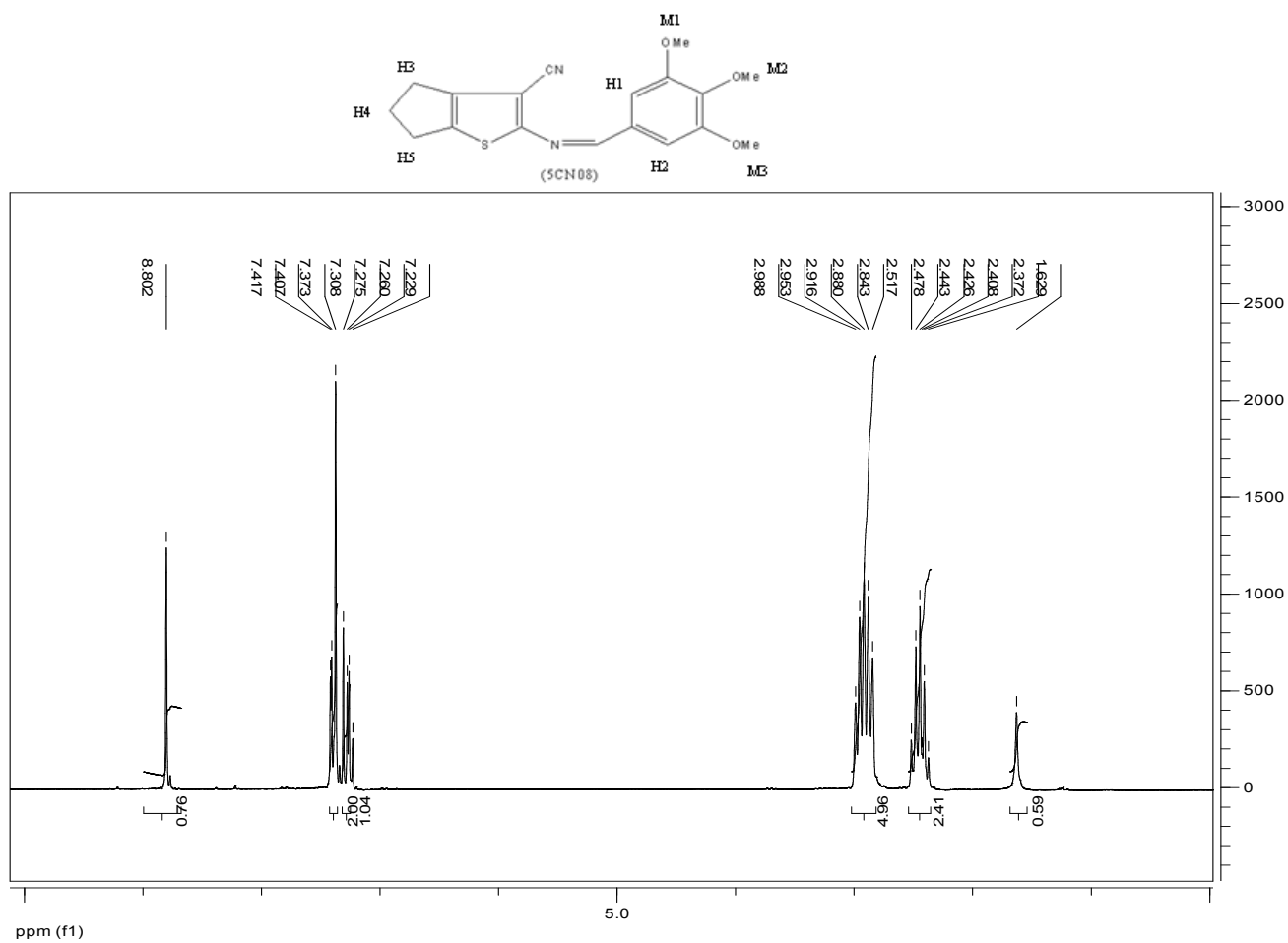


Figura 12. Espectro RMN ¹H do composto 5CN07

Tabela 4 – Dados dos espectros de IV.

COMPOSTO	IV (KBr) valores em cm^{-1}
5CN	3423 e 3328 (NH₂), 2194 (CN), 2917 e 2854 (CH)
5CN01	690 – 710 (Aromáticos), 2211 (CN), 2923 (CH)
5CN03	821 (CBr), 2194 (CN), 2917 (CH)
5CN04	770 (CCl em posição meta), 794 (CCl em posição orto), 2202 (CN), 3066 (CH)
5CN05	770 (CCl em posição meta), 820 (CCl em posição para), 2223 (CN), 2923 (CH)
5CN06	786 (CCl em posição orto), 821 (CCl em posição para), 2225 (CN), 2924 (CH)
5CN07	786 (CCl em posição orto), 2221 (CN), 2943 (CH)
5CN08	1002 (COMe em posição meta), 1126 (COMe em posição para), 1200 (COMe em posição meta), 2218 (CN), 2943 (CH)
5CN09	813 (CBr), 1169 (COMe em posição orto), 2214 (CN), 2924 (CH)
5CN10	1336 (NO₂), 2221 (CN), 2944 (CH)
5CN11	824 (CCl), 2226 (CN), 2853 (CH)
5CN12	1259 (OMe em posição meta), 2217 (CN), 2894 (CH)

As absorções características de infravermelho dos aromáticos monossustituídos ocorrem em 690-710 cm^{-1} (com intensidade muito forte), dos aromáticos orto-dissustituídos ocorrem em 730-770 cm^{-1} (com intensidade muito forte), 735-770 cm^{-1} (com intensidade forte) e 680- 725 cm^{-1} (com intensidade forte) e dos aromáticos para-dissustituídos ocorrem em 800-860 cm^{-1} (SOLOMONS; FRYHLE, 2005).

Para as nitrilas (CN), as absorções nesta região foi associada às vibrações de deformação axial das triplas ligações e ocorrem na faixa de frequência em 2220-2260 cm^{-1} (com intensidade média). Já para C-H alquila, a absorção nesta região é associada às vibrações de deformação axial nos átomos de hidrogênio ligados a carbono, ocorrem na faixa de frequência em 2853-2962 cm^{-1} (com intensidade de média a forte) (SOLOMONS; FRYHLE, 2005).

Tabela 5 – Dados dos espectros de RMN ¹H. (δ em ppm)

Comp.	OMe	CH=N	Aromáticos e substituintes	Ciclopentano
5CN01 ^{ac}	-	8,45 (1H, s)	7,91-7,96 (2H, m, J = 6,8Hz, H1, H5); 7,46 -7,94 (3H, m, J = 6,8Hz, H2-H4)	2,90 (4H, m, H6, H8) 2,39 - 2,50 (2H, m, H7)
5CN03 ^{ac}	-	8,35 (1H, s)	7,57 (2H, dd, J = 8,2; 2,0 Hz) 7,76 (2H, dd, J = 8,4; 1,8 Hz)	2,33 – 2,48 (2H, m, CH ₂) 2,80 – 2,94 (4H, m, CH ₂)
5CN05 ^{ac}	-	8,34 (1H, s)	7,52 (1H, d, J = 8,2 Hz, H1); 7,75 (1H, d, J = 8,2 Hz, H2); 7,98 (1H, s, H3);	2,83-2,97 (4H, m, H4,H6); 2,36 -2,51 (2H, m, H5);
5CN06 ^{ac}	-	8,78 (1H, s)	7,41 (1H, d, J = 2,0 Hz, H1); 8,26 (1H, d, J = 8,4 Hz, H2); 7,31 (1H, dd, J = 8,6, 2,0Hz, H3);	2,89 (4H, dt, J=7,2, 1,0Hz H4, H6); 2,35-2,49 (2H, m, H5);
5CN07 ^{ac}	-	8,80 (1H, s)	7,39 (2H, dd, J = 6,8; 2,0 Hz, H1, H3); 7,26 (1H, m, H2);	2,91 (4H, m, H4, H6); 2,37 – 2,51 (2H, m, H5);
5CN08 ^{bc}	3,83 (6H, s); 3,73 (3H, s);	8,58 (1H, s)	7,30 (2H, s, H1, H2);	2,84 (4H, m, H3, H5); 2,31 - 2,38 (2H, m, H4);
5CN09 ^{bc}	3,91 (3H, s)-	8,72 (1H, s)	8,01 (1H,d, j = 2,6 Hz, H1); 7,71 (1H, dd, J=9,0, 2,6Hz, H2); 7,16 (1H, d, J = 9,0Hz, H3);	2,75 -2,94 (4H, dt, J=7,0; 1,8 Hz, H4, H6) 2,28 – 2,42 (2H, m, H5);
5CN11 ^a	-	8,37 (1H, s)	7,40 (2H, d, J = 8,4 Hz) 7,83 (1H, d, J = 8,4 Hz)	2,41 (2H, dq, J = 7,2; 1,2 Hz) 2,87 (4H, dq, J = 6,8; 1,4 Hz)
5CN12 ^a	3,85 (3H, s)	8,35 (1H, s)	6,94 (2H, d, J = 8,8 Hz) 7,86 (2H, d, J = 8,8 Hz)	2,78 – 2,92 (4H, m, CH ₂) 2,35 – 2,46 (2H, m, CH ₂)

^a - CDCl₃, ^b - DMSO d-6, ^c - RMN 200 MHz

Segundo Silverstein (2000), a região situada entre δ 2,0 e 5,0 ppm é característica dos deslocamentos químicos de hidrogênios alifáticos, e todos os hidrogênios do anel ciclopentano dos compostos foram encontrados dentro dessa faixa (ou melhor entre 2 e 3 ppm). Todos os hidrogênio aromáticos, também foram encontrados em suas regiões específicas, entre δ 6,0 e 9,0 ppm.

A imina HC=N aparece como resultado da reação do NH₂ com o aldeído. Desta forma, após as substituições na posição 2-amino, as moléculas subsequentes apresentariam então esse pico característico. Como visto, todos os compostos finais apresentaram o pico na região δ

8,34 – 8,80 ppm. Sendo assim, o aparecimento deste sinal comprova que as substituições realmente aconteceram.

De acordo com os dados espectrais, podemos afirmar que os compostos obtidos através da síntese são de fato os compostos planejados previamente.

5.2. Parte Biológica

Foram realizados os testes de citotoxicidade em *Artemia salina* de forma a se permitir avaliar o potencial citotóxico desses novos derivados. Os resultados dos testes com os compostos da série 5CN encontram-se na Tabela 6

Dos doze compostos testados, cinco se mostraram atóxicos, enquanto sete se mostraram tóxicos. Pode-se constatar que os derivados clorados 5CN05, 5CN06, 5CN07, 5CN11 e o derivado 4-nitro (5CN10) por apresentarem $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, são todos atóxicos.

Tabela 6. Valores de CL_{50} dos compostos sintetizados.

Composto	Substituinte	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
5CN	-	111,3
5CN01	H	30,57
5CN03	4-Br	5,99
5CN04	2,3-Cl	0,42
5CN05	3,4-Cl	>1000
5CN06	2,4-Cl	>1000
5CN07	2,6-Cl	>1000
5CN08	3,4,5-OCH ₃	142,19
5CN09	5-Br,2-OCH ₃	66,46
5CN10	4-NO ₂	>1000
5CN11	4-Cl	>1000
5CN12	4-OCH ₃	165,12

O único derivado que possui átomos de cloro em sua estrutura e que se mostrou tóxico foi o 5CN04, com valor de CL_{50} igual a 0,42 $\mu\text{g/mL}$, sendo, portanto o composto mais tóxico da série, seguido pelo derivado 4-bromo substituído (5CN03) com $CL_{50} = 5,99 \mu\text{g/mL}$ e o derivado não substituído 5CN01 com CL_{50} de 30,57 $\mu\text{g/mL}$.

Seguindo este padrão, pode-se observar que o 5CN09, por apresentar átomo de Bromo também se mostrou bastante tóxico com $CL_{50} = 66,46 \mu\text{g/mL}$, seguido pelo 5CN com $CL_{50} = 111,3 \mu\text{g/mL}$, o 5CN08 com $CL_{50} = 142,19 \mu\text{g/mL}$ e por último o 5CN12 com $CL_{50} = 165,12 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 7).

Tabela 7. Ordem de toxicidade dos compostos e seus substituintes

Composto	Substituinte	CL₅₀ (µg/mL)
5CN04	2,3-Cl	0,42
5CN03	4-Br	5,99
5CN01	H	30,57
5CN09	5-Br,2-OCH ₃	66,46
5CN	-	111,3
5CN08	3,4,5-OCH ₃	142,19
5CN12	4-OCH ₃	165,12
5CN05	3,4-Cl	>1000
5CN06	2,4-Cl	>1000
5CN07	2,6-Cl	>1000
5CN10	4-NO ₂	>1000
5CN11	4-Cl	>1000

6. CONCLUSÕES

Doze compostos foram sintetizados em excelentes rendimentos (63-99%), demonstrando a viabilidade sintética e a boa adequação da metodologia de síntese. Outra grande vantagem dessa rota escolhida, se dá ao fato da facilidade e rapidez de purificação (tanto do produto de partida, quanto dos produtos finais), visto que não se foi necessário fazer uso de técnicas como cromatografia em coluna, por exemplo, sendo necessários exclusivamente operações de cristalização, precipitação e lavagens com solventes adequados (geralmente água destilada).

Os compostos foram obtidos sob forma de cristais amarelos amorfos em elevado grau de pureza. Comprovado pelas estreitas faixas de fusão (oscilaram +/- 3°C) e pela clareza dos espectros de RMN ¹H e I.V., que serviram para confirmar as estruturas inicialmente propostas.

Os bioensaios realizados com *Artemia salina* demonstraram uma boa viabilidade da metodologia e mostraram-se eficazes para avaliação de citotoxicidade dos compostos. As moléculas testadas apresentaram uma toxicidade de moderada a forte, o que pode ser considerado.

Dos compostos testados, cinco se mostraram atóxicos, enquanto sete se mostraram tóxicos, determinando que a maioria da série constitui-se de compostos tóxicos. Os compostos mais tóxicos, foram o 5CN04 e 5CN03 com CL₅₀ de 0,42 µg/mL e 5,99 µg/mL, respectivamente. Enquanto que os compostos 5CN05, 5CN06, 5CN07, 5CN10 e 5CN11 mostraram-se atóxicos com CL₅₀ superior a 1000 µg/mL.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A.T.; MONTANARI, C.A. Química Medicinal: 25 anos de planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 25 (6b), pp. 39-44, 2002.

ARAÚJO, Rodrigo Santos Aquino de. **Obtenção e Avaliação ea Atividade Antifúngica de Derivados Sintéticos do Tiofeno**. 2010. 73 f. Monografia (Graduação) - Uepb, João Pessoa, 2010.

BALDWIN, J.J.; HABECKER, C.M.; GRAHAM, S.L.; HALCZENKO, W.; HARTMAN, G.D.; SCHWAN, H.; PONTICELLO, G.S.; SHAPARD, K.L. Thiophene sulfonamide antiglaucoma agents. **US Patent** n° 4,847,289; 11 de julho de 1989.

BARBIERI, Edison. Emprego de Poecilia Vivipara (Cyprinodontiformes) e Artemia Salina (Crustacea) para Determinar a Toxicidade Aguda da Água de Produção de Petróleo em Sergipe, Brasil. **Biologia Geral e Experimental**, Sergipe, Brasil, v. 05, n. 01, p.26-29, jun. 2004.

BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B. e SOUZA, I. Teste de toxicidade de cobre para Artemia salina. **Poluição e ecotoxicologia marinha**. Brasil, Nov. 2003.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal - As bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, Porto Alegre, Editora Artmed, 2001.

BERGE, J.; JARVEST, R. ; FRYDRYCH, C.S.V. ;GUILLES, J. ; QIU, J. ; TARASOW, M.T.; BONINI, C.; CHIUMMIENTO, L.; DE BONIS, M.; FUNICELLO, M.. LUPATTELLI, P. COTTRELL, D. M.; CAPERS, J.; SALEM, M. M.; DELUCA-FRADLEY, K.; CROFT, S. L.; WERBOVETZ, K.A. Antikinetoplastid activity of 3-aryl-5-thiocyanatomethyl-1,2,4-oxadiazoles. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 12, n. 11, pp. 2815-2824, 2006

BONINI, C.; CHIUMMIENTO, L.; DE BONIS, M.; FUNICELLO, M.; LUPATTELLI, P. Synthesis of a first thiophene containing analog of the HIV protease inhibitor nelfinavir. **Tetrahedron Letters**, v. 45, pp. 2797-9, 2004.

CALLIGARO, D.O.; FAIRHURST, J.; HOTTEN, T.M.; MOORE, N.A.; TUPPER, D.E. The Synthesis And Biological Activity Of Some Known And Putative Metabolites Of The Atypical Antipsychotic Agent Olanzapine (Ly170053). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 7, n. 1, pp. 25-30, 1997.

CAVALCANTE, M. F., OLIVEIRA, M. C. C. e VELANDIA, J. R. e ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-Triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, **Química nova**, v. 23, p. 20-22, 2000.

CHAKRABARTI, J.K. et al. 4-Piperazinyl-10*H*-thieno[2,3*b*][1,5]benzodiazepines as Potential Neuroleptics. **J. Med. Chem.** v. 23, pp. 878-884, 1980.

CHAKRABARTI, J.K.; HOTTEN, T.M.; TUPPER, D.E. 2-Methyl-thieno-benzodiazepine. **US Patent** n° 5,229,382; 20 de julho de 1993.

CHAUHAN, S.; RAHMAN, A.; NILSSON, H.; CLAPP, L.; MACALLISTER, R.; AHLUWALIA, A. NO contributes to EDHF-like responses in rat small arterie: a role for NO stores. **Cardiovascular Research**, v.57, pp.207-216, 2003.

CORREIA, C.R.D.; COSTA, P.R.R.; FERREIRA, V.F. Vinte e cinco anos de reações, estratégias e metodologias em química orgânica. **Química Nova**, v. 25 (6b), pp 82-89, 2002.

DALLEMAGNE, P.; KHANH, L.P.; ALSAIDI, A.; VARLET, I.; COLLOT, V.; PAILLET, M.; BUREAU, R.; RAULT, S. Synthesis and Biological Evaluation pf Five-Membered Heterocycles Fused to Cyclopenta[*c*]thiophene as New Antitumor Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 11, pp. 1161-1167, 2003.

DANTANARAYANA, A.P.; DEAN, T.R.; MAY, J.A. Thiophene sulfonamides useful as carbonic anhydrase inhibitors. **US Patent** n° 5,646,142; 8 de julho de 1997.

DURETTE, P.L.; WITZEL, B.E.; RUPPRECHT, K.L.; TISCHLER, A.L.; GALLAGHER, T.F. Anti-inflammatory and analgesic 3-hydroxybenzo(*b*)thiophene derivatives, compositions, and method of use therefor. **US Patent** n° 4,663,344; 5 de maio de 1987.

EDWARDS, L.H. Fungicidal 2-(N-haloalkylthiosulfonamido)-thiophenes. **US Patent** n° 3,991,081; 9 de novembro de 1976.

ELBE, H.-D.; ASSMANN, L.; TIEMANN, R.; ECKER, U.; HÄNSSLER, G.; DEHNE, H.-W. Microbicidal compositions based on dibromo-thiophene-carboxylic acid derivatives **US Patent** n° 5,789,437; 4 agosto de 1998.

EURKART, S.E.; PHILLIPS, R.B.; ROUSH, D.M. 2-Substituted ethynyl thiophene pesticides, **US Patent** n° 4,826,829; 2 de maio de 1989.

FARIAS, Daniel Camillo Collier; IMADA, Luiz Fernando Yukio; KATAYAMA, Lucas. ANÁLISE DO EFEITO DE TOXICIDADE DO CHORUME UTILIZANDO ARTEMIA SALINA. **Revista Ciências do Ambiente On-line**, Brasil, v. 6, n. 1, pp. 83-85, 2010.

FERREIRA, V.F.; BARREIRO, E.J.; COSTA, P.R.R. Substâncias Enantiomericamente Puras (SEP): A Questão dos Fármacos Quirais. **Química Nova**, v. 20, p. 647-656, 1997.

FINNEY, D.J. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, 1971.

GEWALD, K. 2-Amiono-thiophene aus α -oxo-mercaptanen und methylenaktiven nitrilen. **Chem. Ber.**, v. 98, p. 3571-7, 1965.

GEWALD, K.; SCHINKE, E.; BOTTCHER, H. 2-Amiono-thiophene aus methylenaktiven nitrilen, Carbonylverbindungen und schwefel. **Chem. Ber.**, v. 99, p. 94-100, 1966.

GUIDO, Rafael V. C.; ANDRICOPULO, Adriano D.; OLIVA, Glaucius. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, 2010 .

HARRINGTON, J.K.; MOORE, G.L.; GERSTER, J.F. Thiophene derivatives, **US Patent** n° 3,696,122; 3 de outubro, 1972.

HIROTA, Y.; SHINHANA, K.; SATO, K.; WADA, T. Thiophene derivatives, **US Patent** n° 4,454,131; 12 de junho de 1984.

Extraído de: <http://androssanez.blogspot.com/2009/09/arthropoda-3.html> em 15 de maio de 2011.

LIMA, Lídia M.. Química Medicinal Moderna: desafios e contribuição brasileira. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, pp. 1456-1468 2007 .

LIMA, B.; AGÜERO, M. B.; ZYGADLO, J.; TAPIA, A.; SOLIS, C.; DE ARIAS, A. R.; YALUFF G.; ZACCHINO, S.; FERESIN, G. E.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Antimicrobial activity of extracts, essential oil and metabolites obtained from *Tagetes mendocina*. **Journal of the Chilean Chemical Society**. v. 54, n. 1, pp. 68-72, 2009.

MATSUO, M.; TSUJI, K.; KONISHI, N.; NAKAMURA, K. Thiophene derivatives, **US Patent** n° 5,571,810; 5 de novembro de 1996.

MENG, Q.; SLASSI, A.. RAKHIT, S. Thiophene-Tryptamine derivatives, **US Patent** n° 5,770,742; 1998.

MEYER, B. N. ; Ferrigni N. R.; Putnam J. E.; Jacobsen L. B.; Nichols. D.E.; McLaughlin J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**. v. 45, pp. 31-34, 1982.

MONTANARI, C.A. Química Medicinal: contribuição e Perspectiva no desenvolvimento da Farmacoterapia. **Química Nova**, v. 18, n. 1, pp. 56-64, 1995.

NAGAI, S.; YORIE, T.; SUGIURA, H.; HIBI, T.; SATO, K.; WADA, T.; MIYAHARA, M.; Thiophene Derivatives, **US Patent** n° 4,421,761; 20 de dezembro de 1983.

NAIR, M.G.; ABRAHAM, A. Thiophene substituutes antitumor antifolates **US Patent** n° 5,260,296; 9 de novembro de 1993.

NAVARRO, M. ; SENA, V. L. M. de ; SRIVASTAVA, R. M. ; NAVARRO, D. M. A. F. Atualizando a química orgânica experimental da licenciatura. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 6, pp. 1111-1115, 2005.

NUNES, X. P. et al. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Rev. bras. farmacogn.** v. 18, pp. 718-723, 2008.

PINTO, E.; QUEIROZ, M-J. R. P.; VALE-SILVA, L. A.; OLIVEIRA, J. F., BEGOUIN, A., BEGOUIN, J-M.; KIRSCH, G. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry.** v. 16, pp. 8172-8177, 2008.

RAM, V. J.; GOEL, A.; SHUKLA, P. K.; KAPIL, A. Synthesis of thiophenes and thieno[3,2-*c*]pyran-4-ones as antileishmanial and antifungal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.** v. 7, n. 24, pp. 3101-3106, 1997.

SANDMEIER, R.; SECKINGER, K. Thiophene Derivatives, **US Patent** n° 4,472,425; 18 de setembro de 1984.

SHAPIRO, R. Thiophene or Furan Herbicides, **US Patent** n° 4,441,910; 10 de abril de 1984.

SHAPIRO, R. Thiophene or furan herbicides, **US Patent** n° 4,547,217; 15 de outubro de 1985.

SHAPIRO, R. Thiophene or Furan Herbicides, **US Patent** n° 4,639, 265; 27 de janeiro de 1987.

SILVERSTEIN, Robert M; WEBSTER, Francis X.. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000, 460 p.

SIQUEIRA, Geonir M. et al . Aplicação de α -oxoceteno ditiocetais em síntese orgânica. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, pp. 707-715, 2010.

SOLOMONS; FRYHLE. **Química Orgânica.** 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

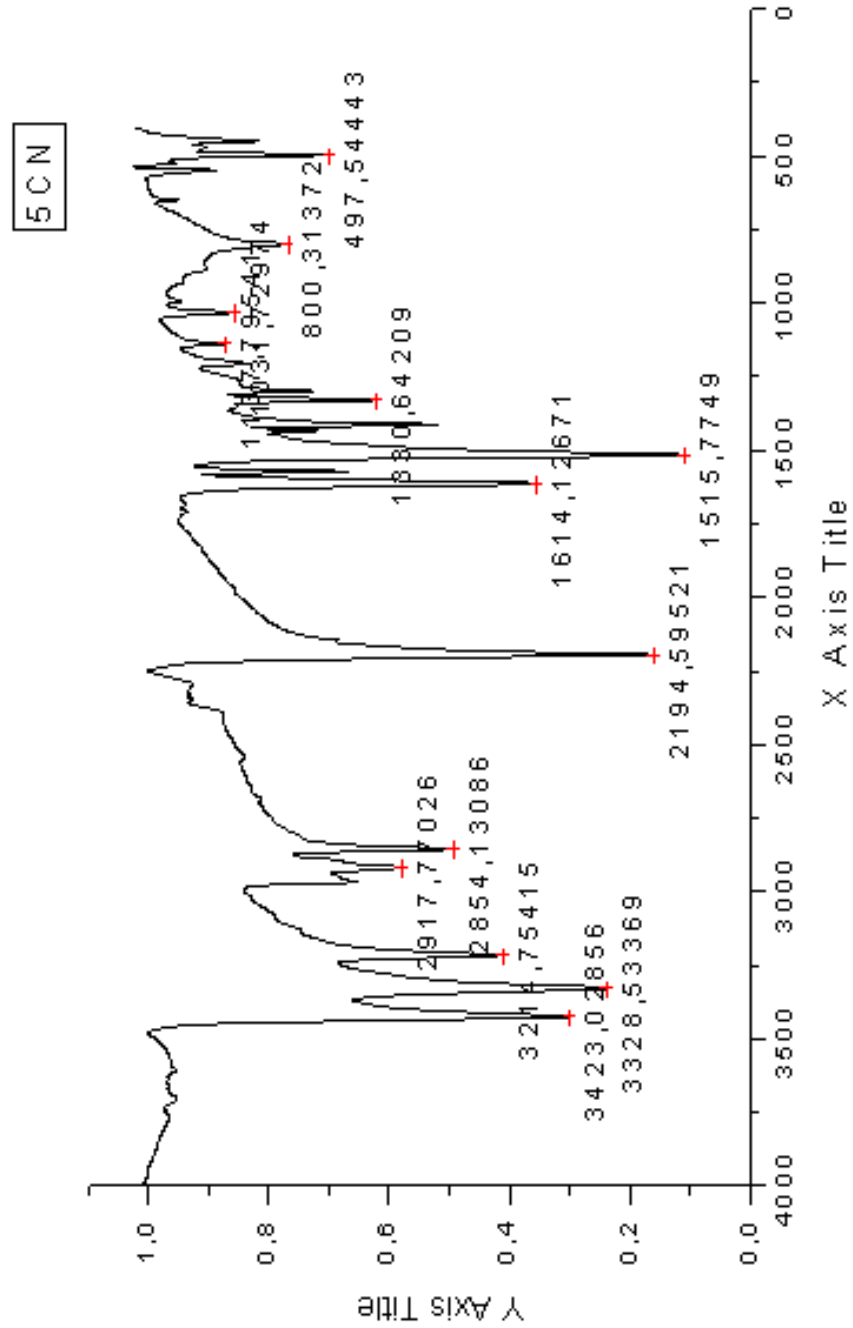
SRIDHAR, M.; RAO, R. M.; BABA, N. H. K.; KUMBHARE R.M. Microwave accelerated Gewald reaction: synthesis of 2-aminothiophenes. **Tetrahedron Letters**. v. 48, pp.171–3172, 2007.

TALLEY, J.J.; BERTENSHAW, S.R.; COLLINS, P.W.; PENNING, T.D.; REITZ, D.B.; ROGERS, R.S. 3,4-Diaril thiophenes and analogs thereof having use as anti-inflammatory agents. **US Patent** n° 7,030,153 B2; 18 de abril de 2006.

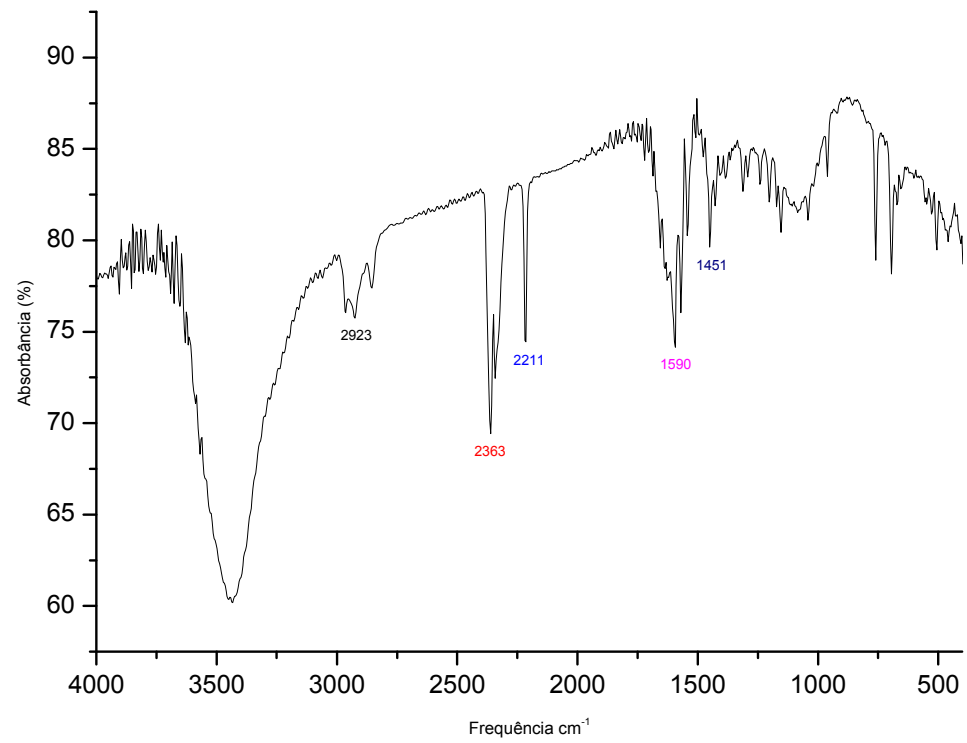
WANG, C. Y.; MURAOKA, K.; BRYAN, G. T. Mutagenicity of nitrofurans, nitrothiophenes, nitropyrroles, nitroimidazole, aminothiophenes, and aminothiazoles in *Salmonella typhimurium*. **Cancer research**. v. 35, pp. 3611-3617, 1975.

ANEXO 1

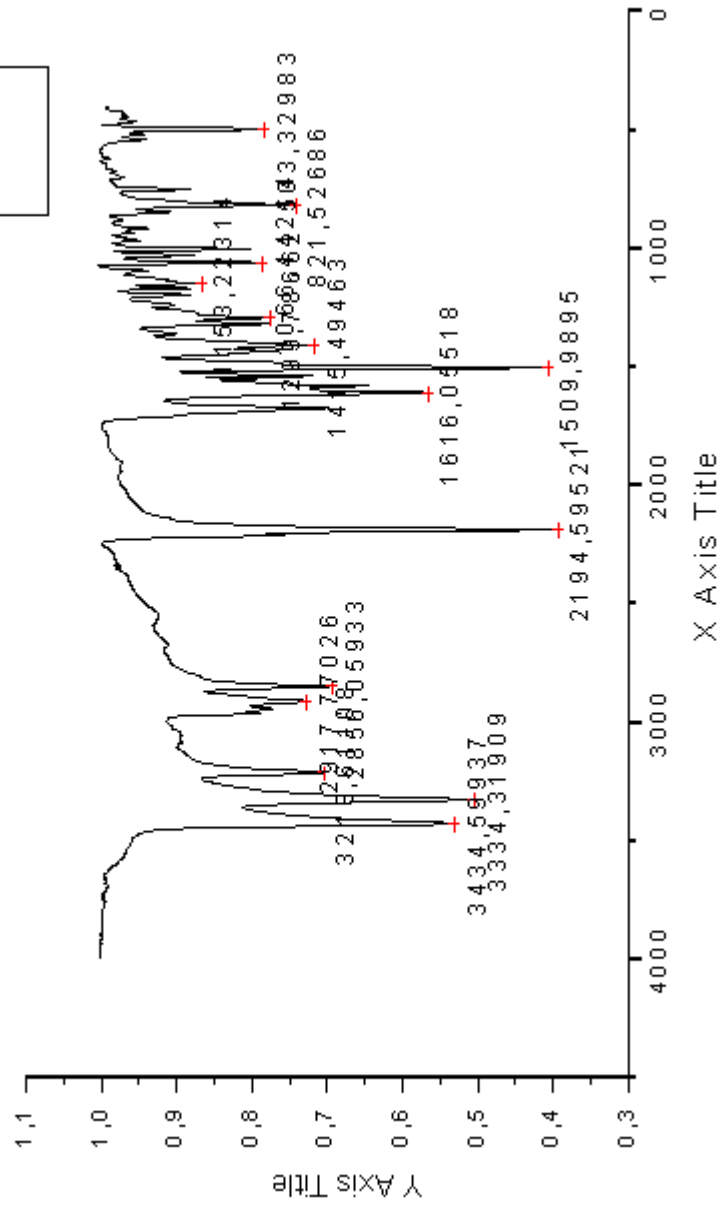
Anexo A - Espectros de Infravermelho



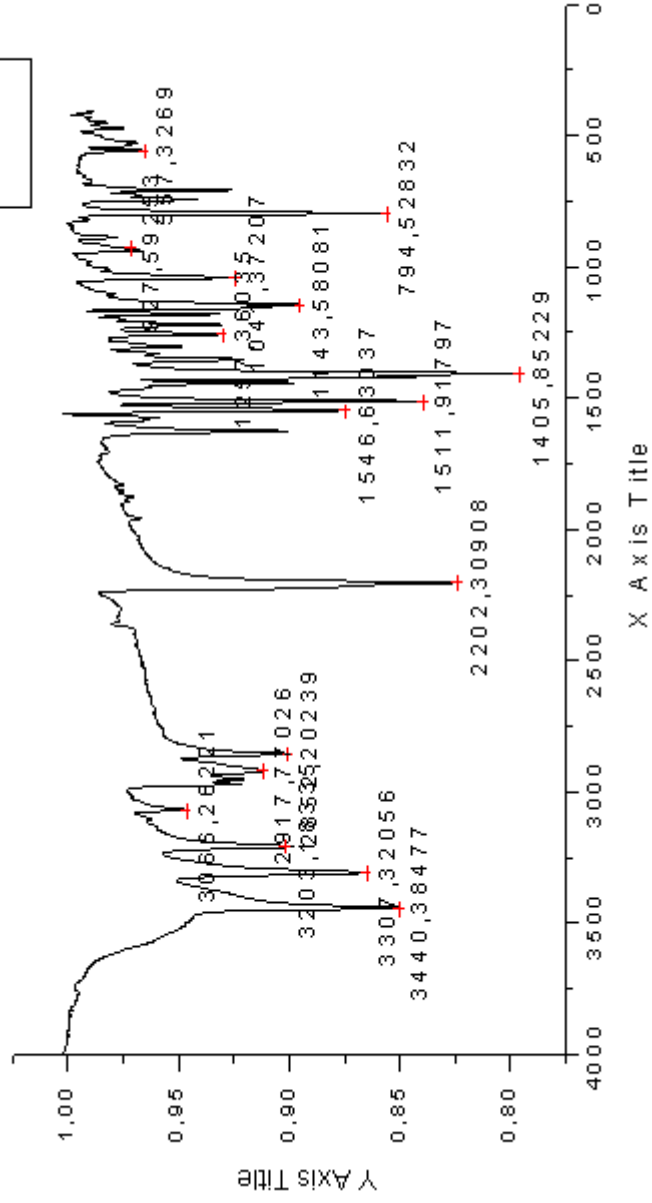
5CN01



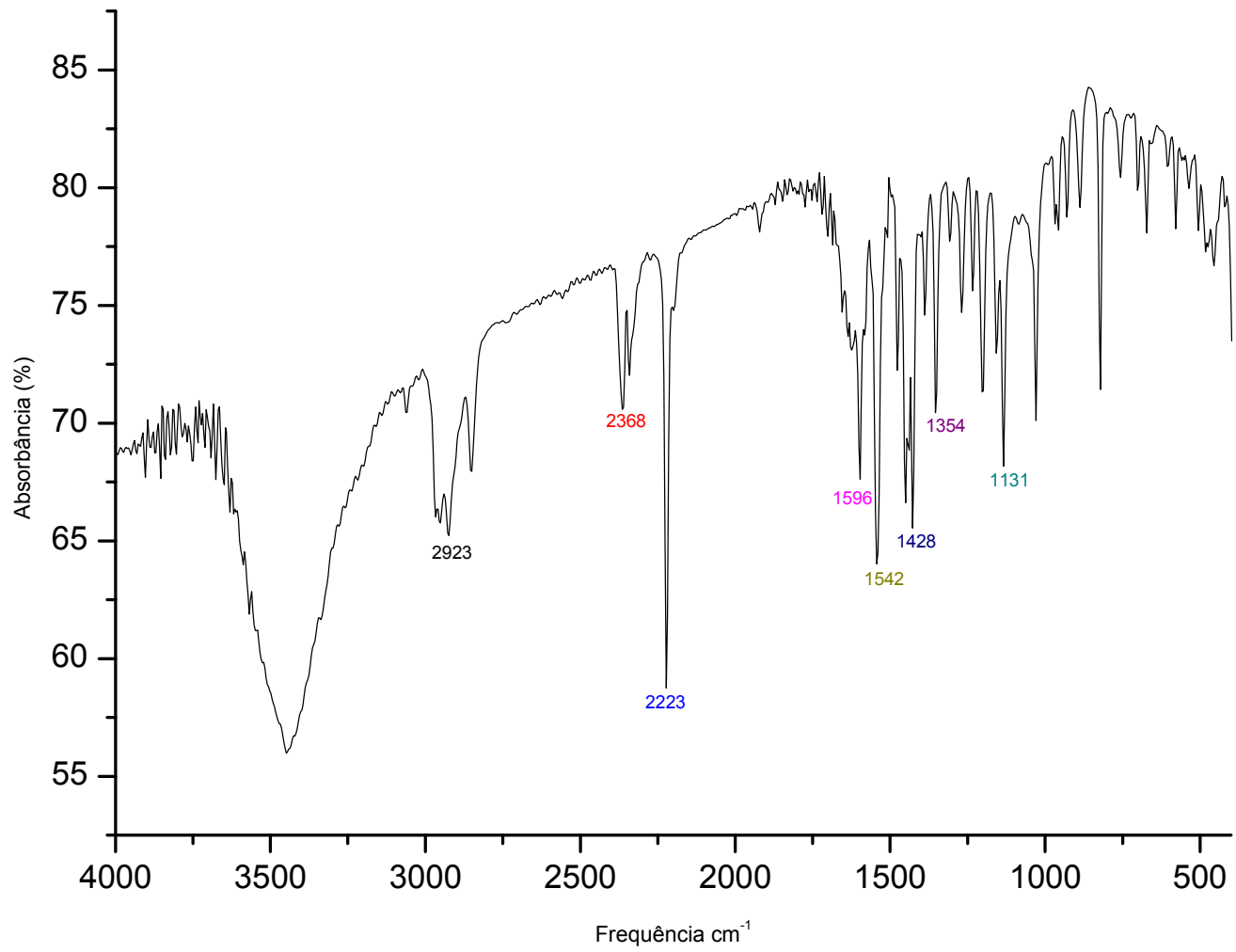
5CN03



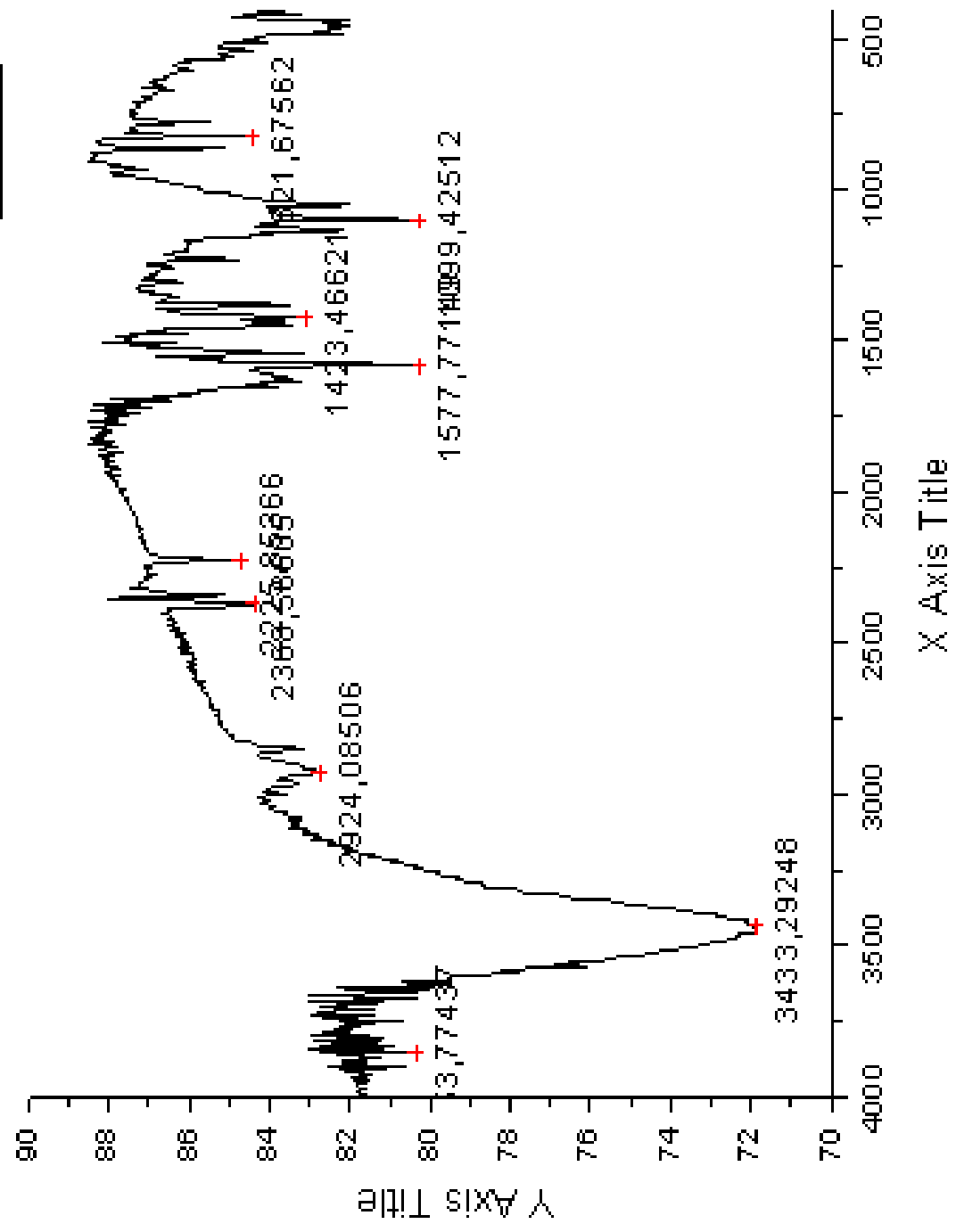
5CN04



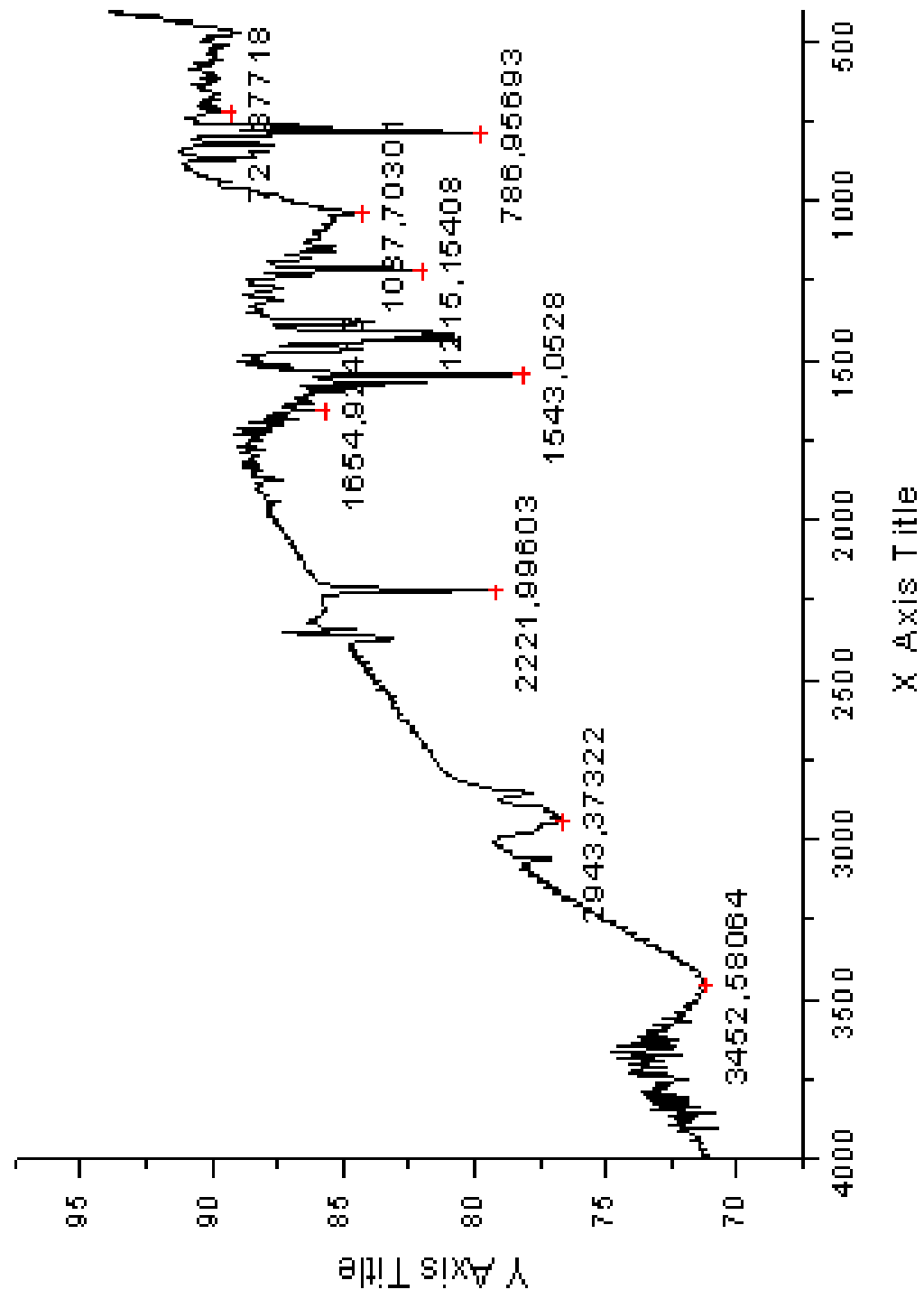
5CN05



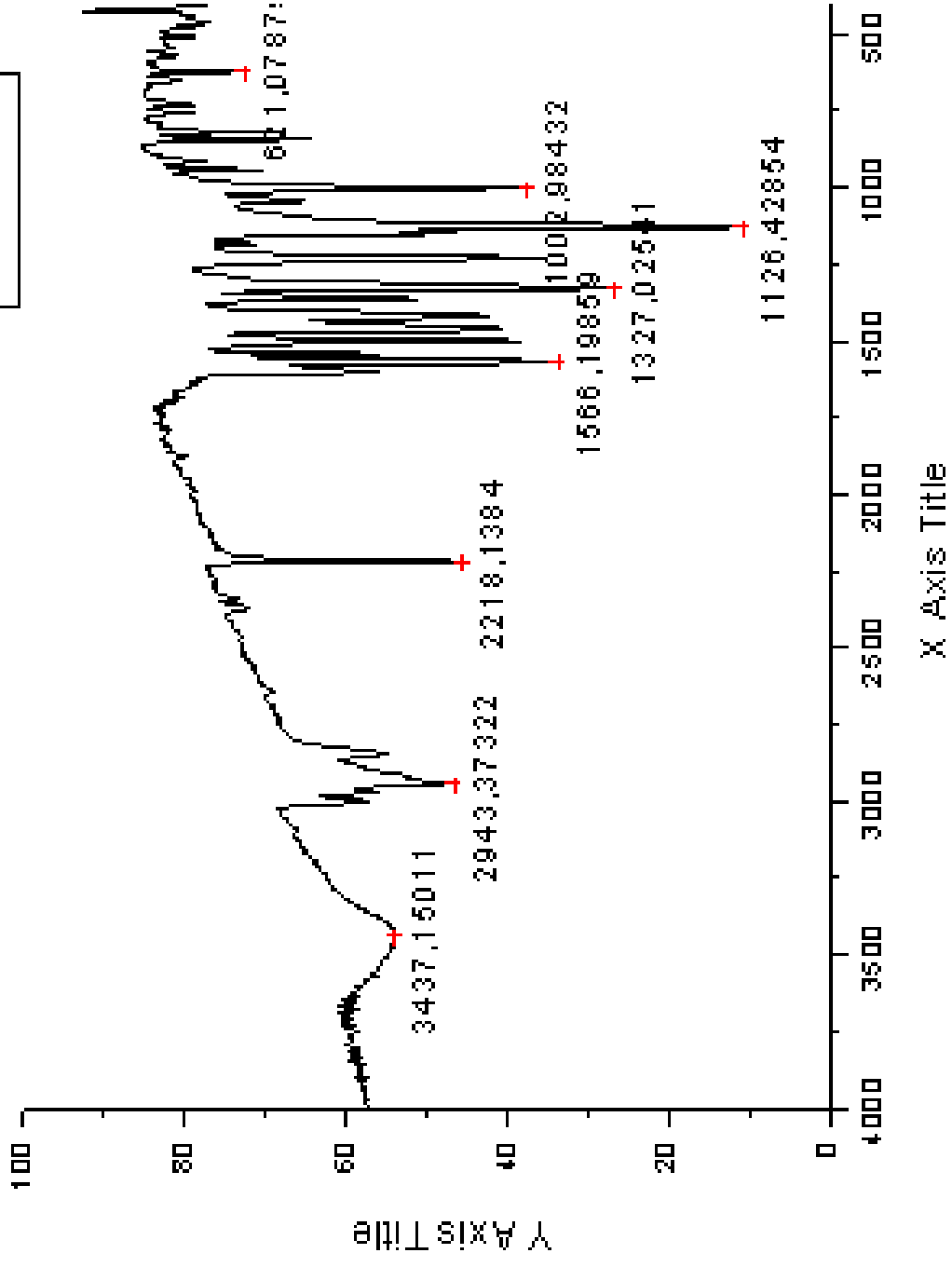
5CND06



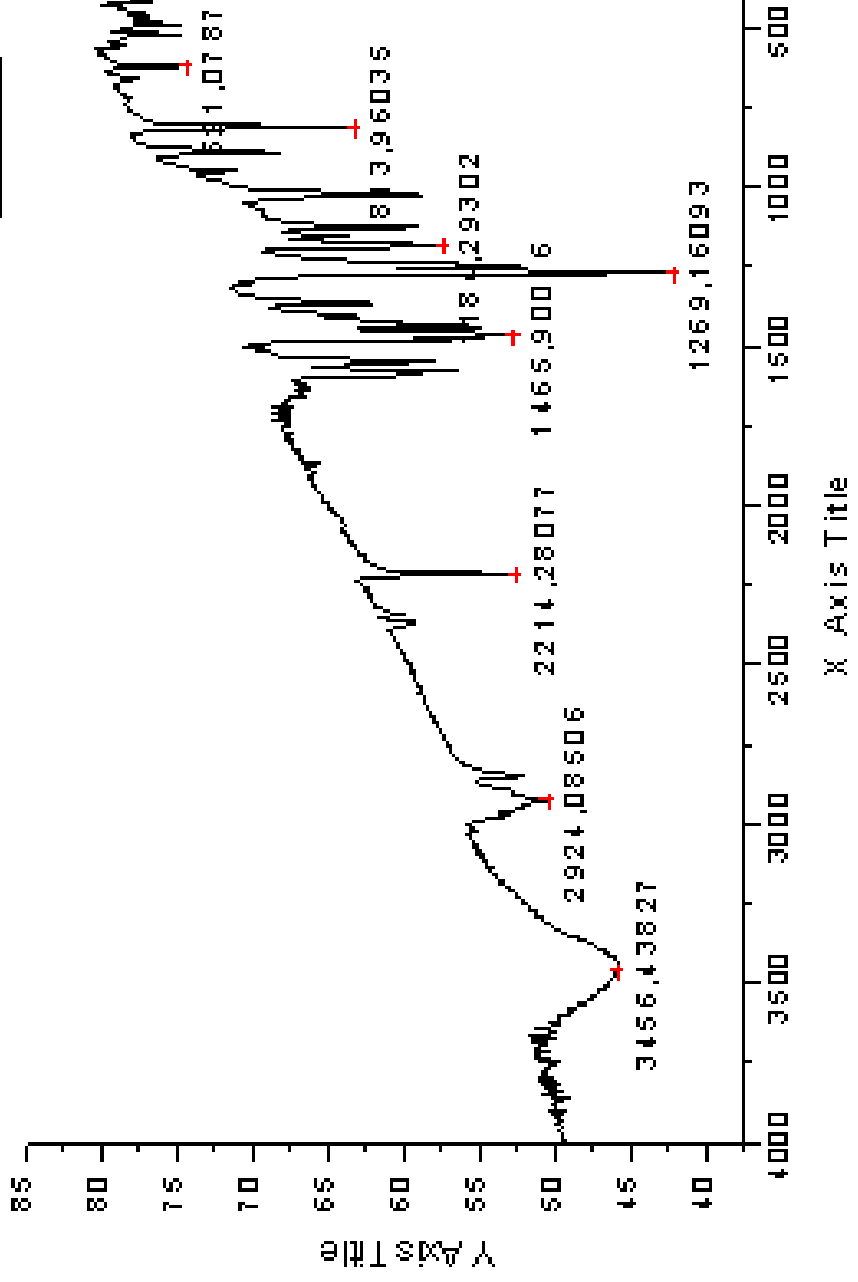
5CN07



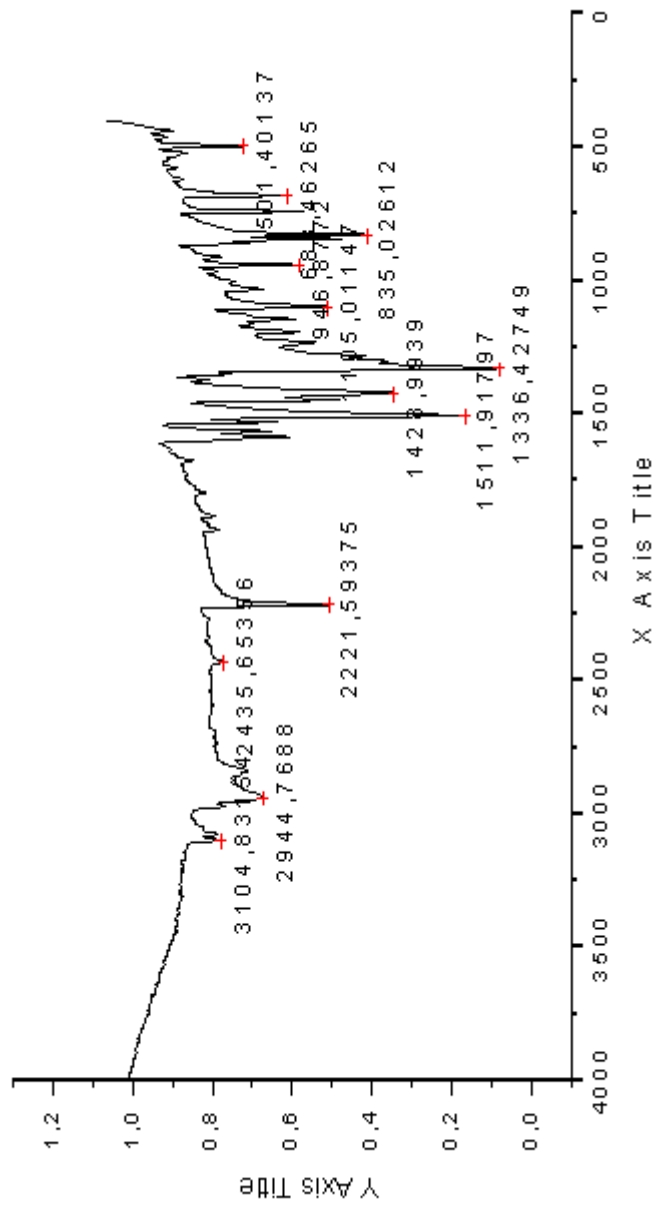
5CN08

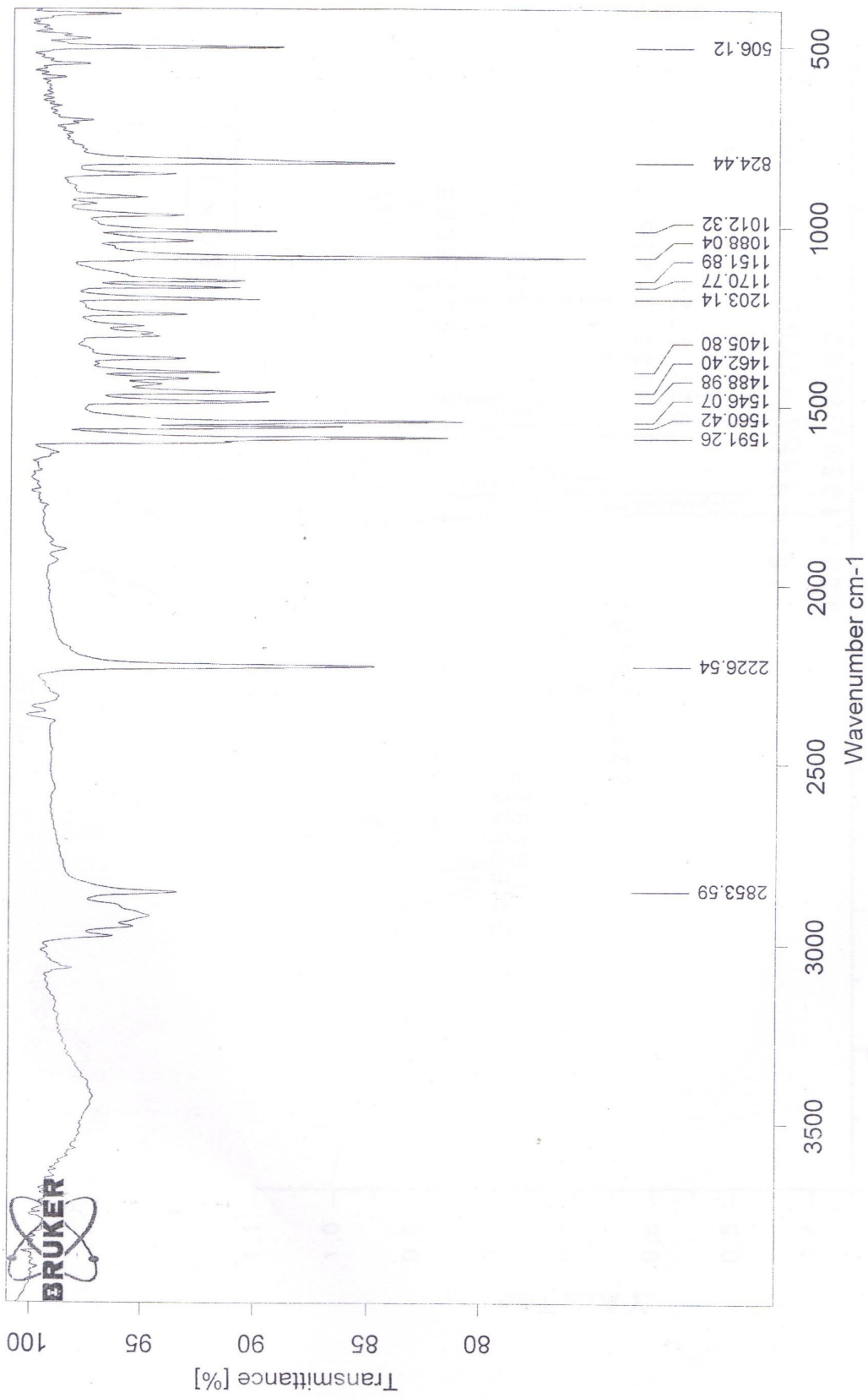


5C N09



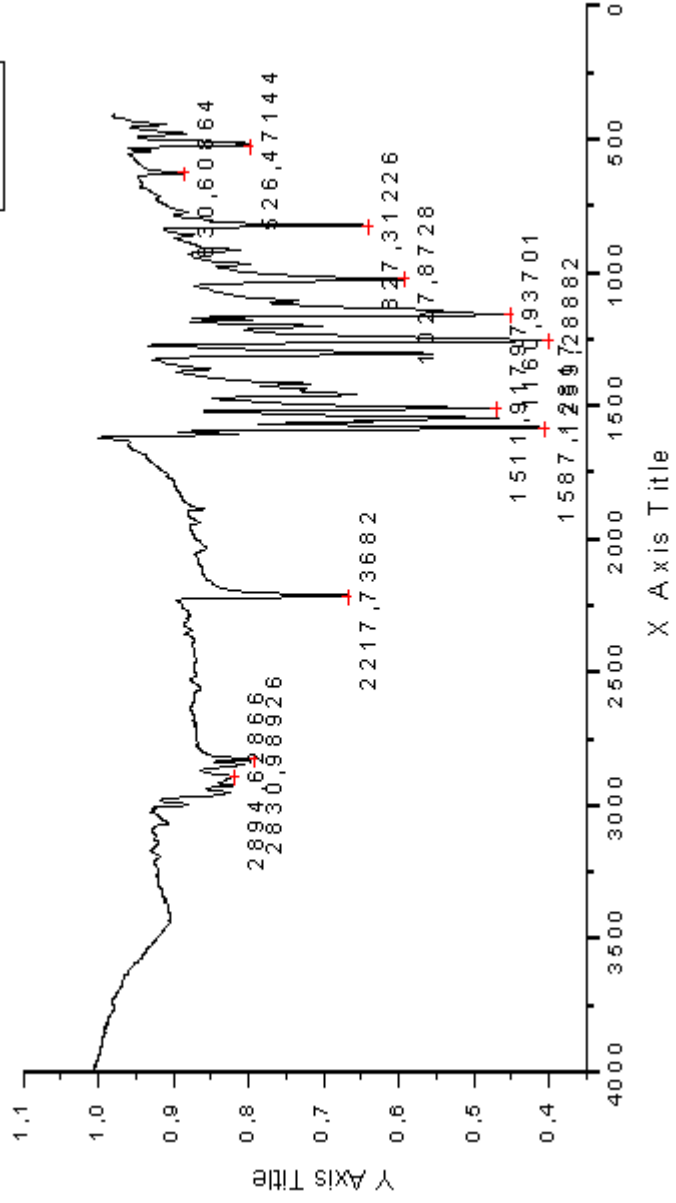
5CN10



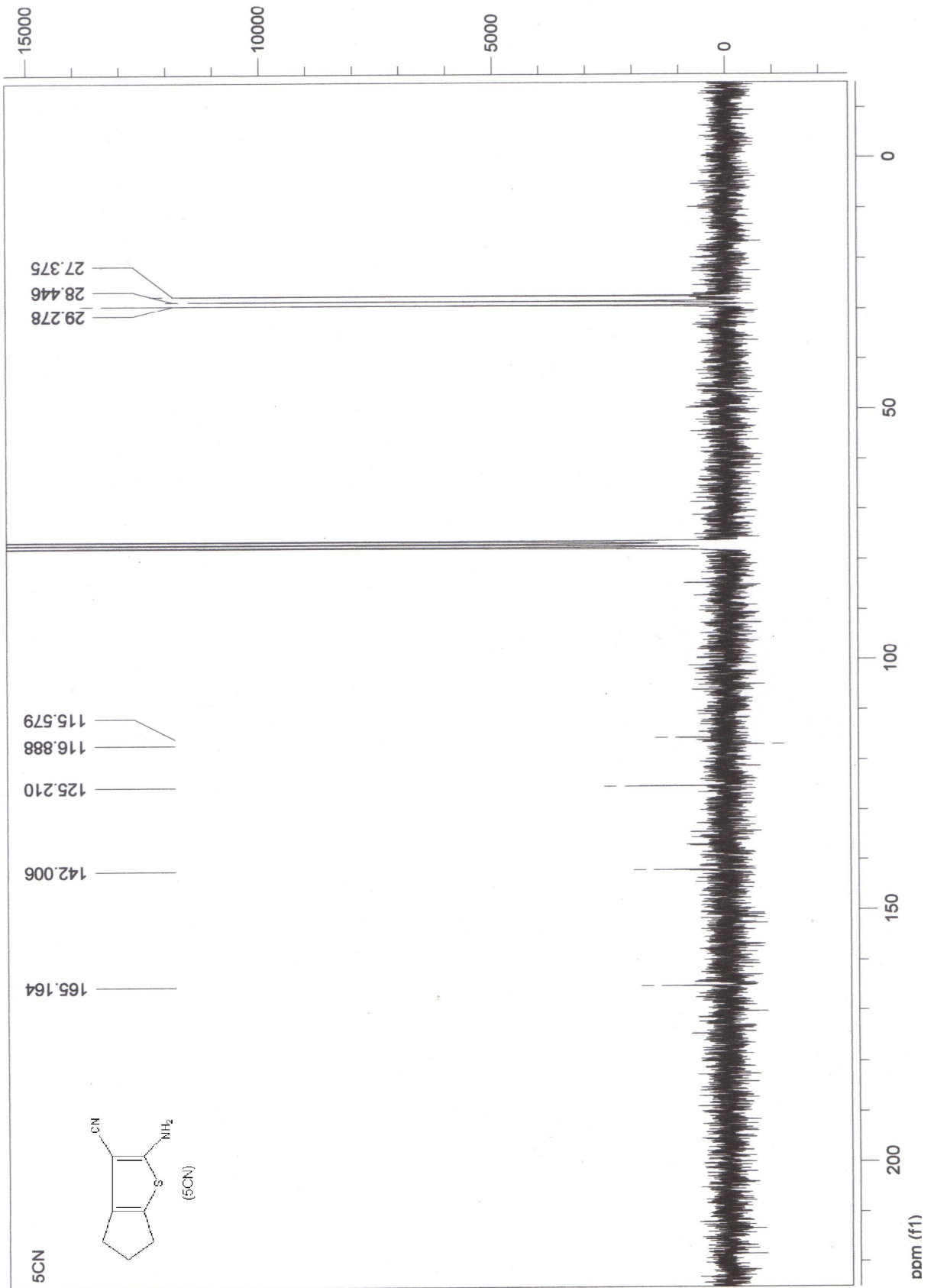


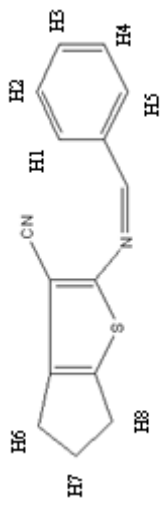
C:\Program Files\OPUS_65\Meas\FEV11\09\U0208-10.0	5CN11\Francisco Jaime/Ivan Pitta	Pastilha de KBr	2/9/2011
---	----------------------------------	-----------------	----------

5CN12

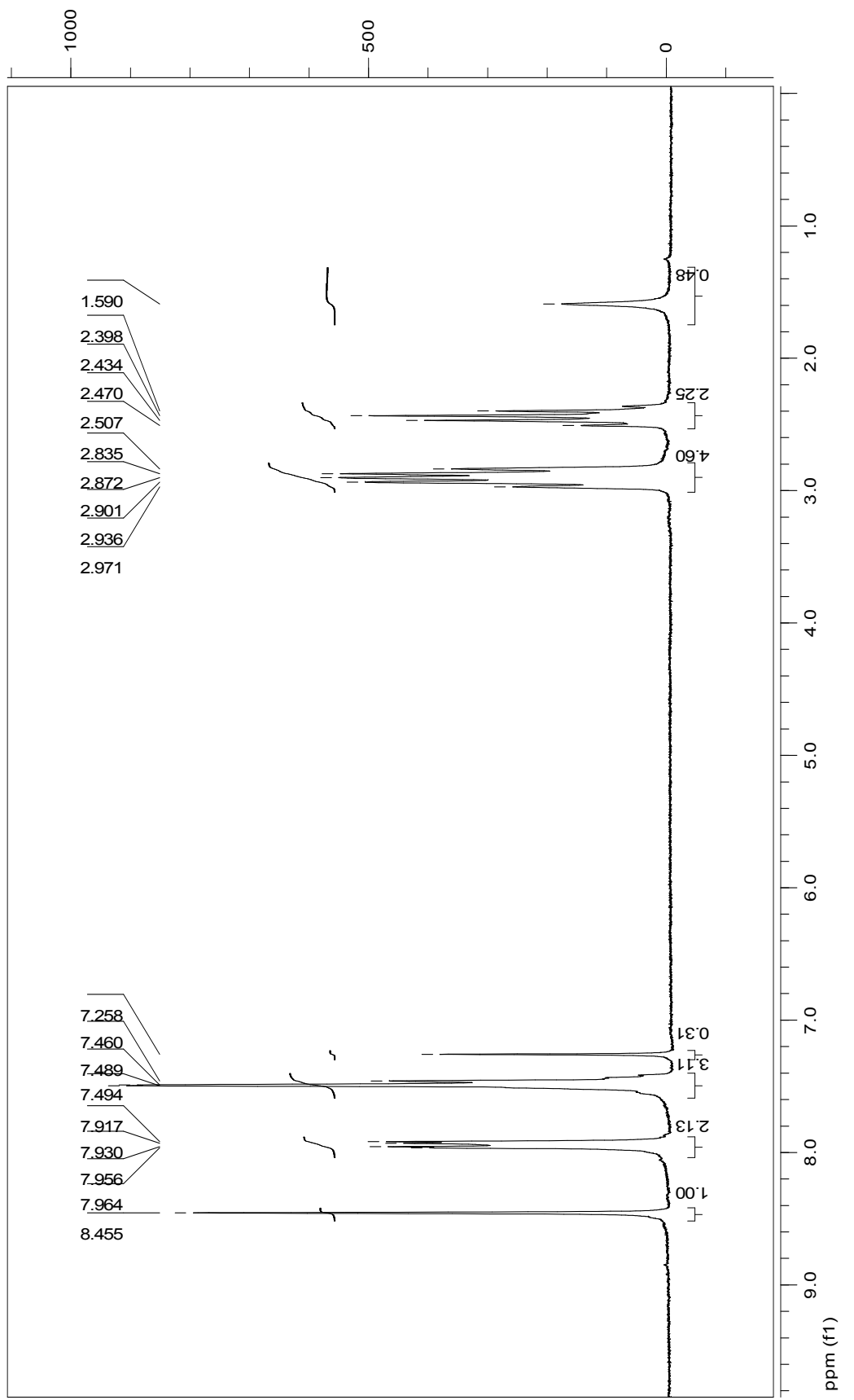


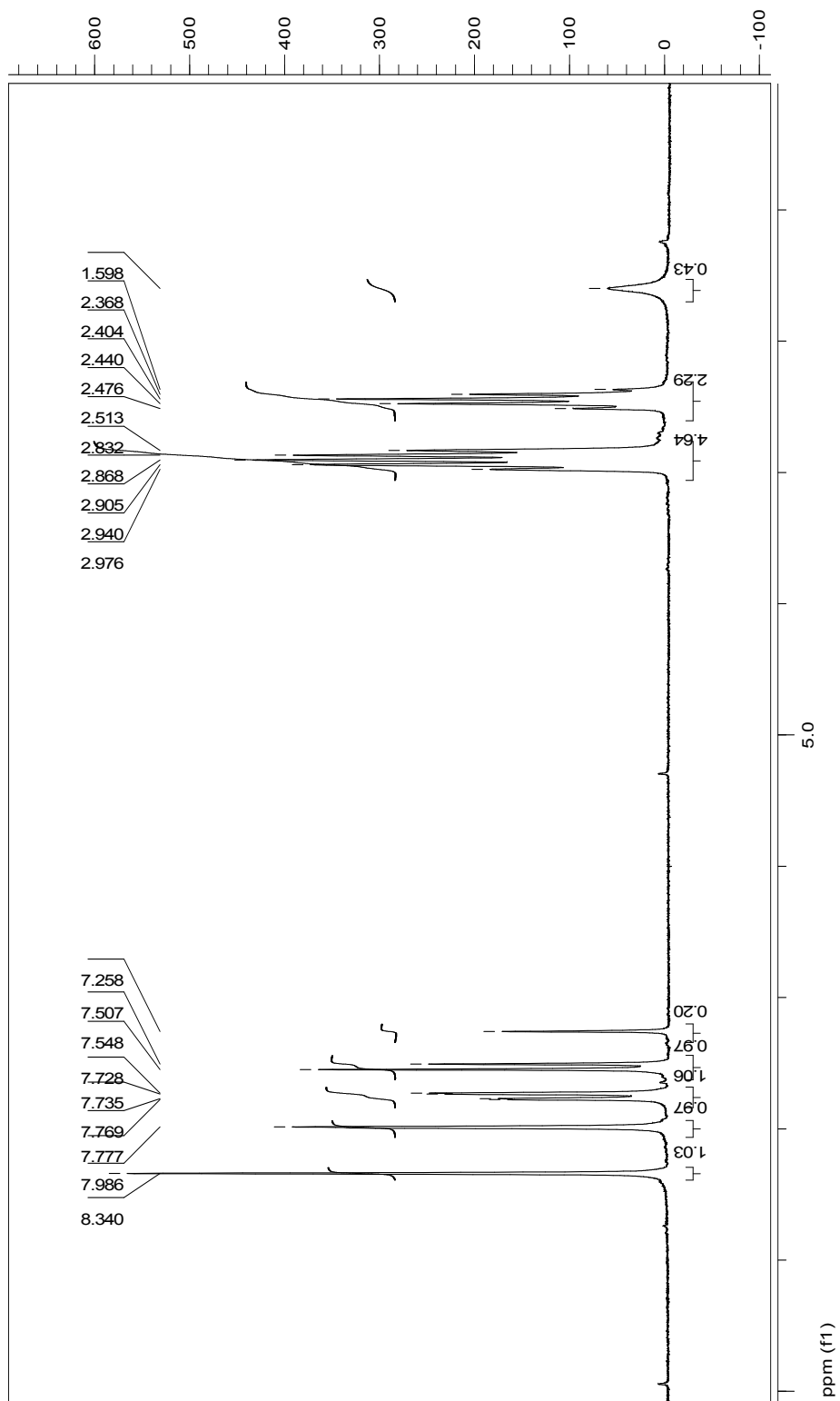
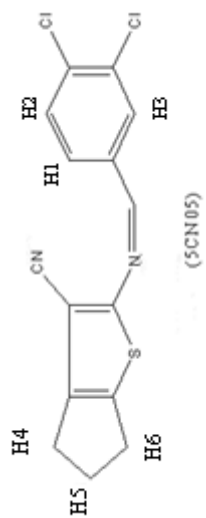
ANEXO 2
ESPECTROS DE RMN

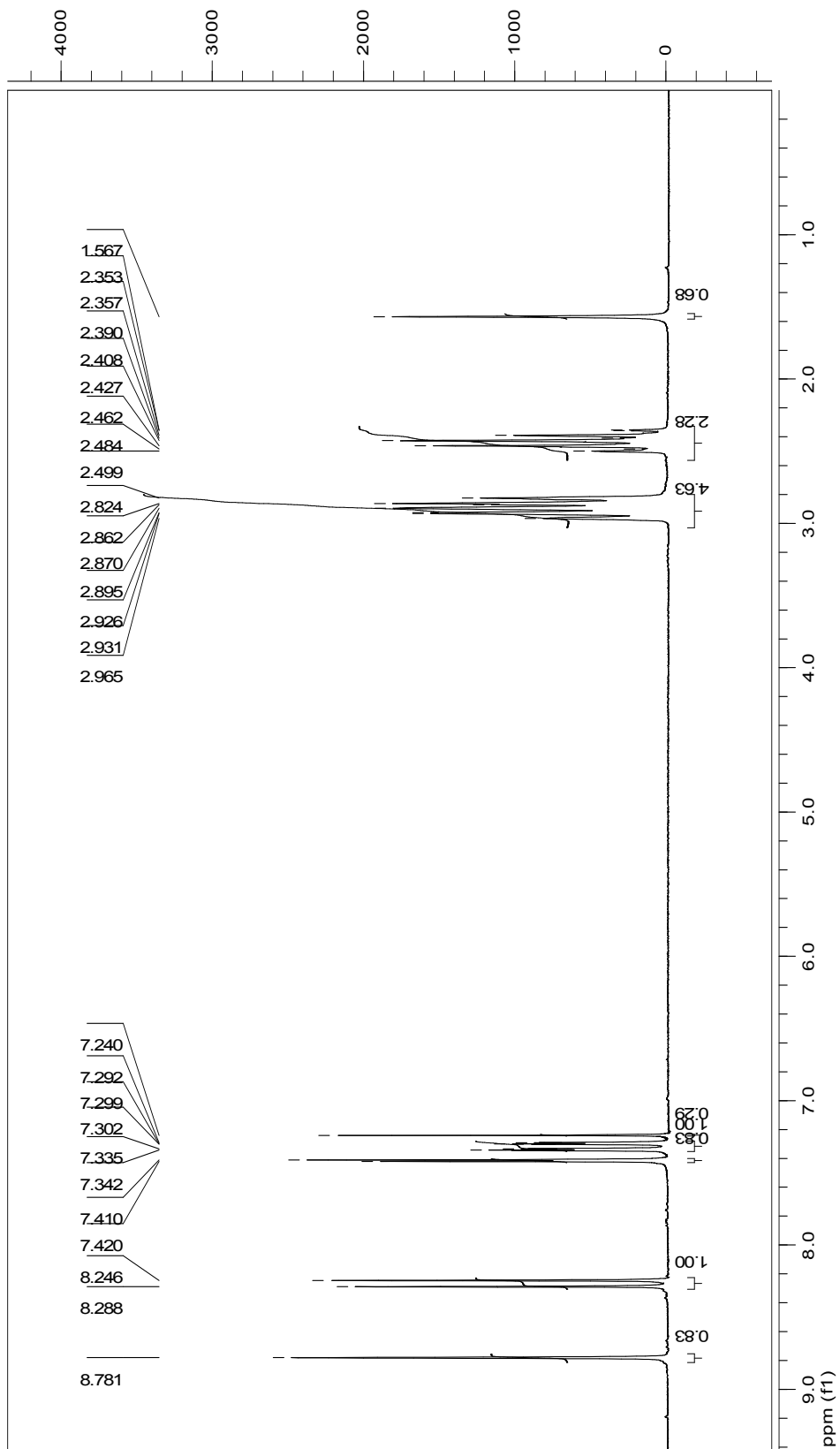
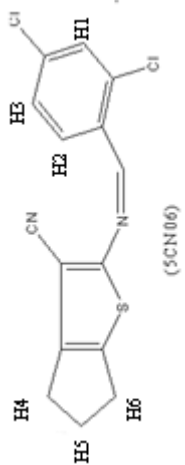


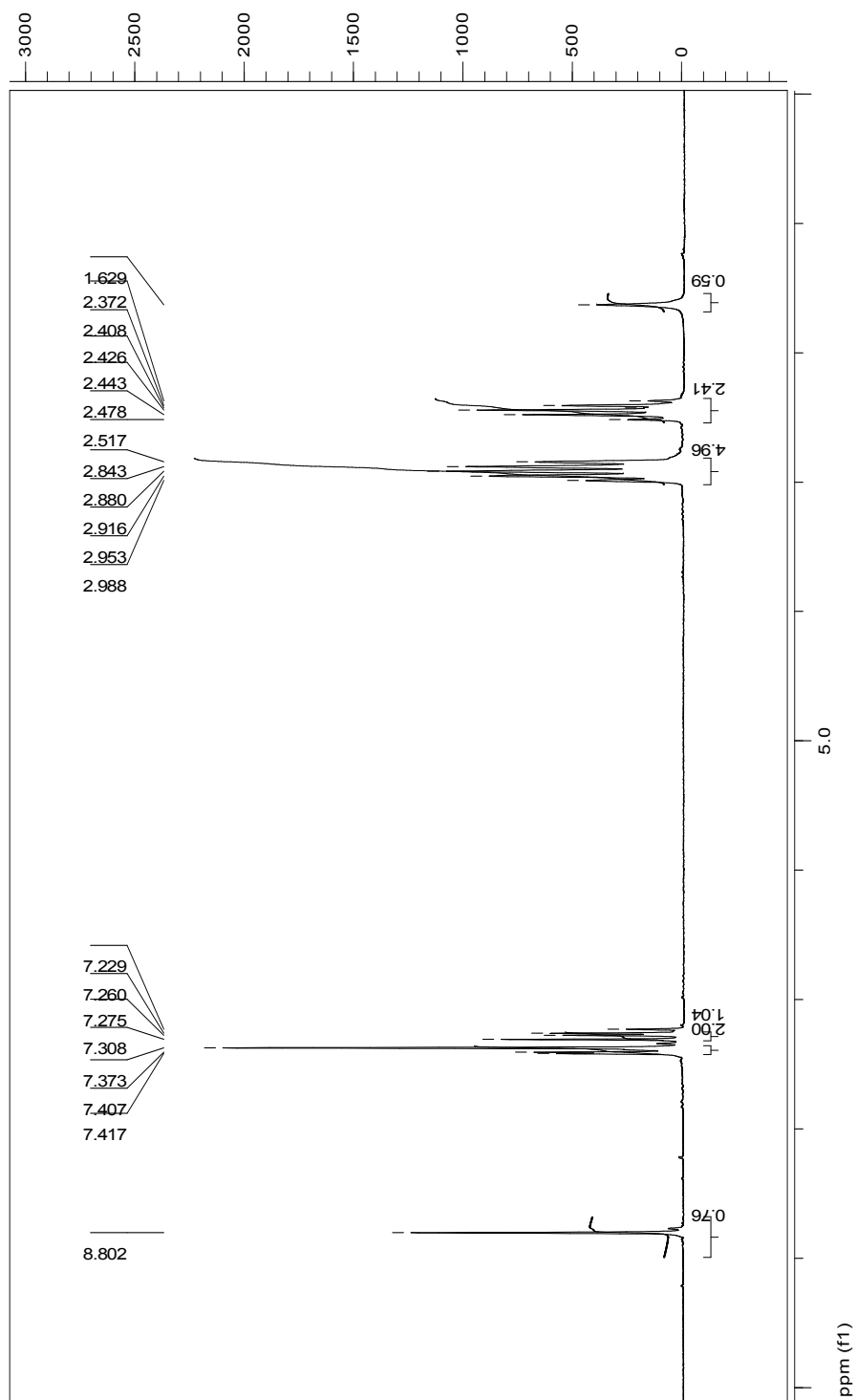
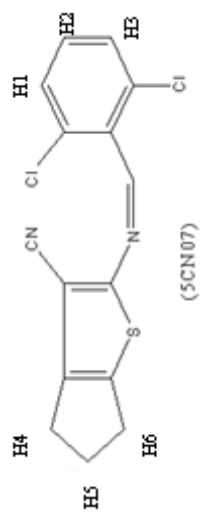


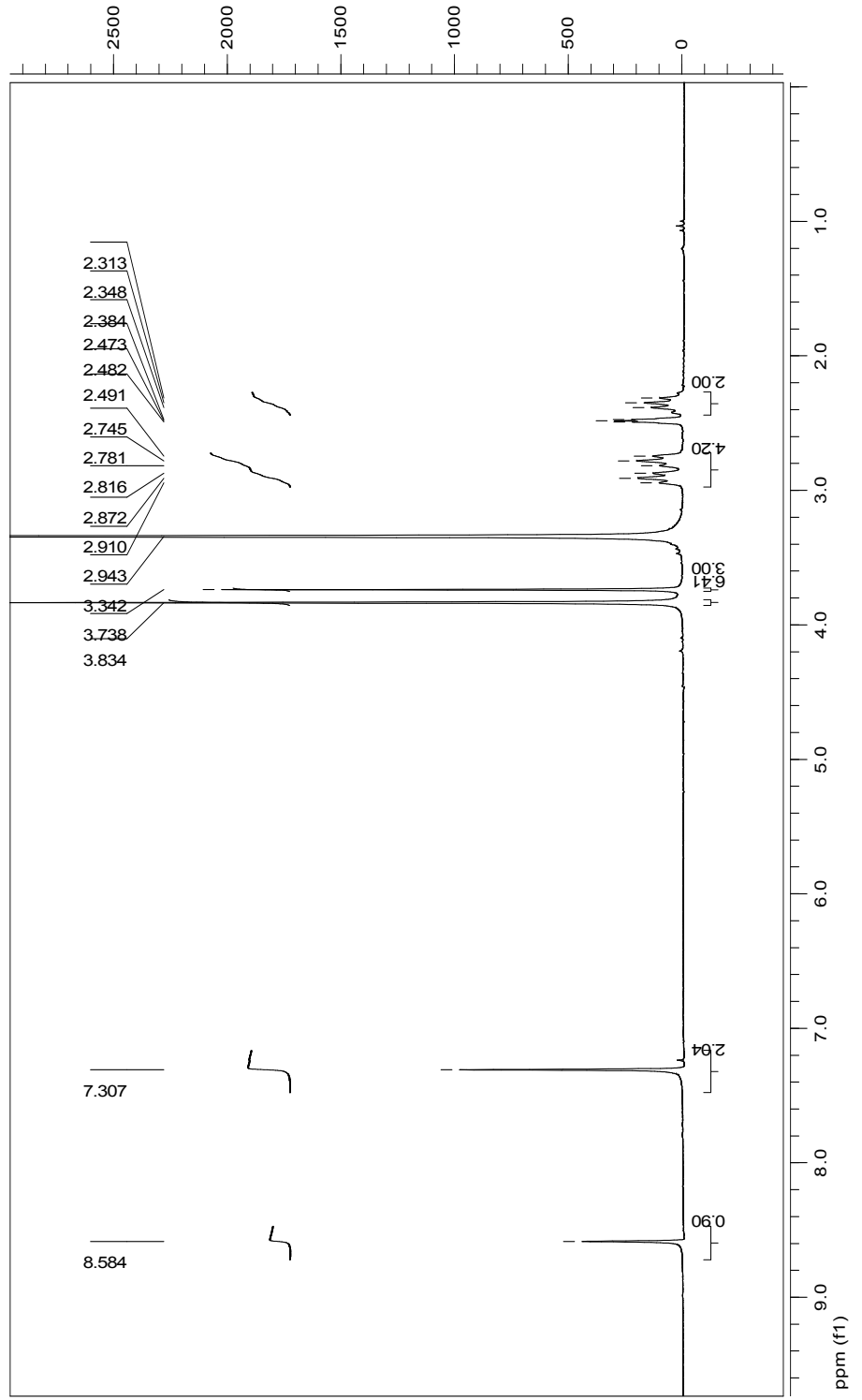
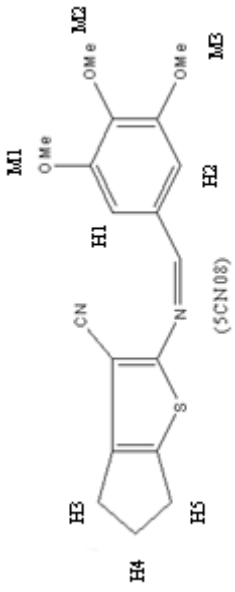
(SCN01)

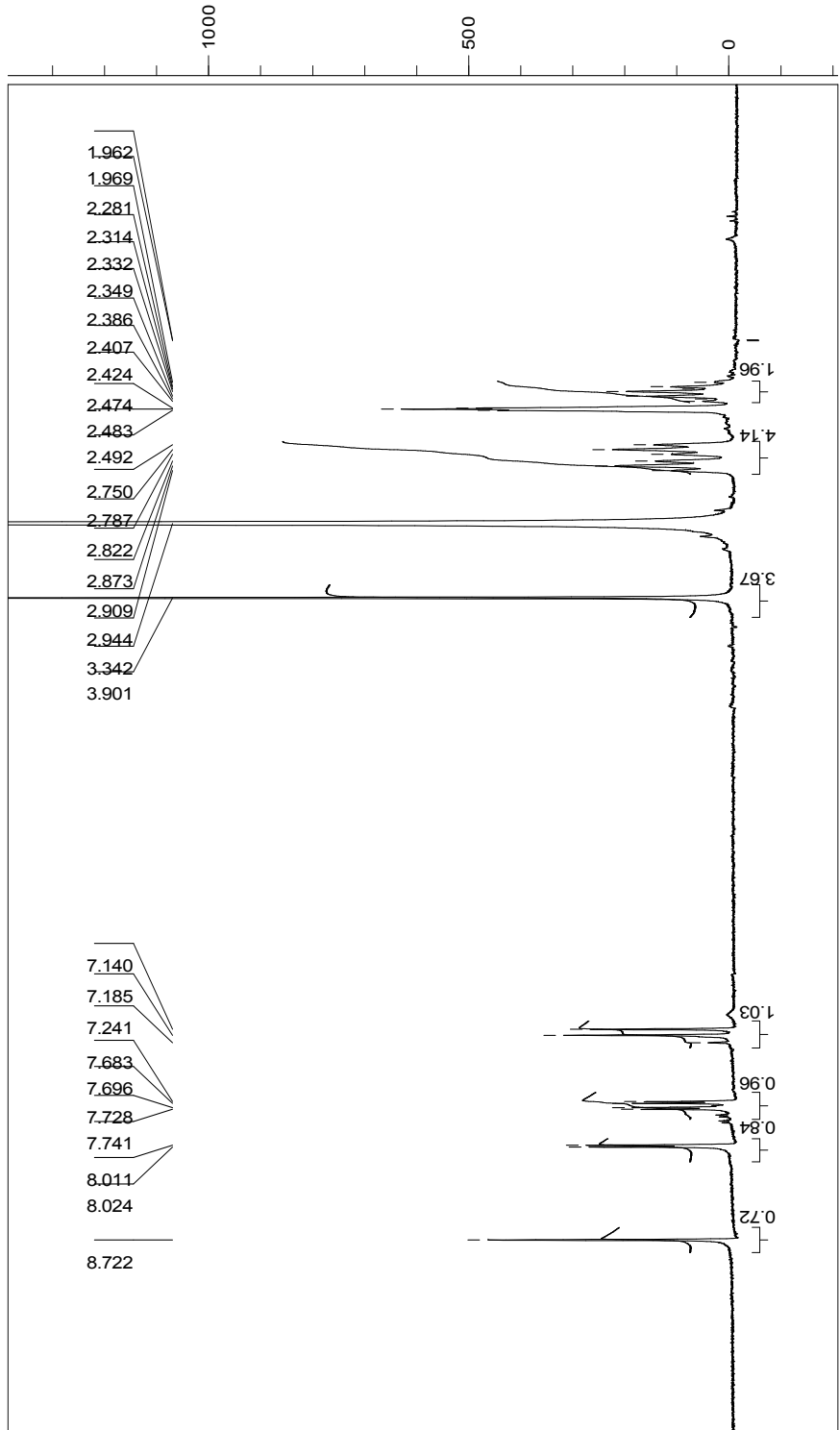
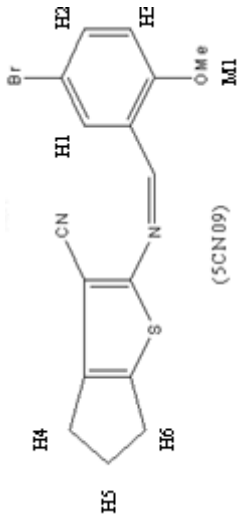




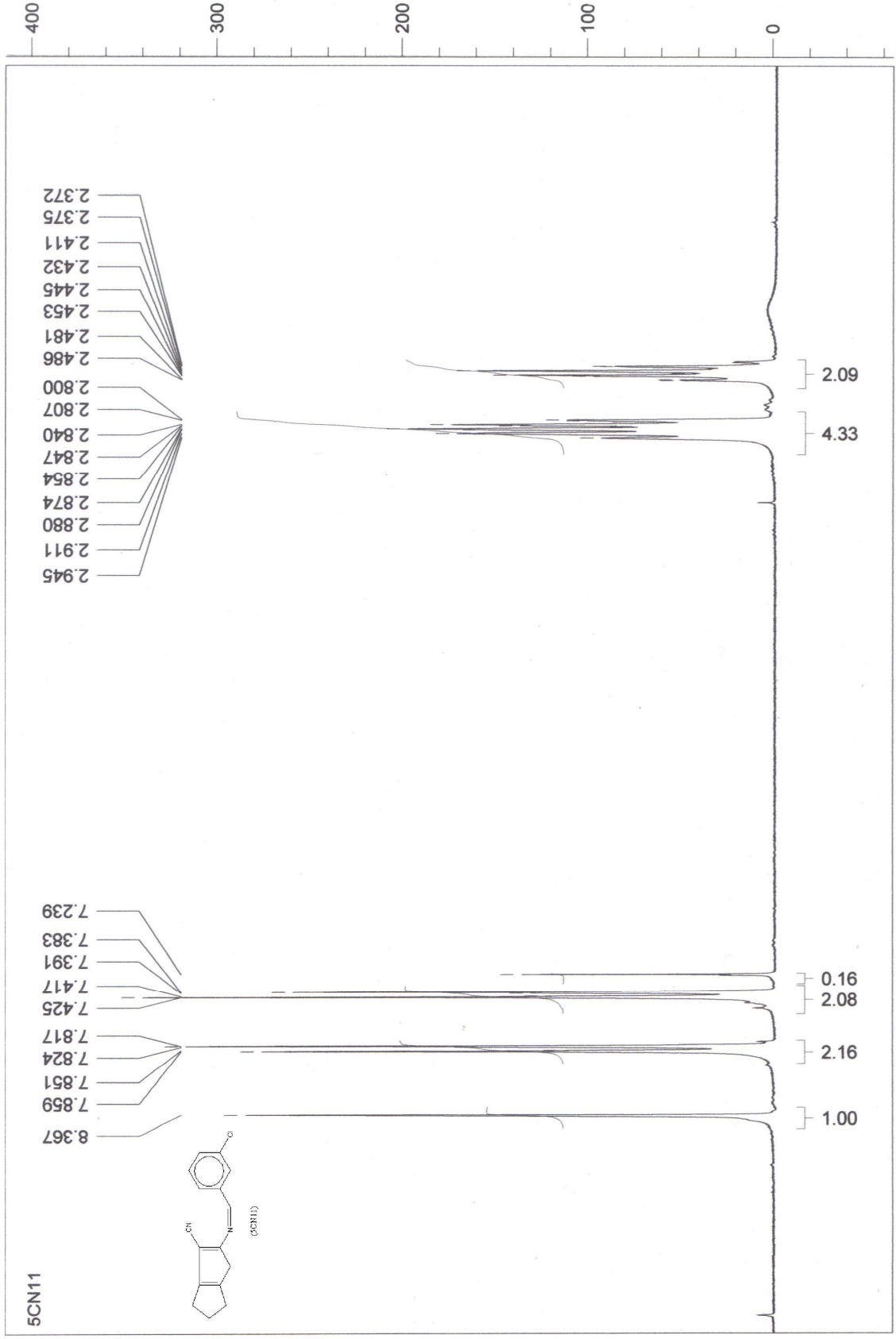








10.0
ppm (f1)



5CN11

ppm (f1)

