



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAIBA – UEPB

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS – CCBSA

CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIFÚNGICO E ANTIBACTERIANO DE NOVOS DERIVADOS 2-AMINO-
4,5,6,7,8,9-HEXAIDRO-CICLOOCTA[b]TIOFENO-3-CARBONITRILA**

MAYARA BARBALHO MONTEIRO

Orientador: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior

JOÃO PESSOA

2013

MAYARA BARBALHO MONTEIRO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIFÚNGICO E ANTIBACTERIANO DE NOVOS DERIVADOS 2-AMINO-
4,5,6,7,8,9-HEXAIDRO-CICLOOCTA[b]TIOFENO-3-CARBONITRILA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Jaime B. Mendonça Junior

JOÃO PESSOA

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

M775s Monteiro, Mayara Barbalho

Síntese, caracterização e avaliação do potencial antifúngico e antibacteriano de novos derivados 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila [manuscrito] : / Mayara Barbalho Monteiro. - 2013.

79 p. : il.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2013.

"Orientação: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior, Departamento de Ciências Biológicas".

1. Reação de Gewald. 2. Cicloocta[b]tiofeno. 3. Atividade antifúngica I. Título.

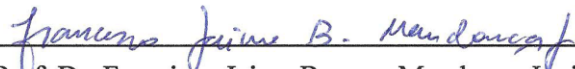
21. ed. CDD 547.594

MAYARA BARBALHO MONTEIRO

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIFÚNGICO E ANTIBACTERIANO DE NOVOS DERIVADOS 2-AMINO-
4,5,6,7,8,9-HEXAIDRO-CICLOOCTA[b]TIOFENO-3-CARBONITRILA**

Aprovado em: 17/12/2013

BANCA EXAMINADORA



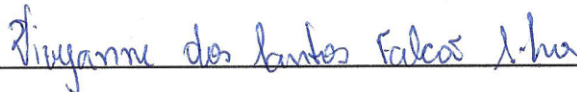
Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior

Orientador – UEPB



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura

Examinador – UEPB



Prof. Dr. Vivyanne dos Santos Falcão Silva

Examinador - UFPB

Dedico aos meus pais, irmão e demais familiares,

pelo crédito e apoio.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos derramadas na minha vida, e por sempre me proporcionar o consolo necessário nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco Jaime pela dedicação, apoio, conhecimento, contribuição para a concretização deste trabalho.

A equipe de alunos pesquisadores do Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas - LSVM, pelo apoio e incentivo.

A todos os professores que proporcionaram todo conhecimento e aprendizado necessário para minha formação acadêmica, profissional e pessoal. Em especial, ao meu querido professor, Ricardo Moura, por todo apoio e por sempre acreditar no meu potencial.

A todos os alunos e companheiros de classe pelas trocas de experiências e convivência saudável durante todo o curso. Em especial, Vanessa, Thais e Bruno por estarem sempre comigo nos momentos de alívio e tensão, por cada abraço e cada sorriso.

Ao meu querido amigo, Jander Cainã, por ter acreditado em mim, por todas as palavras de conforto e por todo amor e cuidado.

Aos meus pais, Joziane Barbalho e Severino Monteiro, irmão, Caio Barbalho e tios, Beatriz Barbalho e Gerônimo Neves, pelo apoio emocional e financeiro no decorrer de toda minha graduação. Por todas as palavras de conforto e incentivo que sempre foram muito edificantes para minha vida. Por acreditarem no meu potencial, por todo amor e dedicação. Devo muito a eles, sou muito grata.

A George Glauber, por ter seguido comigo nessa etapa para a conclusão do curso, sendo minha sustentação e também por todos os momentos de paciência e companheirismo.

“Confia no Senhor e faze o bem...

Agrada-te do Senhor e ele satisfará os desejos do teu coração.

Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele, e o mais ele fará.

Descansa no Senhor e espera nele...”

Salmo 37: 3-7.

RESUMO

O uso indiscriminado de antibióticos e o aparecimento de cepas de microorganismos multirresistentes justificam a necessidade pela busca constante de novas moléculas terapêuticamente eficazes, com baixa toxicidade e maior especificidade que possam ser utilizadas como alternativas terapêuticas para as infecções fúngicas e bacterianas. Nesse contexto diversos derivados cicloalquil[b]tiofenos tem se mostrado ativos frente a diversos microorganismos e a modificação molecular desses compostos pode gerar compostos com atividade ainda mais pronunciada. Nesse contexto este trabalho buscou sintetizar e caracterizar novos derivados 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila para avaliação de seus potenciais antifúngico e antibacteriano. Os compostos foram sintetizados através de uma rota reacional composta por duas etapas, iniciando pela reação de Gewald utilizando: cicloctanona, malononitrila, enxofre elementar e morfolina em meio etanólico, seguido pela condensação da porção 2-amino desse aducto com 11 diferentes aldeídos aromáticos através de catálise ácida. Os compostos foram caracterizados e tiveram suas estruturas comprovadas por RMN ^1H e ^{13}C e em seguida foram submetidos a um screening antimicrobiano frente a cepas de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* em testes de microdiluição a fim de se determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM). Os compostos foram obtidos em rendimentos variando de 19,6 - 65,6% e os espectros de RMN confirmaram as estruturas propostas, evidenciando o sucesso do procedimento sintético. A avaliação do potencial antimicrobiano mostrou que nenhum dos compostos foi capaz de inibir os crescimentos bacterianos na maior concentração avaliada (1024 $\mu\text{g/mL}$), e que todos os compostos são capazes de inibir o crescimento de cepas de *C. albicans* em diferentes concentrações com MICs variando de 512 - 1024 $\mu\text{g/mL}$ para os compostos menos ativos e MIC = 128 $\mu\text{g/mL}$, para os compostos mais ativos.

Palavras-Chave: Reação de Gewald, cicloocta[b]tiofeno, atividade antifúngica, atividade antibacteriana.

ABSTRACT

The indiscriminate use of antibiotics and the emergence of multidrug-resistant strains of microorganisms justify the need for the constant search for new therapeutically effective molecules with low toxicity and greater specificity that can be used as alternative treatments for fungal and bacterial infections. In this context many cycloalkyl[b]thiophenes derivatives has been shown to be active against various microorganisms and molecular modification of these compounds can generate compounds with even more pronounced activity. In this context, the aim of this study was to synthesize and characterize newl 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexahydro-cycloocta [b]thiophene-3-carbonitrile to evaluate their potential antifungal and antibacterial. The compounds were synthesized through a route composed of two reaction steps, starting by the Gewald reaction using: cicloctanona, malononitrila, elemental sulfur and morpholine in ethanol medium, followed by the condensation of the 2-amino of this adduct with 11 different aromatic aldehydes via acid catalysis . The compounds have been characterized and verified by its ^1H and ^{13}C NMR and were then subjected to an antimicrobial screening against *Candida albicans* strains, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in broth microdilution tests to determine their Minimum Inhibitory Concentrations (CIM). The compounds were obtained in yields ranging from 19.6 to 65.6 % and NMR spectra confirm the proposed structures, demonstrating the success of the synthetic procedure. The evaluation of the antimicrobial activity showed that none of the compounds was able to inhibit bacterial growth in the largest concentration evaluated (1024 mg/mL), and all the compounds are able to inhibit the growth of *C. albicans* at different concentrations with MICs ranging from 512 - 1024 mg/mL for less active and MIC = 128 mg/mL, for the most active compounds.

Keywords: Reaction Gewald, cycloocta[b]thiophene, antifungal, antibacterial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do tiofeno.	18
Figura 2. Moléculas contendo tiofenos.	19
Figura 3. Derivado com atividade antimicrobiana.	23
Figura 4. Derivado com atividade antimicrobiana.	24
Figura 5. Novo fármaco ansiolítico.	25
Figura 6. 2-ureidotiofeno-3-carboxilato.	25
Figura 7. Placa de microdiluição.	31
Figura 8. Representação de um teste de microdiluição em caldo. Simulação das três cepas que apresentaram atividade, estas representadas pelas cores: azul, vermelho e amarelo. Em cada linha se encontra uma concentração.	31
Figura 9. Espectro de RMN ^1H do composto 8CN02. Uma correlação da estrutura com os picos apresentados nos espectros.	35
Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C do composto 8CN11.	36
Figura 11. Estrutura geral dos 2-aninotiofenos citados no estudo.	41

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Exemplo de uma síntese de Gewald para obtenção de 2-amino-tiofenos substituídos.....	20
Esquema 2. 2-Amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tioofeno-3-carbonitrila.(8CN)	27
Esquema 3. Reação de obtenção dos novos derivados 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila.....	27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características físico-químicas e rendimentos dos compostos sintetizados...34
- Tabela 2 .** Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ) – Valores expressos em ppm (DMSO, 400 MHz)..... 36
- Tabela 3.** Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ) – Valores expressos em ppm (DMSO, 100 MHz)..... 38
- Tabela 4.** Estrutura molecular dos compostos e valores de CMI frente as *C. albicans*.39

LISTA DE SIGLAS

- CIM** - Concentração Inibitória Mínima
- Rf** - Fator de Retenção
- PF** - Ponto de Fusão
- DMSO** - Dimetilsulfóxido
- RMN** - Ressonância Magnética Nuclear
- RMN ¹H** - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- RMN ¹³C** - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	Tiofenos e seus Derivados.....	18
2.2	Estratégia para Síntese de Fármacos	20
2.3	Problemática das Infecções Fúngicas	20
2.4	Problemática das Infecções Bacterianas.....	22
2.5	Derivados Tiofênicos e suas Atividades Biológicas.....	22
3	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivo Geral	26
3.2	Objetivos Específicos	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Síntese.....	27
4.2	Cromatografia.....	27
4.3	Purificação, Caracterização e Comprovação Estrutural	28
4.4	Avaliação e Potencial Antifúngico e Antibacteriano	29
4.4.1	Avaliação da atividade antifúngica <i>in vitro</i> contra <i>Candida albicans</i>	29
4.4.2	Avaliação da atividade antibacteriana <i>in vitro</i>	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	Síntese, Caracterização e Comprovação Estrutural	34
5.2	Avaliação do Potencial Antifúngico.....	38
5.3	Avaliação do Potencial Antibacteriano	41
6	CONCLUSÕES.....	42
7	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
	ANEXOS.....	58
	Anexo I – Espectros de RMN H ¹	58
	Anexo II – Espectros de RMN C ¹³	70

1. Introdução

O uso constante e indiscriminado de antibióticos tem provocado uma série de problemas dentre os quais se destacam o desequilíbrio da ecologia humana e a resistência microbiana. Isto abre o caminho para a evolução das pesquisas, visto que se faz necessária a busca por novos antibióticos que sejam eficazes (MOELLERING JR, 2000 apud ANTUNES *et al.*, 2006). A resistência desses patógenos pode ser atribuída à sua mutagenicidade, intensificada pela administração de múltiplos fármacos em pacientes hospitalizados, por exemplo (VICINI *et al.*, 2006).

Atualmente, tem-se aumentado a procura por fármacos mais eficazes e seguros, que causem menores efeitos colaterais, proporcionando aos seus usuários menor rejeição e maior sucesso nos tratamentos. Nesse contexto, a química orgânica medicinal através do planejamento nacional de fármacos tem contribuído para a maior parte das novas descobertas, observando-se um crescimento considerável de compostos sintéticos para uso medicinal, os quais têm sido empregados no combate às diversas doenças.

Uma estratégia eficaz e muito empregada nessa busca consiste na modificação molecular de agentes antibacterianos preexistentes. Esse processo consiste na modificação química de um composto matriz que possui estrutura química e atividades biológicas bem conhecidas, mantendo seu grupo farmacofórico, para se obter compostos análogos ou homólogos, sem que haja perda das propriedades do composto matriz (MONTANARI, 1995), ou seja, como a resistência consiste no reconhecimento da estrutura do fármaco pelos microorganismos, realizar uma substituição ou adição de algum grupamento químico (Radical) em um antibiótico já existente, pode garantir que esse medicamento não seja mais reconhecido restaurando e potencializando seu efeito (MADIGAN *et al.*, 2010).

Sendo assim, a síntese de novos medicamentos vem sendo o foco de estudo dos pesquisadores das áreas de farmácia, química e biologia que buscam por novas moléculas bioativas que possam atuar como antibióticos.

Para uma boa biodisponibilidade, a molécula ideal deve ser rapidamente absorvida e distribuída no organismo, deve ser altamente seletiva em relação ao seu alvo, deve ter uma potência elevada e um alto grau de eficácia terapêutica, para que seja eficaz em doses baixas. A baixa solubilidade é um fator importante a ser considerado e muitas vezes pode ser um entrave para que uma nova molécula possa ser comercializada (CHUNG e FERREIRA, 1999).

A pesquisa de novos fármacos envolve a concepção ou descoberta, que consiste na identificação e caracterização de novos alvos, enzimas ou receptores, síntese de moléculas, seleção de moléculas novas para a realização de testes *in vitro* e *in vivo*, atividade biológica, e caracterização físico-química das ligações (PATERSON *et al.*, 2011).

Os compostos com maior destaque para a realização de modificações moleculares são os compostos heterocíclicos, os quais correspondem a 65% dos medicamentos encontrados no mercado (BARREIRO & FRAGA, 2001).

Dentre eles, os derivados do tiofeno são dotados de grande atividade biológica, como por exemplo, anti-inflamatória (FAKHR *et al.*, 2008), antitumoral (DALLEMAGNE *et al.*, 2003; NAIR & ABRAHAM, 1993), antimitótico (ROMAGNOLI *et al.*, 2007), antibacteriana (WANG *et al.*, 1975) e antifúngica (REDDY K; REDDY; SWAMY, 2009). Outros derivados exibem uma forte inibição do NHE-1 e eficácia cardioprotetoras (CHO *et al.*, 2005 apud, DESAI *et al.*, 2011), nematocida (BAKKER *et al.*, 1979 apud, MEOTTI *et al.*, 2003), inseticidas (IYENGAR *et al.*, 1987 apud, MEOTTI *et al.*, 2003), antibacteriano (MATSUURA *et al.*, 1996 apud, MEOTTI *et al.*, 2003), antivirais (HUDSON *et al.*, 1989 apud, MEOTTI *et al.*, 2003) e atividade antioxidante (MALMSTROM *et al.*, 2001 apud, MEOTTI *et al.*, 2003), entre outras.

Os heterociclos contendo enxofre estão sendo visto de maneira ativa na pesquisa da química farmacêutica. Hoje em dia, derivados de benzotiofeno em combinação com outros sistemas cíclicos têm sido extensivamente utilizados em aplicações farmacêuticas, tais como antialérgica (COONOR *et al.*, 1992, apud ISLOOR *et al.*, 2010), analgésico (WARDAKHANI *et al.*, 2008, apud ISLOOR *et al.*, 2010), anti-inflamatório (MOHAMED *et al.*, 2009, apud ISLOOR *et al.*, 2010) e atividades ocular e hipotensivas (GRARAN *et al.*, 1989, apud ISLOOR *et al.*, 2010). Raloxifeno, uma droga baseada em benzo [*b*] tiofeno, foi aprovada pela Food and Drug Administration, EUA, para a prevenção e tratamento da osteoporose associada com a mulher na pós-menopausa.

Além de elaborar estratégias de síntese de novas moléculas potencialmente bioativas, é necessário confirmar se aquela molécula inicialmente proposta corresponde àquela sintetizada. A química analítica conta com métodos que auxiliam na caracterização desses compostos sintetizados, que são nomeados de métodos espectroscópicos, e são ferramentas muito úteis na elucidação e confirmação de uma

estrutura molecular. É importante conhecer a estrutura da molécula obtida, pois assim podemos definir sua reatividade, propriedades físicas e sua atividade biológica.

As técnicas mais utilizadas pelos pesquisadores da área são: espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massa (MS) e espectroscopia de infravermelho (IV) (SOLOMONS & FRYHLE, 2005).

Apresentaremos do decorrer do trabalho, novos derivados do heterociclo tiofeno, sendo estes sintetizados via reação de Gewald. Assim sendo demonstrado o mecanismo, condições reacionais, a caracterização físico-química e espectroscópica desses compostos, bem como a avaliação de sua atividade antimicrobiana.

2. Referencial teórico

2.1 Tiofenos e seus Derivados

O tiofeno (**Figura 1**) consiste em um anel heterocíclico aromático pentagonal, onde um carbono metilênico é substituído por um átomo de enxofre (ZHONGHAI, 2005).

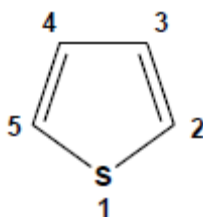


Figura 1. Estrutura do tiofeno.

É um heterociclo π -elétron-excessivo. Favorece substituição eletrofílica, a qual, a metilação, tem lugar de preferência nas posições α , devido à eletronegatividade o átomo de enxofre (RAJAPPA & NATEKAR, 1996). Em comparação com o átomo de oxigênio no furano, o átomo de enxofre no tiofeno tem menor eletronegatividade, de modo que seus pares de elétrons solitários são mais eficazmente incorporados ao sistema aromático.

O cicloalceno / tiofeno representa um par dos exemplos mais proeminentes de bioisosterismo (BURGER, 1991) (bioisosteres são moléculas que têm propriedades semelhantes, ou antagonismo em sistemas biológicos) e, portanto, a síntese de análogos de tiofeno atraiu considerável atenção, especialmente em pesquisa farmacêutica. A substituição no anel de benzeno em sucesso tornou-se uma estratégia de rotina no projeto droga moderna e desenvolvimento (MOHAREB *et al.*, 2013).

Tiofenos e derivados furanos pertencem ao grupo de heterocíclicos aromáticos, conseqüentemente, eles são importantes fragmentos estruturais em muitos produtos farmacêuticos e compostos químicos (KAGAN *et al.*, 1983; GRIBBLE *et al.*, 1984 apud, MEOTTI *et al.*, 2003). É um bioisótero do anel de benzeno e outros heterociclos em química medicinal.

Os compostos orgânicos que contêm anéis aromáticos estão amplamente distribuídos na natureza e muitas vezes têm um papel importante em vários processos bioquímicos. Como resultado, eles são comumente incorporados nas estruturas químicas de medicamentos sintéticos (DALVIE *et al.*, 2002).

Moléculas contendo o heterociclo tiofenos existem como produtos naturais (RUSSEL, 1996) e quimioterápicos sintéticos (PRESS, 1985; RUSSEL, 1996) (**Figura 2**). Como o ácido tiaprofênico (Surgam®), é um fármaco anti-inflamatório não esteroidal (AINE), (PLOSKER & WAGSTAFF, 1995; SORKIN & BROGDEN, 1985). O bissulfato de clopidogrel (Plavix®), um inibidor do difosfato de adenosina (ADP), onde a agregação plaquetária induzida tem sido um importante avanço para pacientes com doença aterosclerótica cardiovascular (LI *et al.*, 2004; RODGERS & STEINHUBL, 2003). O cloridrato de duloxetina (Cymbalta®), é um inibidor seletivo da recaptação de serotonina e noradrenalina (SSNRI), tem sido eficaz para o tratamento de depressão, para o tratamento da incontinência urinária, entre outros (BYMASTER *et al.*, 2003).

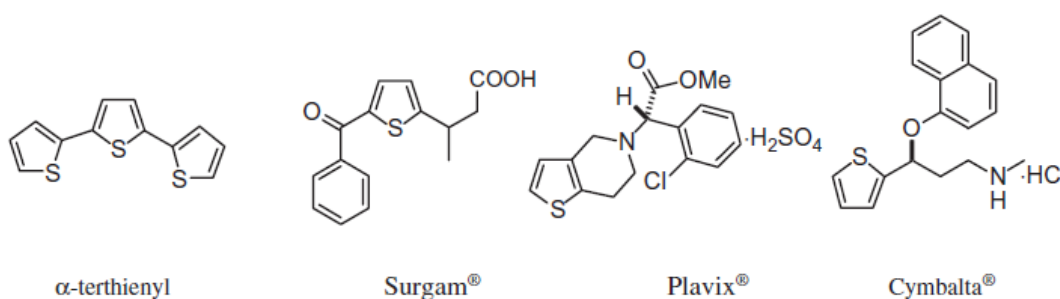
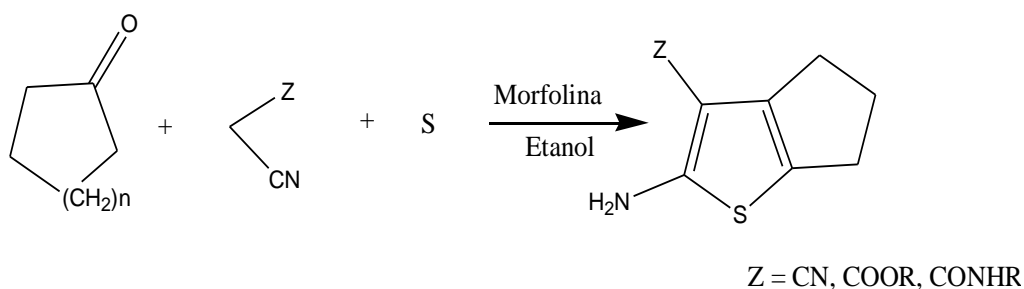


Figura 2. Moléculas contendo tiofeno.

Dentre os heterociclos tiofênicos, destacam-se os compostos 2-aminotiofeno, que têm sido bastante relatados nos estudos de investigação de novas drogas, principalmente depois das inovações da rota de síntese da reação de Gewald (PUTEROVÁ, KRUTOSIKOVÁ & VÉGH, 2009).

Karl Gewald foi um químico alemão que revolucionou a síntese de tiofenos ao inovar com a síntese multicomponente que fornece 2-aminotiofenos. Nos anos de 1965 e 1966, Gewald sintetizou 2-aminotiofenos através da reação entre compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas), nitrilas ativadas e enxofre em presença de aminas secundárias sob temperatura ambiente (GEWALD, 1965; GEWALD, SCHINKE & BOTTCHEER, 1966; HUANG & DOMLING, 2011). (**Esquema 1**)



Esquema 1. Exemplo de uma síntese de Gewald para obtenção de 2-amino-tiofenos substituídos.

2.2 Estratégia para Síntese de Fármacos

No que diz respeito à busca de novas drogas, a modificação molecular de agentes antimicrobianos tem sido há muitos anos uma das principais estratégias adotadas, consistindo na realização de pequenas modificações químicas em um composto protótipo matriz, 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 composto original (LACAZ *et al.*, 1995).

Dentre os diversos compostos que são comumente utilizados como protótipos para realização de modificações moleculares, destacam-se os compostos heterocíclicos, os quais correspondem a cerca de 65% dos fármacos atualmente empregados na terapêutica, de onde 95% desses apresentam-se nitrogenados, e outros 25% apresentam átomos de enxofre em sua composição química (BARREIRO & FRAGA, 2001). Além disso, estes compostos são possuidores de ampla atividade biológica e possuem vantagem de não terem sido extensivamente estudados.

2.3 Problemática das Infecções Fúngicas

Atualmente, a prevalência por infecções fúngicas sistêmicas tem crescido devido não só à utilização abundante de antibióticos de amplo espectro, mas, também, por causa de alterações no sistema imunológico associadas ao vírus do HIV, à terapia do câncer e ao transplante de órgãos. Considerando que ainda há um pequeno número de moléculas possuidoras de ação antifúngica, a busca por novas moléculas bioativas que sirvam como novos protótipos é extremamente relevante (STOPPA *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2012).

As infecções fúngicas são uma ameaça contínua e grave para a saúde e a vida. Estas infecções em seres humanos podem ser classificadas em: reações alérgicas devido às proteínas fúngicas, reações tóxicas devido às toxinas presentes em certos fungos e infecções (micoses) (GARIBOTTO *et al.*, 2010).

A incidência e gravidade das doenças fúngicas tem aumentado recentemente, particularmente em pacientes com deficiência imune (ODDS, 2000 apud, PINTO *et al.*, 2008). O número crescente de casos investigados de fungos demonstra que a *Candida* é a terceira ou quarta mais comum de se isolar em infecções da corrente sanguínea, segundo estudos publicados nos Estados Unidos (EDMOND *et al.*, 1999 apud, PINTO *et al.*, 2008). Além disso, a candidíase invasiva é um problema de importância crescente para pacientes não – imunossuprimidos (EGGIMANN *et al.*, 2003 apud, PINTO *et al.*, 2008).

A taxa de mortalidade por aspergilose aumentou 357%, entre 1980 e 1997, nos Estados Unidos (MCNEIL *et al.*, 2001 apud, PINTO *et al.*, 2008). Micose superficiais, dermatofitoses (tinhas), candidíase, também são uma importante causa de morbidade e são mais graves em pacientes imunocomprometidos.

Regimes de tratamento convencionais para as doenças causadas por fungos são baseados em apenas algumas quimioterapias (ou seja, os azóis e polienos), e estes não são completamente eficazes e apresentam sérios problemas relacionados com o seu espectro estreito, toxicidade elevada, baixa potência (que são geralmente fungistática) inadequados e propriedades farmacocinéticas. Tomadas em conjunto, estas características resultam em muitos casos da resistência microbiana, tornando o tratamento mais difícil (BERGOLD & GEORGIADIS, 2004).

Associado ao aumento da importância clínica de infecções causadas por fungos, o pequeno número de antifúngicos disponíveis, muitos dos quais apresentando atividade fungistática, tem vindo a estimular a busca de novos medicamentos, que sejam mais eficazes e menos tóxicos do que os disponíveis (RAPP, 2004 apud, PINTO *et al.*, 2008).

2.4 Problemática das Infecções Bacterianas

A crescente utilização de agentes antimicrobianos para profilaxia e tratamento, de forma excessiva, indiscriminada e irracional, tem colaborado para o aumento cada vez mais precoce da resistência (CZAICA *et al.*, 2000).

Isso tem levado a comunidade científica a investigar a corrida medicamento x microrganismos, e a pesquisar novos compostos com ação antimicrobiana, pois desde o início dos anos 80 o número de antimicrobianos em fase de desenvolvimento diminuiu consideravelmente, enquanto que a resistência dos microrganismos aos mesmos tem crescido de forma imensurável, porque eles estão cada vez mais desenvolvendo uma série de novos mecanismos de resistência (FILE JR, 2000).

O estudo da resistência bacteriana, geralmente é baseado em microrganismos de importância epidemiológica, tais como *S. aureus*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, responsáveis por diferentes processos etiológicos tanto em pacientes imunocompetentes quanto em pacientes imunodeprimidos (MICHELIN *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006).

2.5 Derivados Tiofênicos e suas Atividades Biológicas

O heterociclo benzo[b]tiofeno está frequentemente presente em compostos biologicamente ativos, e muitos exemplos de atividades biológicas são relatadas. Ou seja, eles podem ser inibidores da replicação do vírus herpes simplex tipo I (HSV-1), antimetabólitos, inibidores de proteases de cisteína e de serina, de receptores de opiáceos, analgésicos e antagonistas de 5-HT₆, tornando esta, uma estrutura muito atraente para química medicinal (HORTON; BOURNE; SMYTHE, 2003 apud, PINTO *et al.*, 2008). Recentemente, tem sido demonstrado que os tiofeno substituídos possuem boa atividade anti-inflamatórias em ratos (ZENI *et al.*, 2001).

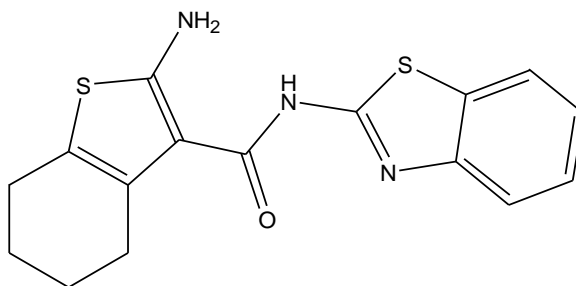
Derivados benzo[b]tiofenos e 2-(N-haloalquiltiosulfonamido)-tiofenos (EDWARDS, 1976) entre outros (SANDMEIER & SECKINGER, 1984) demonstram importante atividade antifúngica, com atividade *in vivo* superior às drogas de referência como o miconazol e clotrimazol frente à diversos isolados dos gêneros *Candida* e *Trichophyton*. Atualmente, a candidíase superficial está entre as infecções mais comuns de pele e mucosas, entretanto, a candidíase profunda tem se tornado crescente, sobretudo, nos imunossuprimidos, constituindo um problema de saúde pública (FALCÃO & NEVES, 2010). Além de *C. albicans*, outras espécies como *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosi* e *C. tropicalis* têm estado envolvidas de forma significativa na etiologia desta micose (LACAZ *et al.*, 2002).

Estudos realizados por Mendonça Junior *et al.* (2011), demonstraram que compostos cicloalquil[b]tiofenos são potenciais agentes antifúngicos. Nesse estudo foi

observado que compostos benzo[b]tiofenos foram os mais ativos frente a fungos do gênero *Candida* e *Criptococcus*.

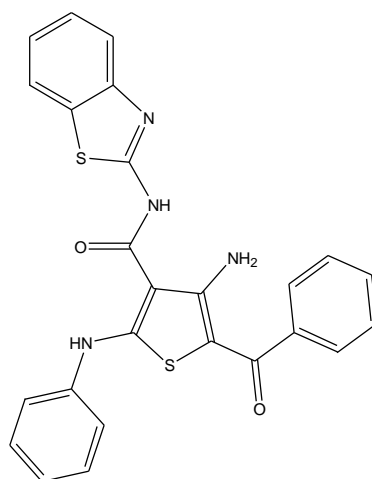
O benzo[b]tiofeno é também uma parte estrutural do imidazol, que possui como um derivado sintético o cetoconazol, um antimicótico com aplicações em dermatologia e ginecologia (CARRILLO-MUÑOZ *et al.*, 2005 apud, PINTO *et al.*, 2008).

No que diz respeito à relação estrutura e atividade dos tiofenos contra bactérias Gram-positivas, os resultados expostos por Bondock *et al.* (2010) revelaram que os compostos 2-amino-N-(benzotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetraidrobenzotiofeno-3-carboxamida (**Figura 3**) e 4-amino-2-anilino-3-[(benzotiazol-2-ilamino)carbonil]-5-benzoiltiofeno, exibiram um perfil de largo espectro antibacteriano, contra os microrganismos (*S. aureus* (ATCC 25923), *S. pyogenes* (ATCC 19615), *P. phaseolicola* (GSPB 2828) e *P. fluorescens*). Tiofenos com grupos removedores de elétrons, tais como CO₂Et ou PhCO, apresentaram maior atividade. Neste estudo, o composto: 3-amino-5-anilino-4-[(benzotiazol-2-il-amino) carbonil-tiofeno-2-carboxilato de etila, foi equipotente ao cloranfenicol em inibir o crescimento de *S. aureus* (CIM 3,125 µg/mL), enquanto que a sua atividade foi de 50% inferior ao de cloranfenicol contra a *S. pyogenes*. Há relatos dos derivados 2-tioureido-tiofeno apresentando atividade antifúngica (SAEED *et al.*, 2010) e antibacteriana (ARHIN *et al.*, 2006).



2-amino-N-(benzotiazol-2-il)-4,5,6,7-tetraidrobenzotiofeno-3-carboxamida

Figura 3. Derivado com atividade antimicrobiana.



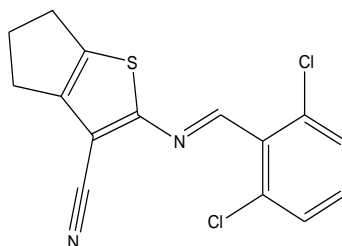
4-amino-2-anilino-3-[(benzotiazol-2-ilamino)carbonil]-5-benzoiltiofeno

Figura 4. Derivado com atividade antimicrobiana.

Segundo Valderrama (1999; apud RYU, C. *et al.*, 2005), existem relatos de 4,7-dioxobenzo[b]tiofeno, exibindo atividade antiprotozoária contra *Tripanosomas cruzi* e cepas de Leishmania. O ácido tiofeno-2,5-dicarboxílico demonstrou ser um potencial agente anticancerígeno (SAHASRABUDHE *et al.*, 1960 apud, YESILEL *et al.*, 2012).

Além das atividades já citadas anteriormente, há estudos que relatam que os tiofenos e seus sistemas de anéis fundidos possuem um amplo espectro de atividades biológicas, como antagonistas dos antiarrítmicos e serotonina (AMR *et al.*, 2010).

Estudos realizados por Fortes *et al.* (2013) mostrou uma nova entidade química, com um potencial farmacológico para se tornar um novo fármaco ansiolítico. Foi o composto 2-[(2,6-dicloro-benzilideno)-amino]-4,5-diidro-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila (5TIO1), sintetizado pelo Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas. O citado estudo teve por objetivo avaliar o potencial efeito ansiolítico do 5TIO1 em modelos experimentais na tentativa de esclarecer o seu mecanismo de ação. O processo dependente da dose não foi observado e os efeitos ansiolíticos não foram completamente revertidos por flumazenil (25 mg / kg), porém foi evidenciada atividade ansiolítica comparável ao fármaco comercial Diazepam. Os resultados sugerem que o 5TIO1 pode ligar-se com outros receptores, além do receptor benzodiazepínico (receptor de GABA).



2 - [(2,6-dichloro-benzylidene)-amino] -4,5-dihydro-cyclopenta [b] thiophene-3-carbonitrile

Figura 5. Novo fármaco anisóptico.

O estudo realizado por Arhin *et al.* (2006), demonstrou que modificações dos substituintes do composto base, sintetizado por meio de uma reação de Gewald, levou a derivados tiofênicos com atividade inibidora potente contra *Staphylococcus spp* em concentração de até 10 nM (**Figura 4**). O composto que possui como substituinte -CO₂Bu, apresentou desde um quadro mais completo em termos do mecanismo de ação, como também mostrou-se ativo na inibição da transcrição em *S. aureus*, resultados estes comparados aos da rifampicina. Fato observado por seu rápido e profundo impacto sobre os níveis de RNA e síntese imediata de proteína. Além disso, notou-se o que o composto mantém a sua excelente atividade antibacteriana contra cepas resistentes à rifampicina.

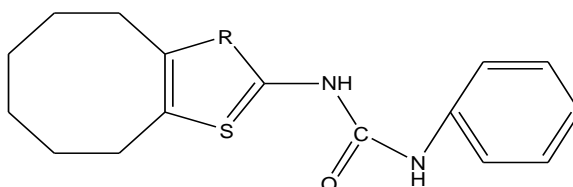


Figura 6. 2-ureidotiofeno-3-carboxilato.

Estudos adicionais com anéis de oito membros ainda se fazem necessários para que seja aberto um espaço maior para responder alguns questionamentos sobre as atividades biológicas relacionadas a tais compostos. Este trabalho teve como estímulo e base, os estudos de Arhin *et al.* (2006), sendo assim, procurou-se enriquecer ainda mais os registros do potencial biológico do cicloocta[b]tiofeno condensando-os com aldeídos, por meio das pesquisas em laboratório.

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar novas moléculas derivados do 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-4*H*-cicloocta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila e avaliar seu potencial antifúngico e antibacteriano *in vitro*.

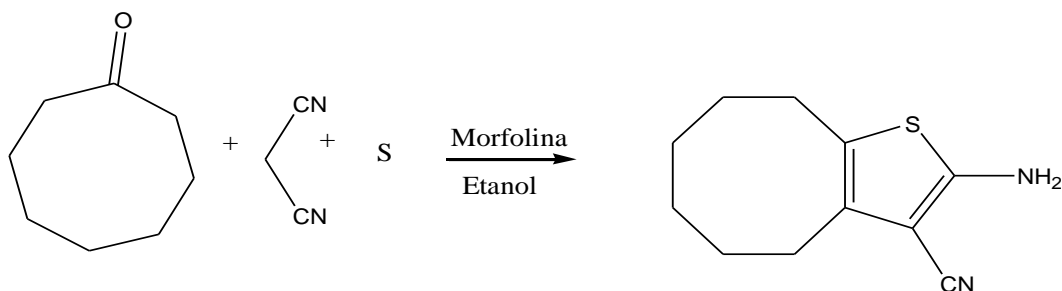
3.2. Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar e purificar os novos compostos;
- ✓ Caracterizar os novos compostos;
- ✓ Comprovar as estruturas;
- ✓ Avaliar a atividade antifúngica;
- ✓ Avaliar a atividade antibacteriana.

4. Materiais e Métodos

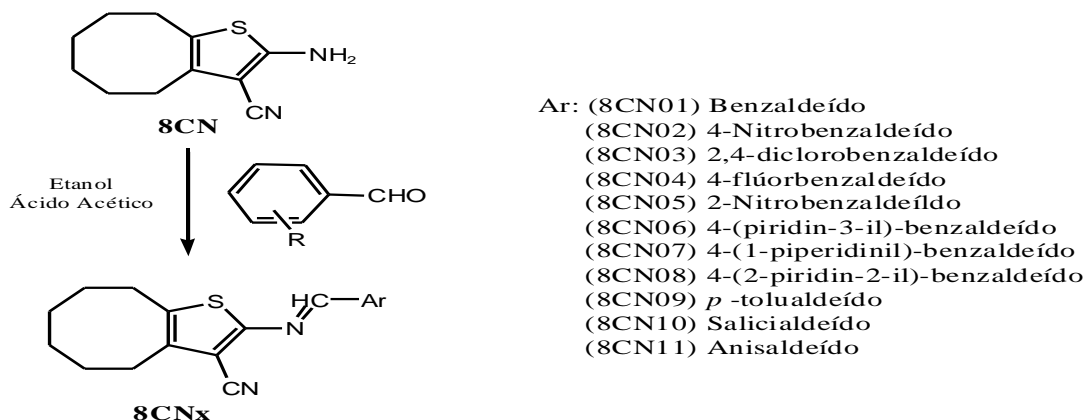
4.1 Síntese

Foram sintetizados novos compostos através de uma rota sintética, onde inicialmente foi obtido o composto de partida 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila (**8CN**), sintetizado por meio de uma condensação entre uma cetona cíclica (ciclooctanona) com um composto metileno ativo (malononitrila) em meio básico (morfolina) e enxofre elementar através da reação de Gewald (GEWALD, 1961) conforme **esquema 2**.



Esquema 2. 2-Amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila. (8CN)

Para a obtenção dos compostos finais, o **8CN** foi posto a reagir com aldeídos aromáticos, que foram condensados à função 2-amino do composto (**Esquema 3**).



Esquema 3. Reação de obtenção dos novos derivados 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila.

4.2 Cromatografia

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas FLUKA *Analytical sílica* gel de 0,2mm de espessura com indicador fluorescente de 254nm. As revelações foram feitas por luz ultravioleta (254 ou 365nm).

4.3. Purificação, Caracterização e Comprovação Estrutural

Após ter sido confirmado o término das reações (através de cromatografia em camada delgada, utilizando um sistema eluente em uma mistura binária 7:3, hexano/acetato de etila), os compostos foram filtrados e purificados por lavagem com etanol gelado.

Depois de confirmada a pureza dos compostos, eles tiveram seus cálculos de rendimento determinados, assim como as características físico-químicas (fator de retenção, ponto de fusão, aparência, solubilidade).

O fator de retenção (R_f) foi obtido a partir da cromatografia em camada delgada pela fórmula $R_f = dc / ds$, onde dc é a distância percorrida pelo composto e ds é a distância percorrida pelo sistema.

Para o ponto de fusão, uma pequena amostra do produto foi colocada em um capilar e inserida em um aparelho de ponto de fusão (Ponto de Fusão Microprocessado Q-340 – Quimis).

A aparência dos compostos (cor e textura) foi avaliada apenas por observação visual do produto.

O rendimento foi calculado, pesando-se a massa do produto obtido em gramas e em seguida calculado o número de mols referente à massa através da fórmula $n^\circ = m / PM$. Por fim foi calculada a porcentagem de rendimento pela fórmula:

$$\frac{\text{Número de mols obtidos} \times 100}{\text{Número de mols do produto de partida}} = X$$

Para comprovação estrutural foi realizada a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H – 400MHz) e de carbono (RMN¹³C – 100MHz). Primeiramente, ocorreram os testes de solubilidade das substâncias (1-2mg) em clorofórmio e dimetilsulfóxido (DMSO), para definir qual solvente seria o melhor.

Em seguida, cerca de 10 mg de cada um dos produtos foram solubilizados com o solvente de escolha (DMSO), sendo estes acondicionados em tubos de RMN. Por fim, os tubos foram colocados no espectrômetro de RMN.

4.4 Avaliação e Potencial Antifúngico e Antibacteriano

4.4.1 Avaliação da atividade antifúngica *in vitro* contra *Candida albicans*

Os testes foram realizados no Laboratório de Micologia/Departamento de Ciências Farmacêutica/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba. Sob coordenação da professora Edeltrudes de Oliveira Lima.

Microorganismos:

Quatro cepas de leveduras foram usadas para os ensaios: *Candida albicans* (ATCC 90028, ATCC 76645, LM 108 e LM 111). As linhagens fúngicas foram mantidas no meio Agar Sabouraud Dextrose-ASD (DIFCO®) na temperatura de 4 °C (geladeira) e 35 °C na estufa para avaliar o crescimento.

Drogas Teste:

Foram testados 11 compostos, estes sendo derivados tiofênicos com diversos aldeídos substituintes, nomeados de 8CN_x.

Antifúngico padrão:

A Nistatina (SIGMA-ALDRICH®) foi o antifúngico padrão utilizado como controle na execução da metodologia dos ensaios de atividade biológica.

Suspensão/Inóculo:

Na preparação da suspensão dos microrganismos, primeiramente os isolados fúngicos foram cultivados no meio ASD a 35°C/24-48 h para atingirem um bom crescimento. As recentes colônias fúngicas foram suspensas em solução de 8,5g/L NaCl esterilizada. Em seguida, essas suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex. Após agitação, a turbidez de cada suspensão foi comparada e ajustada àquela apresentada pelo tubo 0,5 da escala McFarland, correspondendo a um inóculo, de aproximadamente 10⁶ unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL) (CLEELAND & SQUIRES, 1991; HADACEK & GREGER, 2000; SAHIN *et al.*, 2004).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM):

A determinação da CIM dos produtos foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação (96 poços) (**Figura 5**) contendo poços com fundo em forma de “U” e em duplicação (CLEELAND & SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000; SAHIN *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2010). Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido caldo Sabouraud Dextrose (CSD) (DFICO) duplamente concentrado. Posteriormente, 100 µL da solução dos produtos na concentração inicial de 1024 µg/ml foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 4 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo das espécies nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa fúngica, especificamente (**Figura 6**).

Em paralelo, foram feitos controles de esterilidade (meio líquido RPMI-1640 sem a suspensão dos fungos), de viabilidade/crescimento do microrganismo (no meio líquido isento de produto antifúngico) e com antifúngico padrão (Nistatina).

Os ensaios microbiológicos foram incubados a temperatura de 35-37 °C/24-48 h. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico verificado nas cavidades, quando comparado com o crescimento controle. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos valores de CIM obtidas nos dois ensaios (CLEELAND & SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA *et al.*, 2007).



Figura 7. Placa de microdiluição.

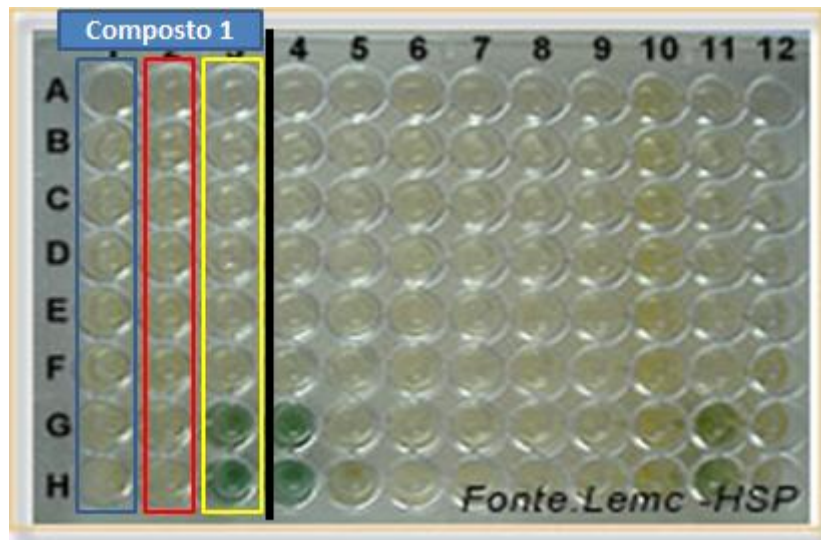


Figura 8. Representação de um teste de microdiluição em caldo. Simulação das três cepas que apresentaram atividade, estas representadas pelas cores: azul, vermelho e amarelo. Em cada linha se encontra uma concentração.

4.4.2 Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro*

Os testes foram realizados no Laboratório de Micologia/Departamento de Ciências Farmacêutica/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba. Sob coordenação da professora Edeltrudes de Oliveira Lima.

Microrganismos:

Para os ensaios antimicrobianos, foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 e LM 229), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 18739 e ATCC 11105), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027, ATCC 258353 e P 03). As cepas foram disponibilizadas pelo Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba. As mesmas foram mantidas em meios de cultura apropriados, Agar Muller Hinton (Difco® Laboratories/France/USA) e conservadas a 4 °C até o momento dos testes.

A suspensão dos microrganismos foi preparada comparando-se a turbidez com o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, a 10⁸ UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACECK; GREEGER, 2000).

Drogas Teste:

Foram testados 11 compostos, estes sendo derivados tiofênicos com diversos aldeídos substituídos, nomeados de 8CN_x. As soluções dos compostos foram preparadas no momento de execução dos testes, dissolvendo-os primeiramente em etanol (q.s.) absoluto e utilizando água destilada esterilizada em quantidade suficiente para obter a concentração inicial de 1024 µg/mL. A partir desta concentração, foram feitas diluições seriadas em razão de dois até alcançar a concentração de 2 µg/mL. Não foi ultrapassada a concentração de 2% de etanol na solubilização das drogas.

Antimicrobiano padrão:

Para o controle de atividade antibacteriana, foi usado cloranfenicol no mesmo intervalo de concentração (1024 até 2 µg/mL), adquiridos da Sigma-Aldrich® (Brasil).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM):

A determinação da CIM dos produtos testados foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 poços com fundo em forma de “U”. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio caldo nutriente (Difco® Laboratories/France/USA) duplamente concentrado. Posteriormente, 100 µL da solução dos produtos, também duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa.

Por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 2 µg/mL. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo dos microrganismos nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa.

As placas foram seladas e incubadas a 35°C por 24 horas para ser realizada a leitura dos resultados. Para isso, foi realizado o seguinte procedimento: adicionou-se 20 µL de solução do corante resazurina a 0,01 % (INLAB®), o qual é reconhecido como um indicador colorimétrico de óxido-redução. Assim, quando ocorreu mudança de coloração do corante (azul para vermelho), considerou-se como indicador de crescimento microbiano e se a cor permanece azul, significa a ausência de crescimento microbiano.

A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos valores de CIM obtidas nos dois ensaios. A atividade antimicrobiana das drogas foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os respectivos valores de CIM: 50-100 µg/mL=excelente/ótima atividade; 100-500 µg/mL=moderada atividade; 500-1024 µg/mL=baixa atividade; > 1024 µg/mL= produto inativo ou a cepa foi resistente (ALLIGIANIS *et al.*, 2001; HOLETZ *et al.*, 2002; HOUGHTON *et al.*, 2007).

5. Resultados e Discussão

5.1 Síntese, Caracterização e Comprovação Estrutural

A **tabela 1** apresenta as características físico-químicas e rendimentos dos compostos.

Composto	F.M.	MM	PF	Rf*	APARÊNCIA	RENDIMENTO
8CN	C ₁₁ H ₁₄ SN ₂	206	98-102°C	0,5cm	marrom escuro	65,6%;
8CN01	C ₁₈ H ₁₈ SN ₂	294	128-130°C	0,7cm	amarelo escuro	29,4%
8CN02	C ₁₈ H ₁₇ SN ₃ O ₂	339	185-190°C	0,5cm	mostarda	34,9%
8CN03	C ₁₈ H ₁₆ SN ₂ Cl ₂	362	178-180°C	0,6cm	amarelo	48,4%
8CN04	C ₁₈ H ₁₇ SN ₂ F	311	124-127°C	0,6cm	mostarda	19,6%
8CN05	C ₁₈ H ₁₇ SN ₃ O ₂	339	180-182°C	0,6cm	mostarda	64,7%
8CN06	C ₂₃ H ₂₁ SN ₃	371	179-181°C	0,5cm	mostarda	36,3%
8CN07	C ₂₃ H ₂₇ SN ₃	375	127-129°C	0,6 cm	laranja	56,4%
8CN08	C ₂₃ H ₂₁ SN ₃	371	182-184°C	0,5cm	amarelo escuro	65,0%
8CN09	C ₁₉ H ₂₁ SN ₂	308	152-153°C	0,5 cm	amarelo escuro	53,1%
8CN10	C ₁₈ H ₁₉ SN ₂ O	310	173-175°C	0,5cm	amarelo escuro	53,8%
8CN11	C ₁₉ H ₂₁ SN ₂ O	324	139-140°C	0,7cm	marrom	53,1%

* eluente (7:3 / hexano:acetato);

Tabela 1: Características físico-químicas e rendimentos dos compostos sintetizados.

O rendimento dos compostos obtidos variou entre 19,6% (8CN04) até 65,6% (8CN). Onde esse valor de 19,6% se apresenta muito abaixo do esperado, com isso pretendemos verificar se isso resultou de uma falha na nossa metodologia, para assim, se de fato for constatada essa falha, aplicarmos as mudanças devidas para que o seu rendimento seja aumentado.

Todos os compostos foram obtidos sob a forma de pó amorfo, com coloração característica, da maior parte dos produtos foi, amarelo, tendo oscilações entre o amarelo, marrom e laranja.

A faixa de fusão variou entre o mínimo de 98-102°C (8CN) e o máximo obtido que foi de 185-190°C (8CN02), todos se mostraram muito distintos dos valores de ponto de fusão dos produtos de partida. A estreita faixa de fusão indica que os métodos de purificação foram adequados.

Os compostos também foram submetidos à técnica espectroscópica para a comprovação de suas estruturas. Sendo esta: espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ¹H (**Figura 7**) e ¹³C (**Figura 8**). (Nos anexos encontram-se os gráficos de RMN ¹H e ¹³C referentes aos demais compostos sintetizados).

O RMN é um método que consiste na submissão dos compostos estudados a um campo magnético forte, onde tais moléculas irão absorver energia de frequência através de núcleos de ^1H ou ^{13}C , e resultando em espectros característicos (SOLOMONS & FRYHLE, 2005).

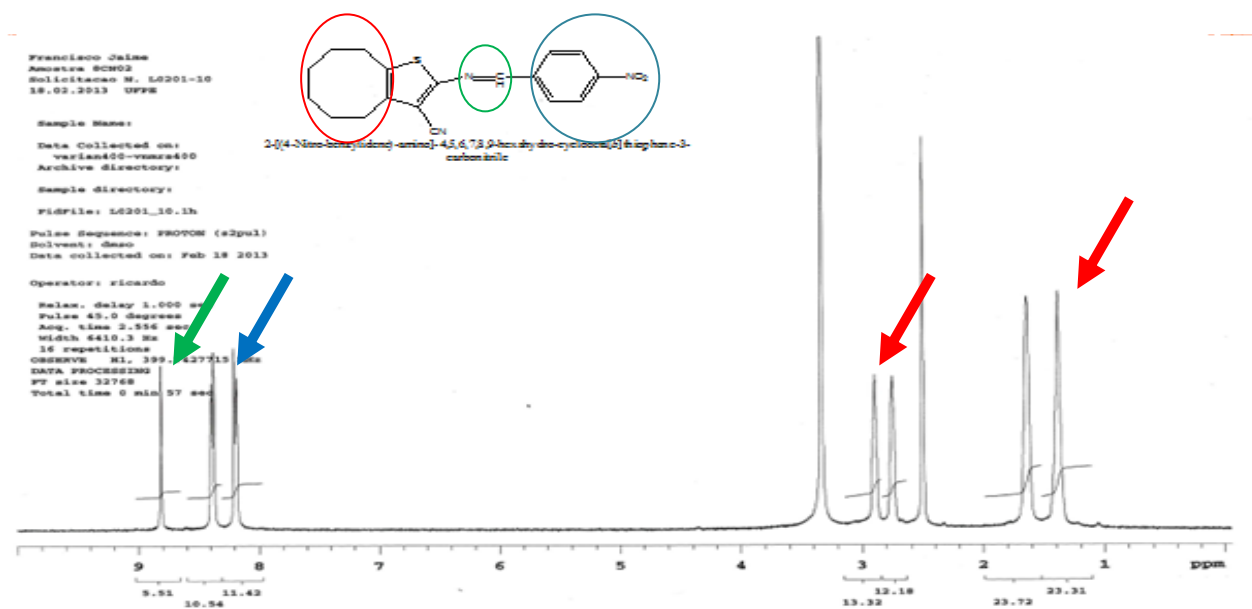


Figura 9. Espectro de RMN ^1H do composto 8CN02. Uma correlação da estrutura com os picos apresentados nos espectros.

Nos espectros de RMN ^1H , os hidrogênios pertencentes ao anel ciclooctano aparecem como uma série de sinais (quatro grupos de sinais), estes com deslocamentos químicos entre 1,78 – 2,80 ppm (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2006). Estes dados se aproximaram aos nossos resultados, onde os deslocamentos variaram entre 1,38 – 2,89 ppm. Na tabela 2 descrevemos todos os dados dos espectros avaliados.

Com relação à ligação $\text{CH}=\text{N}$, observamos que os picos do hidrogênio apareceram em uma frequência mais alta do que a esperada em carbono sp_2 (entre 4,5 a 7 ppm), surgindo entre 8 e 9 ppm. Isto pode ser justificado por meio do fenômeno denominado anisotropia, que provoca desvios químicos de maior grandeza (GONSALVES & MELO, 2007). Associado ao fato dessa insaturação encontrar-se conjugada ao sistema aromático proveniente do aldeído.

Segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2006), os hidrogênios dos aromáticos e heteroaromáticos aparecem na região δ 6,0 e 9,0 ppm, conforme também observado nos nossos espectros.

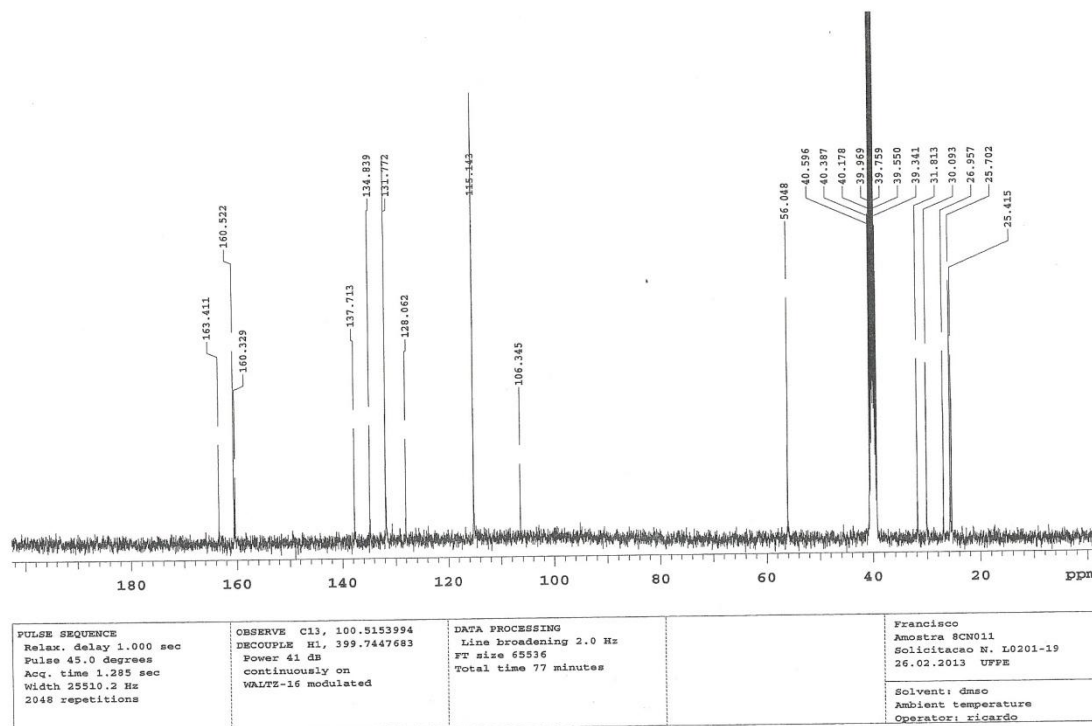


Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C do composto 8CN11.

Tabela 2 – Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ) – Valores expressos em ppm (DMSO, 400 MHz)

Compostos	RMN ^1H		
	Ciclooctano	Aromático	CH=N
8CN01	1,38 (4H, s); 1,63 (4H, s); 2,73 (2H, s); 2,86 (2H, s);	7,56 (3H, d, J=8,0Hz); 7,96 (2H, d, J = 6,8 Hz);	8,67 (1H, s);
8CN02	1,38 (4H, s); 1,64 (4H, s); 2,75 (2H, s); 2,89 (2H, s);	8,19 (2H, d, J = 8,4 Hz); 8,38 (2H, d, J = 8,4 Hz);	8,81 (1H, s);
8CN03	1,39 (4H, s); 1,64 (4H, s); 2,75 (2H, s); 2,88 (2H, s);	7,62 (1H, d, J= 7,6 Hz); 7,80 (1H, s); 8,14 (1H, d, J= 7,2 Hz);	8,78 (1H, s);

8CN04	1,38 (4H, s); 1,62 (4H, s); 2,72 (2H, t, J = 5,6 Hz); 2,86 (2H, t, J = 5,6Hz);	7,40 (2H, t, J = 8.8 Hz); 8,03 (2H, t, 7,6 Hz);	8.67 (1H, s);
8CN05	1,38 (4H, s); 1,64 (4H, s); 2,74 (2H, t, J=4,8 Hz); 2,89 (2H, t, J = 4,8 Hz);	7,81 (1H, t, J = 7,2); 7,91 (1H, t, J = 7.2 Hz); 8,14 (1H, d, J= 7,6 Hz); 8,19 (1H, d, J= 7,6 Hz);	8,93 (1H, s);
8CN06	1,38 (4H, s); 1,63 (4H, s); 2,74 (2H, s); 2,87 (2H, s);	7,53 (1H, m); 7,94 (2H, d, J= 8.0 Hz); 8,08 (2H, d, J= 8.0 Hz); 8,18 (1H, d, J= 7.2 Hz); 8,61 (1H, d); 8,73 (1H, s);	8,99 (1H, s);
8CN07	1,37 (4H, s); 1,59 (18H, s); 2,69 (2H, s); 2,81 (3H, s); 3,40 (4H, s);	7,01 (2H, d, J= 8,4 Hz); 7,75 (2H, d, J = 8,4 Hz);	8,41(1H, s);
8CN08	1,39 (4H, s); 1,64 (4H, s); 2,74 (2H, s); 2,88 (2H, s);	7,42 (1H, m); 7,94 (1H, t, J = 7,6 Hz); 8,08 (1H, d, J= 7,6 Hz); 8,28 (1H, d, J= 7,6 Hz);	8.73 (1H, s);
8CN09	1,37 (4H, s); 1,62 (4H, s); 2,72 (2H, s); 2,85 (2H,s);	7,36 (2H, d, J= 6,8 Hz); 7,86 (2H, d, J= 7,2 Hz);	8,62 (1H, s); *CH ₃ = 2,50 (3H, s);
8CN10	1,38 (4H, s); 1,63 (4H, s); 2,72 (2H, t); 2,86 (2H, s);	δ= 6,98 (2H, m); 7,45 (1H, t, J = 7,6 Hz); 7,78 (1H, d, J= 8,0 Hz);	8,87 (1H,s); *OH = 11.48 (1H, b5);
8CN11	1,37 (4H, s); 1,62 (4H, s); 2,71 (2H, s); 2,84 (2H, s);	7,10 (2H, d, J = 8,8 Hz); 7,92 (2H, d, J= 8.8 Hz);	8,58 (1H,s); *CH ₃ = 3,85 (3H, s);

* simpleto (s); dupleto (d); tripleto (t); multipleto (m).

A partir dos espectros de RMN ¹³C avaliados, pudemos assim confirmar a quantidade de carbonos presente em cada uma das moléculas. A quantidade de carbonos totais dos compostos variou entre 18 e 23. Algumas variações podem ocorrer dependendo da existência de carbonos homotópicos da molécula. No espectro do

8CN01 foi encontrado um total de 16 carbonos. No espectro do 8CN08 foi encontrado um total de 21 carbonos. Na **tabela 3** apresentamos deslocamentos químicos dos carbonos de todas as moléculas.

Tabela 3 – Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ) – Valores expressos em ppm (DMSO, 100 MHz)

RMN ^{13}C	
Composto	Deslocamentos
8CN01	24,9;25,2;25,3;26,5;29,6;31,3;107,0;114,4;129,0;129,2;132,5;134,8;135,5;137,5;159,0;160,6;
8CN02	24,9;25,1;25,2;26,6;29,6;31,3;108,8;114,2;124,2;130,0;137,6;138,1;140,4;149,1;157,8; 158,3;
8CN03	24,8;25,1;25,1;26,4;29,4;31,1;108,1;114,0;128,2;129,6;129,7;130,5;136,0;137,0;137,5;138,0;154,4;157,8;
8CN04	24,9;25,2;25,2;26,5;29,6;31,3;107,0;114,4;116,2;116,4;131,5;131,7;135,5;137,5;158,8;159,4;163,3;165,8;
8CN05	25,4;25,6;25,7;27,0;30,0;31,8;108,9;114,5;125,3;129,4;129,8;133,1;134,4;137,8;138,6; 149,7;157,0;158,2;
8CN06	24,9;25,2;25,2;26,5;29,6;31,3;107,2;114,4;123,9;127,4;129,8;134,3;134,4;134,5;135,7;137,6;140,7;147,8;149,2;158,9;159,9;
8CN07	23,9;24,9;24,9;25,2;26,4;29,6;31,3;47,7;104,3;113,6;115,0;123,1;131,3;132,8;136,8;153,6;159,7;161,0;
8CN08	25,4;25,7;27,0;30,1;31,8;107,6;114,9;121,3;123,8;127,5;130,1;135,7;136,3;137,9;138,1;142,6;150,2;155,3;159,5;160,5;186,4;
8CN09	9,83;13,4;13,7;15,0;18,1;19,8;95,0;103,0;117,7;118,2;120,7;123,6;125,9;131,5;147,8;149,0;
8CN10	24,9;25,1;25,2;26,4;29,5;31,3;106,3;114,3;116,8;119,5;119,7;130,9;134,4;135,5;137,3;158,1;159,7;160,0;
8CN11	25,4;25,7;26,9;30,0;31,8;56,0;106,3;115,1;128,0;130,4;131,7;134,8;137,7;160,3;160,5;163,4;

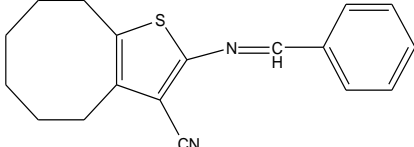
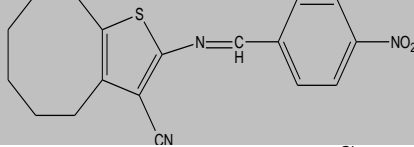
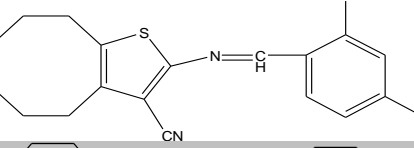
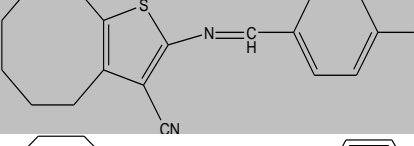
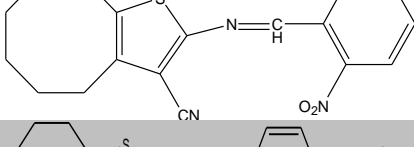
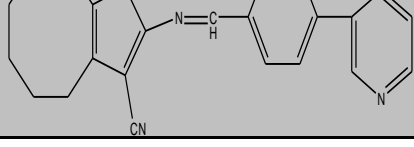
5.2 Avaliação do Potencial Antifúngico

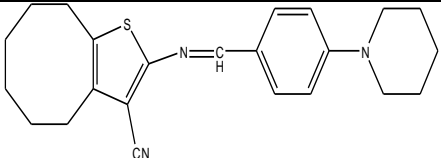
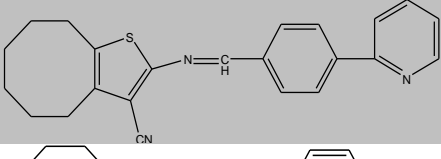
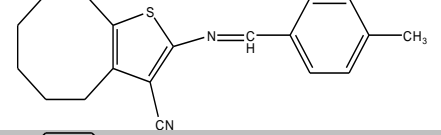
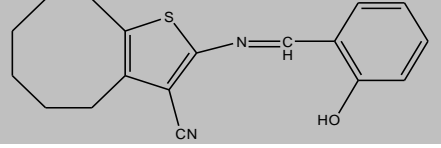
Os resultados dos ensaios da atividade antifúngica dos compostos sintetizados sobre cepas fúngicas estão apresentados na **Tabela 4**.

Todos os produtos produziram inibição sobre o crescimento das espécies fúngicas *C. albicans* ATCC 76645; *C. albicans* ATCC 90028 e *C. albicans* LM 111 em diferentes concentrações, a exceção da linhagem de *C. albicans* LM 108, que se apresentou resistente.

Obteve-se uma CIM para *C. albicans* ATCC 76645 e *C. albicans* ATCC 90028 de 512 µg/ mL para os produtos 1, 2, 4, 5 e 6, e de 1024 µg/ mL para os produtos 3 e 10. Os produtos 7, 8 e 9 foram os mais ativos, sendo capazes de inibir o crescimento de três das quatro cepas, sendo as linhagens *C. albicans* ATCC 76645 e *C. albicans* LM 111 com CIM de 512 µg/ mL e a linhagem *C. albicans* ATCC 90028, com os menores valores de CIM (128 µg/ mL). O composto 8CN11 não pôde ser avaliado devido ao fato de não ter sido solúvel (solvente utilizado: Etanol).

Tabela 4. Estrutura molecular dos compostos e valores de CIM frente as *C. albicans*.

Composto	Estrutura	CIM (µg/mL)			
		<i>C. albicans</i> ATCC 76645	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. albicans</i> LM 108	<i>C. albicans</i> LM 111
8CN01		512	512	≥1024	1024
8CN02		512	512	≥1024	1024
8CN03		512	1024	≥1024	1024
8CN04		512	512	≥1024	1024
8CN05		512	512	≥1024	1024
8CN06		512	512	≥1024	1024

8CN07		512	128	≥1024	512
8CN08		512	128	≥1024	512
8CN09		512	128	≥1024	512
8CN10		1024	1024	≥1024	512
Nistatina (Controle)		-	-	-	-

Os compostos 8CN07 (substituinte: 4-(1-piperidinil)-benzaldeído), 8CN08 (substituinte: de 4-(piridin-2-il) - benzaldeído) e 8CN09 (substituinte: *p*-tolualdeído) (512 µg/ml), se mostraram os mais eficazes na inibição do crescimento dos fungos. Quando a posição do grupamento piridinil foi alterada de 2 (8CN08) para 3 (8CN06), houve uma pequena diminuição da atividade inibitória.

Ao ser comparado com outros aldeídos monossustituídos, observa-se que a adição do aldeído aromático na posição *orto* e *para*, além do sem substituição (8CN01 – substituinte: benzaldeído), tende a possuir um nível de inibição a uma menor concentração (512 µg/ml), porém em uma proporção de 50%.

Podemos ainda ressaltar que o composto 8CN10 (substituinte: 2-OH) e o dissustituído 8CN03 (substituinte: 2,4-diclorobenzaldeído), foram duas vezes menos ativos que os demais compostos.

Baseados nos estudos sobre a teoria da densidade funcional, realizados por SCOTTI, L. *et al.* (2012), foi observado que a solubilidade em água exerce forte efeito sobre a atividade antifúngica (com relação a cepas de *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*) de derivados de 2-aminotiofeno (**Figura 9**). Neste contexto, observou-se

que os compostos que apresentam elevado valor de log P (hidrofobicidade) são menos ativos.

Os derivados cicloocta[*b*]tiofenos apresentam valores de log P ainda superiores aos do estudo de SCOTTI, L. *et al.* (2012), o que pode justificar a baixa atividade antifúngica dos derivados testados. Ainda de acordo com os estudos de SCOTTI, L. *et al.* (2012), notou-se a partir das análises CPCA e PCA e descritores do VolSurf, que propriedades hidrofílicas estão diretamente correlacionadas com os dados biológicos e são essenciais para a atividade antifúngica de cicloalquil[*b*]tiofenos.

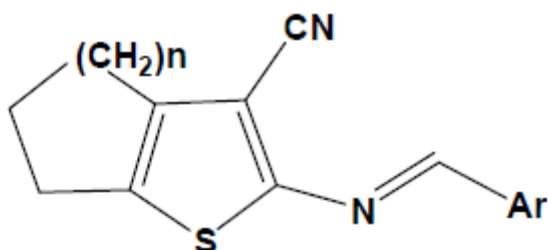


Figura 11. Estrutura geral dos 2-aninotiofenos citados no estudo.

5.3 Avaliação do Potencial Antibacteriano

Obtivemos resultados negativos para todos os compostos analisados, ou seja, nenhum composto apresentou atividade antibacteriana frente às cepas testadas, pois todas as drogas apresentaram CIM > 1024 µg/mL (maior dose testada). Ao contrário dos resultados obtidos por Aly *et al.* (2011), que observaram que os compostos que apresentam a presença de halogênios, e grupos metil, apresentaram melhor atividade antimicrobiana.

6. Conclusões

Foram sintetizados 11 novos derivados 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila todos sob a forma de pó na cor amarela variando apenas em tons, com exceção de composto que se apresentou na cor laranja.

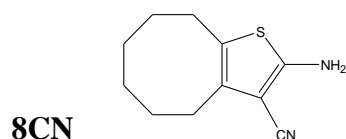
A rota sintética empregada de um modo geral mostrou-se eficiente para a síntese dos compostos, uma vez que resultou nos compostos desejados, porém algumas modificações podem ainda ser pesquisadas visando aumento do rendimento de alguns compostos. Apresentaram ainda uma grande facilidade de purificação, não havendo necessidade da utilização de processos cromatográficos, como a cromatografia em coluna.

Todos os compostos tiveram suas características físico-químicas determinadas, e suas estruturas comprovadas por meio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono.

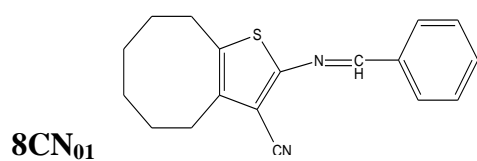
Todos os produtos produziram inibição sobre o crescimento das espécies *Candida albicans* (ATCC 90028, ATCC 76645, LM 108 e LM 111), a exceção da linhagem de *C. albicans* LM 108 que se apresentou resistente. Obteve-se uma CIM para *C. albicans* ATCC 76645 e *C. albicans* ATCC 90028 de 512 µg/ mL dos produtos 1, 2, 4, 5 e 6, e de 1024 µg/ mL dos compostos 3 e 10. Os produtos 7, 8 e 9 foram os mais ativos inibindo três das quatro cepas avaliadas, sendo duas com valores de CIM de 512 µg/ mL e a linhagem *C. albicans* ATCC 90028, com o menor valor de CIM de 128 µg/ mL.

Nenhum dos compostos foi capaz de inibir o crescimento das bactérias avaliadas na maior concentração testada (CIM > 1024 µg/mL).

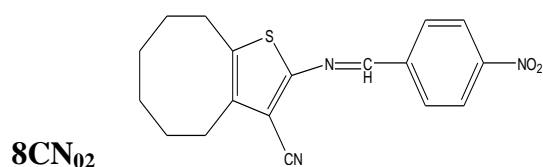
7. Procedimento Experimental



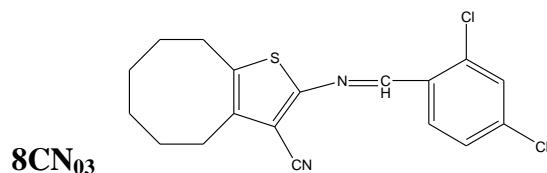
Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 5 g de ciclooctanona (0,044 mols), 1,40 g de enxofre elementar (0,044 mols) e 2,81 g de malononitrila (0,044 mols) em 30 mL de Etanol. Em seguida foi adicionado morfolina (0.6 eq.) gota a gota, sob banho de gelo. A solução foi deixada sob agitação à temperatura ambiente. Após 6h foi constatado o término da reação, por meio de cromatografia em camada delgada. A solução teve o volume reduzido a 10 mL com auxílio de um evaporador rotativo. Foi adicionada 20 mL de uma solução etanol:água (1:1), e o produto precipitou. Os cristais resultantes foram filtrados, lavados com uma solução etanol:água (1:1) e secos em dessecador sob vácuo.



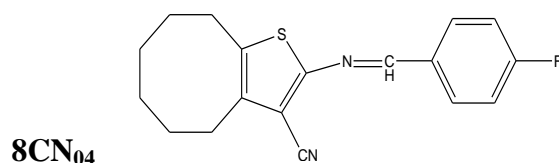
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,181 ml de benzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente durante 24 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.



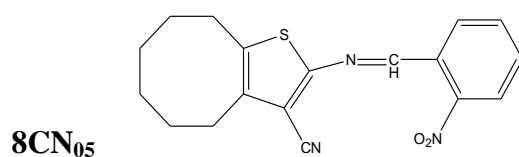
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,162g de 4-nitrobenzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente durante 27 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.



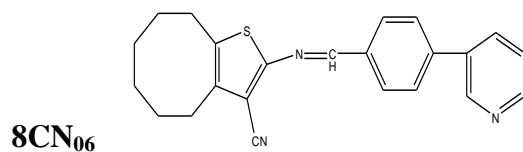
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,188g de 2,4-diclorobenzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente durante 27 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.



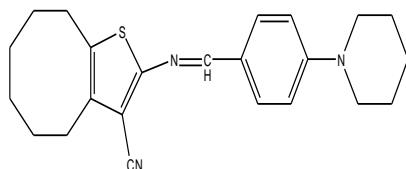
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,188ml de 4-flúorbenzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura de 60°C durante 6 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.



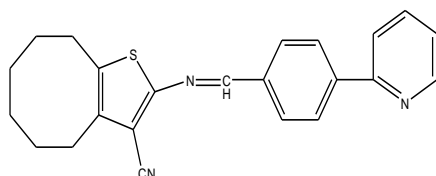
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,162g de 2-nitrobenzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura de 60°C durante 28 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.



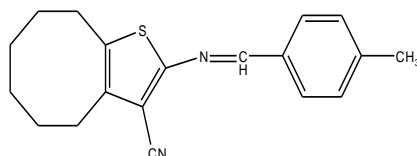
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,328g de 4-(piridin-3-il)-benzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 21 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

8CN₀₇

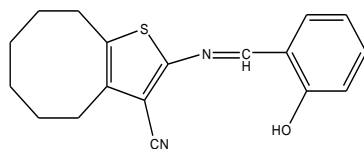
Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,340g de 4-(1-piperidinil)-benzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 19 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

8CN₀₈

Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,328g de 4-(2-piridin-2-il)-benzaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 19 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

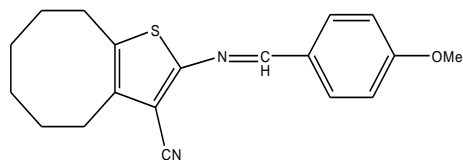
8CN₀₉

Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,211g de *p*-tolualdeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 5 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

8CN₁₀

Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,189 g de salicialdeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 22 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

8CN₁₁



Em um balão de fundo redondo foram adicionado 0,2 g do 8CN e 0,218 g de anisaldeído em 7ml de etanol e 6 gotas de ácido acético. A reação ocorreu à temperatura ambiente por 24 horas. O sólido precipitado foi filtrado em funil sintetizado, lavado com etanol gelado.

Referências

- ALLIGIANIS, N. *et al.* **Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, [s.n.], [S.1], v.40, p.4168-4170, 2001.
- ALY, H. M.; SALEH, N. M; ELHADY, H. A. **Design and synthesis of some new thiophene, thienopyrimidine and thienothiadiazine derivatives of antipyrine as potential antimicrobial agents.** European Journal of Medicinal Chemistry, [s.n.], [S.1], v. 46, 2011.
- AMR, A. E. E. *et al.* **Antiarrhythmic, serotonin antagonist and antianxiety activities of novel substituted thiophene derivatives synthesized from 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-N-phenylbenzo[b]thiophene-3-carboxamide.** European Journal of Medicinal Chemistry, [s.n.], v. 45, p. 5935–5942, 2010.
- ARHIN, F. *et al.* **A new class of small molecule RNA polymerase inhibitors with activity against Rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus*.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [s.n], [S.1], 2006.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos.** Porto Alegre: Artmed, p.243, 2001.
- BERGOLD, A. M; GEORGIADIS, S. **Novas drogas antifúngica: Uma revisão.** Visão Acadêmica, [S.1], v.5, n.2, p.159-72, 2004.
- BONDOCK, S; FADALY, W; METWALLY, W. A. **Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazole, thiophene and pyrazole derivatives containing benzothiazole moiety.** European Journal of Medicinal Chemistry, [s.n], 2010.
- BURGER, A. **Isosterism and Bioisosterism in Drug Design. Progress in Drug Research.** Progress in Drug Research, [s.n], v. 37, p.287–371, 1991.
- BYMASTER, F. P. *et al.* **Duloxetine (Cymbalta™), a dual inhibitor of serotonin and norepinephrine reuptake.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, [s.n], v.13, p.4477–80, 2003.

CARRILLO-MUÑOZ, A. *et al.* **Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, [s.n], 2008.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. **Evaluation of new antimicrobials “in vitro” and in experimental animal infections.** In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine.** Willians & Wilkins, [s.n], p. 739-788, 1991.

CHO, N.S. *et al.*; **4-Substituted(benzo[b]thiophene-2-carbonyl)guanidines as novel Na⁺ /H⁺ exchanger isoform-1 (NHE-1) inhibitors.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, [s.n], v.15, p.2998–3001, 2005. In: DESAI, N.C. *et al.* **Synthesis and antimicrobial screening of 1,3,4-oxadiazole and clubbed thiophene derivatives.** *Journal of Saudi Chemical Society*, [s.n], 2011.

CHUNG, M.C.; FERREIRA, E.I. **O processo de latenciação do planejamento de fármacos.** *Química Nova*, [s.n], v. 1, n. 22, p. 75-84, 1999.

CONNOR, D.T. *et al.* *Journal of Medicinal Chemistry*, 1992. In: ISLOOR, A. M., KALLURAYA, B., PAI, K. S. **Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives.** *European Journal of Medicinal Chemistry*. Índia, [S.l.], 2010.

CZAICA, V. *et al.* **Antifungal susceptibility testing in chronically recurrent vaginal candidosis as basis for effective therapy.** *Mycoses*, [S.l.], 2000.

DALLEMAGNE, P. *et al.* **Synthesis and Biological Evaluation of Five-Membered Heterocycles Fused to Cyclopenta[c]thiophene as New Antitumor Agents.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, [S.l.], v. 11, p.1161-7, 2003.

DALVIE, D.K. *et al.* **Biotransformação de cinco membros anéis heterocíclicos aromáticos.** *Chemical Research in Toxicology*, [S.l.], v. 15, p.269 -299, 2002.

EDMOND, M. B. *et al.* **Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis.** *Clinical Infectious Diseases*, [S.l.], 1999. In: PINTO,

E. *et al.* **Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], 2008.

EDWARDS, L.H. **Fungicidal 2-(N-haloalkylthiosulfonamido)-thiophenes.** US Patent nº3,991,081, 1976.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. **Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients.** The Lancet Infectious Diseases, [S.l.], 2003. In: PINTO, E. *et al.* **Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], 2008.

ERTÜZÜN, V. **The synthesis of 2-amino furan from a nitrile bearing active methylene and α -hydroxyketone and investigation of its properties.** Communications de la Faculté des Sciences de l'Université d'Ankara, [S.l.], v. 32, p. 41-54, 1986.

FALCÃO, J. A.L.; NEVES, R.P. **Potencial antifúngico in vitro e in vivo de novas moléculas derivadas de tiofenos contra leveduras de importância clínica.** Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Micologia, [S.l.], 2010.

FAKHR, I. M. I. *et al.* **Synthesis and pharmacological evaluation of 2-substituted benzo[b]thiophenes as anti-inflammatory and analgesic agents.** European Journal of Medicinal Chemistry, [S.l.], v. 44, n. 4, p. 1718-25, 2008.

FILE JR, T.M. **Visão geral sobre resistência bacteriana nos anos 90.** Ple Chest 2, [S.l.], p. 2-8, 2000.

FREITAS, R.M. **Investigation of oxidative stress involvement in hippocampus in epilepsy model induced by pilocarpine.** Neuroscience Letters. v.462, p.225-229, 2009.

GEWALD, K. **Zur Reaktion von α -Oxo-mercaptanen mit Nitrilen.** Angewandte Chemie, [S.l.], v. 73, n. 3, p. 114, 1961.

GEWALD, K. **2-Amino-thiophene aus α -Oxo-mercaptanen und Methylenaktiven Nitrile**. Chem Ber. p. 3571-7, 1965.

GEWALD, K.; SCHINKE, E.; BÖTTCHER, H. **2-Amino-thiophene aus Methylenaktiven Nitrile, Carbonylverbindungen und Schwefel**. Chem Ber, [S.l.], p. 94-9, 1966.

GRAHAM, S.L. *et al.* Journal of Medicinal Chemistry, [S.l.], 1989. In: ISLOOR, A. M., KALLURAYA, B., PAI, K. S. **Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives**. European Journal of Medicinal Chemistry. Índia, [S.l.], 2010.

GRIBBLE, G.W. *et al.* **Synthesis and diels + alder reactions of 1,3-dimethyl-4-(phenylsulfonyl)-4h-furo{3,4-b}indole-a new annulation strategy for the construction of ellipticine and isoellipticine**. The Journal of Organic Chemistry, [S.l.], p.4518-4523, 1984. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents**. Environmental Toxicology and Pharmacology, [S.l.], v.15, p. 37-44, 2003.

GONSALVES, A. M. d' A. R.; MELO, T. M. V. D. P. **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**. Coimbra, 2007.

HADACEK, F.; GREGER, H. **Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice**. Phytochemistry Anal, [S.l.], v.11, pp. 137-147, 2000.

HOLETZ, F. B. *et al.* **Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, [S.l.], v.97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HORTON, D. A.; BOURNE, G. T.; SMYTHE, M. L. **The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures**. Chemical. Reviews, [S.l.], p. 893–930, 2003. In: PINTO, E. *et al.* **Antifungal activity of synthetic**

di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, [S.l.], v.16, p. 8172–8177, 2008.

HOUGHTON, P. J. *et al.* **Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant.** *Journal of Ethnopharmacology*, [S.l.], v.110, p.391-400, 2007.

HUANG, Y.; DÖMLING, A. **The Gewald multicomponent reaction.** *Molecular Diversity*, [S.l.], v.15, p.3-33, 2011.

HUDSON, J.B. *et al.* **Photoactive antiviral and cytotoxic activities of synthetic thiophenes and their acetylenic derivatives.** *Chemosphere*, [S.l.], v.19, p. 1329- 1343, 1989. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents.** *Environmental Toxicology and Pharmacology*, [S.l.], v.15, p. 37– 44, 2003.

IYENGAR, S. *et al.* **Toxicokinetics of the phototoxic allelochemical α -terthienyl in three herbivorous Lepidoptera.** *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.29, p.1- 9. 1987. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents.** *Environmental Toxicology and Pharmacology*, [S.l.], v.15, p. 37-44, 2003.

KAGAN, J. *et al.* **The synthesis of 2,2-5,3-terthiophene.** *Heterocycles*, [S.l.], p. 1341-1345, 1983. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents.** *Environmental Toxicology and Pharmacology*, [S.l.], v.15, p. 37-44, 2003.

LACAZ, C.S. *et al.* **Química Medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da Farmacoterapia.** *Química Nova*, [S.l.], v. 18, n.1, pp56-64, 1995.

LI, J. J. *et al.* **Contemporary Drug Synthesis.** John Wiley & Sons, [S.l.], p.1–10, 2004.

LIMA, I.O. *et al.* **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [S.l.], v. 16, p.197-201, 2006.

LIMA, M.R.F. *et al.* **The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants.** Revista Brasileira de Farmacognosia, [S.l.], v.16, 2006.

GARIBOTTO, F. M. *et al.* **New small-size peptides possessing antifungal activity.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], v.18, p.158, 2010.

GEWALD, K. **Zur Reaktion von α -Oxo-mercaptanen mit Nitrilen.** Angewandte Chemie, v. 73, n. 3, p. 114, 1961.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock.** Porto Alegre: Artmed, 12.ed., p.1160, 2010.

MALMSTROM, J. *et al.* **Engmann, L. The antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno and 1-telluro analogues.** Journal of the American Chemical Society, [S.l.], p. 3434-3440, 2001. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents.** Environmental Toxicology and Pharmacology, [S.l.], v.15, p.37-44, 2003.

MATSUURA, H. *et al.* **Antibacterial and antifungal polvine compounds from *Glehnia littoralis* ssp. *leiocarpa*.** PlantaMed, [S.l.], p. 256-259, 1996. In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents.** Environmental Toxicology and Pharmacology, [S.l.], v.15, p.37-44, 2003.

MCNEIL, M. M. *et al.* **Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], v.16, 2008.

MENDONÇA JUNIOR, F. J. B. *et al.* **Synthesis and Evaluation of the Antifungal Activity of 2-(substituted-amino)-4,5-Dialkyl-Thiophene-3-Carbonitrile Derivatives.** Latin American Journal of Pharmacy, [S.l.], v. 30, p. 1492-1499, 2011.

MICHELIN, D.C. *et al.* **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais.** Revista Brasileira de Farmacognosia, [S.l.], v.15, p.316-320, 2005.

MOELLERING JR, R.C. **Novos desafios no campo das doenças infecciosas,** [S.l.], 2000. In: ANTUNES, R.M.P. *et al.* **Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes.** Revista Brasileira de Farmacognosia, [S.l.], v.16, n.4, p.517-524, 2006.

MOHAMED, A.A.R.; SHEHAB, M.A.; EL-SHENAWY, S.M. **Synthesis and biological evaluation of 5-substituted benzo[b]thiophene derivatives as anti-inflammatory agents.** Monatsh Chem, [S.l.], v.140, 445–450, 2009. In: ISLOOR, A. M., KALLURAYA, B., PAI, K. S. **Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives.** European Journal of Medicinal Chemistry. Índia, [S.l.], v.45, p.825-830, 2010.

MOHAREB, R. M.; ABBAS, N. S.; IBRAHIM, R. A. **New approaches for the synthesis of thiophene derivatives with anti-tumor activities.** Acta Chimica Slovenica, [S.l.], v.60, p.583–594, 2013.

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

MOREIRA, A.C.P. *et al.* **Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species.** Brazilian Journal of Microbiology, [S.l.], v.41, p. 28-33, 2010.

NAIR, M. G.; ABRAHAM, A. **Thiophene substitutes antitumor antifolates.** US Patent n° 5,260, 9 nov. 1993.

NOBLES, W.L., DEWITT BLANTON, C. **Thiophene compounds of biological interest.** Journal of Pharmaceutical Sciences, [S.l.], v.53, p.115-129, 1964. In: In: MEOTTI, F. C. *et al.* **Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential**

pharmacological agents. Environmental Toxicology and Pharmacology, [S.l.], v.15, p.37- 44, 2003.

ODDS, F. C. Trends Microbiol, 2000. In: PINTO, E. *et al.* **Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], v.16, n.17, p. 8172-8177, 2008.

OLIVEIRA, R.A.G. *et al.* **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica.** Revista Brasileira de Farmacognosia, [S.l.], v.16, n.1, p. 77-82, 2006.

PATERSON, N.E. **Translational research in addiction: Toward a framework for the development of novel therapeutics.** Biochemical Pharmacology, [S.l.], v. 12, n. 81, p. 1388-1407, 2011.

PEREIRA, C.M.P; VENZKE, D.; TROSSINI, G. H. G. **Síntese de heterociclos bioativos derivados do ferroceno.** Química Nova, p.1-10, 2012.

PLOSKER, G. L.; WAGSTAFF, A. J. Drugs, [S.l.], v.50, p.1050–75, 1995.

PRESS, J. B. **The chemistry of heterocyclic compounds: thiophene and its derivatives.** Gronowitz, S. Ed; Wiley and Sons: New York, v.44, p. 353–456, 1985.

PUTEROVÁ, Z.; KRUTOŠÍKOVÁ, A.; VÉGH, D. **Applications substituted 2-aminothiophenes in drug design.** Nova Biotechnologica, [S.l.], v.9, n.2, p. 167-173, 2009.

PUTEROVÁ, Z.; KRUTOSÍKIVÁ, A.; VÉGH, D. **Gewald reaction: synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes.** Arkivoc, [S.l.], v. 1, p. 209-46, 2010.

RAJAPPA, S.; NATEKAR, M. **Comprehensive Heterocyclic Chemistry II.** Elsevier Science Ltd: Oxford, [S.l.], v. 2, p.501–6, 1996.

RAPP, R. P. Changing strategies for the management of invasive fungal infections. Pharmacotherapy, [S.l.], v.24, 2004. In: PINTO, E. *et al.* **Antifungal activity of**

synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety. Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], 2008.

REDDY K., P. K.; REDDY., V. C.; SWAMY S. R., R. **Anti-inflammatory & antioxidant of some new acid chloride derivatives of 2-amino-N-(3-chlorophenyl)-4,5,6,7- tetrahydrobenzo[b]thiophene-3-carboxamide.** Pharmacologyonline, [S.l.], v. 2, p. 572-4, 2009.

RODGERS, J. E.; STEINHUBL, S. R. **Expert Review of Cardiovascular Therapy,** [S.l.], v.4, p.507–22, 2003.

ROMAGNOLI, R. *et al.* **Synthesis and Biological Evaluation of 2- and 3-Aminobenzo[b]thiophene Derivatives as Antimitotic Agents and Inhibitors of Tubulin Polymerization.** Journal of Medicinal Chemistry, [S.l.], v. 50, n. 9, p.2273-7, 2007.

RUSSEL, R. K. **Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: Thiophenes and Their Benzo Derivatives.** Elsevier Science Ltd.: Oxford, v. 2, p.680–682. 1996.

SAHASRABUDHE, M.B. *et al.* **Inhibition of Tumour Growth by Interference of Hexose-mono-phosphate Pathway. Synthesis and Anticancer Properties of Thiophene 2:5 Dicarboxylic Acid.** British Journal of Cancer, [S.l.], v.14, p. 547–554 1960. In: YESILEL, O. Z *et al.* **Synthesis, crystal structures and antimicrobial properties of copper(II)-thiophene-2,5-dicarboxylate complexes with N-donor ligands.** Polyhedron, [S.l.], v. 39, p. 14-24, 2012.

SAHIN, F. *et al.* **Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem.** Microbiological Research, [S.l.], v.163, p. 337-344, 2006.

SANDMEIER, R.; SECKINGER, K. **Thiophene Derivates,** US Patent n° 4,472,472: a8 de Setembro de 1984.

SANTOS, I.M.S.; TOMÉ, A.R.; FREITAS, R.M. **Estudos histopatológicos dos efeitos do ácido lipóico nas convulsões induzidas pela pilocarpina.** Revista Neurociências, [S.l.], v.18, p.308-313, 2010.

SCOTTI, L. *et al.* **Experimental Methodologies and Evaluations of Computer-Aided Drug Design Methodologies Applied to a Series of 2-Aminothiophene Derivatives with Antifungal Activities.** Molecules, [S.l.], v.17, p. 2298-2315, 2012.

SILVA, E.P.; FREITAS, R.M. **Vigabatrin: mechanisms of action, pharmacological effects, clinical studies and adverse reactions.** Revista Eletrônica de Farmácia, [S.l.], v.6, p.23-35, 2009.

SILVA, F.O. *et al.* **Central nervous system effects of iso-6-spectaline (SPEC) isolated from Senna spectabilis var. excelsa (Schrad).** Journal of Pharmaceutical Sciences, [S.l.], v.3, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds.** Ed. LTC, [S.l.], 2006.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, G. B. **Química orgânica.** Rio de Janeiro: LTC, 8.ed., v.1, 2005.

SORKIN, E. M.; BROGDEN, R. N. **Drugs,** [S.l.], v.29, p.208–35, 1985.

STOPPA, M. A.; CASEMIRO, L.; VINHOLIS, A.; CUNHA, W.; SILVA, M.; MARTINS, C.; *Química Nova*, v.32, p. 498, 2009.

VALDERRAMA, J. A. *et al.*; *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2002. In: RYU, C. *et al.* **Synthesis and antifungal activity of 5-arylamino-4,7-dioxobenzob[*b*]thiophenes.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* Universidade Ewha Womans: Seodaemun-ku, [S.l.], v.15, p. 2617–2620, 2005.

VALDERRAMA, J. A. *et al.*; *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1999. In: RYU, C. *et al.* **Synthesis and antifungal activity of 5-arylamino-4,7-**

dioxobenzo[b]thiophenes. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. Universidade Ewha Womans: Seodaemun-ku, [S.l.], v.15, p. 2617–2620, 2005.

VICINI, P. *et al.* **Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, [S.l.], v.14, 2006.

WALSH, T.J. *et al.* **Infectious Diseases Society of America.** Clinical Infectious Diseases, [S.l.], v.46, p.27, 2008.

WANG, C. Y. *et al.* **Antibacterial activity of nitropyrroles, nitrothiophenes, and aminothiophenes *in vitro*.** Antimicrobial agents and chemotherapy, [S.l.], v. 8, n. 2, p. 216-9, 1975.

WARDAKHANI, W. W.; ABDEL-SALEM, O.M.E.; ELMEGEED, G.A. *acta pharmaceutica*, v.59, p.1-14, 2008. In: In: ISLOOR, A. M., KALLURAYA, B., PAI, K. S. **Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives.** European Journal of Medicinal Chemistry. Índia, [S.l.], v.45, p.825-830, 2010.

YOSHIDA, Z.-I.; YAMADA, Y.; TAMARU, Y. *Chemistry Letters*, p.423–4, 1977.

ZENI, G. *et al.* **Tetrahedron Letters**, [S. l.], v.42, p.7921–8127, 2001.

ZHONGHAI, W. **Experimental and theoretical studies on organic attachment to silicon surfaces.** Tese (Doutorado em Filosofia) - Departamento de Química, Universidade Nacional de Singapura, p. 203, 2005.

ANEXOS

Anexo I – Espectros de RMN H¹

2-[(Benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila (8CN01)

Francisco Jaime
Amostra 8CN01
Solicitacao N. I0201-9
18.02.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vnmr4400

Archive directory:

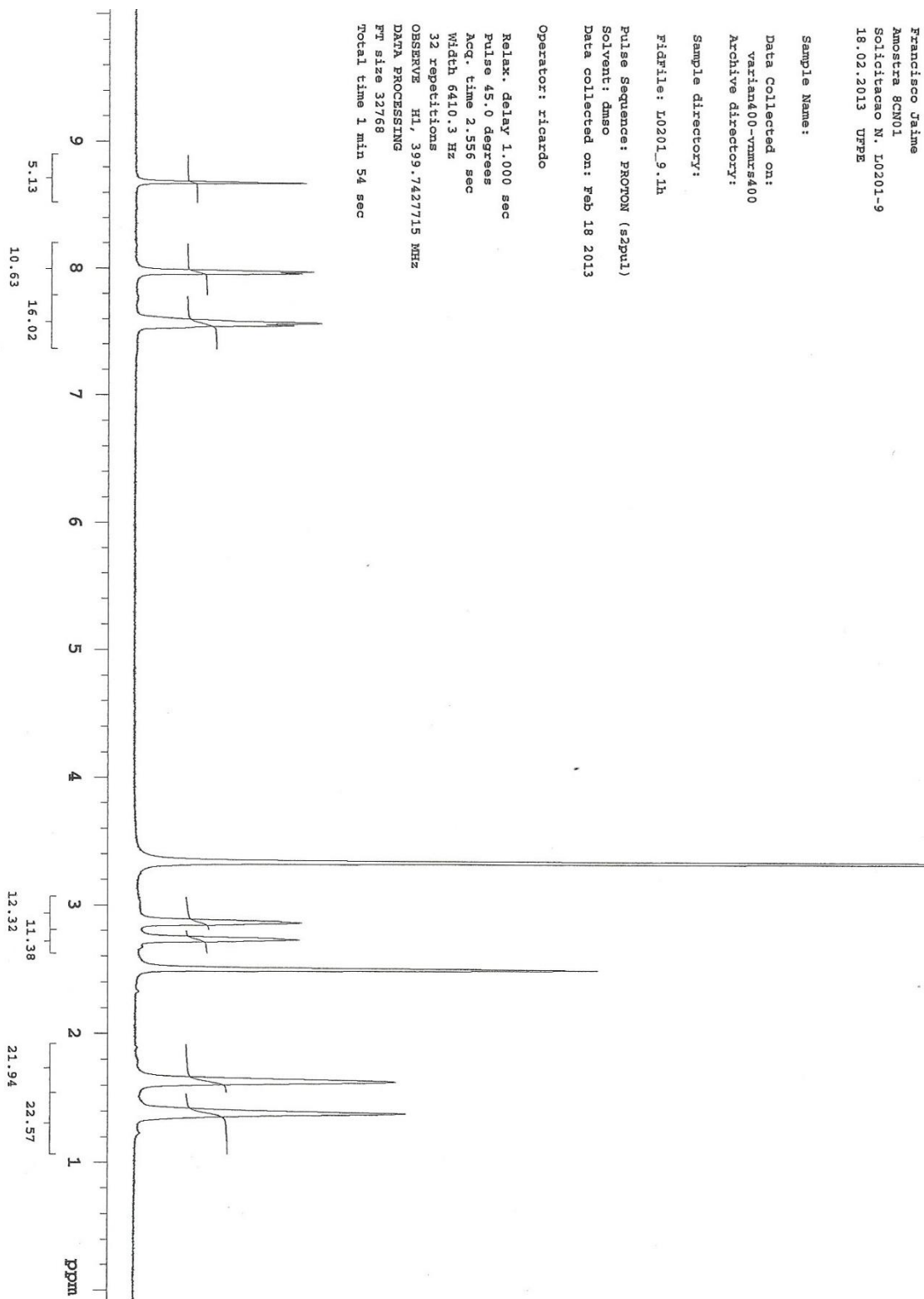
Sample directory:

Fidfile: I0201_9_1h

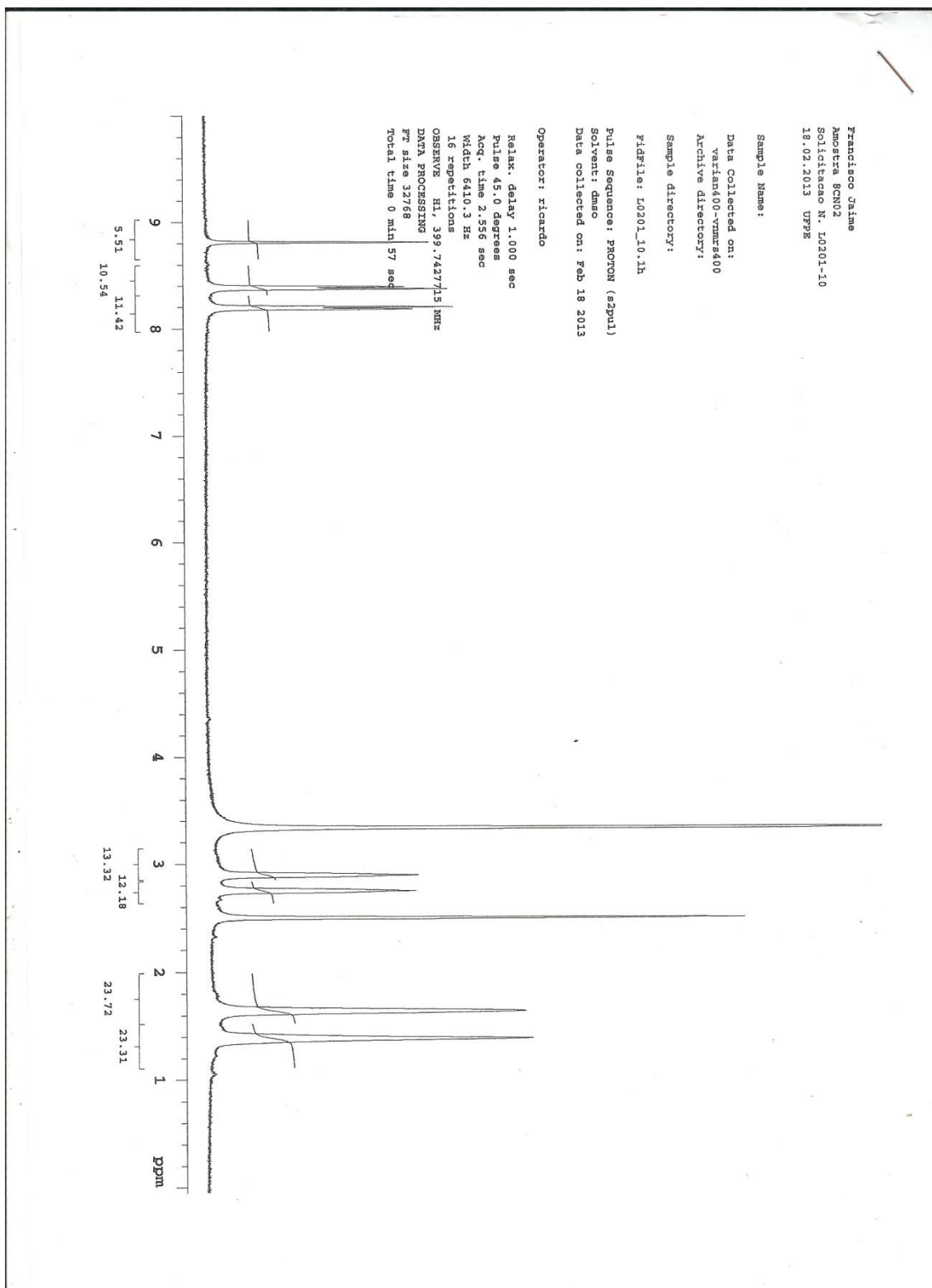
Pulse Sequence: PROTON (s2pul1)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 18 2013

Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 399.742715 MHz
DATA PROCESSING
Fw size 32768
Total time 1 min 54 sec



2-[(4-Nitro-benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3 carbonitrila (8CN02)



2-[(2,4-Dicloro-benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila (8CN03)

Francisco Jaime
Mostrá 8CN03
Solicitud N. I0201-11
18.02.2013 UPPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vnmrs400
Archive directory:

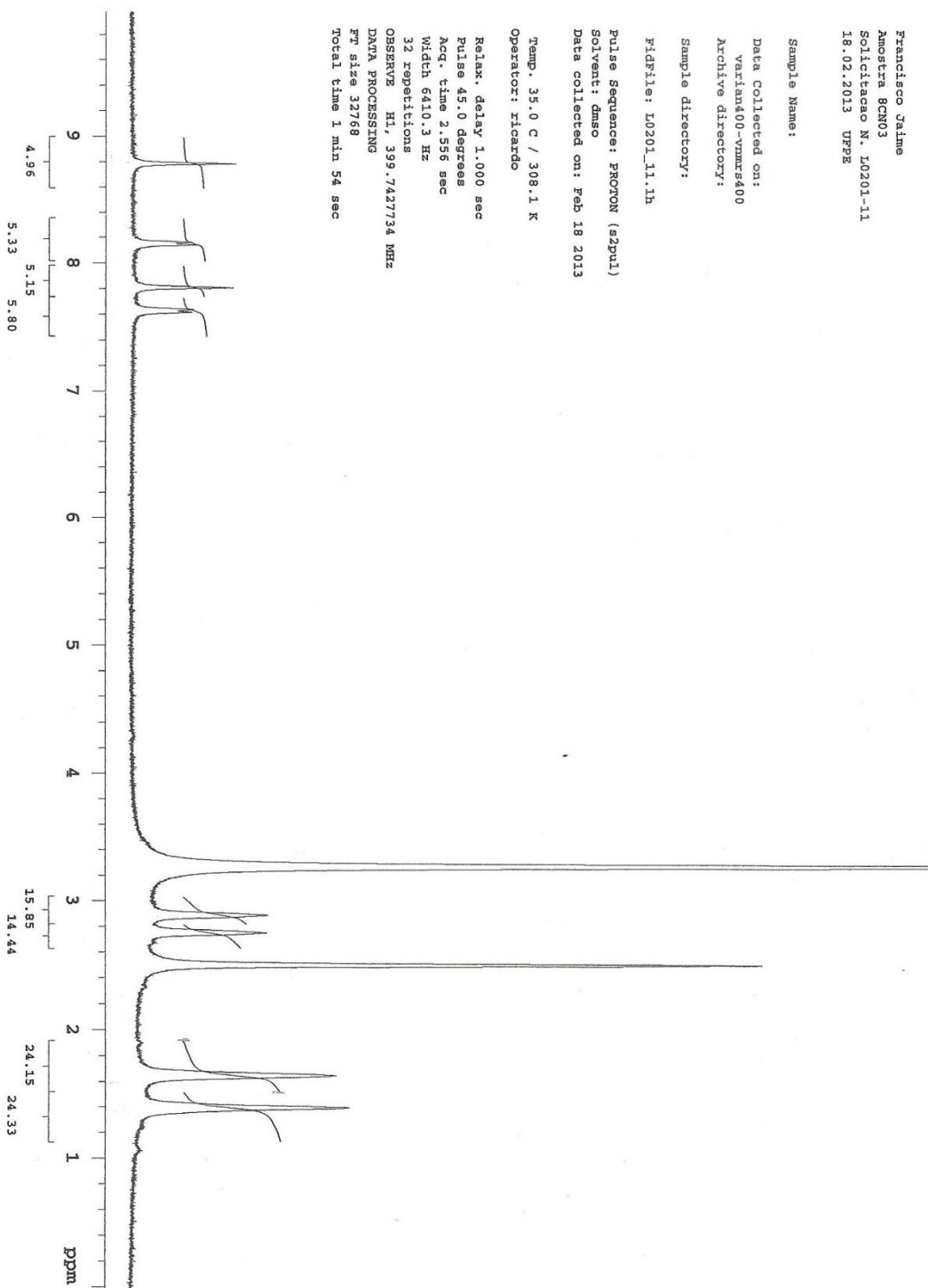
Sample directory:

File: I0201_11.1h

Pulse Sequence: PROTON (zgpg3)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 18 2013

Temp. 35.0 C / 308.1 K
Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 399.742734 MHz
DATA PROCESSING
F2 size 32768
Total time 1 min 54 sec



2-[(4-Flúor-benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila
(8CN04)

Francisco Jaime
Avenida 8CN04
Solicitação N. 10201-12
19.02.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vmrms400
Archive directory:

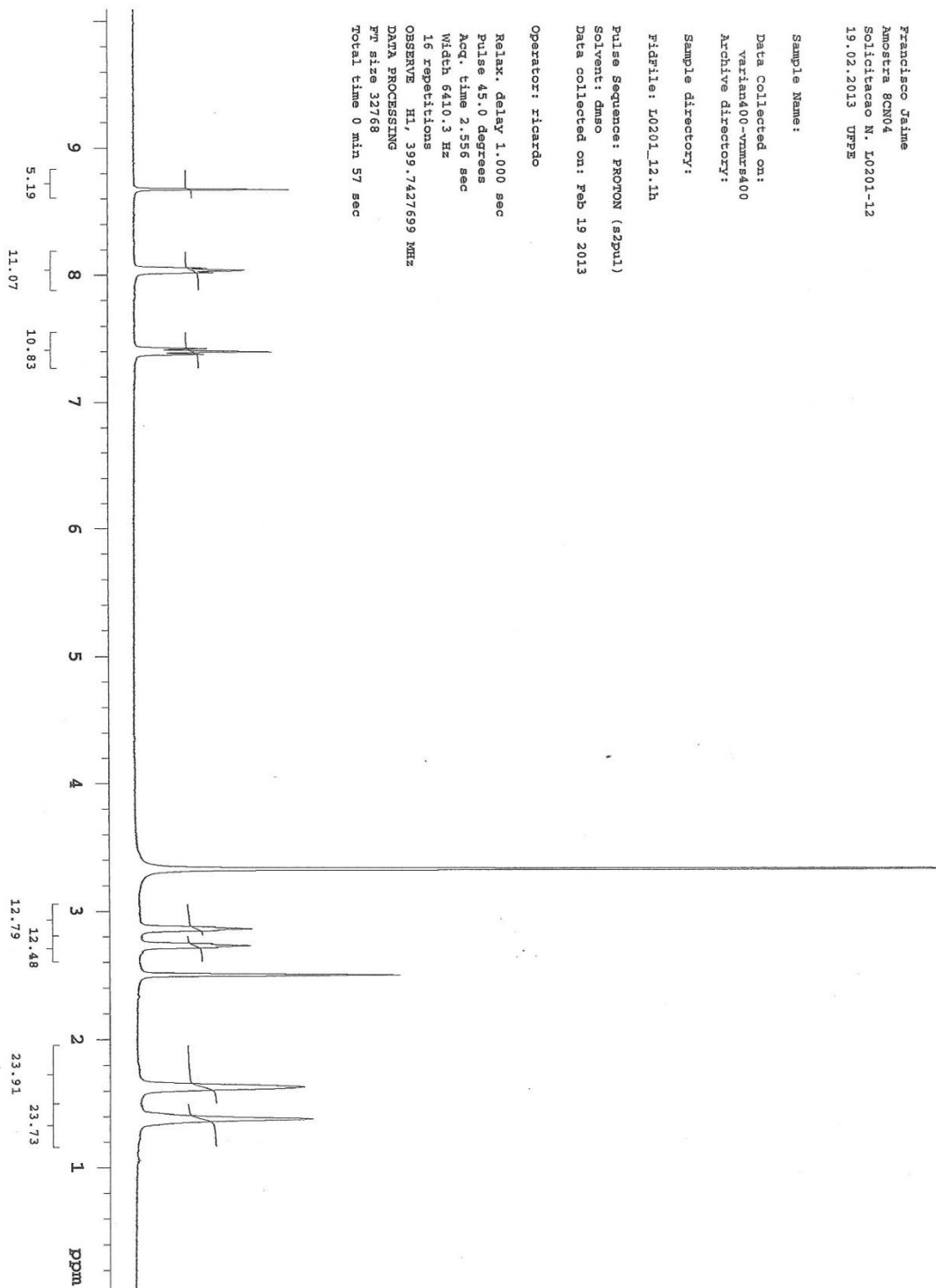
Sample directory:

Fidfile: 10201_12.1h

Pulse Sequence: PROTON (a2pu1)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 19 2013

Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 399.7427699 MHz
DATA PROCESSING
Fw size 32768
Total time 0 min 57 sec



2-[(2-Nitro-benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila
(8CN05)

Francisco Jaime
Amostra 8CN05
Solicitação N. 10201-13
19.02.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-vnmrs400
Archive directory:

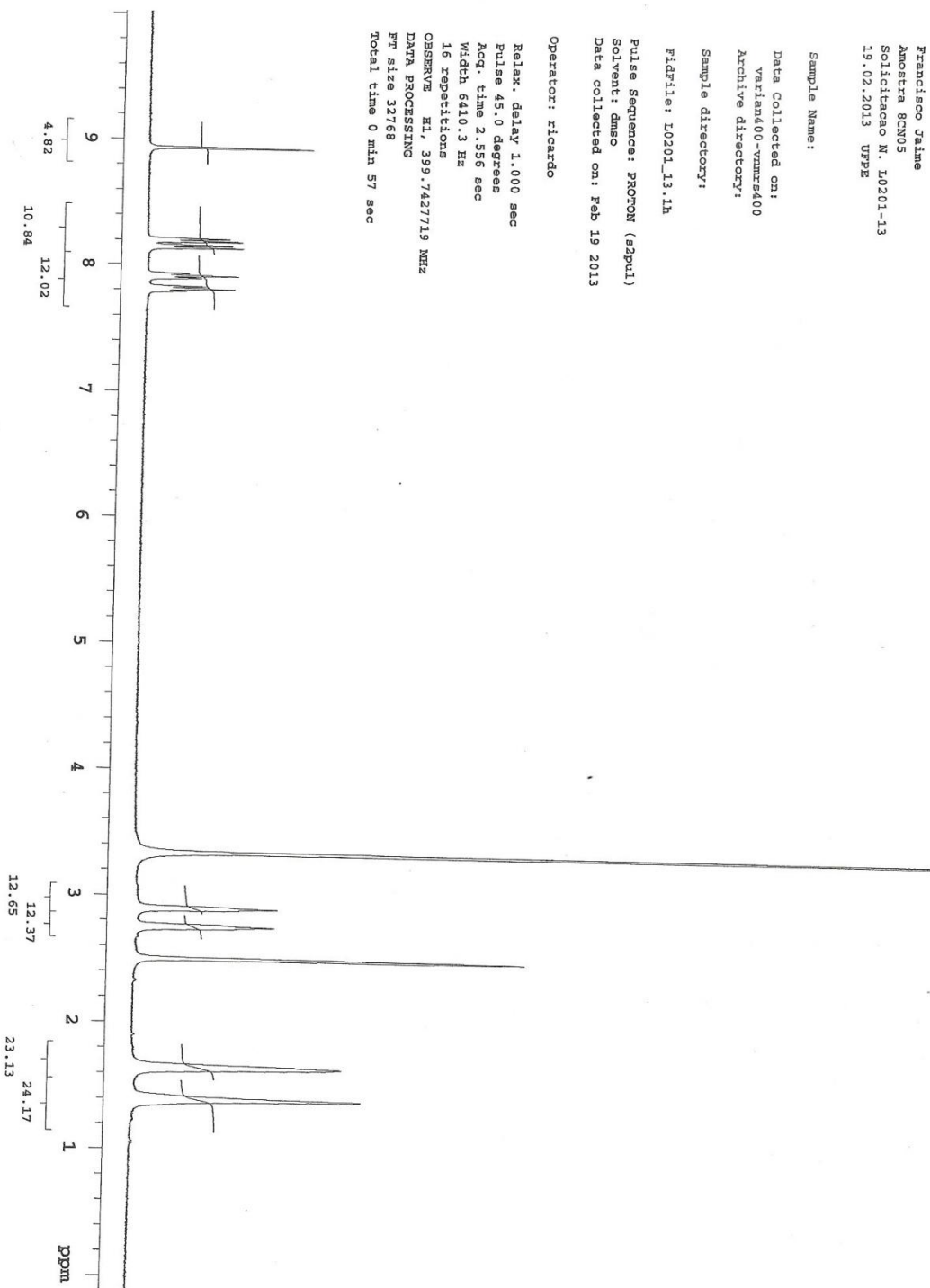
Sample directory:

F1:file: 10201_13.1h

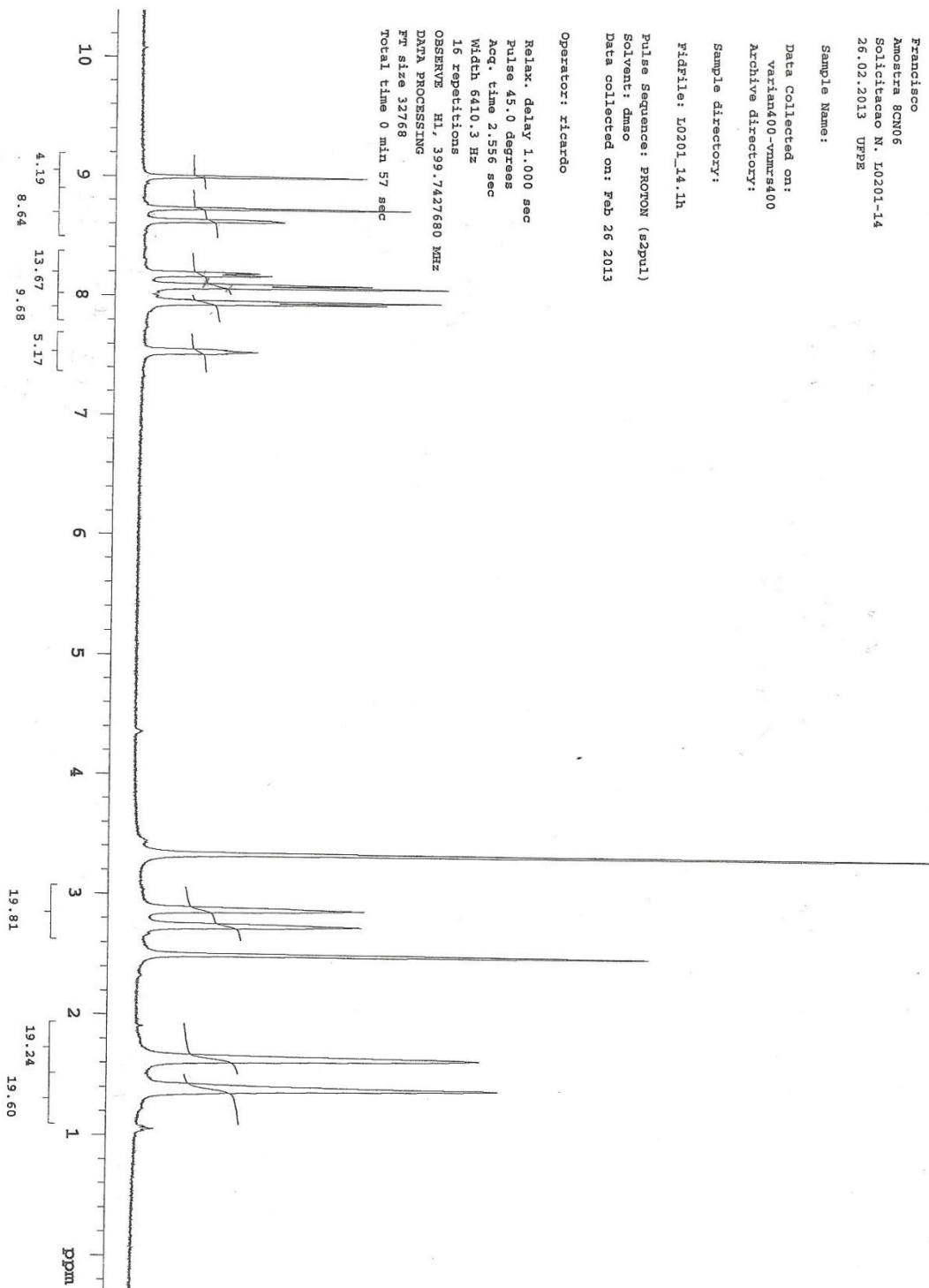
Pulse Sequence: PROTON (zgpg1)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 19 2013

Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 399.7427719 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 0 min 57 sec



2-[(4-Piridin-3-il-benzilideno)-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila (8CN06)



2-[[4-(1-piperidin)-benzilideno]-amino]-4,5,6,7,8,9-hexaidro-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila (8CN07)

Francisco
Amostra 8CN07
Solicitacao N. 10201-15
26.02.2013 UFPE

Sample Name:

Data Collected on:
varian400-ymmr400
Archive directory:

Sample directory:

File: L0201_15.1h

Pulse Sequence: PROTON (zgpg30)
Solvent: dmsc
Data collected on: Feb 26 2013

Operator: ricardo

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 399.7427684 MHz
DATA PROCESSING
F2 size 32768
Total time 0 min 57 sec

