



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



IVANILDO MANGUEIRA DA SILVA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
CITOTÓXICA DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS E TIAZÓLICOS**

**RECIFE
2013**

Ivanildo Mangueira da Silva

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E
CITOTÓXICA DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS E TIAZÓLICOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas na Área de Concentração: Planejamento e Síntese de Fármacos.

Orientadora: Prof^a. Dra Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque

RECIFE
2013

Catálogo na Publicação
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S586s Silva, Ivanildo Manguiera da.
Síntese e avaliação das atividades antimicrobianas e citotóxica de derivados tiazolidínicos e tiazólicos / Ivanildo Manguiera da Silva. – Recife: O autor, 2012.
191 f: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Fármacos. 2. Síntese química. 3. Antimicrobianos. I. Albuquerque, Julianna Ferreira Cavalcanti de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2013-048)



**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**



Reitor

Profº Drº Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-Reitor

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Prof. José Thadeu Pinheiro

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Prof. Marco Antônio de Andrade Coelho Gueiros

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Prof. Dr. Dalci José Brondani

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Profa. Dra. Nereide Stela Santos Magalhães

Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Profa Dra. Ana Cristina Lima Leite



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife 21 de março de 2012

Defesa da tese de doutorado de Ivanildo Mangueira da Silva, defendida e **APROVADA** por decisão unânime, em 21 de março de 2012 e cuja banca examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE ORIENTADORA E EXAMINADORA INTERNA: Prof^a. Dr. Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque

(Dept^o. De Antibiótico da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE:

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof^o. Dr. Antônio Rodolfo de Farias

(Dept^o. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE:

Assinatura: _____

PRIMEIRA EXAMINADORA EXTERNA: Prof^a. Dr. Silene Carneiro do nascimento

(Dept^o. De Antibiótico da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE:

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof^o. Dr. Paulo Henrique de Menezes da Silva

(Dept^o. de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE:

Assinatura: _____

TERCEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof^o. Dr. Waldecir Colaço

(Dept^o. de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE:

Assinatura: _____

RESUMO

Infecções bacterianas têm aumentado drasticamente nos últimos anos, afetando milhões de pessoas em todo mundo, resultando em elevadas taxas de morbidade e mortalidade, especialmente nos países em desenvolvimento. A resistência microbiana resulta na busca de novos agentes antimicrobianos, mais potentes e menos tóxicos. O avanço nas pesquisas de novas substâncias terapêuticamente úteis para cura ou controle dessas enfermidades tem resultado na produção de novos fármacos com largo espectro de ação biológica. Derivados tiazolidínicos e tiazólicos, têm se destacado por apresentarem propriedades bioativas. A literatura refere-se aos compostos tiazolidínicos e tiazólicos como heterociclos potencialmente ativos, com ação antimicrobiana e antiproliferativa. Com este potencial, e por apresentarem, aplicação em síntese orgânica, derivados da tiazolidina-2,4-diona, da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona e tiazólicos foram obtidos por substituição de hidrogênios do anel heterocíclico através da reação de alquilação com cloretos de benzila, tionação com reativo de Lawesson e condensação com aldeídos aromáticos nas posições 3, 4 e 5 respectivamente. Os derivados tiazólicos foram produzidos por reação de ciclização da tiouréia com haletos de acetofenonas substituídas, em meio ácido com pH ajustado. As reações seguintes ocorreram por condensação de benzaldeídos substituídos com o grupo amina da posição 2 do anel tiazólico. Após a purificação, os derivados apresentaram rendimentos variados entre 20 e 94% e foram caracterizados por métodos espectroscópicos convencionais como RMN¹H, RMN¹³C, IV e Análise elementar, revelando consistência com as estruturas esperadas. Os derivados 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**IIIa-f**) apresentaram relevante atividade antimicrobiana em comparação com as séries da 5-(arilideno substituído)-tiazolidina-2,4-diona (**IVa-f**), 3-benzil-substituído-tiazolidina-2,4-diona (**Va-b**) e 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (**VIa-g**) sintetizadas. Isto demonstrou a importância do bioisosterismo na síntese orgânica. Apesar de não realizadas as curvas com IC₅₀, dos derivados tiazólicos, alguns revelaram importante ação inibitória celular (citotoxicidade) para células proliferativas derivadas de carcinomas humanos como: HEP-2 (epidermóide de laringe) HT29 (de cólon), MCF-7 (de mama) e NCI H-292 (de pulmão).

Palavras-chave: Planejamento de fármacos. Síntese orgânica. Derivados tiazolidínicos. Derivados tiazólicos. Atividade antimicrobiana. Atividade citotóxica. Derivados 4-tioxo- tiazolidínicos. Fármacos. Antimicrobianos. Síntese química.

ABSTRACT

The bacterial infections have increased dramatically in recent years, affecting millions of people in every body, what it results in high tax of morbidity and mortality, especially in developing countries. Microbial resistance stimulates the search of new antimicrobial agents more powerful and less toxic. The advance in the therapeutically useful substance research for cure or control of these diseases has resulted in the production of new drugs with wide specter of biological activity. In this context, derived thiazolidine and thiazoles, mentioned in such a way to thiazolidine compounds as potentially active the thiazoles as heterocyclic, mainly with antimicrobial and antiproliferative activity. With this bioactive potential and by presenting, potential application in the organic synthesis, derived from thiazolidine-2,4-dione, of 4-thioxo-thiazolidine-2-one and thiazoles had been synthesized from the substitution of hydrogen atoms of the heterocyclic ring through the alkylation with benzyl halide, thionation with reagent of Lawesson and condensation with aromatic aldehydes in positions 3, 4 and 5 respectively. The synthesis of the thiazoles derivatives occurred for cyclization reaction of the thiourea with halide of substituted acetophenones, in acid way with pH adjusted. The subsequent reactions had occurred for condensation of benzaldehyde substituted with the group amine of position 2 of the thiazoles ring. After the purification the derivatives had presented incomes varied between 20 and 94%. The compounds had been characterized by conventional spectroscopic methods as IR, RMN ¹H, RMN ¹³C and elemental analysis, disclosing consistency with the respective waited structures. Derivatives of 4-thioxo-thiazolidine-2-one had presented excellent antimicrobial activity, mainly in comparison with the two other synthesized series. This study demonstrated that the bioisosteric replacement of thiocarbonyl instead of carbonyl in thiazolidine ring, results in an enhancement of antimicrobial activity, this that evidenced the importance of the organic synthesis. Thiazoles derivatives, some had disclosed important cellular inhibitory action (cytotoxicity) for proliferative cells HEP-2 (obtained from carcinoma epidermoidal of larynx) HT29 (obtained from carcinoma of colon - human), MCF-7 (obtained from breast carcinoma - human) and NCI H-292 (obtained from mucoepidermoid carcinoma of lung).

Key words: Thiazolidine-2,4-dione, 4-thioxo-thiazolidinone, Thiazol, antimicrobial activity, cytotoxic activity, 4-thioxo-thiazolidine

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIÇÕES

| | |
|---------------------|---|
| AcOH | Ácido acético |
| AcONa | Acetato de sódio |
| AN | Ágar nutritivo |
| Ar | Arila |
| CLSI | Clinical laboratory standards institute |
| CMI | Concentração mínima inibitória |
| COX | Enzima ciclooxygenase |
| d | Dubleto |
| dd | Duplo dubleto |
| DAUFPE | Departamento de Antibiótico da Universidade Federal de Pernambuco |
| DCC | Dicicloexilcarbodiimida |
| DMEM | Minimum essencial medium eagle modificado Dulbecco's |
| DMF | Dimetil-formamida |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| FabH | Enzima β -Cetoacil-ACP-sintase III |
| GL | Glicose extrato de levedura |
| H.A.M | Hospital Agamenon Magalhães |
| H.C | Hospital das clínicas |
| IC ₅₀ | Concentração que reduz cinquenta por cento da proliferação celular |
| IV | Infravermelho |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento |
| MH | Müller-Hinton |
| MRSA | <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a múltiplas drogas |
| MTT | Brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio |
| MurB | Enzima enolpiruvil uridina difosfato <i>N</i> -acetilglucosamina redutase |
| OMS | Organização mundial da saúde |
| PBS | Solução tampão de fosfato padrão |
| Pf | Ponto de fusão |
| RMN ¹ H | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio |
| RMN ¹³ C | Ressonância magnética nuclear de carbono 13 |
| s | Singleto |
| t | Tripleto |
| UFC | Unidade formadora de colônia |

| | |
|---------------------|--|
| UTI | Unidade de terapia intensiva |
| VRE | Enterococcus resistente a vancomicina |
| δ | Deslocamento químico |
| Hex | Hexano |
| AcOEt | Acetato de etila |
| Reativo de Lawesson | 1,3-ditio-2,4-difosfatano-2,4-dissulfeto-2,4-bis(4-metóxfenil) |

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA | 14 |
| 2.1 | TIAZOLIDINAS E SEUS DERIVADOS | 16 |
| 2.1.1 | Obtenção e reatividade das tiazolidinas e seus derivados | 16 |
| 2.1.2 | Reações envolvendo tecnologia de micro-ondas | 17 |
| 2.2 | REAÇÕES DO ANEL TIAZOLIDÍNICO | 23 |
| 2.2.1 | Reações de Alquilação da tiazolidina-2,4-diona | 23 |
| 2.2.2 | Reações de Condensação da tiazolidina-2,4-diona | 26 |
| 2.2.3 | Reações de tionação da tiazolidina | 28 |
| 2.2.4 | Reações de Alquilação da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona | 29 |
| 2.2.5 | Reações de Condensação de 4-tioxo-tiazolidina-2-ona | 30 |
| 2.2.6 | Estereoquímica de derivados 5-arilidenos-tiazolidínicos | 32 |
| 2.3 | ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS | 33 |
| 2.3.1 | Derivados tiazolidínicos como agentes antimicrobianos | 34 |
| 2.3.2 | Atividade antimicrobiana de derivados tiazolidínicos frente a isolados clínicos | 36 |
| 2.3.3 | Derivados tiazolidínicos como agentes antiproliferativos contra células neoplásicas | 36 |
| 2.4 | TIAZÓIS E SEUS DERIVADOS | 39 |
| 2.4.1 | Preparação do tiazol e seus derivados | 39 |
| 2.4.2 | Mecanismos de reação de derivados tiazólicos | 45 |
| 2.5 | ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DERIVADOS TIAZOLÍNICOS | 52 |
| 2.5.1 | Derivados tiazólicos como agente antimicrobiano | 55 |
| 2.5.2 | Atividade antimicrobiana de derivados tiazólicos frente a isolados clínicos | 56 |
| 2.5.3 | Derivados tiazólicos como agentes antiproliferativos contra células neoplásicas | 58 |
| 3 | OBJETIVOS | 62 |
| 3.1 | Objetivo Geral | 62 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2 | Objetivos Específicos | 62 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 63 |
| 4.1 | PARTE EXPERIMENTAL | 63 |
| 4.1.1 | Cromatografia | 63 |
| 4.1.2 | Pontos de fusão | 63 |
| 4.1.3 | Espectroscopias de IV, RMN ¹ H, RMN ¹³ C e Análise Imediata | 63 |
| 4.1.4 | Reagentes e solventes | 63 |
| 4.2 | ESTUDO QUÍMICO DOS DERIVADOS DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA | 63 |
| 4.3 | METODOLOGIA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS | 65 |
| 4.3.1 | Síntese da tiazolidina-2,4-diona (I) | 65 |
| 4.3.2 | Síntese da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (II) | 66 |
| 4.3.3 | Síntese do 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (IIIa-f) | 66 |
| 4.3.4 | Síntese do 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (IVa-f) | 67 |
| 4.3.5 | Síntese do 3-benzil-substituído-tiazolidina-2,4-diona (Va-b) | 67 |
| 4.3.6 | Síntese do 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g) | 68 |
| 4.4 | MECANISMOS DE REAÇÃO DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (I) | 68 |
| 4.4.1 | Mecanismo de reação do 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (IIIa-f) | 69 |
| 4.4.2 | Mecanismo de reação do 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g) | 70 |
| 4.5 | METODOLOGIA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS TIAZÓLICOS (VIIa-e) e (VIIIa-f) | 71 |
| 4.5.1 | Derivados do 4-fenil-substituído-2-aminotiazol (VIIa-e) | 72 |
| 4.5.2 | Síntese dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e) | 72 |
| 4.5.3 | Síntese dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIIa-f) | 72 |
| 4.5.3.1 | Procedimento geral para a síntese das iminas (VIIIa-f) | 73 |
| 4.5.4 | Mecanismos de reação dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e) | 73 |
| 4.5.4.1 | Mecanismo de reação dos 4-(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-aminobenzilideno-substituído (VIIIa-f) | 74 |
| 4.6 | ATIVIDADE BIOLÓGICA | 75 |
| 4.6.1 | Avaliação da atividade antimicrobiana dos derivados tiazolidinônicos | 75 |
| 4.6.2 | Meios de cultura | 75 |
| 4.6.2.1 | Micro-organismos-teste e padronização dos inóculos | 76 |
| 4.6.3 | Testes de atividade antimicrobiana | 77 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.6.4 | Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e da Concentração Mínima Bactericida (CMB) | 78 |
| 4.6.4.1 | Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) | 78 |
| 4.7 | ATIVIDADE CITOTÓXICA <i>in vitro</i> | 79 |
| 4.7.1 | Linhagens celulares | 80 |
| 4.7.2 | Viabilidade celular | 80 |
| 4.7.3 | Método de Análise dos Resultados | 81 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 82 |
| 5.1 | DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DOS DERIVADOS DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA E DA 4-TIOXO-TIAZOLIDINA-2-ONA (I, II, IIIa-f, IVa-f, Va-b, VIa-g, VIIa-e; VIIIa-f) | 82 |
| 5.2 | CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g) | 88 |
| 5.2.1 | Caracterização estrutural no Infravermelho dos derivados tiazolidínico (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g) | 88 |
| 5.2.2 | Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN ¹ H dos derivados tiazolidínicos (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g) | 93 |
| 5.2.3 | Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN ¹³ C dos derivados tiazolidínicos (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g) | 98 |
| 5.2.4 | Caracterização estrutural no Infravermelho dos derivados tiazólicos (VIIa-f; VIIIa-b) | 102 |
| 5.2.5 | Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN ¹ H dos derivados tiazolidínicos (VIIa-e; VIIIa-f) | 109 |
| 5.2.6 | Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN ¹³ C dos derivados tiazólicos (VIIa-e; VIIIa-f) | 115 |
| 5.3 | ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS | 118 |
| 5.3.1 | Halos de inibição dos derivados da tiazolidina-2,4-diona e 4-tioxo-tiazolidina-2-ona frente às cepas testadas | 118 |
| 5.3.2 | Halos de inibição dos derivados tiazólicos frente às cepas testadas | 120 |
| 5.3.3 | Concentração mínima inibitória (CMI) e Concentração mínima bactericida (CMB) | 121 |
| 5.4 | ATIVIDADE CITOTÓXICA DE DERIVADOS TIAZÓLICOS | 122 |
| 6 | PESPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS | 124 |
| 7 | CONCLUSÃO | 124 |

| | | |
|----|-------------|-----|
| 8 | REFERÊNCIAS | 126 |
| 9. | APÊNDICE | 138 |

1 INTRODUÇÃO

A síntese e o planejamento de fármacos são atualmente ferramentas da química medicinal, na busca de produtos bioativos por meio de reações orgânicas. Para isto, é necessário o planejamento de um fármaco aliado à sua síntese utilizando grupos farmacofóricos, análogos estruturais, e isosterismo ou bioisosterismo que resulte na obtenção de produtos potencialmente ativos.

Outro aspecto importante deste arsenal no planejamento são as diferentes técnicas computacionais da relação estrutura-atividade que visam estudar as interações de um fármaco com seu receptor biológico. Tais fatos são determinados por forças intermoleculares, ou seja, interações lipofílicas, polares, eletrostáticas e estéricas (ARROIO; HONÓRIO e SILVA, 2010).

A produção de novos fármacos com amplo espectro de ação antimicrobiana é um forte aliado no combate da mortalidade nas diversas faixas etárias da população mundial. O grande desafio da ciência é buscar novas drogas que minimizem os efeitos tóxicos, tornando-os menos agressivos, especialmente para o coração, pulmão, rins e sistema nervoso em geral (BONASSA, 1998).

A resistência microbiana tem sido hoje, uma das principais causas da busca por novos agentes antimicrobianos mais potentes e menos tóxicos. O avanço nas pesquisas de novas substâncias terapêuticamente úteis para cura ou controle de enfermidades tem resultado na produção de novos fármacos com largo espectro de atividades biológicas.

Na síntese orgânica os derivados tiazolidínicos e tiazólicos compõem uma classe de heterociclos com grande potencial reativo, podendo ser utilizados em reações de condensação, oxidação, alquilação e transformações de grupos funcionais. Estes compostos apresentam amplo espectro de atividades biológicas e farmacológicas, tais como antimicrobiana, anti-inflamatória, antituberculose, antiviral, citotóxica, antidepressiva, anticonvulsivante, antitumoral, hipoglicemiante, antifúngica, analgésica, entre outras.

Diante do exposto, foram sintetizados derivados tiazolidínicos e tiazólicos potencialmente ativos, por meio de substituições nas diversas posições destes anéis heterocíclicos, utilizando rotas que visam a otimização da síntese e ampliação da atividade biológica, com a intenção de obter resultados mais expressivos que os já descritos na literatura.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Com o aumento da resistência bacteriana ao tratamento com antibióticos, a atenção foi voltada para o desenvolvimento de novos derivados com ação antimicrobiana no controle terapêutico das infecções (DUNDAR et al., 2007). Os antibióticos são substâncias produzidas sinteticamente, ou por bactérias e fungos, com a função de suprimir o crescimento de micro-organismos (BENNET, 2005).

O fármaco é uma substância usada nos processos terapêuticos de doenças que afetam os homens, animais ou plantas, agindo nos processos biológicos. A descoberta de um novo fármaco requer, além do desenvolvimento de métodos de síntese, estudar o mecanismo de ação da substância no organismo e sua adequação para uso como medicamento, porém a experiência mostra que nenhum fármaco é inteiramente seguro (THOMAS, 2003).

Pesquisas de novos compostos eficazes na cura de doenças infecciosas têm resultado na produção de novos fármacos com largo espectro de atividades biológicas (SOUZA et al., 2005). Neste contexto, derivados tiazolidínicos e tiazólicos, têm se destacado por apresentarem essas propriedades. A síntese de análogos estruturais dessas substâncias bioativas visa aumentar a atividade biológica minimizando os efeitos colaterais. Os derivados tiazólicos e tiazolidínicos são heterocíclios potencialmente ativos, com propriedades antitumorais, antibacteriana, antidepressiva, anti-inflamatória, anticonvulsivantes, hipoglicemiante, antimicrobiana, analgésica, entre outras (BONDE e GAIKWAD, 2004, ROSTOM, 2006).

A literatura descreve a síntese de novos derivados tiazolidínicos e tiazólicos com atividade biológica e farmacológica como objetivo de pesquisadores das áreas de química e saúde de vários países da América, Europa e Ásia (THOMAS, 2003).

As tiazolidinas são uma classe de agentes antimicrobianos com amplo espectro de atividade contra patógenos Gram-positivos. A literatura afirma que a introdução de substituintes arilídenos no anel tiazolidínico pode aumentar a atividade antimicrobiana de seus derivados (LIMA et al., 1992). Compostos orgânicos que possuem diferentes núcleos tiazólicos têm apresentado potente atividade antibacteriana e antifúngica (DUNDAR et al., 2007).

Liesen et. al. (2008) descreveu vários estudos sintéticos envolvendo derivados da tiazolidina realizados desde o século XIX. Vários tipos de reações foram usados na obtenção do anel tiazolidínico, tais como: sua ciclização envolvendo ácidos α -

haloacéticos ou derivados destes com tiouréias, acil-tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas (BONDE e GAIKWAD, 2004).

Outros derivados da tiazolidina foram descritos através de reações de cicloadição do ácido α -mercaptoacético com tiossemicarbazonas, reações de condensação entre ácido α -mercaptoacético, aminas primárias e aldeídos (HOLMES et al., 1995). Também foram descritas reações de ciclização entre moléculas que apresentam ligação dupla ou tripla conjugada com o grupo carbonila, como anidrido maléico ou acetilenodicarboxilato de dimetila e compostos que apresentam a função tioamida, como as tiossemicarbazonas (TENÓRIO et al., 2005).

A combinação do núcleo tiazolidínico com outros heterocíclicos é uma abordagem experimental que visa potencializar moléculas de drogas para alcançar novo perfil farmacológico, com reforço da atividade ou redução da toxicidade (LESYK e ZIMENKOVSKY, 2004). Esta abordagem fez parte da descoberta de novos compostos antitumorais ativos (LESYK et al., 2006; LESYK et al., 2007; ATAMANYUK, ZIMENKOVSKY e LESYK, 2008; HAVRYLYUK et al., 2010).

2.1 TIAZOLIDINAS E SEUS DERIVADOS

2.1.1 Obtenção e reatividade das tiazolidinas e seus derivados

A tiazolidina é representada por um anel pentagonal com enxofre e nitrogênio nas posições 1 e 3. Esse núcleo pode sofrer substituições em várias posições (**Figura 1**).

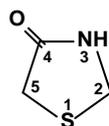
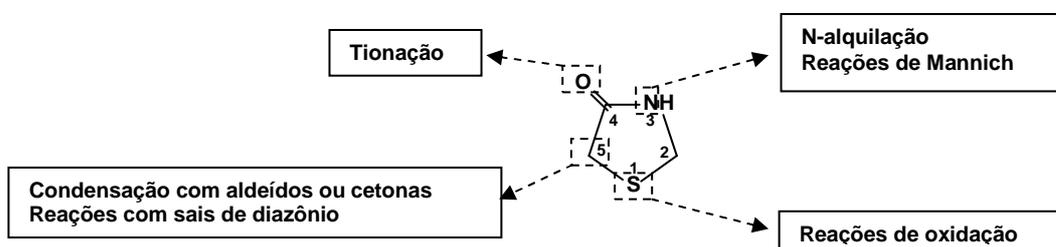


Figura 1 - Principais pontos de reatividade do anel 4-tiazolidinona

Diversas reações envolvem o anel tiazolidínico como: oxidação na posição **1** (enxofre), reações de Mannich com *N*-alquilação na posição **3**, tionação utilizando reativo de Lawesson ou pentassulfeto de fósforo na posição **4** (carbonila) e condensação com aldeídos, cetonas ou com sais de diazônio na posição **5** (carbono metilênico) (**Esquema 1**) (LIESEN et al., 2008)



Esquema 1 - Principais reações do anel 4-tiazolidinona

Entre os derivados tiazolidínicos encontram-se as tiazolidinonas com destaque para a tiazolidina-2,4-diona, que apresenta vários sítios reativos facilitando substituições no anel heterocíclico. Por meio de reações de condensação e alquilação, pesquisadores buscam ampliar sua atividade biológica e farmacológica.

Alguns métodos de obtenção da tiazolidina-4-ona foram descritos com substituintes nas posições 2, 3, e 5, podendo variar suas propriedades de acordo com o substituinte na estrutura. Porém, a maior diferença na estrutura e nas propriedades é exercida pelo grupo ligado ao átomo de carbono da posição 2 (R e R') na estrutura **2** ou (X) na estrutura **3**. Variações nos substituintes ligados ao átomo de nitrogênio e ao átomo de carbono metilênico, são possíveis para as estruturas representadas por **2** e **3** (**Figura 2**) (VERMA e SARAF, 2008).

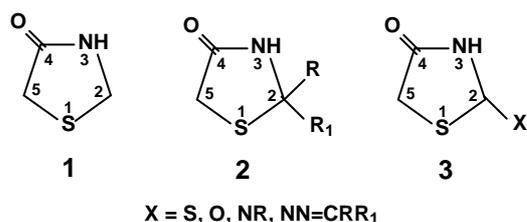
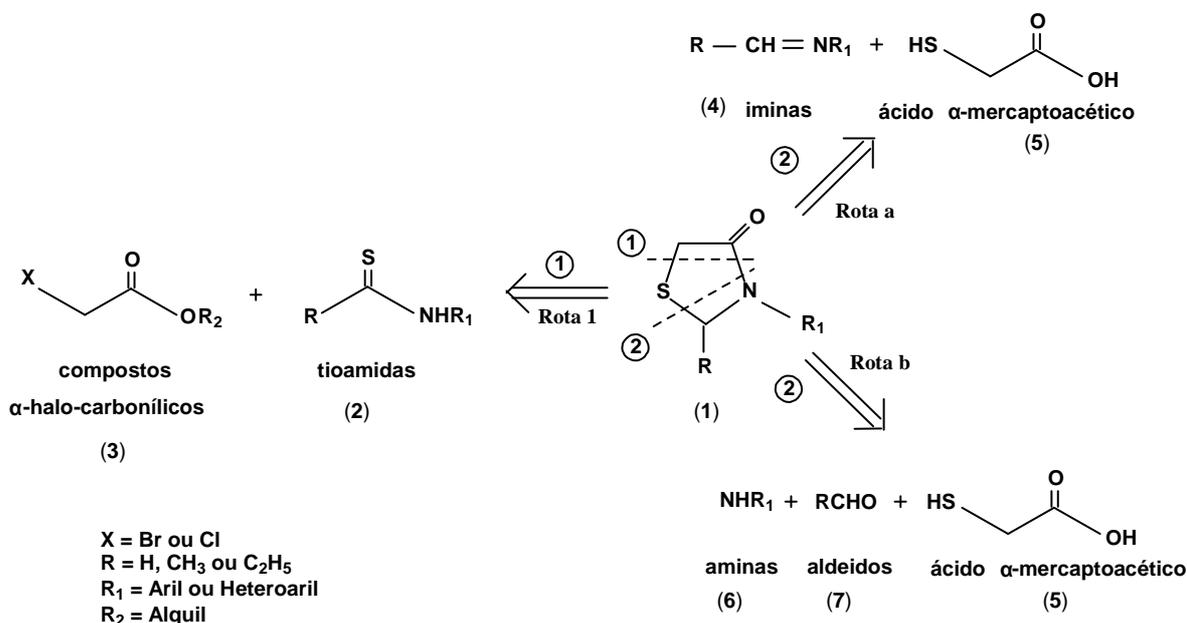


Figura 2 - Substituições do anel 4-tiazolidinona

Liesen et al. (2008) descreveu a retrosíntese de derivados 4-tiazolidinônicos (**Esquema 2**), com duas estratégias de síntese desses compostos: a primeira com a formação das ligações C₅-S e C₄-N, a partir de reações envolvendo compostos α-halo-carbônicos e tioamidas **[1]** e formação das ligações C₂-S e C₄-N envolvendo reações entre iminas substituídas e ácido α-mercaptoacético mostrado na rota **2a** e a segunda estratégia por reações de condensação com três componentes, do tipo “one-pot”, entre aminas, aldeídos e ácido α-mercaptoacético rota **2b**.



Esquema 2 - Análise retrosintética de 4-tiazolidinonas

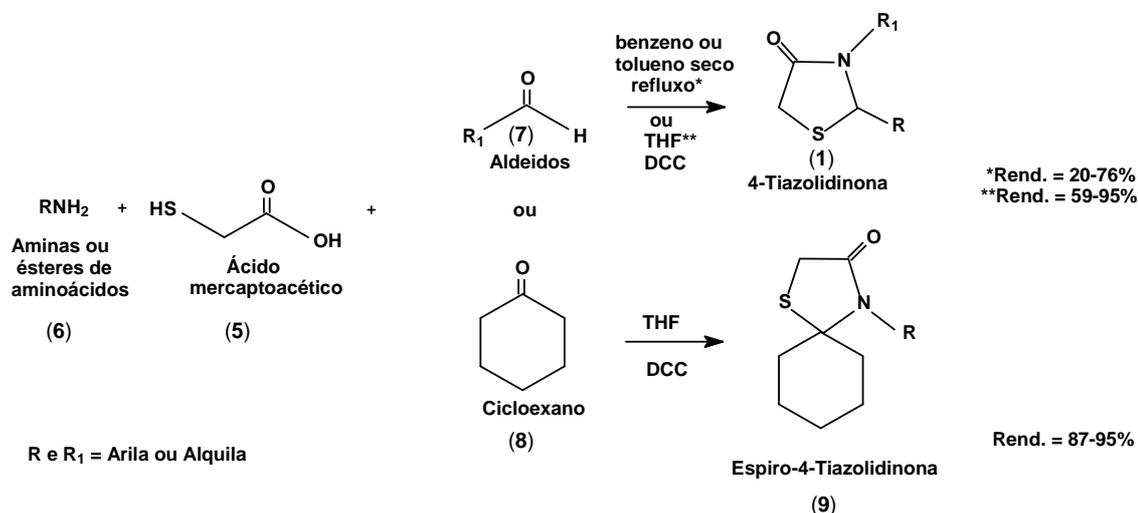
2.1.2 Reações envolvendo tecnologia de micro-ondas

Com o avanço das pesquisas e tecnologias foi possível observar diferentes métodos de síntese da 4-tiazolidinona (**1**), sendo alguns com reações contendo três componentes, envolvendo uma amina, um composto carbonilado e um ácido

mercaptoacético (VERMA e SARAF, 2008). A condensação e alquilação podem ocorrer com a mistura dos três componentes em meio reativo ou em duas ou três etapas (RAO et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 1999a).

Novos métodos de síntese da tiazolidina e seus derivados têm sido apresentados como química limpa, por ser livre de solvente, utilizando micro-ondas. Esse método tem sido descrito como eficiente e pode ser usado com reações numa única etapa “one-pot” ou em etapas com tempo reacional baixo e bons rendimentos (VISAGAPERUMAL et al., 2009).

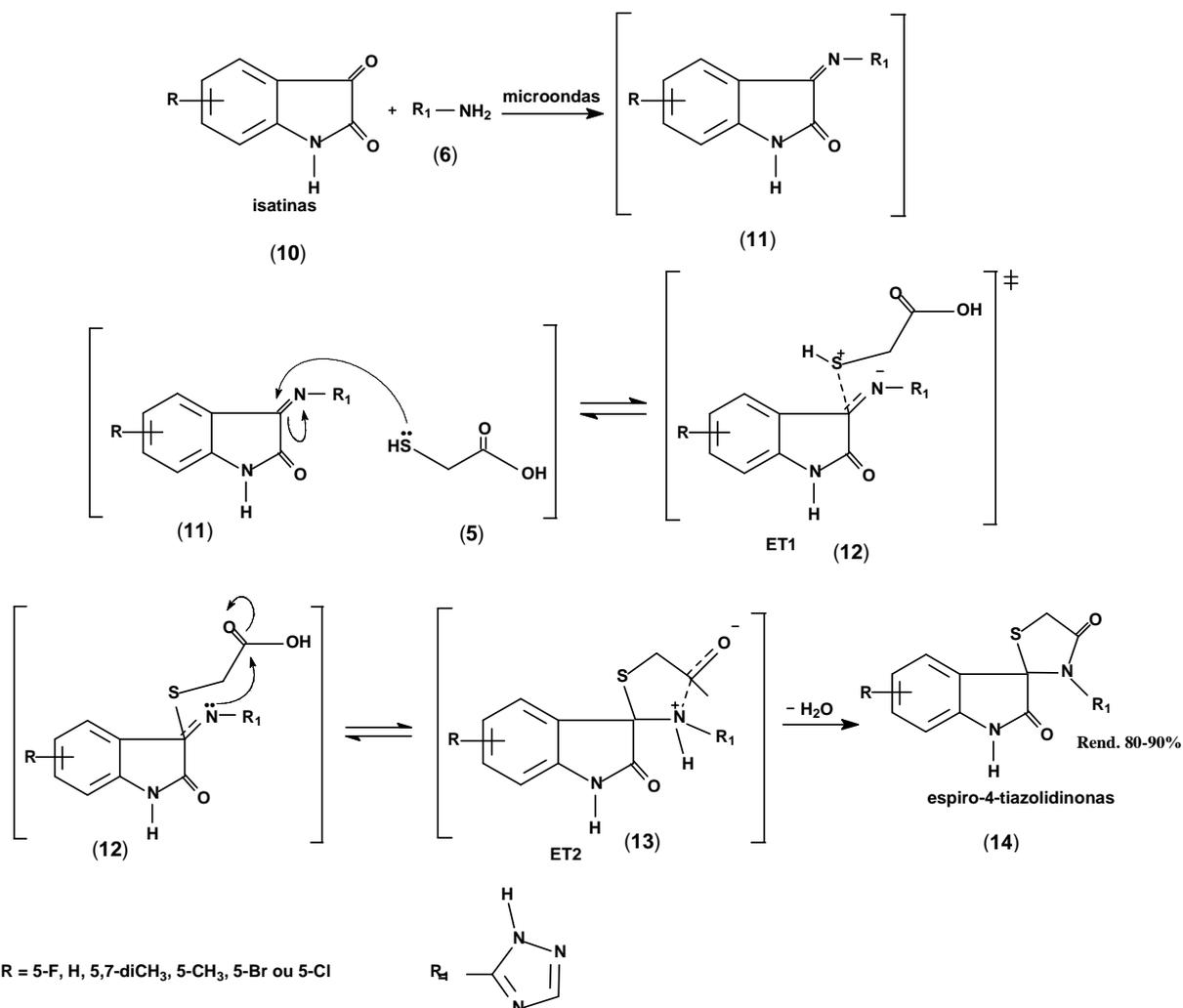
Outra metodologia envolvendo reações “one-pot” com a condensação de três componentes para obtenção de novas 4-tiazolidinonas (1), foi apresentada utilizando nesta ocasião o solvente tetraidrofurano (THF) a 0 °C e dicicloexilcarbodiimida (DCC), reagente que atua diretamente na formação do anel tiazolidinônico. Durante essa reação a DCC é transformada em dicicloexiluréia (DCU) que forma um sistema bifásico com o THF, sendo assim, facilmente removida por filtração. Comparada com reações que utilizam como solvente o benzeno seco ou tolueno esta apresenta menor tempo reacional e melhores rendimentos, principalmente quando o DCC é adicionado a 0 °C (Esquema 3) (SRIVASTAVA et al., 2002).



Esquema 3 - Síntese de 4-tiazolidinonas utilizando reações de condensação de três componentes “one-pot”

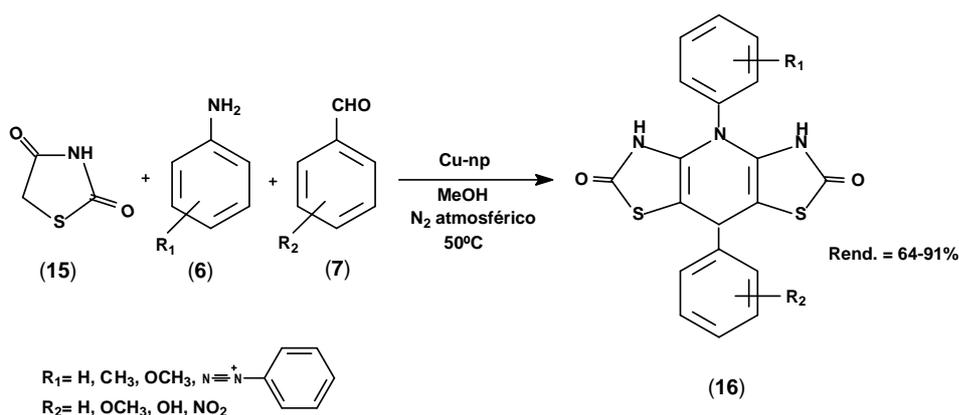
A vantagem da utilização do micro-ondas, é atribuída ao aumento da regioseletividade induzida por este tipo de radiação, que atua promovendo a formação de estados de transição dipolares (ET1 e ET2), reduzindo a energia de ativação e conseqüentemente facilitando a formação do anel 4-tiazolidinônico (KAVITHA et al., 2006).

Dandia et al., (2006) propuzeram um mecanismo de reação para a síntese de espiro-4-tiazolidinona (**14**) a partir de isatinas (**10**), utilizando reações de condensação de três componentes “one-pot” (**Esquema 4**).



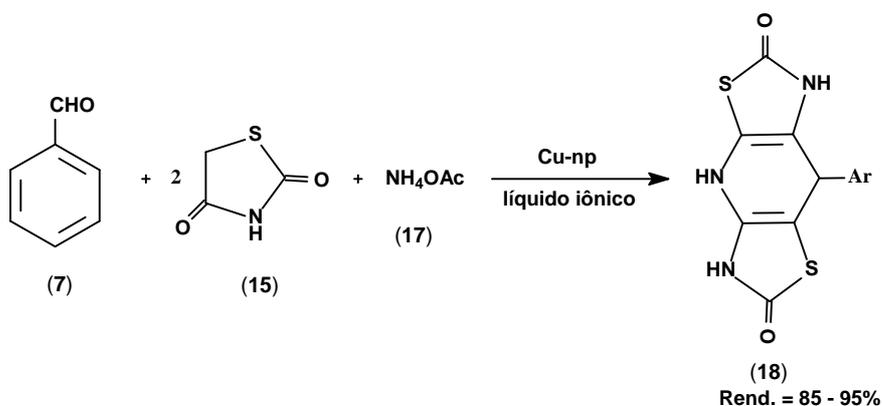
Esquema 4 - Mecanismo de reação para síntese de derivados de 4-tiazolidinonas “one-pot” em micro-ondas

Derivados tiazolidínicos foram sintetizados, utilizando nanopartículas de cobre como catalisador com excelentes rendimentos. O método descrito foi apresentado como mais seguro, produtivo e menos tóxico que aqueles utilizando ácidos-bases. A reação ocorreu pela mistura de tiazolidina-2,4-diona (**15**), amina aromática (**6**), benzaldeídos substituídos (**7**) dissolvidos em metanol, sob agitação por alguns minutos com nanopartículas de cobre (**Esquema 5**) (KUMAR et al., 2008).



Esquema 5 - Síntese de derivados de 4-tiazolidinonas “one-pot” em micro-ondas

Singh et al., (2008) também utilizaram nanopartículas de cobre (cu-np) como catalisador para obtenção de derivados tiazolidínicos com elevado rendimento e curta duração, porém, a partir da tiazolidina-2,4-diona (15), aldeídos aromáticos (7) e acetato de amônio (17) em meio líquido iônico. Os produtos obtidos apresentaram bons rendimentos. O material, contendo o catalisador foi recuperado para ser reutilizado (**Esquema 6**).



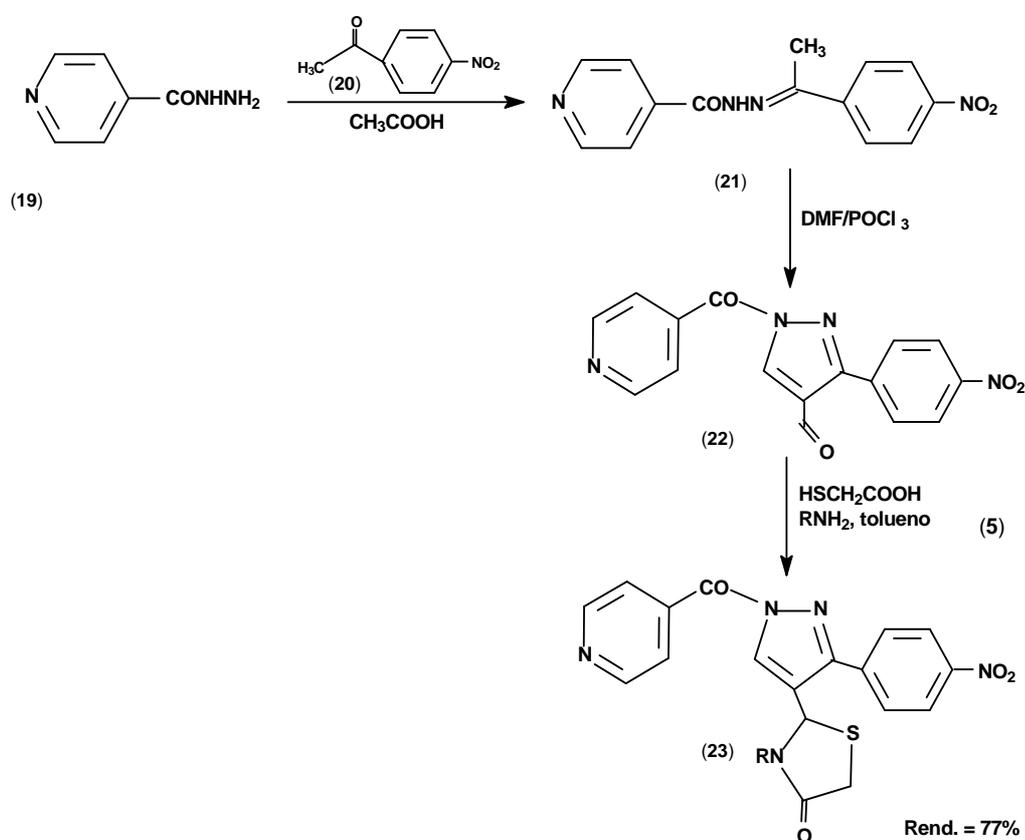
Esquema 6 - Síntese de derivados de 4-tiazolidinonas catalisado por nanopartículas de Cu (cu-np) em meio líquido iônico

Além da importância biológica de derivados 5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona e 5-benzilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona, foi estabelecido um comparativo da síntese utilizando micro-ondas e os métodos convencionais, destacando o possível mecanismo do aumento de rendimento na condensação de Knoevenagel, em presença de ácido acético e piperidina (KUMAR et al., 2006).

A síntese de 2-[3-(4-nitrofenil)-1-(piridina-4-carbonila)-1H-pirazol-4-il]-3-substituído 1,3-tiazolidina-4-onas (23) foi obtida em três etapas, sendo primeiro a

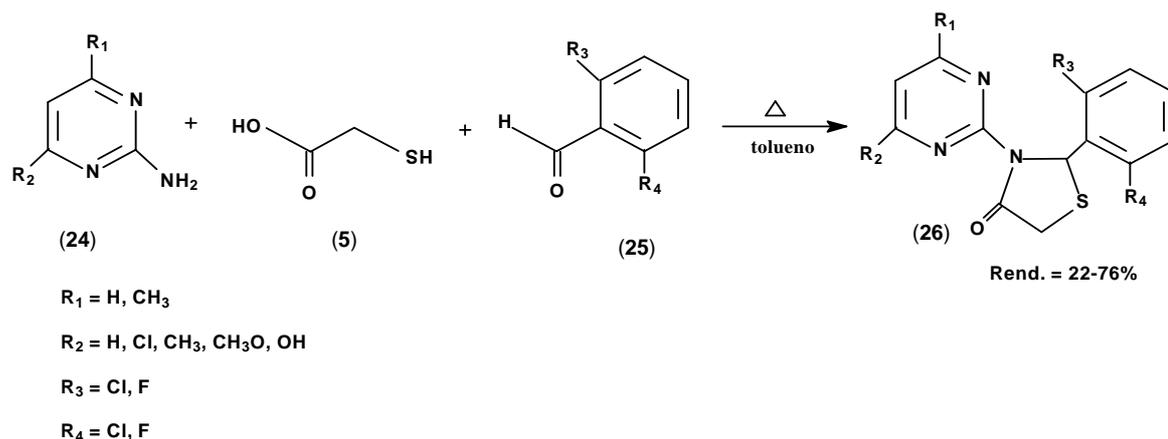
condensação da isoniazida (**19**) com 4-nitroacetofenona (**20**) na presença de ácido acético glacial para levar a hidrazida correspondente (**21**), que em seguida foi tratada com o complexo de Vilsmeier Haack (obtido a partir da mistura de 0,012 mol oxiclreto de fósforo em 10 mL de dimetil formamida) para levar a (**22**), que reagiu com diferentes aminas aromáticas substituídas e ácido tioglicólico (**5**) em tolueno e micro-ondas, para levar aos compostos desejados com bons rendimentos.

Todos os compostos apresentaram de ligeira a moderada atividade antibacteriana e antifúngica, sendo que alguns dos compostos testados mostraram ação antitubercular (**Esquema 7**) (VISAGAPERUMAL, 2009).



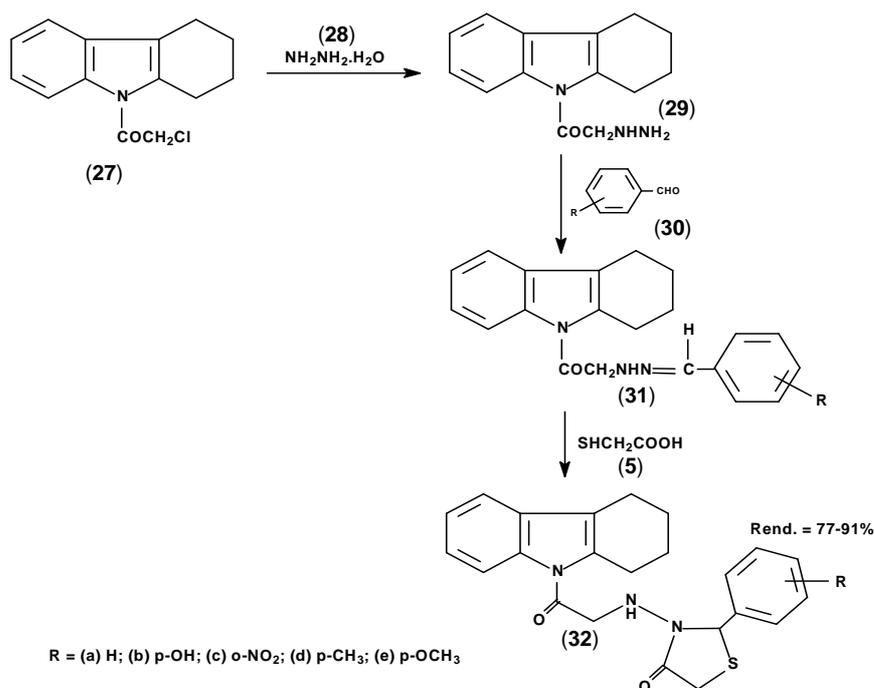
Esquema 7 - Síntese do 2-[3-(4-nitrofenil)-1-(piridina-4-carbonila)-1*H*-pirazol-4-il]-3-substituído-1,3-tiazolidina-4-onas utilizando o complexo de Vilsmeier Haack e diferentes aminas aromáticas substituídas e ácido tioglicólico

Outras reações foram efetuadas para sintetizar derivados do (2,6-dialofenil)-3-(pirimidina-2-il)-1,3-tiazolidina-4-ona (**26**) a partir do aldeído correspondente (**25**) com uma quantidade equimolar de aminopirimidina dissustituídas (**24**) com excesso de ácido tioglicólico (**5**) em tolueno sob refluxo por 48 horas. Os compostos foram obtidos com bons rendimentos e caracterizados por métodos usuais (**Esquema 8**) (RAO et al., 2004).



Esquema 8 - Síntese de derivados 2,3-diaril-1,3-tiazolidin-4-ona

O micro-ondas também foi usado para obter hidrazonas (**31**) (bases de Schiff) a partir da acilação de 1,2,3,4-tetraidrocarbazol com cloreto de cloroacetila em DMF seco, na presença de carbonato de potássio anidro. Em seguida foi feita a hidrazinólise do composto (**27**) com hidrato de hidrazina (**28**) levando ao produto (**29**), o qual foi condensado com vários aldeídos aromáticos. As hidrazonas (**31**) (bases de Schiff) obtidas foram então ciclizadas com ácido tioglicólico (**5**) cloreto de zinco anidro e cloreto de cloroacetila em trietilamina e dioxano para levar às 1,2,3,4-tetraidrocarbazolil-tiazolidina-4-onas (**32**) com bons rendimentos (**Esquema 9**) (SURENDIRAN; BALASUBRAMANIAN e SIVARAJ, 2009).



Esquema 9 - Rota sintética para obtenção de derivados 1,2,3,4-tetraidrocarbazolil-tiazolidina-4-ona

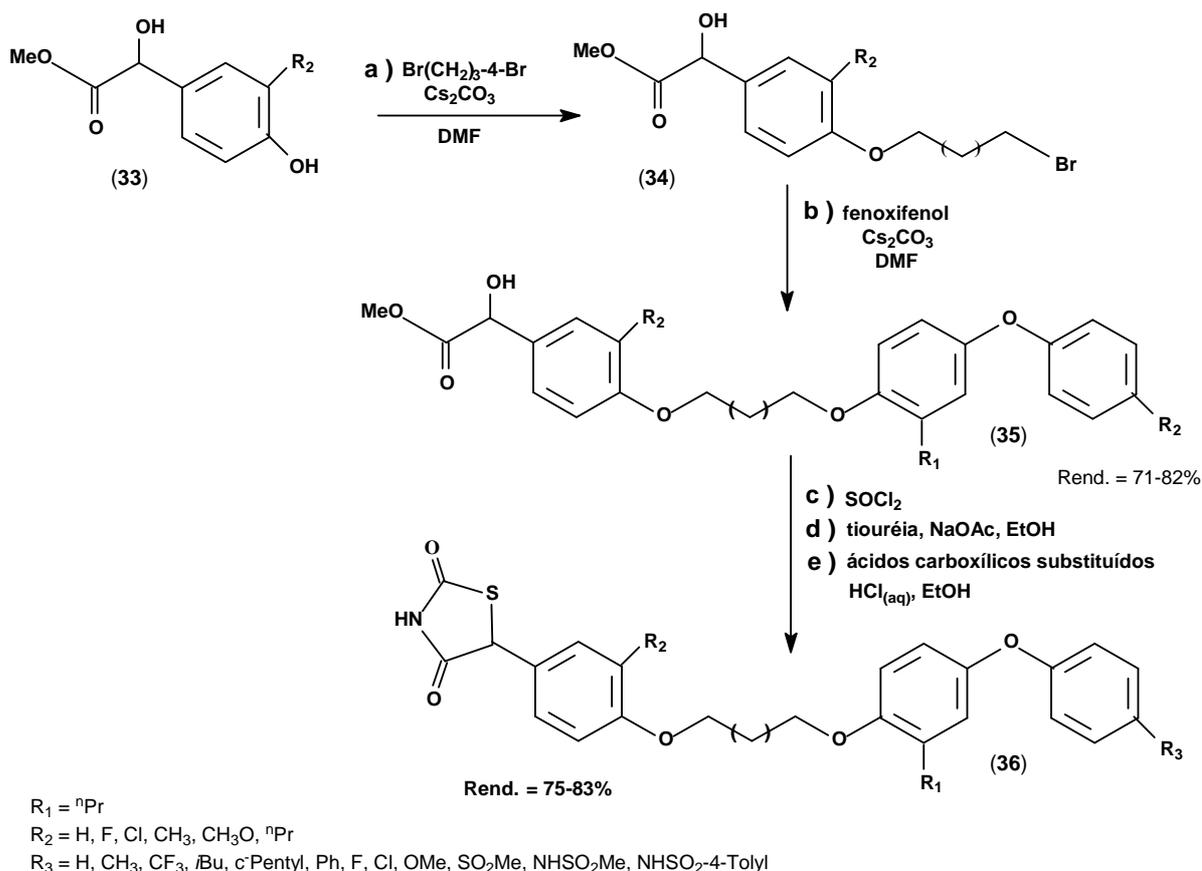
2.2 REAÇÕES DO ANEL TIAZOLIDÍNICO

As reações de alquilação referem-se à substituição eletrofílica aromática, onde o eletrófilo é um carbocátion (R^+). No primeiro passo, o carbocátion é formado pela reação de um cloreto de alquila com ácido de Lewis. Outros haletos de alquila, como brometos, fluoretos ou iodetos, também podem ser utilizados.

Tiazolidina-2,4-dionas substituídas na posição 3 por haletos de benzila ou fenacilas através de *N*-alquilação foram obtidas experimentalmente (ALBUQUERQUE et al., 1999; MOURÃO et al., 2005). Nesta síntese foram utilizadas quantidades equivalentes de uma base forte (KOH ou NaOH) com tiazolidina-2,4-diona em metanol, promovendo a formação do íon amideto através da abstração do hidrogênio em *N*-3 e posterior ataque deste ânion a 1,2-dibromoetano à temperatura ambiente. A utilização de uma base dura como o hidróxido de potássio é imprescindível para a formação do ânion amideto, uma vez que as tiazolidinonas não substituídas na posição 3 são ácidos fracos (LIESEN et al., 2008).

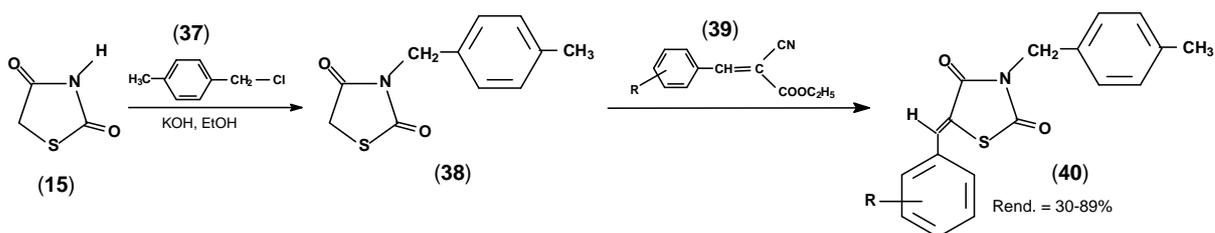
2.2.1 Reações de Alquilação da tiazolidina-2,4-diona

Uma série de novas 5-aryl-tiazolidina-2,4-dionas (**36**) foram sintetizadas, com potente e seletiva atividade agonista PPAR γ (peroxisomo proliferativo receptor- γ), a partir do éster (**33**) utilizando vários reagentes (**a**) $Br(CH_2)_3-4-Br$, Cs_2CO_3 , DMF(dimetilformamida); para levar ao intermediário (**34**), que reagindo com Cs_2CO_3 , DMF, fenoxifenol, ou 2-isobutil-4-fenoxifenol, formou o intermediário (**35**), que ao reagir com ácidos carboxílicos substituídos em meio (**c**) $SOCl_2$, 85-90%; (**d**) tiouréia, NaOAc, EtOH; (**e**) HCl_{aq} , EtOH, conduziu aos produtos finais (**36**) (**Esquema 10**) (KOYAMA et al., 2003).



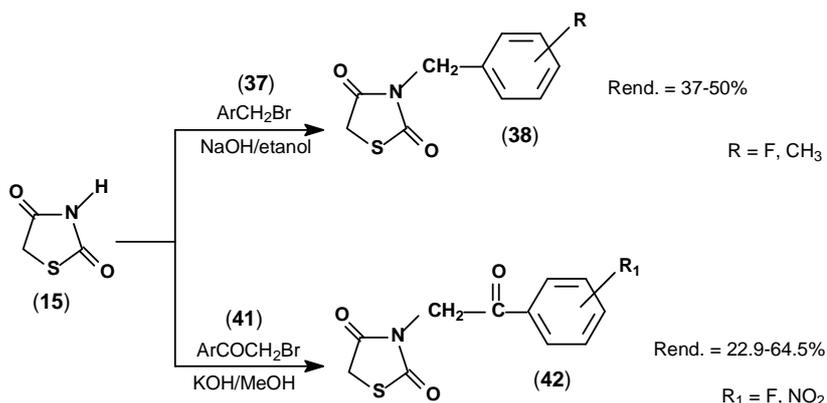
Esquema 10 - Síntese de 5-aryl-tiazolidina-2,4-diona, utilizando diferentes meios reacionais.

Derivados 3-benzil (ou fenacil)-5-(arilideno-substituídos)-tiazolidina-2,4-dionas (**40**), foram obtidos a partir da N-alkilação da tiazolidina-2,4-diona (**15**) na presença de hidróxido de potássio, formando o sal de potássio correspondente que reagiu com haletos de benzila (**37**) ou fenacila em meio etanólico sob aquecimento. Estes compostos intermediários foram condensados com os 5-arilidenos-3-(4-metil)-tiazolidina-2,4-diona (**40**) com ésteres 2-ciano-3-(fenil-substituídos)-acrilato de etila (**39**) (**Esquema 11**) (ALBUQUERQUE et al., 1999b; MOURÃO et al., 2005) e testados como hipoglicemiantes, revelando atividade sobre o nível de triglicérides próximo ao da rosiglitazona apresentando baixa toxicidade (MOURÃO et al., 2005).



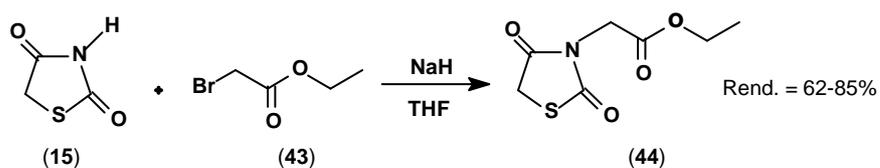
Esquema 11 - Síntese de derivados 3-(benzil ou fenacila)-5-(arilideno-substituído)-tiazolidina-2,4-dionas

A obtenção de derivados tiazolidínicos N-substituídos (**42**) também pode ocorrer pela alquilação com haletos de benzila e haletos de fenacila, a partir da reação da tiazolidina-2,4-diona (**15**) com um haleto adequado (**37**) ou (**41**) em NaOH/etanol em presença de hidróxido de potássio e metanol em refluxo (**Esquema 12**). Esse método reacional apresentou baixa duração e médio rendimento (MOURÃO et al., 2005; DUNDAR, et al., 2007).



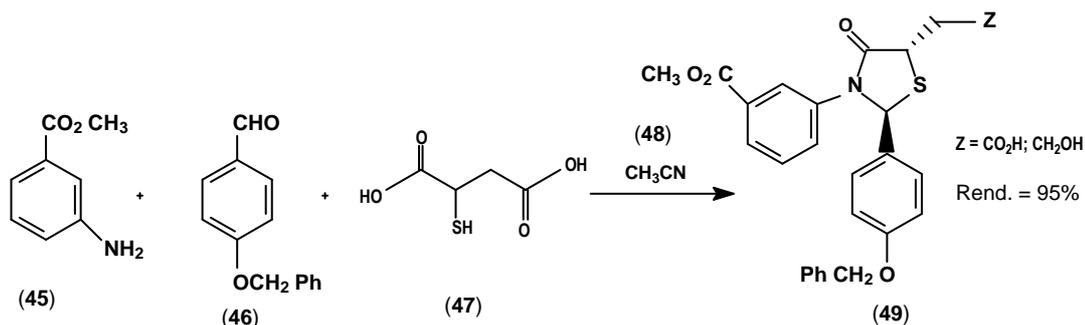
Esquema 12 - Obtenção de derivados tiazolidínicos N-substituídos por alquilação

Dundar et al., (2008) obtiveram a N-alquilação da tiazolidina-2,4-diona (**15**) utilizando bromo-acetato de etila (**43**), THF e NaH resultando em 3-(metil-éster-acético)-tiazolidina-2,4-diona (**44**) posteriormente condensado com flavonas carbaldeidos com rendimentos entre 62-85%. (**Esquema 13**).



Esquema 13 - N-alquilação da tiazolidina-2,4-diona com bromo-acetato de etila

Outro método de obtenção da 2,3,5-tiazolidinona trissubstituída (**49**) foi descrito por Wrobel et al., (2006) por meio da condensação da 3-amino benzoato de metila (**45**), 4-benzil-oxibenzaldeído (**46**), ácido mercaptosuccínico (**47**) e cianeto de metila (**48**) a 80 °C. A reação apresentou bom rendimento, 95%. (**Esquema 14**).



Esquema 14 - N-alkilação da tiazolidina-2,4-diona com bromo-acetato de etila

A literatura descreve que as reações de condensação ocorrem geralmente na presença de solução tamponada de ácido acético glacial/acetato de sódio anidro, onde o acetato de sódio funciona, tanto como base quanto como agente desidratante, ou alternativamente em solução piperidina/etanol (ALBUQUERQUE et al., 1999a; VICINI et al., 2006; OTTANÀ et al., 2005; DUNDAR et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009).

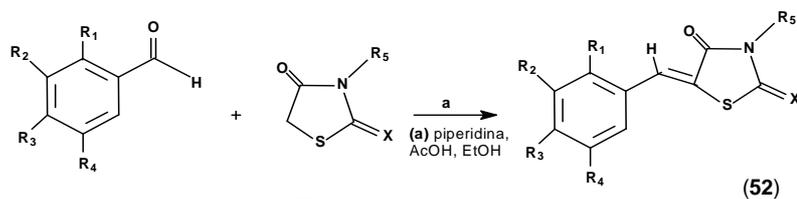
2.2.2 Reações de Condensação da tiazolidina-2,4-diona

As tiazolidinas podem sofrer reações de condensação do tipo aldólica envolvendo grupo metileno na posição 5 do anel, devido ao caráter nucleófilo do carbono metilênico. A redução do caráter nucleofílico e a formação de um ânion em presença de uma base são dependentes do efeito retirador de elétrons da carbonila adjacente, bem como da presença de outros grupos retiradores de elétrons na posição 2 do anel.

A literatura descreve o método de obtenção de compostos 5-benzilideno-substituídos com bons rendimentos, através de uma condensação de Knoevenagel entre os núcleos correspondentes, heterocíclicos de rodanina, ácido rodanina-N-acético, tiazolidina-2,4-diona, ácido barbitúrico e ácido tiobarbitúrico e uma série de benzaldeídos substituídos (**Esquemas 15**). Derivados da Thiazolidina-4-ona foram sintetizados utilizando síntese por micro-ondas, com piperidina e ácido acético glacial como catalisadores (TOMASIC et al., 2010).

Teoricamente, os compostos 5-benzilideno-substituídos podem apresentar isômeros *E* e *Z* para ligação dupla exocíclica (CH=C), porém o RMN¹H dos compostos apresentaram um sinal para o próton metileno na faixa de 7,46-7,82 ppm, em valores mais baixos de campo do que os esperados para o isômeros *E*, isto

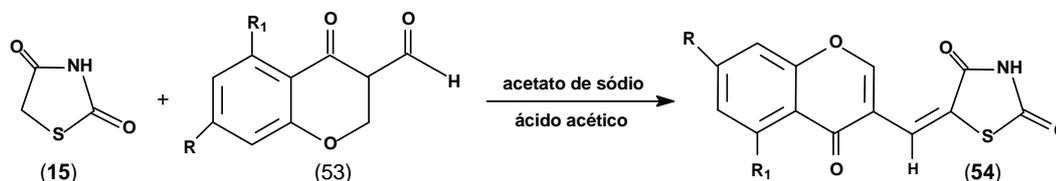
indica fortemente que os compostos têm a configuração *Z* e são termodinamicamente mais estáveis (**Esquemas 15**) (TOMASIC et al. 2010).



| (50) Compostos | X | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | Rend. |
|----------------|---|----|------------------|------------------|------------------|----------------------|-------|
| 1 | S | F | F | F | H | H | 87.8% |
| 2 | S | H | OCH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | H | 71.3% |
| 3 | O | F | F | F | H | H | 85.8% |
| 4 | O | H | OCH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | H | 39.0% |
| 5 | S | F | F | F | H | CH ₂ COOH | 40.5% |
| 6 | S | H | OCH ₃ | OCH ₃ | OCH ₃ | CH ₂ COOH | 35.4% |

Esquema 15 - Condensação da tiazolidina-2,4-diona com benzaldeídos substituídos em micro-ondas (**a**) piperidina, AcOH, EtOH, 30 W, 18 bar, 140 °C, 30 min ou 110 °C, 40 min

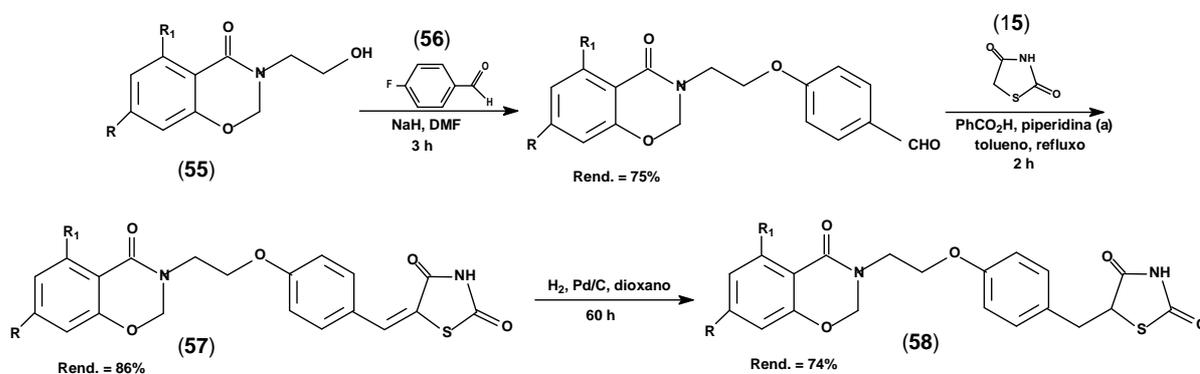
A tiazolidina-2,4-diona (**15**) com formilcromonas (**53**) em ácido acético glacial e acetato de sódio fundido (**a**) formam os derivados cromonil-tiazolidina-2,4-diona (**54**) através da condensação de Knoevenagel. O RMN ¹H, revelou prótons da cromona substituída entre 7,55 e 9,06 ppm; prótons de metileno (=CH) para cromonil-tiazolidina-2,4-diona (**54**) foram observados em 7,58 e 7,77 ppm como um singlete (**Esquemas 16**) (DUNDAR et al., 2008).



Esquema 16 - Condensação da tiazolidina-2,4-diona com formilcromona formando o isômero *Z*

Com a finalidade de descobrir um composto com atividade PPAR- α e PPAR- γ , com melhor atividade antidiabética e hipolipemiante melhor que as drogas-padrão, foram sintetizadas uma série de benzoxazinonas derivados de tiazolidinadiona. Esta série partiu do 3-(2-hidroxietil)-2H-1,3-benzoxazin-4(3H)-ona (**55**) reagindo com 4-fluorbenzaldeído (**56**) para em seguida condensar o aldeído formado com a tiazolidina-2,4-diona (**15**) promovendo a condensação de Knoevenagel. Ainda visando melhores propriedades físicas como solubilidade em água e elevado ponto de fusão, o composto insaturado (**57**), foi reduzido para (**58**) por hidrogenação com

Pd/C para evitar o efeito do envenenamento do catalisador (**Esquemas 17**) (MADHAVAN et al., 2006).



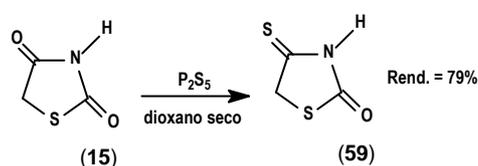
Esquema 17 - Condensação da tiazolidina-2,4-diona com benzaldeídos substituídos em micro-ondas (a) piperidina, AcOH, EtOH, 30 W, 18 bar, 140 °C, 30 min ou 110 °C, 40 min.

2.2.3 Reações de tionação da tiazolidina

A tionação de 4-tiazolidinonas pode ser realizada utilizando o reativo de Lawesson, para a síntese de 4-tioxo-tiazolidin-2-ona a partir de tiazolidina-2,4-diona, em dioxano anidro (ANDRADE et al., 2002).

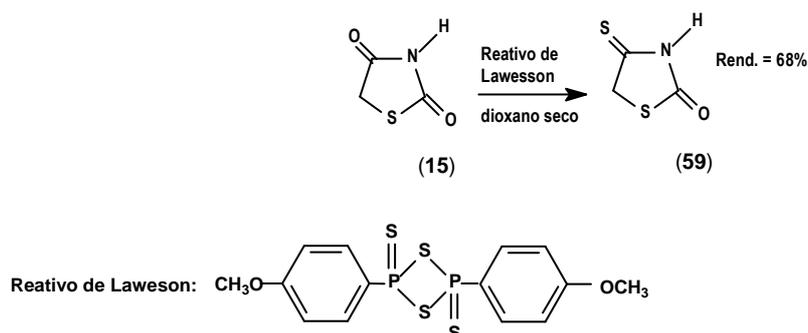
A densidade eletrônica existente na carbonila e a temperatura influenciaram na velocidade desta reação, porém quando o composto possui duas ou mais carbonilas, a primeira tionação ocorrerá naquela que for mais rica em elétrons sendo limitada (CLAUSEN, THORSEN e LAWESSON, 1981; CAVA e LEVINSON, 1985).

A 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**59**) foi obtida a partir da tiazolidina-2,4-diona (**15**) na presença de pentassulfeto de fósforo (P_2S_5) e dioxano seco sob atmosfera inerte (**Esquemas 18**) (GRISHCHUK et al., 1967).



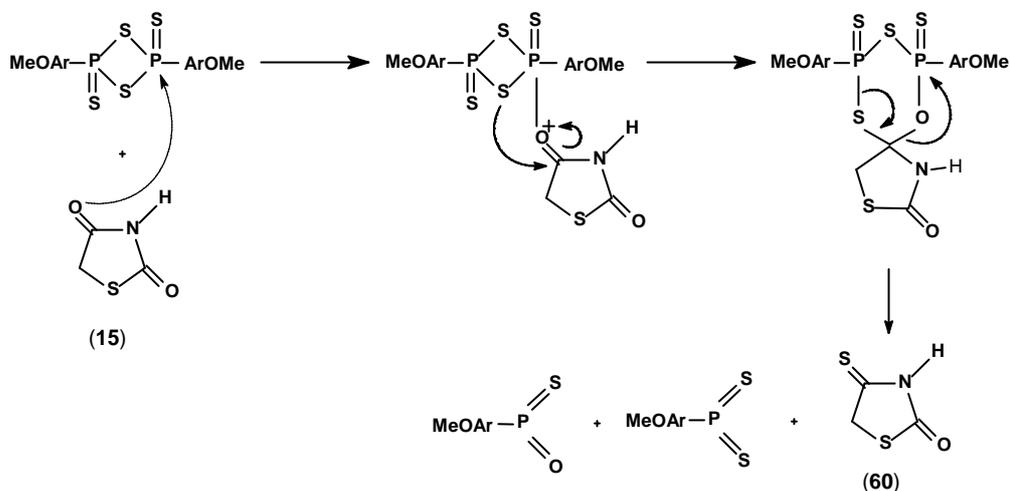
Esquema 18 - Tionação da tiazolidina-2,4-diona com P_2S_5

Ainda é possível obter a 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**59**) a partir da tiazolidina-2,4-diona (**15**), Reativo de Lawesson e dioxano seco em atmosfera inerte (**59**) (**Esquema 19**) (ANDRADE et al., 2002).



Esquema 19 - Tionação da tiazolidina-2,4-diona com reativo de Lawesson

Nesta reação o sulfeto de fósforo converte cetonas em tiocetonas pela troca de uma ligação dupla fósforo-enxofre com uma ligação dupla fósforo-oxigênio. A força motriz desta transformação é a formação da forte ligação dupla fósforo-oxigênio (P=O). Isso porque a conversão do grupo carbonila em tiocarbonila é atribuída a íldeos de ditiofosfina ($p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-PS}_2$), formados a partir da quebra do anel de quatro membros, contendo átomos de fósforo e enxofre alternados, existente no reativo de Lawesson (**Esquema 20**) (STEFANI, 2009, p. 69)..

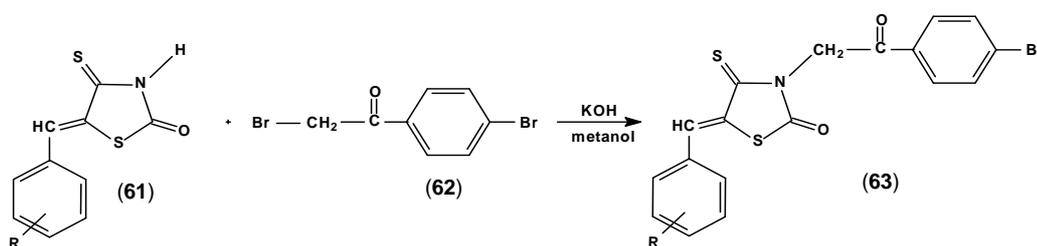


Esquema 20 – Mecanismo de reação da obtenção da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona com reativo de Lawesson

2.2.4 Reações de Alquilação da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona

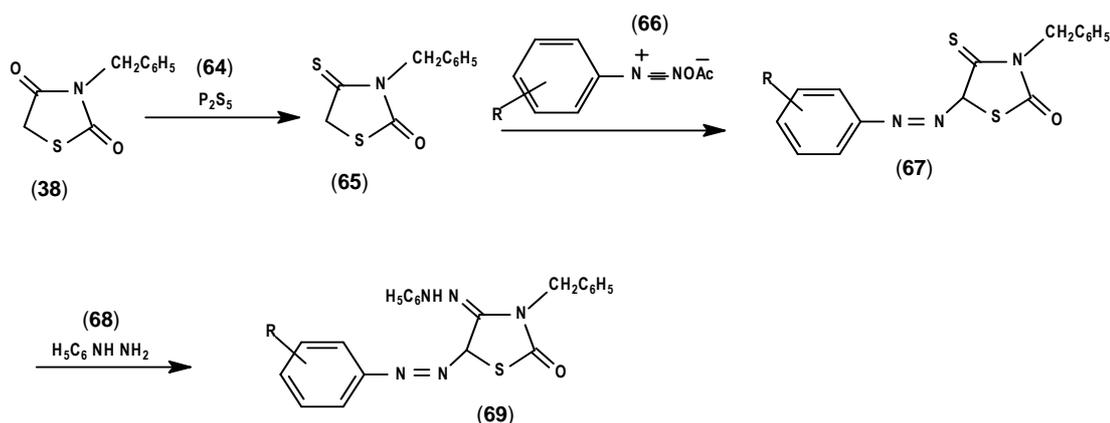
Derivados da 5-arlideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**61**) foram alquilados por brometo de bromofenacila (**62**) na presença de hidróxido de potássio em metanol

para levar a 3-(4-bromofenacil)-4-tioxo-5-arilideno-tiazolidina-2-ona (**63**) (**Esquema 21**) (ALBUQUERQUE et al., 1997; CHANTEGREL et al., 2002).



Esquema 21 - Alquilação de derivados da 4-tioxo-5-arilideno-tiazolidina-2-ona alquilados por brometo de bromofenacila na presença de metanol e KOH

A tiazolidina-2,4-diona também foi submetida à alquilação com haleto de benzila resultando em 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (**38**), em seguida ocorreu a substituição do oxigênio da carbonila-4 por enxofre utilizando o pentassulfeto de fósforo (**64**) obtendo o intermediário 3-benzil-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**65**) (**Esquema 22**). A seguir reagiu com acetato de arildiazônio (**66**) em dioxano produzindo o 5-arilazo-3-benzil-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**67**) (ALBUQUERQUE, et al., 1999b). Este intermediário foi condensado com o fenilhidrazina (**68**) em ácido clorídrico formando o 5-(4-sulfamoilfenilazo)-3-benziltiazolidina-2-ona-4-fenilhidrazona (**69**) (LABOUTA et al., 1987).



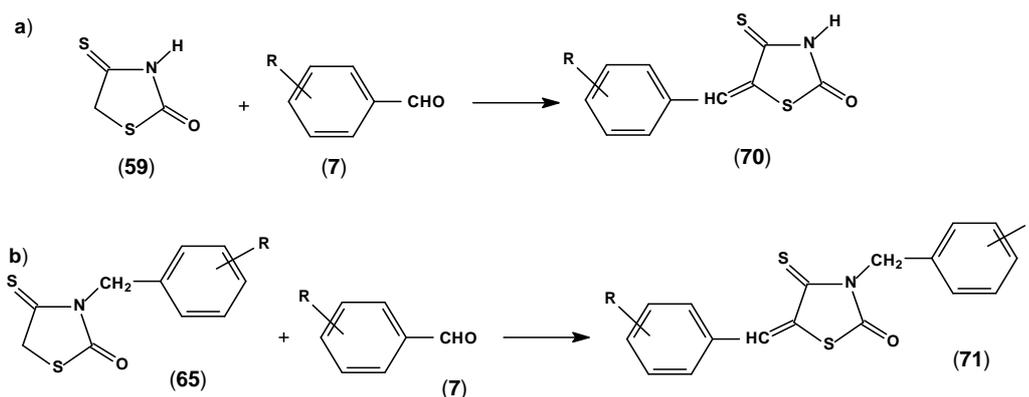
Esquema 22 - Tiazolidina-2,4-diona N-alkilada, tionada com P_2S_5

2.2.5 Reações de Condensação de 4-tioxo-tiazolidina-2-ona

O composto 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (**48**) reagiu com o pentassulfeto de fósforo (**64**) para levar ao intermediário 3-benzil-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**65**) que a seguir reagiu com acetato de arildiazônio (**66**) em dioxano seco produzindo o 5-

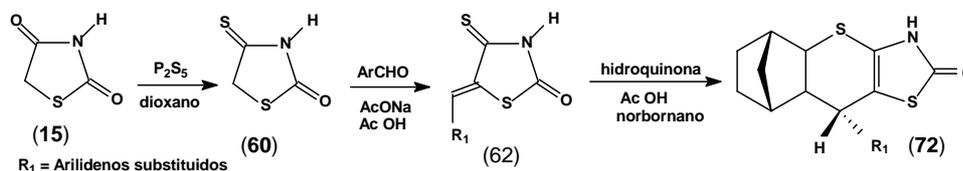
arilazo-3-benzil-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**67**). Este intermediário foi condensado com fenilhidrazina (**68**) em ácido clorídrico formando 5-(4-sulfamoiifenilazo)-3-benziltiazolidina-2-ona-4-fenilhidrazona (**69**) (**Esquema 22**) (LABOUTA et al., 1987).

A 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**60**) também foi condensada de duas maneiras: uma com 4-tioxi-tiazolidina-2-ona não substituída na posição 5 produzindo o composto (**70**) reação (a) e outra já substituída por um grupo benzil na posição 3, conduzindo ao produto (**71**) reação (b), (**Esquema 23**) (CHANTEGREL et al., 2002).



Esquema 23 - Condensação de derivados da 5-arilideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona alquilados por brometo de bromobenzila na presença de metanol e KOH

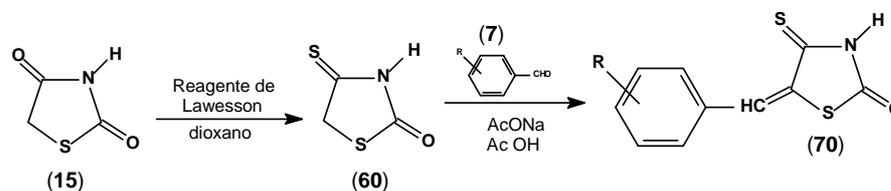
Derivados 5-ilideno-4-tioxi-2-tiazolidonas (**72**) foram sintetizados a partir da condensação de 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**60**) com benzaldeídos substituídos (**7**) em ácido acético glacial a 100 °C por 20 minutos. Esta síntese objetivou aumentar a lipofilicidade dos derivados tiopirano-tiazol-2-ona para facilitar a difusão através de biomembranas, aumentando assim, a eficácia citostática. A reatividade do átomo de enxofre na posição 4 foi usada como heterodieno ativo em uma reação de Diels-Alder para obter novos compostos 9-substituídos-3,7-ditio-5-azatetracíclo-tetradeceno-4-ona (**Esquema 24**) (LESYK, et al., 2006).



Esquema 24 - Condensação de 4-tioxi-tiazolidina-2-ona para obtenção de derivados tiopirano-tiazol-2-ona

Gouveia et al., (2009) descreveram um simples e efetivo método de síntese e purificação de derivados da 5-arilidenos-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**70**) utilizando reagente de Lawesson para carbotionação-4. Estas reações ocorreram por

condensação de Knoevenagel com diferentes aldeídos aromáticos substituídos (**Esquema 25**) (ALBUQUERQUE et al., 1997).



Esquema 25 - Síntese de 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona

2.2.6 Estereoquímica de derivados 5-arilidenos-tiazolidínicos

Apesar da ligação do carbono 5 em (=CH) metileno poder admitir configuração *Z* ou *E*, a literatura especializada aponta que a configuração mais estável prevalece na síntese destes derivados 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona ou derivados 5-arilidenos-4-tioxo-tiazolidina-2-ona. Ao elucidar as estruturas químicas destes derivados são realizadas análises de RMN¹H e cristalografia por raio X, sendo assim, vários autores mostram a configuração *Z* como a mais estável nas reações de condensação na posição 5 do anel tiazolidínico (ALBUQUERQUE, et al., 1999b; TUNÇBILEK e ALTANLAR, 1999; MOURÃO et al., 2005; MADHAVAN et al., 2006; DUNDAR, et al., 2007; GOUVEIA et al., 2009).

A determinação da configuração dos diastereoisômeros formados na síntese de 5-arilidenos-4-tiazolidinonas pode ser feita através de análises espectroscópicas (RMN¹³C, RMN¹H) e através de cristalografia por raios X. Otannà et al., (2005) determinaram a configuração *Z* para análogos 2-imino-5-arilideno-4-tiazolidinonas verificando a influência magnética da carbonila sobre o deslocamento químico do hidrogênio metínico por meio de RMN¹H. Este sinal aparece como singlete em 7,70-7,75 ppm para a configuração *Z*, enquanto que, devido à menor influência magnética do átomo de enxofre, este singlete aparece com deslocamento inferior a 7,70 ppm para isômeros *E* ppm (LIESEN et al., 2008).

2.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS

Derivados da tiazolidinona são uma classe conhecida de medicamentos patenteados e de substâncias em diferentes estágios de pesquisa, que têm apresentado várias atividades como: hipoglicemiantes, anti-inflamatórios, antitumoral colerético, imunoestimulante, diurético, entre outras (MALIK, UPADHYAYA e MIGLANI, 2011).

Alguns derivados 2-alkilideno-tiazolidinadiona apresentaram atividade antibiótica contra bactérias Gram-positivas como *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*. Porém não foi observada inibição do crescimento para Gram-negativas como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* ou a levedura *Candida maltosa*. A inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* por derivados 2-alkilideno-tiazolidina-4,5-diona torna estes compostos excelentes candidatos para o desenvolvimento de antimicrobianos (ALBRECHT, 2005).

Sendo a lipofilicidade um conhecido fator físico-químico que afeta a atividade biológica, caracterizado pelo processo de distribuição do composto no organismo humano como chave das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas das moléculas da droga (ligação com às proteínas plasmáticas, penetração da barreira hemato-encefálica (BHE) e através das membranas celulares.

Lesyk et al., (2006) realizou ensaios *in vitro* da atividade anticâncer de derivados tiazolidinônicos para investigar a lipofilicidade dos compostos sintetizados. Com base nesse estudo foi possível concluir que o aumento da lipofilicidade destes compostos facilita a difusão através das biomembranas, aumentando assim a eficácia citostática. Alguns dos compostos testados mostraram citotoxicidade contra linhagens de células tumorais com relativas selectividades à pulmão, mama, rins, leucemia e alguns tipos de melanoma.

Rao, et al., (2004) sintetizaram derivados 1,3-thiazolidina-4-onas contendo um grupo 2,6-dihalofenil no C-2 e um anel pirimidinico 2-substituído na posição 3. Estes compostos foram sintetizados e avaliadas como agentes anti-HIV. Os resultados dos testes *in vitro* mostraram que alguns deles foram inibidores eficazes do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) em concentrações de 10-40nm com citotoxicidade mínima.

Estudos da relação estrutura-atividade revelaram que a natureza dos substituintes nas posições 2 e 3 do núcleo tiazolidinona teve impacto significativo

sobre a atividade anti-HIV *in vitro*, desta classe de potentes agentes anti-retrovirais. Todavia os compostos apresentaram uma significativa redução da atividade frente a formas mutantes do vírus resistente (K103N e mutações Y181C RT), agindo assim como não-nucleosídeos HIV-1 da transcriptase reversa inibitórias (NNRTIs) (RAO et al., 2004).

A literatura ainda descreve várias atividades biológicas e farmacológicas dos derivados tiazolidínicos que têm se destacado por serem heterocícos potencialmente ativos e que apresentam propriedades anticancer (GUDUDURU et al., 2005), antibacteriana (TOMASIC et al., 2010), antiproliferativa (GOUVEIA et al., 2009) antidepressiva (SHUKLA et al., 2004), hipertensão (PATT et al., 1992), anti-inflamatória (VIGORITA et al., 2003, BARROS et al., 2010) anticonvulsivantes (KUMAR et al. 1970; DWIVEDI et al., 1972), hipoglicêmico (GUPTA et al., 2005), agentes antimicrobianos, inclusive contra isolados clínicos multirresistentes a drogas (BONDE e GAIKWAD, 2004; GOUVEIA et al., 2009), hipinótica (ERGENC et al., 1999) entre outras (MAHRAN et al., 2003).

2.3.1 Derivados tiazolidínicos como agentes antimicrobianos

Entre os mais graves problemas de saúde, estão as infecções bacterianas, que têm aumentado drasticamente nos últimos anos, afetando milhões de pessoas em todo mundo, o que resulta em elevada taxa de morbidade e mortalidade, especialmente em países em desenvolvimento. Doenças bacterianas como a tuberculose, tifo, peste, difteria, febre tifóide, cólera, disenteria, e pneumonia tornaram elevado o custo para a humanidade (DUNDAR et al., 2007). Muitas vezes o tratamento contemporâneo dessas doenças infecciosas envolve a administração de múltiplas drogas durante um longo período, o que pode contribuir para o abandono do tratamento e o rápido aparecimento da resistência microbiana a essas drogas (BONDE e GAIKWAD, 2004).

A atividade antimicrobiana de derivados tiazolidínicos sintetizados e testados, tem demonstrado efeito positivo em vários estudos, até contra micro-organismos multirresistentes (LABOUTA et al., 1987; SUP et al., 1995; DUNDAR et al., 2007; GOUVEIA et al., 2009).

Albuquerque et al., (1999a) investigando a atividade antimicrobiana de compostos tiazolidínicos *in vitro* contra micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, verificaram que os derivados testados apresentam atividade inferior ao antibiótico de referência ciprofloxacina. A síntese e atividade antimicrobiana de uma nova série de tiazolil-tiazolidina-2,4-dionas foram considerados moderadamente potente contra micro-organismos selecionados, embora o efeito antifúngico de todos os compostos testados foram maiores do que a droga padrão, miconazol. Neste estudo ficou evidente que os grupos benzila ou fenacila no anel tiazolidínico não desempenham um papel notável para aumentar esta atividade (DUNDAR et al., 2007).

Compostos da tiazolidina-2,4-diona e 4-tioxo-tiazolidina-2-ona, são ativos contra *S. aureus*, mas inativo contra bactérias Gram-negativas (DUNDAR et al., 2007; GOUVEIA et al., 2009). A atividade significativa de alguns derivados destes compostos contra *S. aureus* e a inatividade de outros, previamente identificado como um inibidor de vários alvos de enzimas MurD-F que catalisam as etapas intracelulares da biossíntese do peptidoglicano bacteriano (BARRETEAU et al., 2008), pode ser atribuída ao caráter hidrofílico do grupo 2,3,4-triidroxibenzilideno que dificulta a penetração da molécula na célula bacteriana. Esse fato foi verificado com a substituição do grupo 2,3,4-tri-hidróxibenzilideno de um derivado tiazolidínico por um grupo mais lipofílico 2,3,4-trifluorbenzilideno. Por meio de cálculo estatístico foi verificado aumento na potência antibacteriana destes derivados promovendo a inibição do crescimento de *S. aureus* com CMI de 0,5 mg/mL (TOMASIC et al., 2010).

A literatura relata que grupos retiradores e doadores de elétrons podem alterar a lipofilicidade dos compostos testados, que por sua vez, alteram a permeabilidade através da membrana celular bacteriana. De acordo com Bonde e Gaikwad (2004), os substituintes do anel tiazolidínico na cadeia lateral nas posições 3 e 4 exercem uma influência significativa sobre a atividade biológica dos compostos, sendo em geral, os compostos substituintes aromáticos na posição 3 mais ativo do que os alifáticos. Além disso, a presença de grupos retiradores de elétrons (como substituintes halogênio e nitro), apresentam melhor atividade antimicobacteriana.

2.3.2 Atividade antimicrobiana de derivados tiazolidínicos frente a isolados clínicos

O uso extensivo de antibióticos foi um dos fatores que contribuíram para o surgimento de patógenos multirresistente aos antimicrobianos conhecidos, fato este, que ressalta a necessidade de desenvolvimento de novas classes de agentes antibióticos. O desenho de novos agentes quimioterápicos é um fator particularmente benéfico, graças a previsão de seu modo de ação, podendo evitar a resistência cruzada às drogas (GÜZELDEMIRCI et al., 2010).

Derivados da 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona foram testados *in vitro* frente a cepas multirresistentes, isoladas a partir de ambiente hospitalar e comparadas com os padrões ampicilina e canamicina apresentaram efeitos inibitórios significativos, confirmando a importância de buscar substituintes que possam potencializar a ação inibitória destes compostos frente a bactérias Gram-positivas (GOUVEIA et al., 2009).

Sendo estes derivados mais potentes que cefalexina contra a maioria dos micro-organismos testados, destacando contra cepas de *S. aureus*, cujo efeito inibitório foi muito maior do que a ampicilina e cefalexina, o que sugere que a introdução de três átomos dos halogênios ao grupo arilideno pode ter exercido um papel importante para aumentar as propriedades antibacterianas destes derivados (GOUVEIA et al., 2009).

Com a substituição do oxigênio por enxofre na posição 4 do anel tiazolidinônico, ficou evidenciada a potencialização da atividade antimicrobiana resultante da prática do bioisosterismo dos derivados 5-arilidene-4-tioxo-tiazolidina-2-ona, principalmente contra cepas multirresistentes de isolados clínicos.

2.3.3 Derivados tiazolidínicos como agentes antiproliferativos contra células neoplásicas

O câncer é basicamente uma doença de células, geralmente causadas por mutação ou por ativação anormal de genes (oncogenes) que controlam o crescimento e a mitose celular (GUYTON, 2001). De acordo com dados do World Health Organization (WHO, 2008), mais de 10 milhões de casos de câncer são diagnosticados a cada ano. Alguns dos tipos mais freqüentes de câncer podem ser

curados por cirurgia, quimioterapia ou radioterapia, especialmente se forem detectadas precocemente.

Os tumores malignos são uma das ameaças mais graves contra a saúde humana no mundo. O controle da proliferação celular continua sendo uma importante estratégia terapêutica do câncer. Microtúbulos de células eucarióticas são importantes no processo da divisão celular por mitose, esta estrutura tem sido um alvo atraente para o desenvolvimento de drogas antitumorais por décadas. Compostos que tem a propriedade de interferir no processo mitótico podem conduzir à parada do ciclo celular e subsequente regressão de tumor (LIU et al., 2009).

Um grande número de produtos citotóxicos potentes atua em fases específicas do ciclo celular e, conseqüentemente, só exercem ação contra células que se encontram em processo de divisão. Portanto as neoplasias malignas mais suscetíveis ao tratamento quimioterápico são as que possuem um alto percentual de células em divisão (OLIVEIRA e ALVES, 2002).

Os compostos contendo anéis tiazolidinônicos já foram relatados como indutores de apoptose em linhagens de células cancerosas e mais recentemente tem se mostrado ativo contra células cancerosas do pulmão resistentes à drogas. Assim, embora essa inibição ainda não seja satisfatória, torna-se necessário ampliar as pesquisas buscando melhorar a propriedade antiploriferativa destas células. Isso pode ser feito colocando um ou mais grupos volumosos no anel arilideno de tiazolidinediona substituídas (GUDUDURU et al., 2005; ZHOU et al., 2008; GOUVEIA et al., 2009).

Estudos da troglitazona, um derivado da tiazolidina, revelaram que apesar de ser um agente antidiabético oral efetivo, apresenta efeito apoptótico, isto é, morte celular programada em hepatoma, que é o mais frequente câncer originado no fígado humano. O uso clínico de troglitazona tem sido restringido nos EUA e Japão por causa da indução severa de lesão hepática (YAMAMOTO et al., 2001).

As propriedades antineoplásicas de heterociclos 4-tiazolidinonas provavelmente são relacionadas a sua afinidade com alvos biológicos anticancerígenos, como JNK-estimulante fosfatase-1 (JSP-1) (HAVRYLYUK et al., 2009), fator de necrose tumoral TNF α (CUTSHALL, O'DAY e PRERZHDO, 2005), biocomplexo anti-apoptótico Bcl-X_L-BH₃ (CARTER et al., 2001) receptor integrina $\alpha_v\beta_3$ etc (DEGTEREV et al., 2001; DAYAM et al., 2006).

Alguns derivados das tiazolidinonas como troglitazona e ciglitazona são agonistas ao receptor ativador proliferador de peroxissomo (PPAR γ), exibindo assim, além dos efeitos antiglicemiantes a ação inibitória da proliferação de algumas células de câncer, embora, o mecanismo subjacente permanece indefinido. Análogos estruturais da tiazolidinadiona revelaram capacidade de induzir apoptose em células de câncer de próstata, sendo atribuído em parte a função inibitória da Bcl-xL/Bcl-2, independente da ativação do PPAR γ e com potência semelhante (SHIAU et al., 2005).

Compostos contendo anel tiazolidinônico foram relatados como indutores de apoptose em linhagens de células cancerosas e mais recentemente tem se mostrado ativas contra células de câncer de pulmão, resistentes à drogas. Assim, embora essa inibição ainda não sendo suficiente, fica evidente a necessidade de outras pesquisas, buscando melhorar a propriedade inibitória dos compostos tiazolidínicos. Isso pode ser feito colocando um ou mais grupo(s) substituinte(s) no anel 5-amilideno-tiazolidinona (GUDUDURU et al., 2005; ZHOU et al., 2008). Outra alternativa importante visando a potencialização da atividade antiproliferativa foi a utilização da substituição bioisostérica da tiocarbonilação na carbonila 4 do anel tiazolidinona (GOUVEIA et al., 2009).

Estudo sobre a eficácia antitumoral de um derivado da tiazolidinona em ratos a partir da inibição de secreção do hormônio luteinizante (LH), mostrou que estes derivados apresentaram potencial aplicação no tratamento clínico de cânceres de próstata e de mama. Isso foi verificado pela capacidade do derivado tiazolidinônico diminuir as concentrações séricas do LH, embora esse mecanismo ainda não esteja compreendido, parece oferecer uma vantagem distinta sobre os agonistas LHRH e antagonistas, pois, ao contrário dos derivados do LHRH, é ativo por via oral (IP, SYLVESTER e SCHENKEL, 1986).

2.4 TIAZÓIS E SEUS DERIVADOS

2.4.1 Preparação do tiazol e seus derivados

Os compostos tiazólicos (**73**) (**Figura 3**), são descritos por Siddiqui et al., (2009) como composto heterocíclico apresentando um átomo de nitrogênio e um átomo de enxofre e duas duplas ligações no heterociclo como parte do anel aromático de cinco membros com amplo espectro de atividade biológica. A literatura ainda descreve suas atividades tais como: anticâncer, antibacteriana, antidepressiva, anti-inflamatória dentre outras (VICINI et al., 2003; HOLLA et al., 2003; SOUZA et al., 2005).

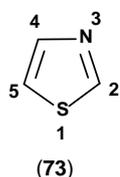


Figura 3 - Núcleo Tiazólico

O tiazol é um líquido amarelo-claro com ponto de ebulição de 116-118 °C. Sua densidade é de 1,2 g/mL, tem odor semelhante ao da piridina, sendo moderadamente solúvel em água, solúvel em álcool e éter. É utilizado como intermediário na fabricação de drogas sintéticas, fungicidas e corantes. O anel tiazólico é encontrado naturalmente na vitamina B₁ (tiamina) (SIDDIQUI et al., 2009).

Este anel apresenta aromaticidade com a deslocalização de elétrons (π) e um par de elétrons do átomo de enxofre para completar os 6 elétrons necessários para cumprir a regra do Hückel. Apresenta variadas formas de ressonância (**Figura 4**).

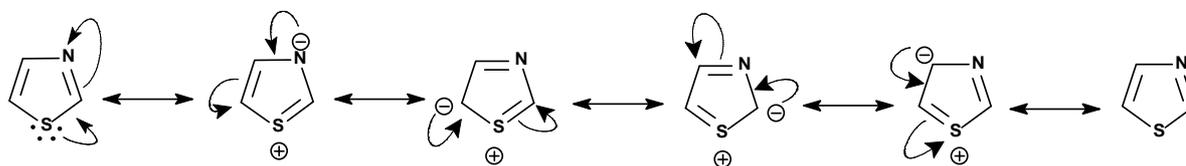


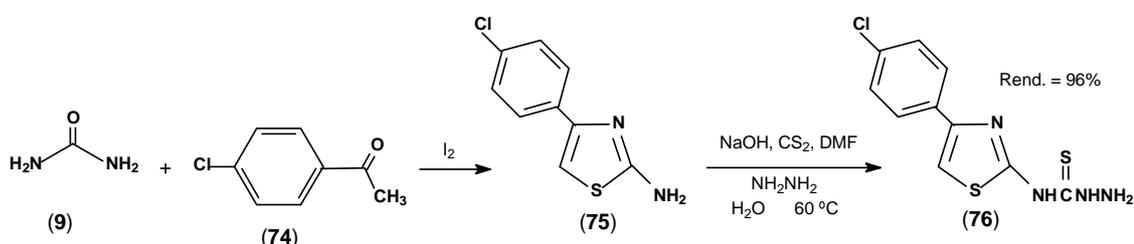
Figura 4 - Formas de ressonância do anel tiazol

O núcleo tiazólico está presente, também, em diversas moléculas biologicamente ativas, como a do sulfatiazol, um importante fármaco antimicrobiano, o ritonavir (Norvir®) utilizado no combate ao vírus HIV, as epotilonas A e B produtos

naturais com potente atividade antitumoral e o pirofosfato de tiamina, presente em uma variedade de descarboxilases e de aldolases (SOUZA et al., 2005).

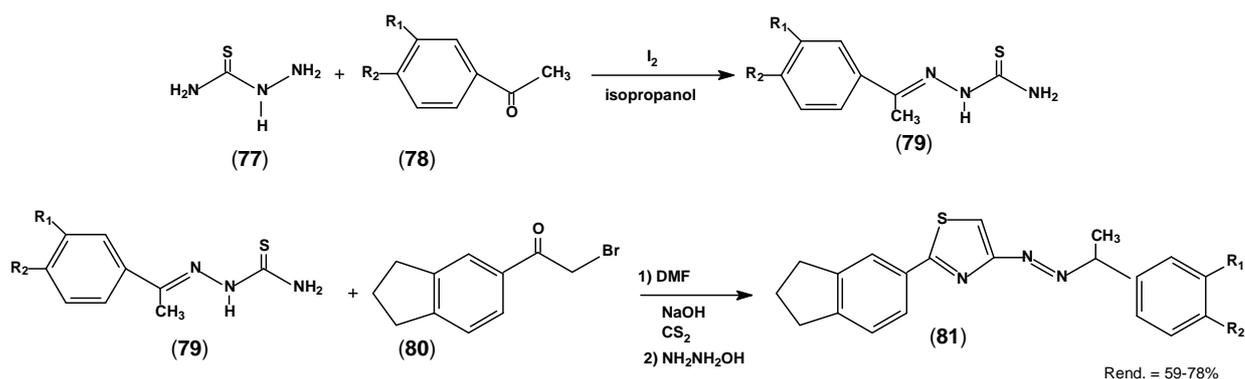
Outras moléculas bioativas com núcleo tiazólico também apresentam potencial aplicação na síntese orgânica, podendo ser utilizadas em reações de condensação, oxidação, transformação de grupos funcionais e formação de ligação carbono-carbono (SOUZA et al., 2005).

Um método de síntese do 4-(4-clorofenil)-2-amino-tiazol (**75**), foi proposto por Pandeya et al., (1999) a partir de uma mistura de 4-cloro-acetofenona (**74**), tiouréia (**9**) e iodo, apresentando bons rendimentos e rapidez na duração da reação (**Esquema 26**). O composto (**75**) reagindo com hidrazona, NaOH, CO₂, DMF e água a 60 °C levou ao produto (**76**) substituído na posição 4 do anel tiazolidínico.



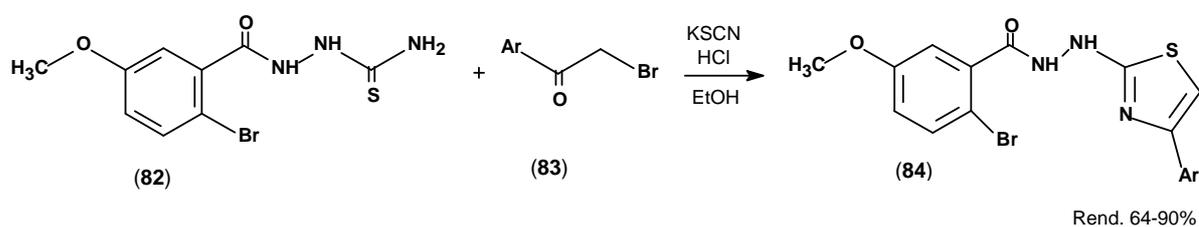
Esquema 26 - Obtenção do (N-[4-(4-clorofenil-tiazol-2-il) tiossemicarbazida) a partir do 4-(4-clorofenil)-2-amino-tiazol

Novos derivados tiazolidrazona foram sintetizados com a intenção de avaliar a atividade antituberculose destes compostos. Estas reações ocorreram a partir de quantidades equimolares de tiossemicarbazida (**77**) com acetofenonas dissustituídas (**78**) na presença de álcool isopropílico, formando o 1-(1-aryl-etilideno-dissustituído)-tiossemicarbazida (**79**). Os derivados *N*-(1-ariletilideno-dissustituído)-*N*-[4-(5-indanil)-tiazol-2-il]-hidrazona (**81**) foram sintetizados pela reação de 1-(1-aryl-etilideno-dissustituído)-tiossemicarbazida (**79**) com 1-(5-indanil)-2-bromoetanona (**80**) (**Esquema 27**) (TURAN-ZITOUNI et al., 2008).



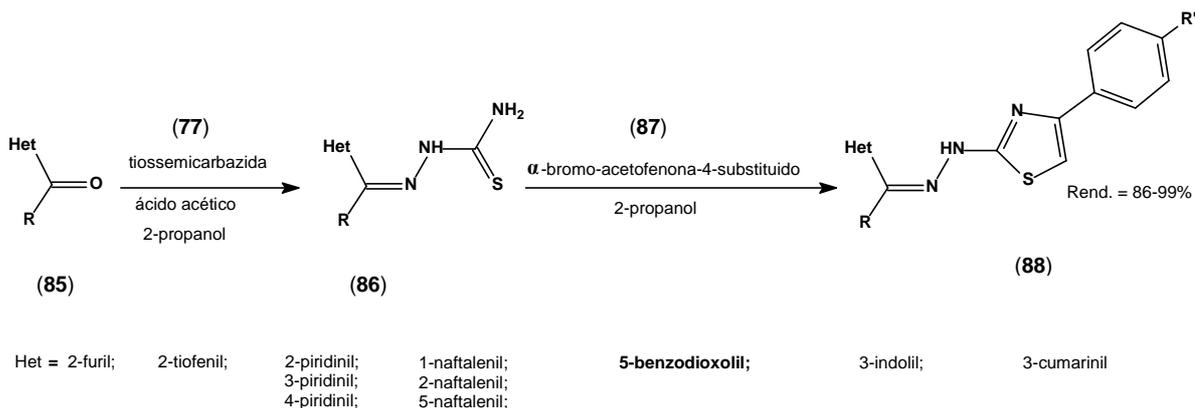
Esquema 27- Rota sintética de derivados tiazólicos

Raj et al., (2007) sintetizaram derivados do 2-bromo-5-metoxi-N'-[4-(aril)-1,3-tiazol-2-il]-benzoidrazida (**84**) a partir da mistura de 1-(2-bromo-5-metoxibenzil)-tiossemicarbazida (**82**) com brometos de acila aromático (**83**), KSCN em meio ácido e etanol sob refluxo. (**Esquema 28**). Todos os compostos foram purificados por recristalização numa mistura de metanol e DMF com bons rendimentos.



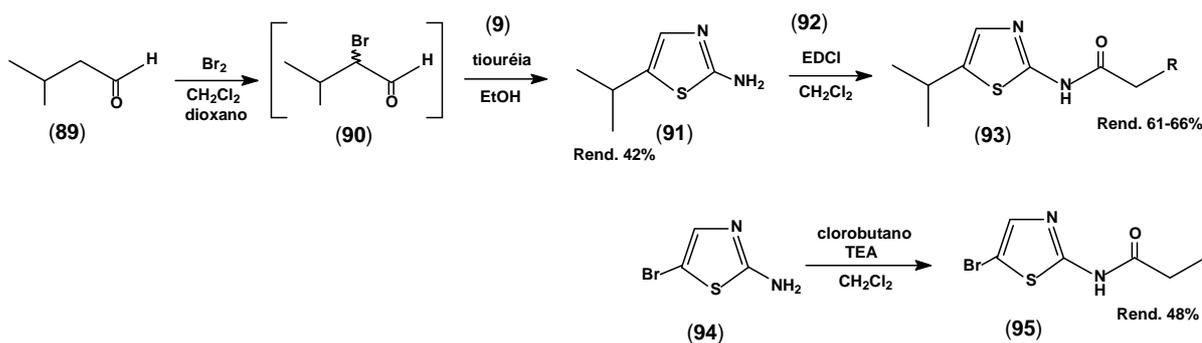
Esquema 28 - Obtenção de derivados 2-bromo-5-metoxi-N'-[4-(aril)-1,3-tiazol-2-il]-benzoidrazida em meio ácido

Uma nova série de derivados 4-[(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-hidrazina (**88**) foi sintetizada com bons rendimentos. Diferentes compostos carbonílicos reagiram diretamente com tiossemicarbazida (**77**) e quantidades catalíticas de ácido acético em 2-propanol, obtendo tiossemicarbazona (**86**) que, posteriormente foram condensados com 4-bromo-metil-4-metoxi-acetofenona (**87**) para 2,4-dissubstituídos-1,3-tiazol (reação de Hantzsch) (**Esquema 29**). A escolha de 2-propanol como solvente, deixou o produto final precipitado sem a necessidade de purificação adicional (CHIMENTI et al., 2011).



Esquema 29 - Síntese de derivados 2,4-dissubstituídos-1,3-tiazol em presença de propanol e ácido acético

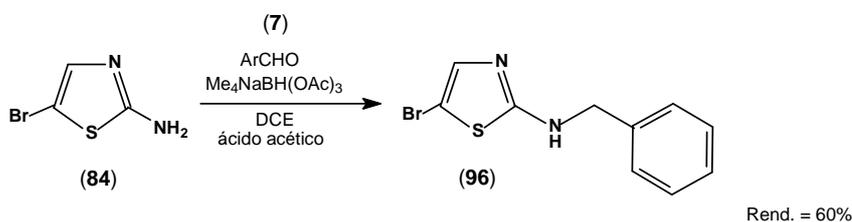
Outros compostos tiazólicos (**93**) e (**95**) também foram sintetizados em duas etapas: na primeira com a mistura do 3-metil-butanalaldeído (**89**) e bromo em diclorometano/dioxano (4:1) a 0 °C por 6h, seguido da adição de tiouréia (**9**) e etanol para obter o 2-amino-5-isopropil-1,3-tiazol (**91**). Na segunda etapa o 2-amino-5-isopropil-1,3-tiazol (**91**) foi acilado na presença de *N*-etil-*N*-(diisopropilamino-etil)-carbodiimida (EDCI) (**92**) e diclorometano a 0 °C . O 2-amino-5-bromo-1,3-tiazol (**94**), obtido comercialmente, também foi acilado na presença de clorobutano, trietilamina (TEA) e diclorometano para levar ao *N*-(5-Bromo-tiazol-2-il)-propanoamida (**95**) (**Esquema 30**) (VULPETTI et al., 2006).



Esquema 30 - Rota sintética de derivados 2-amino-1,3-tiazol a partir de 2-amino-5-isopropil-1,3-tiazol e 2-amino-5-bromo-1,3-tiazol

Vulpetti et al., (2006) também promoveu a reação do 2-amino-5-isopropil-1,3-tiazol (**91**) com benzaldeído (**7**) em ácido acético glacial, 1,2-dicloroetano (DCE) e triacetoxiborohidreto de sódio ($\text{Me}_4\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) em temperatura ambiente (**Esquema 31**). Após 72 h de agitação, o pH da reação foi ajustado para 7 com

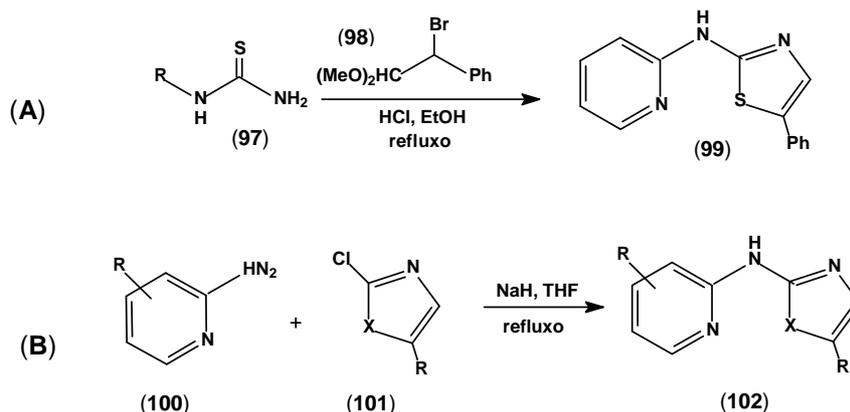
solução aquosa saturada de NaHCO_3 . O produto obtido (2-benzilamino-5-bromo-1,3-tiazol) (**96**) foi purificado por cristalização em éter etílico.



Esquema 31 - Rota sintética alternativa de derivados 2-amino-1,3-tiazol a partir de 2-amino-5-isopropil-1,3-tiazol

Bilodeau et al., (2004) obtiveram uma série de N-piridina-2-amina-(1,3-tiazol-2-il) (**102**), inibidores da quinase KDR, usando duas alternativas de síntese, visando a produção rápida de análogos estruturais de baixo peso molecular, usando o método proposto Hantzsch, reagindo tiouréias substituídas (**97**) com haletos de alquila aromáticos e heteroaromáticos (1-bromo-2,2-dimetoxietil)-benzeno (**98**) em meio ácido e etanol sob refluxo (**A**), obtendo 5-fenil-aminotiazol-substituído (**99**) (**Esquema 32 A**).

Na sequência aminotiazóis foram produzidos pela condensação de aminoheterociclos (**100**) e 2-clorotiazóis (**101**) por substituição nucleofílica usando hidreto de sódio (NaH) e THF sob refluxo para levar ao produto (**102**) (**B**) (**Esquema 32 B**) (BILODEAU et al., 2004).



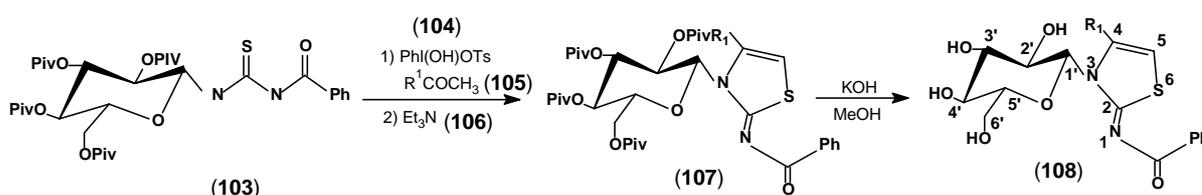
Esquema 32- Sínteses alternativas de aminotiazóis

Uma série de novos tiazol-2-iminas-glicosil foi sintetizada regioseletivamente à temperatura ambiente, apresentando bons rendimentos. A síntese foi realizada por ciclização de 1-benzil-3-tiouréia (2,3,4,6-tetra-O-pivaloil- β -D-glicopiranosil) (**103**) e compostos carbonílicos adequados (**105**) na presença de [hidroxi-(tosiloxi)-

iodo]benzeno (HTIB) (**104**) e trietilamina (**106**) obtendo assim diferentes glicosil tiazol-2-iminas (**107**) (**Esquema 33**) (ZHAO et.al., 2010).

Posteriormente na busca da otimização para remoção completa dos grupos O-pivaloil dos glicoconjugados de tiazol-2-(3*H*)-glicoconjugados imina (**108**) alguns métodos foram testados como a utilização de NaOMe em MeOH. No entanto, esta condição reacional foi inadequada (ZHOU et al., 2008).

Outros métodos catalíticos também foram investigados para a clivagem quimiosseletiva das ligações éster. Ainda em condições ácidas, como adição de HCl/MeOH, HBF₄/Et₂O em MeOH e ácido p-toluenosulfônico (p-TsOH-H₂O) em CH₂Cl₂/MeOH, usando 1-benzoil-4-metil-3-(2,3,4,6-tetra-O-pivaloil-β-D-glicopiranosil)-tiazol-2-imino como substrato de ensaio para as diferentes condições em temperatura ambiente. A otimização para depivaloilação completa do glicoconjugado ligado a tiazol-2-(3*H*)-imina ocorreu em presença de KOH/MeOH, obtendo assim derivados 2-imina-tiazol glicosil (**108**) com bons rendimentos (ZHAO et al., 2010).

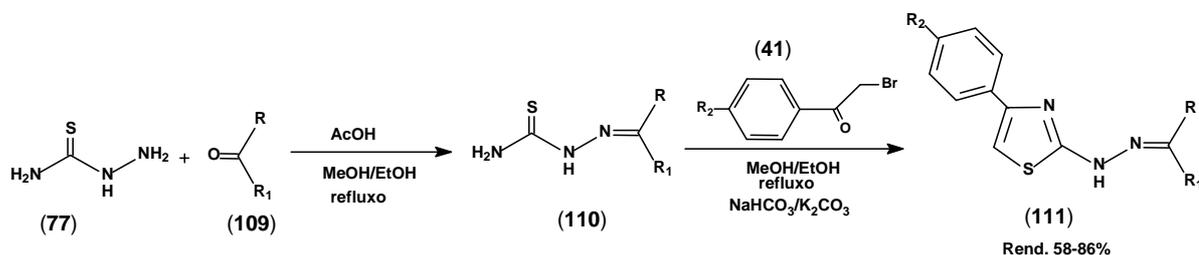


| Derivados | R ₁ | Rendimento % |
|-----------|--|--------------|
| 3a | Me | 81 |
| 3b | Fenil | 79 |
| 3c | 4-O ₂ NC ₆ H ₄ | 87 |
| 3d | 4-FC ₆ H ₄ | 86 |
| 3e | 4-ClC ₆ H ₄ | 82 |
| 3f | 4-IC ₆ H ₄ | 80 |
| 3g | 4-CH ₃ OC ₆ H ₄ | 80 |

Esquema 33 - Síntese geral de tiazol-2-iminas glicosil

Derivados arilideno-2-(4-(4-metoxi/bromofenil)-tiazol-2-il)-hidrazinas (**111**) foram sintetizados a partir da ciclização de tiosemicarbazona substituído (**110**) com brometo de fenacila (**41**). Os produtos finais foram obtidos em duas etapas: na primeira a base de Schiff tiosemicarbazona foi obtida por condensação de quantidades equimolares de aldeídos substituídos ou cetona (**109**) e tiosemicarbazida (**77**) em metanol ou etanol e catalisados por ácido acético. Na segunda etapa, quantidades equimolares de tiosemicarbazona, obtida na primeira etapa, e brometos de fenacila substituídos sob refluxo, neutralizados por

NaHCO₃/K₂CO₃ obtendo os compostos desejados com bons rendimentos (**Esquema 34**) (BHARTI et al., 2010).

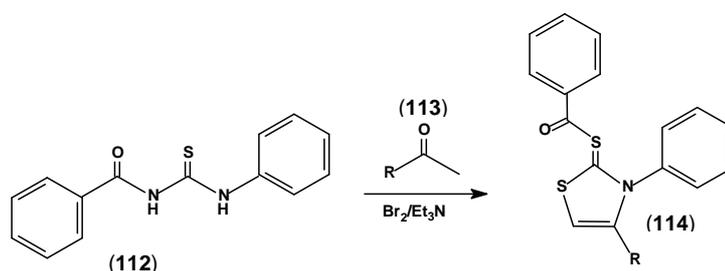


Esquema 34 - Síntese de arilideno-2-(4-(4-metoxi/bromofenil)-tiazol-2-il)-hidrazinas

Bharti et al., (2010) ainda afirmaram que as bases de Schiff são moléculas contendo grupo azometina (-C=N-) na estrutura, normalmente sintetizadas pela condensação de aminas primárias e grupos carbonila ativos. Esses compostos têm se destacado pela sua comprovada ação antibacteriana, antifúngica, anticâncer e antiviral.

2.4.2 Mecanismos de reação de derivados tiazólicos

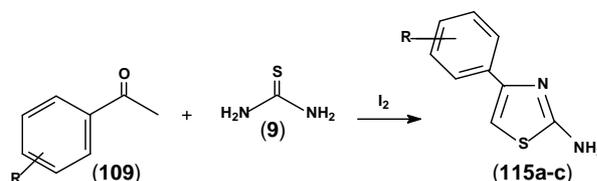
A síntese de derivados tiazolideno-2-imina (**115**) foi realizada por meio da reação do 3-benzoil-feniltiouréia (**112**) com bromo/EDPBT e grupo cetoenólico (**113**) na presença de trietilamina (**Esquema 35**) (SINGH et al., 2006), contestando relatos anteriores de que o produto formado nesta reação era derivado imidazol-2-iona (ZENG et al., 2003).



Esquema 35 - Síntese de tiazolideno-2-imina

Derivados tiazólicos (**115a-c**) foram complexados com metais como cobre, zinco, manganês, cobalto e níquel. Esse processo foi iniciado com a reação de acetofenonas substituídos (**109**) com iodo e tiouréia (**9**) na proporção de 1:1:1 ou

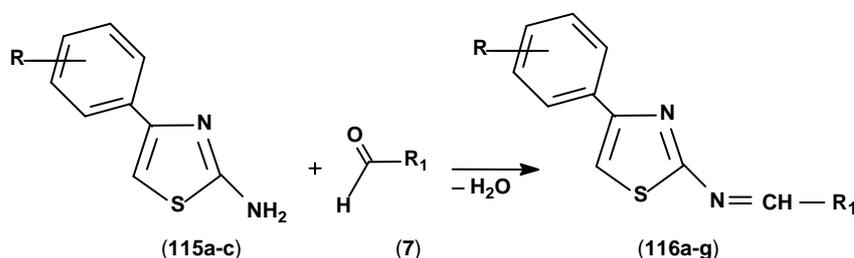
2:2:1. O produto 2-amino-4-feniltiazol-substituído (**115a-c**) obtido foi filtrado e recristalizado em etanol (**Esquema 36**) (SADIGOVA et al., 2003).



| Derivado | R | Rendimento % |
|-------------|-------------------------------------|--------------|
| 115a | H | 70 |
| 115b | 2,5(CH ₃ O) ₂ | 65 |
| 115c | Cl | 43 |

Esquema 36 - Síntese de 2-amino-4-feniltiazol a partir de acetofenonas substituídos com tiouréia em presença de iodo

Numa segunda etapa o 2-amino-4-feniltiazol-substituído (**115a-c**) reagiu com aldeídos aromáticos substituídos (**7**) em meio etanólico obtendo derivados tiazólicos 4-(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-aminobenzilideno-substituído (**116a-g**) com rendimento de 68-75%. O produto obtido foi resfriado com gelo, e o precipitado filtrado e seco, em seguida cristalizado em etanol (**Esquema 37**) (SADIGOVA et al., 2003).

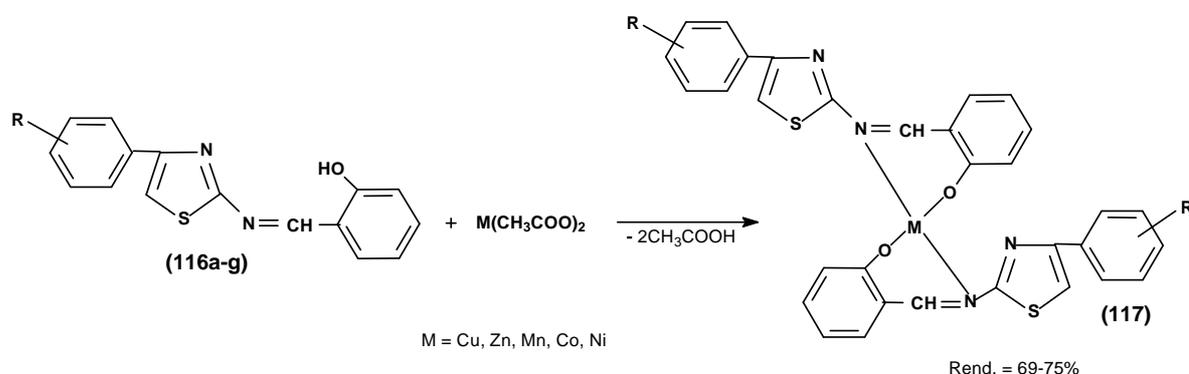


| Derivado | R | R ₁ | Rendimento % |
|-------------|-------------------------------------|--|--------------|
| 116a | H | Fenil | 69 |
| 116b | 2,5(CH ₃ O) ₂ | Fenil | 75 |
| 116c | H | 2-HOC ₆ H ₄ | 75 |
| 116d | 2,5(CH ₃ O) ₂ | 2-HOC ₆ H ₄ | 68 |
| 116e | H | 2-HO-4-BrC ₆ H ₃ | 80 |
| 116f | 2,5(CH ₃ O) ₂ | 2-HO-4-BrC ₆ H ₃ | 71 |
| 116g | 4-Cl | 2-HO-4-BrC ₆ H ₃ | 68 |

Esquema 37 - Obtenção do 2-amino-4-feniltiazol-substituído através da reação de 2-amino-4-feniltiazol com aldeídos aromáticos

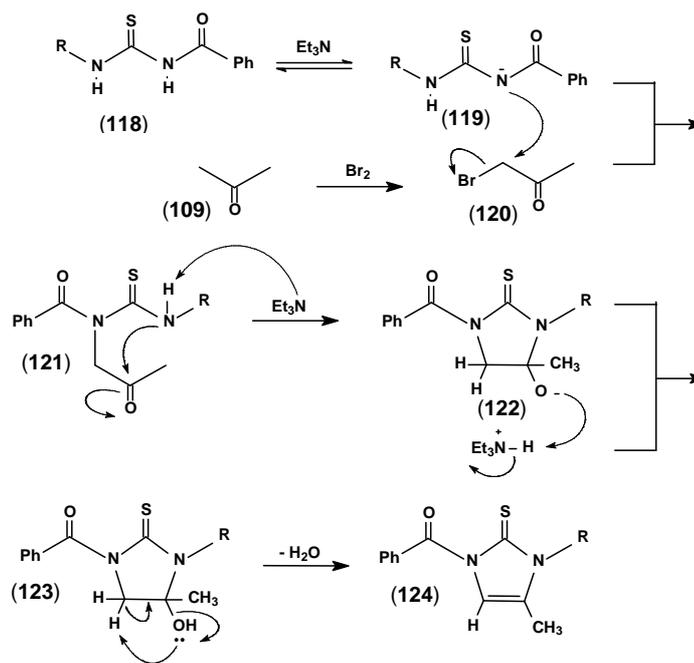
Esse mesmo autor reagiu o composto (**116a-g**) com uma solução de cobre (II) em acetato e água a 60-70 °C em etanol sob agitação. O volume inicial foi deixado para evaporar até 2/3 e o resíduo foi resfriado à temperatura ambiente e foi deixado em repouso por dois dias. O precipitado verde de Cu (C₁₆H₁₁N₂OS)₂ · 2H₂O (**117**) foi

filtrado com bons rendimentos. Os outros complexos foram sintetizados de forma semelhante (SADIGOVA et al., 2003).



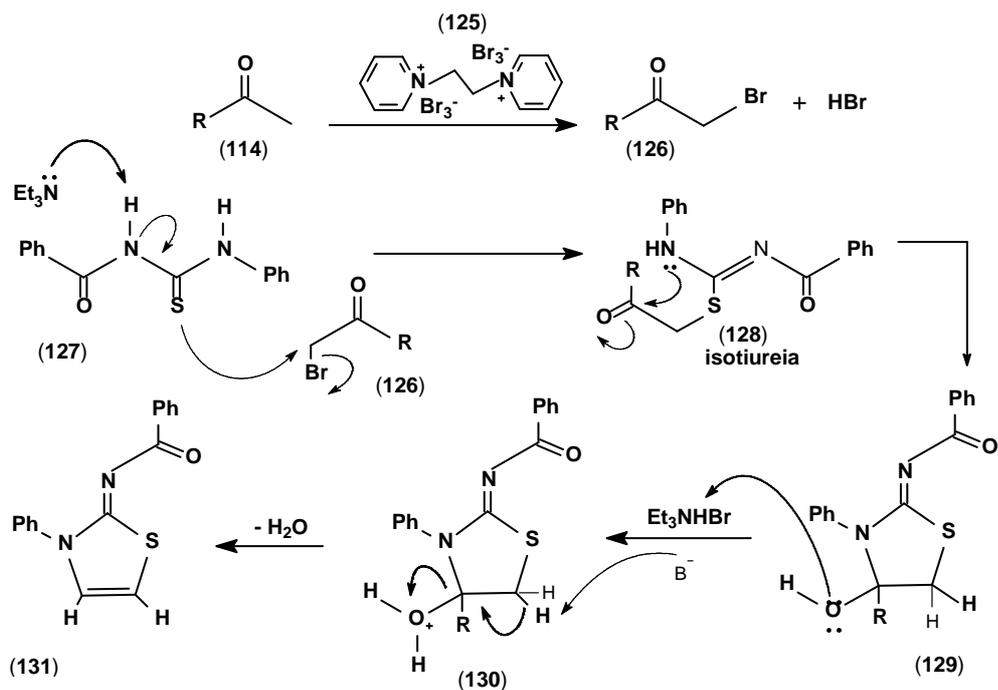
Esquema 38 – Complexação do 2-amino-4-feniltiazol-substituído com metais como cobre, zinco, manganês, cobalto e níquel

O seguinte mecanismo foi proposto para explicar a formação dos derivados imidazol-2-tiona a partir da trietilamina catalítica. Esta atacou um hidrogênio de 1-benzoil-3-ariltiouréia (**118**). A bromação da acetona (**109**) levou ao produto (**120**) que foi atacado pelo átomo de hidrogênio do composto (**119**) conduzindo a (**121**). Neste composto o hidrogênio foi atacado pela trietilamina formando uma carga negativa que em seguida num ataque interno à carbonila levou ao fechamento do anel de cinco membros com carga negativa sobre o oxigênio negativo. Este intermediário ataca a trietilamina protonada e em seguida desidrata formando o composto (**124**). Este método é eficaz na preparação de 1-aróil-3-aril-4-substituído-imidazol-2-tionas a partir da ciclização de 1-aróil-3-ariltiouréias com uma variedade de compostos carbonílicos tais como acetona, acetofenona e acetaldeído na presença de bromo e trietilamina (**Esquema 38**) (ZENG et al., 2003).



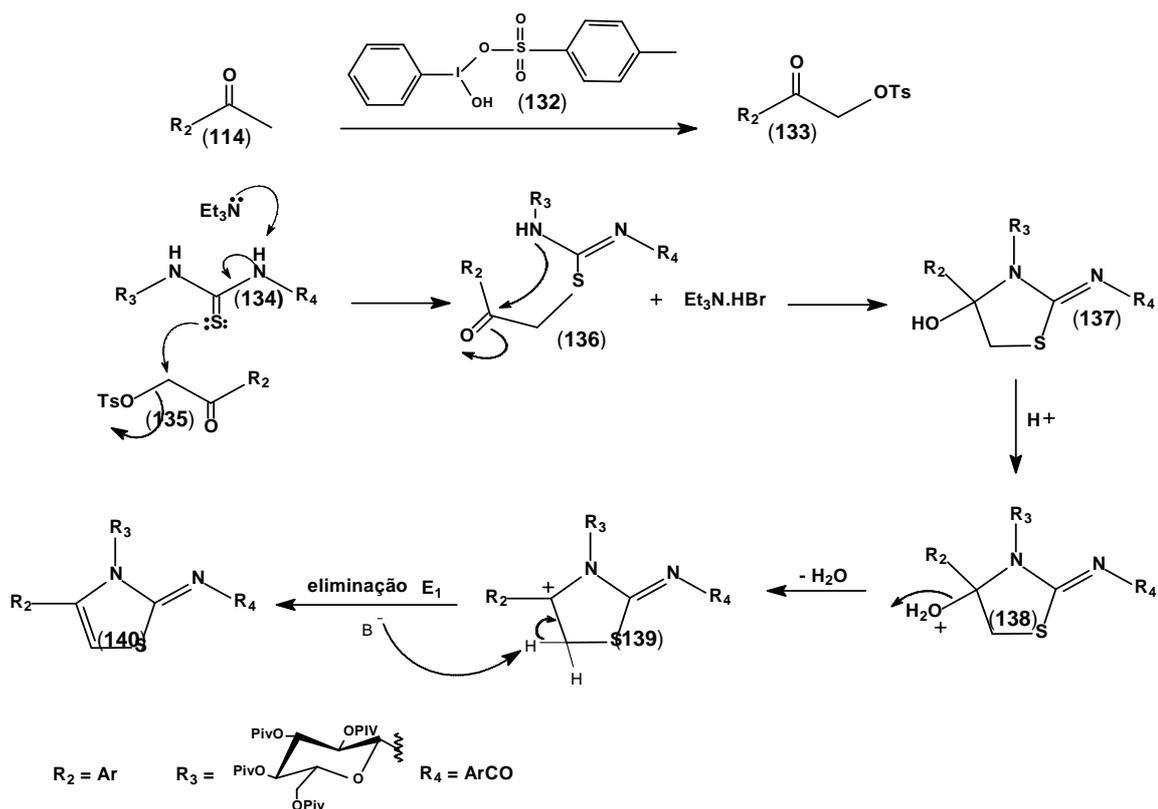
Esquema 39 - Proposta de mecanismo para síntese de derivados imidazol-2-tiona usando trietilamina catalítica

Outro mecanismo dessa reação foi proposto por Singh et al., (2006) com a utilização do reagente Bistribrometo de dipiridina-1,1'-(1,2-diil-etano) (EDPBT) (**125**) ou bromo na formação do bromoacetona (**126**) (**Esquema 39**). Na sequência o carbono da bromometila foi atacado pelo enxofre da tiouréia substituída (**127**), o que é facilitado devido a uma abstração do próton NH por trietilamina formando o intermediário isotiouréia (**128**). Para isto, o par de elétrons do nitrogênio ataca a carbonila intramolecular fechando o anel (**128**). O oxigênio é protonado levando ao (**129**) formando uma hidroxila que ataca o próton do bromo trietilamina levando ao intermediário (**130**) que perdendo uma molécula de água produz o composto 1-benzoil-3-enil-4-metiltiazolideno-2-imino (**131**) (**Esquema 39**) (SINGH et al., 2006).



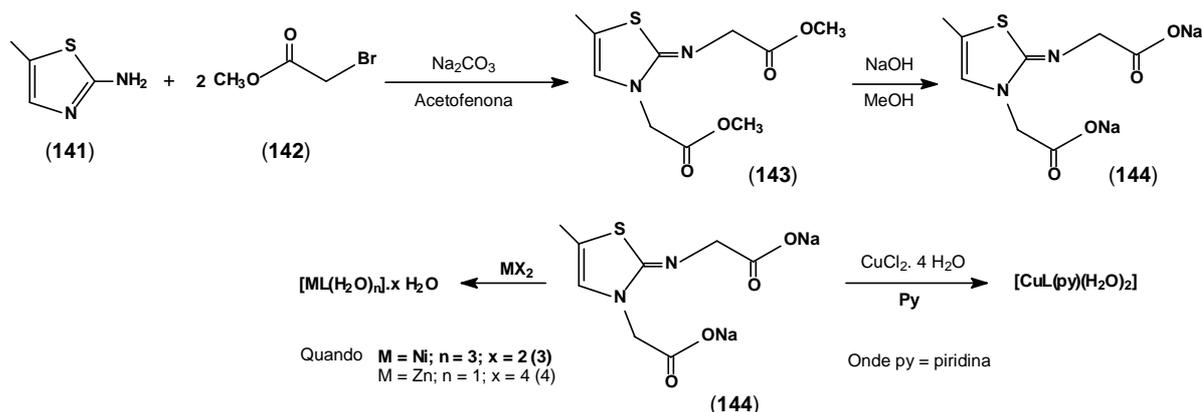
Esquema 39 - Proposta de mecanismo para síntese do 1-benzoil-3-fenil-4-metiltiazolideno-2-imina

A literatura descreve outro mecanismo semelhante, porém, usando o reagente hidroxil (tosiloxi)-iodobenzeno (HTIB) (132) menos corrosivo e tóxico que o bromo. O HTIB é capaz de converter cetonas em cetonas-tosiloxi correspondentes com elevado rendimento (**Esquema 40**) (WANG et al., 2005; ZHAO et al., 2010).



Esquema 40 - Mecanismo de reação proposto para síntese do 2-imino-tiazol

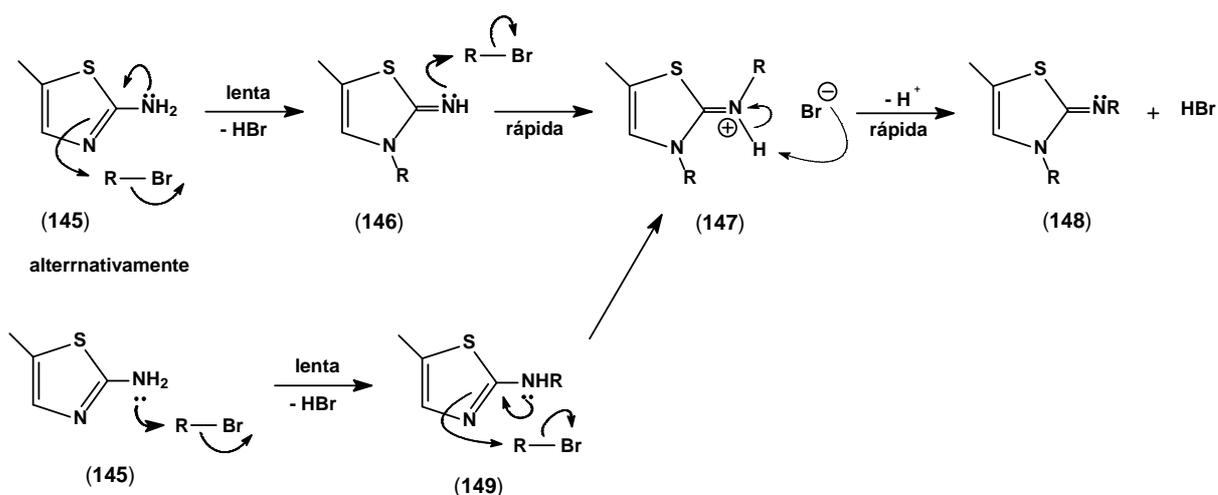
Reações do 5-metil-tiazol-2-il-amina (**141**) com metilbromoacetato (**142**) resultou na obtenção de derivados dissustituídos (2-metoxicarbonilmetilimino-5-metil-tiazol-3-il)-acetato de metila (**143**). O aspecto importante desta reação é que, mesmo quando o 5-metil-tiazol-2-il-amina (**141**) reage com quantidade equimolar de metilbromoacetato (**142**), a reação induz invariavelmente ao produto dialquilado. O grupamento metílico dos derivados dissustituídos (2-metoxicarbonilmetilimino-5-metil-tiazol-3-il)-acetato de metila (**143**) em hidrólise básica origina o sal dissódico (2-carboximetilimino-5-metil-tiazol-3-il) diacetato de sódio (**144**). Esse sal dissódico reage com o cloreto de níquel (II), cloreto de zinco (II) ou cloreto cobre (II), resultando em complexos mononucleares ou polinucleares (**Esquema 41**) (SINGH e BARUAH, 2008).



Na_2L = sal dissódico de (2-carboximetil-imino-5-metil-tiazol-3-il) ácido acético

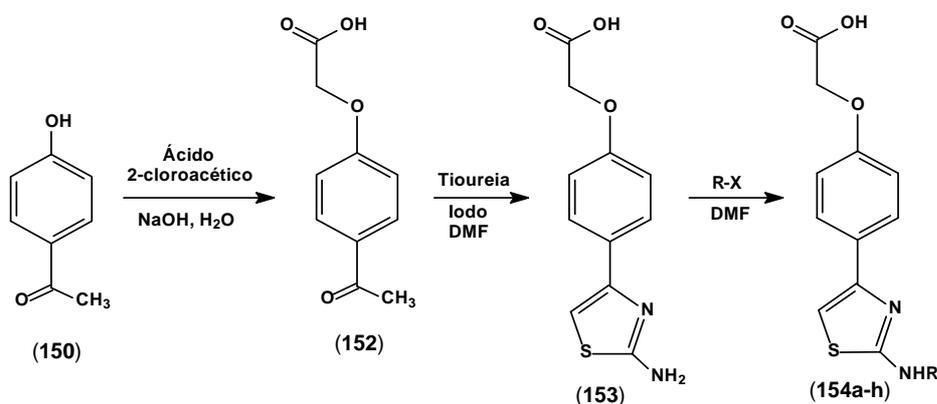
Esquema 41 - Dialquilação do 5-metil-2-aminotiazol com a preparação de ligantes e complexos metálicos

Buscando explicar o fato da reação de dialquilação do 5-metil-tiazol-2-il-amina (141) com quantidade equimolar de bromoacetato de metila produzir invariavelmente o produto dialquilado (143) (**Esquema 42**), foi proposto o mecanismo (**Esquema 49**) destacando a velocidade da reação como fator predominante na formação de produtos dialquilados (147) em detrimento dos monoalquilados (149). Isso porque o processo de alquilação 5-metil-tiazol-2-il-amina na posição 2 do heterociclo ocorre mais rapidamente quando a posição 3 já está alquilada por bromoacetato de metila e a reação de alquilação na posição 2 (145) torna-se mais demorada permitindo concluir que esta rota sintética é mais lenta (SINGH e BARUAH, 2008).



Esquema 42 – Possível mecanismo da diaquilação do 5-metil-tiazol-2-il-amina

Novos compostos aminotiazólicos foram sintetizados a partir da condensação de 1-(4-hidroxifenil)-etanona (**150**) com ácido 2-cloroacético (**151**), NaOH e H₂O produzindo o 2-(4-acetil-fenoxi)-ácido acético (**152**) que posteriormente foi ciclizado com tiouréia e iodo em DMF, resultando na formação do 2-(4-(2-aminotiazol-4-il)fenoxi)-ácido acético (**153**), que em seguida foi alquilado na posição 2 utilizando halogeneto substituído em DMF para produzir o 2-(4-(2-aminotiazol-4-il-substituído)fenoxi)-ácido acético (**154**), (**Esquema 43**) (MOKALE; SANAP; SHINDE, 2010).

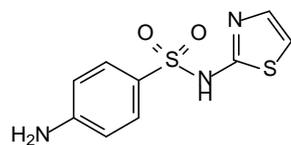


| Derivado | R | Rendimento % |
|-------------|---|--------------|
| 154 | - | 61,2 |
| 154a | COCH ₂ CH ₃ | 58,7 |
| 154b | COCH ₃ | 61,6 |
| 154c | COC ₆ H ₅ | 56,5 |
| 154d | COCH ₂ Cl | 59,1 |
| 154e | CH ₂ C ₆ H ₅ | 52,3 |
| 154f | CH ₂ COC ₆ H ₅ , 4-Cl | 55,8 |
| 154g | CH ₂ COC ₆ H ₅ , 4-NO ₂ | 52,0 |
| 154h | CH ₂ COC ₆ H ₅ , 4-NH ₂ | 51,7 |

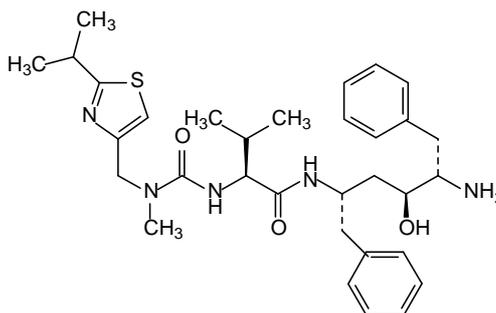
Esquema 43 - Ciclização e alquilação de derivados aminotiazólicos

2.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE DERIVADOS TIAZOLÍNICOS

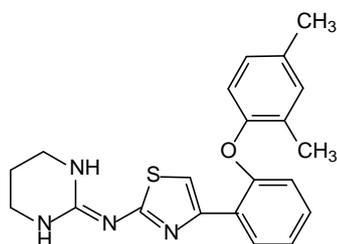
Diferentes compostos derivados do anel tiazólico têm sido descritos como importantes moléculas pesquisadas, por apresentar diferentes propriedades biológicas e farmacológicas. A literatura descreve tiazóis apresentando ampla gama de atividades biológicas, tais como Sulfatiazol (antimicrobianos), ritonavir (medicamento anti-retroviral), Abafungin (antifúngico) e Tiazofurin (antineoplásico). O potencial bioativo dessas moléculas têm sido ampliado com modificações do anel tiazol, contribuindo também para reduzir a toxicidade (SIDDIQUI et.al., 2009)



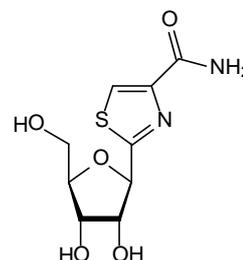
Sulfatiazol



ritonavir



Abafungin



Tiazofurin

Por apresentar as diferentes atividades biológicas descritas, o núcleo tiazol tem atraído muito interesse no desenvolvimento de compostos farmacologicamente ativos. O tiazol parece ser um farmacóforo possível em vários agentes farmacologicamente ativos. Com base neste potencial, derivados tiazólicos foram sintetizados combinando esta funcionalidade com a base de Schiff como possíveis agentes antimicrobianos que possam fornecer melhores resultados terapêuticos (BHARTI et al., 2010).

Compostos tiazólicos foram sintetizados e testados quanto à sua atividade analgésica, antifúngica, antibacteriana e antiproliferativa. Dois dos novos compostos sintetizados exibiram promissora atividade analgésica e um composto exibiu atividade antiproliferativa (RAJ et al., 2007).

Diferentes tiazóis substituídos foram sintetizados e avaliados quanto a sua atividade anti-inflamatória aguda e crônica. Este estudo revelou boa atividade anti-inflamatória, apontando estes compostos como potenciais moléculas no desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios. Estes compostos ainda revelaram um seguro perfil gástrico para ação ulcerogênica. Porém o mecanismo de ação destas moléculas ainda estão sendo estudados (FRANKLIN et al., 2008).

Derivados tiazólicos com substituinte altamente eletronegativo no grupo sulfidríla revelaram potente atividade antimicobacteriana, porém os que apresentaram maior potencial inibitório das bactérias foram os derivados com base de Schiff (posição 2) ligada a anel aromático substituído, provavelmente devido à sua maior lipofilicidade e capacidade de aumentar a penetração na célula bacteriana (SHIRADKAR et al., 2007).

A literatura tem descrito a classe de compostos tiazólicos como um grupo de grande importância no tratamento de sistemas biológicos. Alguns tiazóis sintéticos têm exibido uma gama de atividades biológicas tais como: anti-inflamatória, analgésico e antipirético antitumoral, antifilarial, antibiótico, antibacteriana e antifúngica (GORCZYNSKI et al., 2004; JUNG et al., 2004; AMR et al., 2009). Estudos recentes têm mostrado a síntese de alguns novos tiazóis com ação antimicrobiana e anticâncer (ZHOU et al., 2007).

Amr et al. (2009) sintetizaram uma série de novos derivados tiazólicos pela condensação inicial de metil-2-(tiazol-2-il-carbamoil)acetato com isotiocianato de fenila e reações posteriores utilizando diferentes reagentes orgânicos. Todos os compostos sintetizados foram testados para atividade antiarrítmica e anticoagulante e apresentaram elevada atividade antiarrítmica em comparação com os padrões amida procaína e lidocaína.

Vários 6-substituído-2-benzotiazóis tiossemicarbazonas foram sintetizados e selecionados para avaliação da atividade anticonvulsivante utilizando convulsão induzida por eletrochoque máximo (MES) e pentilenotetrazol subcutânea (scPTZ). Estas convulsões foram induzidas em modelos de camundongos. A neurotoxicidade foi avaliada utilizando o método rotorod (avaliação da deficiência motora mínima em intervalos de 30 minutos durante 4 horas após a administração das drogas). O 6-metil-2-benzotiazol tiossemicarbazona apresentou atividade anticonvulsivante em ambos os meios induzidos. O derivativo 6-nitro-benzotiazol tiossemicarbazona apresentou promissora atividade anticonvulsivante em camundongos. Porém todos os compostos exibiram menor ou nenhuma neurotoxicidade em comparação com o padrão fenitoína (YOGEE SWARI et al., 2005).

Novas 4-[4-(5-metil-3-oxisoxazol-4-il)tiazol-2-il]piperidina carboxamidas e tiocarboxamidas foram sintetizadas com base na boa inibição da protease D1 identificada por homologia de modelagem molecular e triagem virtual previsto pelo programa Autodock. Ao realizar a avaliação da atividade biológica *in vivo* o estudo

revelou menor atividade que a prevista. Este fenômeno pode ser atribuído preliminarmente à baixa biodisponibilidade destes compostos, isto porque eles têm baixa solubilidade em Tween[®] e água, como observado no teste de atividade biológica, e valores de obstrução lipofílicas relativamente elevados. O relativo elevado peso molecular pode constituir outro problema, talvez por causar a baixa biodisponibilidade. A moderada ou boa atividades herbicidas destes compostos *in vivo* pode ser atribuída à inibição da protease D1 (HU et al., 2009).

Dolezal et al., (2006) sintetizaram novos 5-*t*-butil-6-cloro-N-(4-metil-1,3-tiazol-2-il)pirazina-2-carboxamida e testaram para atividade antifúngica *in vitro* contra oito cepas fúngicas. Os resultados revelaram que não houve atividade interessante contra a maioria das cepas testadas. Apenas o 5-*t*-butil-6-cloro-N-(4-metil-1,3-tiazol-2-il)-pirazina-2-carboxamida mostrou alguns resultados promissores para atividade antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes*, que foi a cepa mais suscetível dos fungos avaliados, (MIC=31,25-62,5 mmol/mL⁻¹), embora esta atividade tenha sido apenas modesta em comparação com o padrão fluconazol (MIC=3,91 mmol/mL⁻¹ após 120h. Não foi possível fazer conclusões detalhadas sobre o potencial de relações estrutura-atividade, porém ficou evidente, a notável influência da lipofilicidade crescente no aumento da atividade antifúngica *in vitro* na série de compostos avaliados.

2.5.1 Derivados tiazólicos como agente antimicrobiano

Compostos tiazólicos sintetizados foram avaliados quanto a sua atividade antibacteriana e antifúngica numa concentração de 100 mg. Alguns deles apresentaram excelente atividade antimicrobiana comparado com medicamentos padrão. Os resultados revelaram que a maioria dos compostos sintetizados mostraram diferentes graus de inibição contra os micro-organismos testados. Em geral, a atividade inibitória contra as bactérias Gram-negativas foi maior do que para as bactérias Gram-positivas. O 1-(tiazol-2-il)pirazolina apresentou excelente atividade contra bactérias Gram-negativas (zona inibitória 25 mm) e boa atividade contra bactérias Gram-positivas (zona inibitória 20 mm). Observando a relação estrutura-atividade (SAR), foi possível concluir que tanto o grupamento químico pirazolina quanto o tiazol foram essenciais para a atividade antimicrobiana (ABDEL-WAHAB, ABDEL-AZIZ e AHMED, 2009).

Uma série de derivados 2-arilideno-(4-(4-metoxi/bromofenil)thiazol-2-il)hidrazinas e 1-(4-(4-metoxila/bromofenil)thiazol-2-il)-2-hidrazinas cicloexilideno ou ciclopentilideno foram sintetizados, caracterizados e avaliados quanto a sua atividade antimicrobiana. As atividades anti-bacteriana e anti-fúngica com valores CMI dos compostos foram avaliados. Os resultados mostraram que oito compostos apresentaram atividade antibacteriana de moderada a boa enquanto dez dos novos compostos sintetizados exibiram atividade antifúngicas de boa a excelente. Os compostos com CMI mais eficazes foram na faixa de 6,25-25 mg/mL contra as três cepas fúngicas, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus flavus* (BHARTI et al., 2010).

Estes autores ainda afirmaram que a introdução do anel cíclico 2,4-dissubstituído com bases de Schiff ligadas ao anel thiazol pode contribuir para potencializar o efeito antifúngico dos derivados thiazólicos. Pois, o composto com o substituinte imino-1,2-difeniletanol apresentou maior atividade antibacteriana com halo de inibição entre 17-20 mm na concentração de 12,5 mg/mL, contra *S. aureus* e *V. cholerae*. Outros compostos contendo um substituinte retirador de elétrons do anel aromático (Flour, bromo, nitro) ou grupo doador de elétrons (metoxila) não aumentou significativamente a atividade anti-bacteriana.

2.5.2 Atividade antimicrobiana de derivados thiazólicos frente a isolados clínicos

O surgimento de várias cepas bacterianas resistentes têm evidenciado um sério problema clínico. Entre estes o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é um dos patógenos mais graves que causam infecções hospitalares. Apenas algumas drogas, como arbecacina, vancomicina (VCM), teicoplanina, linezolida, daptomicina estão disponíveis para as infecções de MRSA. Muitos tipos de drogas já foram relatadas contra essas cepas resistentes (MARUYAMA et al., 2007).

Devido a crescente resistência microbiana, as pesquisas têm assumido importante papel em detectar a resistência aos antimicrobianos de uso clínico e na síntese de novas drogas para serem utilizadas no tratamento de infecções causadas por amostras de *S. aureus* multirresistentes. Como esta espécie desenvolve facilmente resistência a antimicrobianos, é preciso testar novas moléculas potencialmente ativas buscando descobrir novas opções terapêuticas para o

tratamento de infecções causadas por *S. aureus* isolados em hospitais brasileiros (FARIAS et al., 1997).

Uma série de derivados 2-[5-(piridina-2-il)-1,3,4-tiadiazol-2-il-tio]ácido acético (3,4-diaril-3*H*-tiazol-2-ilideno)-hidrazida foram sintetizados e testados *in vitro* quanto à sua atividade antimicrobiana. Alguns compostos mostraram atividade importante contra uma cepa do *M. tuberculosis* e três isolados clínicos de *M. Tuberculosis* (MAMOLO et al., 2003). Este estudo evidenciou que a atividade antimicrobiana dos derivados frente a cepa de *M. Tuberculosis* e aos isolados clínicos desta mesma espécie não dependeu dos efeitos eletrônicos, elétron-doador e elétron-retirador dos substituintes do anel aromático ligado ao anel tiazol, mas o potencial antimicrobiano sofreu variação em função da posição do anel tiazol que estava ligado o grupo fenila, *para* ou *meta* substituídos, com destaque para os derivados substituídos nas posições 3 e 4 simultaneamente (155) (Figura 5).

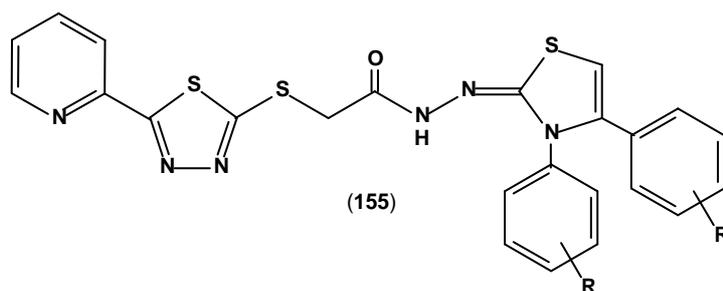


Figura 5 - Derivados 3,4-dissubstituído 3*H*-tiazol-2-ilideno-hidrazida

Visando pesquisa e desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos derivados tiazolilidrazonas foram sintetizados e avaliados para a atividade antituberculose e toxicidade. Alguns dos compostos testados apresentaram inibição importantes, que vão de 92% a 96%. O SAR mostrou que uma substituição de fenil na estrutura tiazolilidrazona pode afetar a atividade. Os valores de IC₅₀ obtidos para os seis compostos não apresentaram significativa citotoxicidade nas concentrações abaixo de 49 mg/mL após 24 h de incubação. Comparando resultados de toxicidade e testes de atividade antimicrobiana, vê-se que a atividade antimicrobiana dos compostos não é devido aos seus efeitos tóxicos como ocorre em geral, no entanto, sua atividade antimicrobiana pode ser, possivelmente, devido ao seu efeito antimicrobiano seletivo. Os resultados desta pesquisa indicam alguns destes derivados para o desenvolvimento de novos agentes a partir da sua actividade

antituberculose e nenhum ou moderado nível de toxicidade (TURAN-ZITOUNI et al., 2008).

Uma nova série de derivados [4-(4'-substituído-fenil)tiazol-2-il]hidrazina foram sintetizados com bons rendimentos (86-99%) e testados como antifúngico *in vitro* contra 20 isolados clínicos de *Candida spp* patogênicas e comparados com os padrões clotrimazol e fluconazol. Os resultados mostraram que a presença do heterocíclico bicíclico ou anéis na molécula de tiazolhidrazona na posição C2 revelou atividade seletiva inibitória promissora especialmente contra *Candida albicans* e *Candida glabrata*. Este estudo indica que os derivados de farmacóforos tiazóis são bons compostos para pesquisas de moléculas bioativas (CHIMENTI et al., 2011) e como bioisómero do anel imidazol, apresenta um modo de ação diferente, inibindo o crescimento dos fungos, em relação aos azóis e anfotericina B, um perfil de baixa toxicidade, e um amplo espectro fungicida (LOGU et al., 2005).

2.5.3 Derivados tiazólicos como agentes antiproliferativos contra células neoplásicas

O câncer é caracterizado por um desvio do mecanismo de controle que dirige a proliferação e a diferenciação celular. Um grande número de produtos citotóxicos mais potentes atua em fases específicas do ciclo celular e, conseqüentemente, só exercem ação contra células que se encontram em processo de divisão. Portanto as neoplasias malignas mais susceptíveis ao tratamento quimioterápico são as que possuem um alto percentual de células em divisão (OLIVEIRA e ALVES (2002).

O século XX foi marcado pela redução da mortalidade causada por doenças infecciosas e pelo aumento no controle de patologias neoplásicas. No entanto, micro-organismo, vírus e os tumores, ainda representam uma grave ameaça para a saúde humana e, portanto, um controle mais eficiente, requer o desenvolvimento constante de novas e mais potentes drogas.

Foi realizado um ensaio antitumoral preliminar contra NCI-H (pulmão), MCF-7 (mama) e SF-268 (CNS) com três novos derivados tiazólicos. Neste protocolo, cada linhagem celular foi inoculada em uma placa de microtitulação pré-incubado. Os compostos testes foram adicionados com uma concentração única à cultura que é incubada por 48h. Em seguida foi identificada a ligação às proteínas com corante Sulfarodamina B. O composto 2-bromo-5-metoxi-N'-[4-(4-hidroxi-3-benzamida)-1,3-

tiazol-2-il]benzoidrazida foi selecionado para ser avaliado frente a células cancerosas de pulmão, cólon, melanoma, renal, ovário e leucemia. Este composto apresentou maior atividade antiproliferativa contra a linhagem celular de leucemia, porém foi inativo para todas outras linhagens testadas. Foi observado que a presença do grupamento bioativo salicilamida aumenta a atividade antiproliferativa (**Figura 6**) (RAJ et al., 2007).

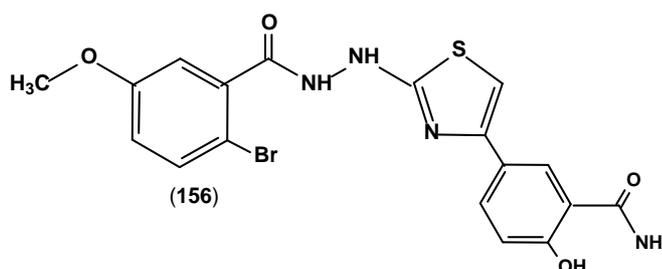


Figura 6 - Estrutura do 2-bromo-5-metoxi-N'-[4-(4-hidroxi-3-benzamida)-1,3-tiazol-2-il]-benzohidrazida

Vários 4-ariloxi e 4-arilsulfanil-fenil-2-aminotiazóis substituídos foram sintetizados e avaliados para atividade citotóxica contra estrogênio positivo, o estrogênio negativo e adriamicina resistente a linhagens celulares de câncer. Este estudo indicou que várias 2-aminotiazóis são potente e seletivos para a adriamicina resistente e linhagens celulares de câncer de mama estrogênio-negativas. Em geral, tiazóis com uma ligação de oxigênio mostrou seletividade estrogênio positivo e ligações tioéter a seletividade estrogênio negativo (GORCZYNSKI et al., 2004).

Novos tipos de derivados tiazolilbenzimidazóis foram sintetizados e avaliados quanto à sua atividade antitumoral contra linhagens celulares SMMC-7721 e A549. A maioria dos compostos 2-(1-metil-1*H*-benzimidazol-2-il)-tiazol-4-il-éster etílico acético (**157**) e 2-(1*H*-benzimidazol-2-il-1-substituído)-4-metil-tiazol-5-éster etílico acético

(**159**) revelaram boa atividade antitumoral, e o 2-(1-Bromo-1*H*-benzimidazol-2-il)-tiazol-4-substituído-5-carboxico (**158**) exibiu notável atividade anticancerígena *in vitro* comparado ao padrão taxol. A citotoxicidade de cada composto foi expressa como a concentração do composto necessária para matar 50% das células tumorais. A relação estrutura atividade (SAR) preliminar destes derivados foi discutido com base nos dados experimentais obtidos. Estes resultados também indicam que os compostos tiazolil-benzimidazóis (**Figura 7**) sem porção quinona poderia também servir como agentes antitumorais potentes, podendo apresentar menos efeitos colaterais do que com as partes quinona (LUO et al., 2011).

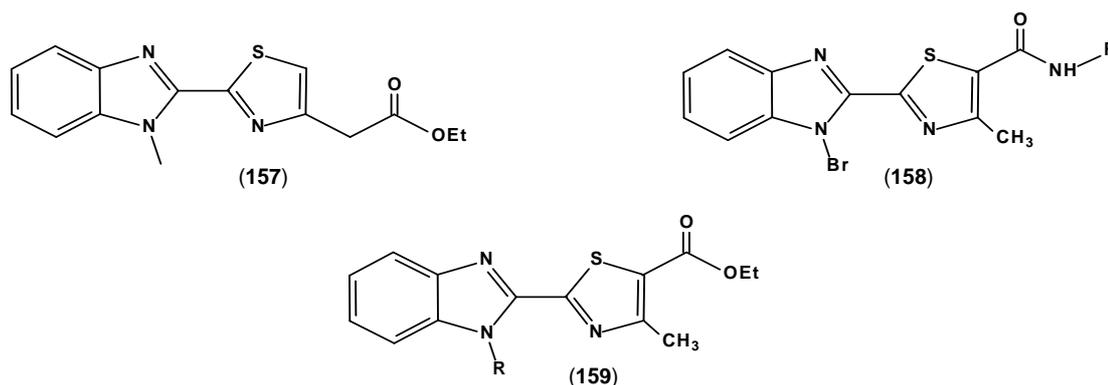


Figura 7- Estruturas de derivados 2-tiazol-1H-benzimidazol

A maioria destes compostos exibiram de boa a moderada potência antitumoral (IC_{50} 1,14-33,31) contra a linhagem celular SMMC-7721. Os compostos N-CH₃ e N-C₂H₅ apresentaram moderada atividade (IC_{50} ¼ 13,88 e 9,85, respectivamente), enquanto a substituição do grupo metila ou etila com o grupo benzila resultou num aumento da atividade, sugerindo que o caráter lipofílico dos substituintes na posição N-1 foi um determinante para a citotoxicidade. No entanto, o composto com um grupo isopropila na posição N-1 exibiu potência antitumoral muito reduzida. O composto (158) não foi somente ativo para células SMMC-7721, mas também exibiu boa citotoxicidade contra célula A549, reforçando a teoria indica que o recurso hidrofílico do anel tiazol foi determinante para a atividade antitumoral (LUO et al., 2011).

Derivados glicosil-tiazol-2-iminas foram sintetizados regioseletivamente à temperatura ambiente, com a finalidade de descobrir novos compostos com atividade antitumoral contra células Hela (carcinoma cervical), HCT-8 (carcinoma de cólon) e Bel-7402 (hepatocarcinoma). Entre os compostos selecionados, o 1-benzoil-4-(4-nitrofenil)-3-βD-glicopiranosil-tiazol-2-(3H)-imina foi escolhido por ser o composto mais ativo contra HCT-8 (carcinoma de cólon). Os resultados apontaram que alguns derivados possuem fraca atividade antitumoral contra Bel-7402 e Hela, mas o glicoconjugado 1-benzoil-4-(4-nitrofenil)-3-βD-glicopiranosil-tiazol-2(3H)-imina foi o mais ativo contra HCT-8 (ZHAO et al., 2010).

Muitos tumores têm sido associados com a inibição por apoptose, e as perturbações da função apoptótica que contribuem substancialmente para a transformação de uma célula normal em uma célula tumoral (ROHAYEM et al., 2000). Espécies reativas a oxigênio intracelular (ROS) são consideradas um sinal de morte em apoptose, por induzir a perturbação do potencial de membrana

mitocondrial (MMP) e liberação de citocromo C da mitocôndria para o citosol, onde citocromo C ativa caspase-9 de ativação e inicia o efeito cascata-caspases que termina na apoptose celular (LU et al., 2006; LI et al., 2010).

O derivado sintético benzotiazol 3-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-il) fenil acetato - DPB-5 (**160**) (**Figura 8**) revelou atividade citotóxica, por induzir a apoptose de células, mediadas por ROS (Espécies Reativas a Oxigênio Intracelular). Sendo o composto DPB-5 (**160**) com efeito mais citotóxico para células hepatoma que células hepáticas normais. Isso ocorreu por causa da maior suscetibilidade das células malignas ao ROS. Isto porque DPB-5 causou acúmulo de ROS e diminuição de GSH (níveis de glutathiona intracelular), que levam a interrupção do MMP brometo de (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), a ativação da caspase e finalmente a apoptose celular induzida (LI et al., 2010).

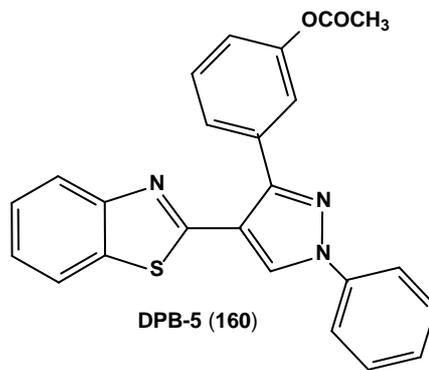


Figura 8 - Estrutura química do DPB-5

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar novos derivados tiazolidínicos e tiazólicos potencialmente ativos, bem como elucidar a estrutura destes derivados e avaliar *in vitro* suas atividades antimicrobiana e citotóxica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar novos derivados tiazolidínicos com substituintes nas posições 3, 4 e 5 do núcleo tiazolidínico a partir de aldeídos, reativo de Lawesson e cloretos ou brometos de fenacila e benzila.
- Sintetizar novos derivados tiazólicos com substituintes nas posições 2 e 4 do núcleo tiazólico a partir de tiuréia e acetofenona 4 substituído e posteriormente condensar o núcleo 4-tiazolsubstituído com benzaldeídos-4-substituídos na posição 2 para formar bases de Schiff.
- Caracterizar a estrutura química dos derivados obtidos, através de métodos espectroscópicos necessários à elucidação estrutural, usando as técnicas de IV, RMN¹H, RMN¹³C e Análise elementar.
- Avaliar a atividade antimicrobiana frente a diferentes cepas de *Staphylococcus aureus*, isolados clínicos, obtidos de diferentes sítios de infecção, em ambiente hospitalar e frente a representantes do grupo dos micro-organismos Gram-positivos, Gram-negativos, ácido álcool resistentes, leveduras e fungos filamentosos dos derivados tiazolidínicos e tiazólicos sintetizados.
- Verificar a ação antiproliferativa "*in vitro*" destes compostos frente a diferentes tipos de células neoplásicas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PARTE EXPERIMENTAL

4.1.1 Cromatografia

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas Merck Kieselgel 60 F254 de 0,25mm de espessura. As revelações foram realizadas sob luz ultravioleta (254nm).

4.1.2 Pontos de fusão

Os pontos de fusão foram medidos em tubos capilares imersos em banhos de silicone, no aparelho para ponto de fusão modelo 340.27 marca QUIMIS.

4.1.3 Espectroscopias de IV, RMN¹H, RMN¹³C e Análise Imediata

Os espectros no infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro de infravermelho – Perkin-Elmer 1310.

Os espectros de RMN¹H e RMN¹³C foram obtidos em equipamento Varian Modelo Unity Plus 300 MHz, utilizando CDCl₃ e DMSO-*d*₆ como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em ppm, utilizando o solvente tetrametilsilano como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hz e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: **s** – singlete, **d** – dubleto, **dd** – duplo dubleto, **t** – tripleto e **m** – multiplete.

4.1.4 Reagentes e solventes

Todos os reagentes (Merck ou Aldrich) e solventes (Vetec ou Quimis) utilizados apresentaram a especificação PA.

4.2 ESTUDO QUÍMICO DOS DERIVADOS DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA

A síntese dos derivados tiazolidinônicos descritos neste trabalho ocorreu pela substituição de hidrogênios do anel heterocíclico por reações de alquilação com

4.3 METODOLOGIA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS

A síntese dos derivados tiazolidinônicos descritos neste trabalho ocorreu pela substituição de hidrogênios do anel heterocíclico por reações de alquilação com cloretos de benzila, tionação com reativo de Lawesson e condensação de Knoevenagel com aldeídos aromáticos nas posições 3, 4 e 5 respectivamente (**Esquema 44**).

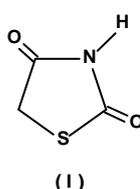
As reações foram iniciadas com a condensação da tiouréia e ácido monocloroacético com posterior ciclização por aquecimento, em meio aquoso originando a tiazolidina-2,4-diona (**I**). Em seguida ocorreu a reação de tionação da tiazolidina-2,4-diona (**I**) na posição 4, por aquecimento em presença de dioxano seco e reativo de Lawesson formando a 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**II**).

Na etapa seguinte houve a condensação da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**II**) com benzaldeídos substituídos, na posição 5 do anel heterocíclico em meio ácido e acetato de sódio produzindo os compostos (**IIIa-f**). Esse mesmo tipo de reação foi seguido com a tiazolidina-2,4-diona e bezaldeídos substituídos, obtendo os compostos (**IVa-f**).

Outra rota seguida foi a partir da alquilação na posição 3 do núcleo tiazolidina-2,4-diona na presença de KOH em metanol (0,165 mol/L), utilizando haletos de benzila para síntese dos intermediários (**Va-b**), que em seguida também foram condensados com benzaldeídos substituídos na posição 5 catalizados por acetato de sódio fundido na presença de ácido acético ou catalizados por piperidina em etanol sob refluxo para formar os compostos (**Vla-g**).

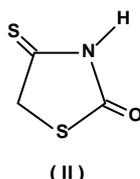
4.3.1 Síntese da tiazolidina-2,4-diona (**I**)

A tiazolidina-2,4-diona (**I**) é o composto de partida, foi obtida por condensação do ácido monocloroacético e tiouréia em água sob-refluxo.



A síntese da tiazolidina-2,4-diona (I), foi produzida pela mistura de quantidades equimolares de ácido monocloroacético 17 g (6.57×10^{-2} mol) e tiouréia 5.0 g (6.57×10^{-2} mol) em água sob refluxo, promovendo a ciclização da molécula ($C_3H_3O_2NS$). A reação apresentou rendimento de (5,99 g), 78%; ponto de fusão 118-120 °C e R_f 0,48 (0,9:0,1 $CHCl_3/MeOH$) e foi recristalizado em água.

4.3.2 Síntese da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (II)

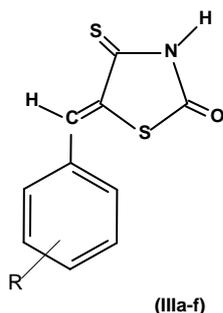


A 4-tioxo-tiazolidina-2-ona foi sintetizada a partir de quantidades equimolares de tiazolidina-2,4-diona (I) 5 g ($4,27 \times 10^{-2}$ mol) e reagente de Lawesson 17,25 g ($4,27 \times 10^{-2}$ mol) em 35 mL de dioxano seco (com sódio) sob refluxo e agitação magnética durante 7 horas. Após resfriamento, o composto foi evaporado até metade do volume original. O produto sólido de cor creme foi filtrado, lavado com *n*-hexano e recristalizado em etanol. Foram obtidos (4,82 g) 85% do produto desejado;. ponto de fusão 140-141 °C; R_f 0,46 (0,95:0,05 $CHCl_3/MeOH$), Fórmula molecular $C_3H_3ONS_2$.

4.3.3 Síntese do 5-arylideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (IIIa-f)

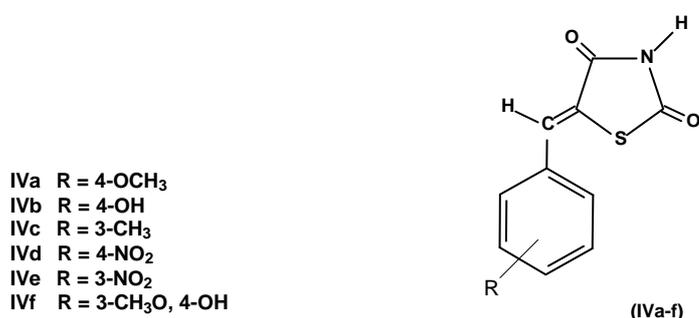
Os compostos IIIa-f foram sintetizados a partir de quantidades equimolares de 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (II) 0,299 g ($2,25 \times 10^{-3}$ mol) com acetato de sódio e aldeído aromático 0,342 g ($2,25 \times 10^{-3}$ mol) em ácido acético glacial (7,0 mL). A mistura foi aquecida sob refluxo e agitação magnética durante 2-6 horas. Após o término o conteúdo do balão foi resfriado, o composto evaporado até metade do volume, resfriado e recristalizado em solvente apropriado.

- IIIa R = 3-OH; 4-OCH₃
- IIIb R = 3-OCH₃, 4-OH
- IIIc R = 2-OH
- IIId R = 4-OH
- IIIe R = 2-OH; 5-Cl
- IIIf R = 4-Br



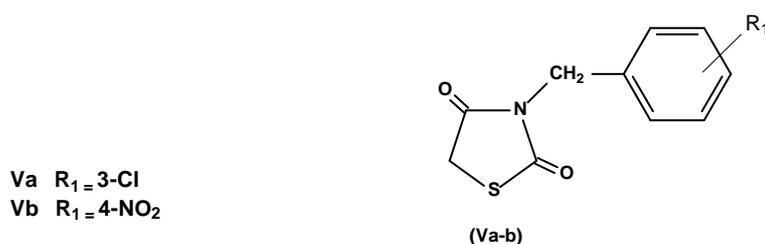
4.3.4 Síntese do 5-arylideno-tiazolidina-2,4-diona (IVa-f)

Os compostos **IVa-f** foram sintetizados a partir de quantidades equimolares de uma solução de tiazolidina-2,4-diona (**I**) 0,263 g ($2,25 \times 10^{-3}$ mol) em 7 mL de etanol e duas gotas de piperidina com aldeídos aromático 0,342 g ($2,25 \times 10^{-3}$ mol). A mistura foi aquecida a 70 °C e continuamente agitada pelo período de 10 horas. Após o término da reação que foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, o produto foi resfriado em banho de gelo, o volume reduzido a metade, e o produto filtrado e recristalizado no solvente apropriado.



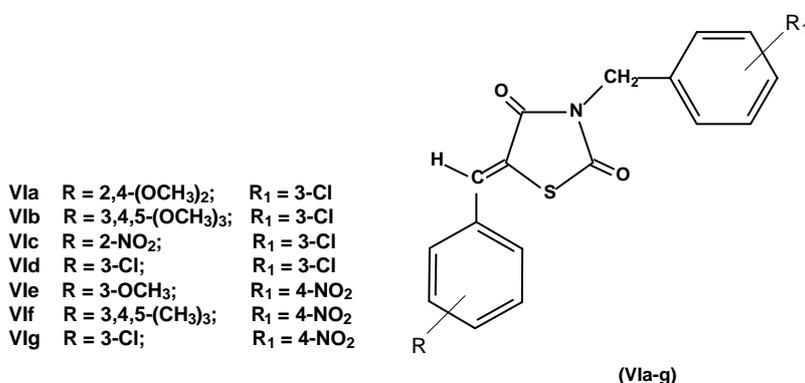
4.3.5 Síntese do 3-benzil-substituído-tiazolidina-2,4-diona (Va-b)

Os compostos **Va-b** foram sintetizados a partir de quantidades equimolares de uma solução de tiazolidina-2,4-diona (**I**) 0,386 g ($3,3 \times 10^{-3}$ mol) dissolvida em em 15 mL de etanol e adicionado uma solução de KOH dissolvido em metanol 0,0585 g/mL (0,165 mol/L), gota a gota em temperatura ambiente sob agitação magnética durante 30 minutos. Em seguida foi adicionado 0,706 g ($3,3 \times 10^{-3}$ mol) de brometo ou cloreto de 3-clorobenzila ou 4-nitrobenzila. A mistura foi aquecida em banho de óleo a 75 °C sob refluxo e agitação por 2 horas. Após o resfriamento, o volume foi evaporado a metade e submetido a banho de gelo. Os compostos foram filtrados e recristalizados em etanol.



4.3.6 Síntese do 5-arylido-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g)

Os derivados 5-arylido-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona foram sintetizados usando quantidades equimolares 0,844 g ($3,3 \times 10^{-3}$ mol) de 3-(3-clorobenzil)-tiazolidina-2,4-diona ou 0,881 g 3-(3-nitrobenzil)-tiazolidina-2,4-diona os quais foram dissolvidos em 15 mL de metanol e duas gotas de piperidina juntamente com aldeídos aromáticos substituídos 0,501 g ($3,3 \times 10^{-3}$ mol). A mistura foi aquecida a 55 °C por 2 horas. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada e recristalizados no solvente apropriado.



4.4 MECANISMOS DE REAÇÃO DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA (I)

A síntese dos derivados tiazolidínicos é explicada pelo seguinte mecanismo: a tiuréia (**a**) entra em ressonância e ocorre o ataque nucleófilo do enxofre de seu híbrido (**b**) ao átomo de carbono α do ácido monocloroacético, liberando o ânion cloreto, pelo mecanismo S_N2 . Na etapa seguinte, ocorreu perda de um próton do intermediário formado, levando a estrutura (**c**), que sofreu ataque intramolecular pelos pares de elétrons livres do nitrogênio à carboxila, formando a ciclização do anel (**d**), que entrou em equilíbrio, transferindo o próton do nitrogênio positivo, para o oxigênio negativo, favorecendo a estrutura (**e**). Esta foi protonada e perde água, levando à estrutura (**f**) que também perdeu um próton deixando a carbonila livre, estrutura (**g**) que foi atacada por uma molécula de água formando (**h**), esta entrou em equilíbrio e sendo protonada perde uma molécula de amônia, produzindo o intermediário (**i**) que foi atacado pela base para formar a tiazolidina-2,4-diona (ALBUQUERQUE, 1996) (**Figura 10**).

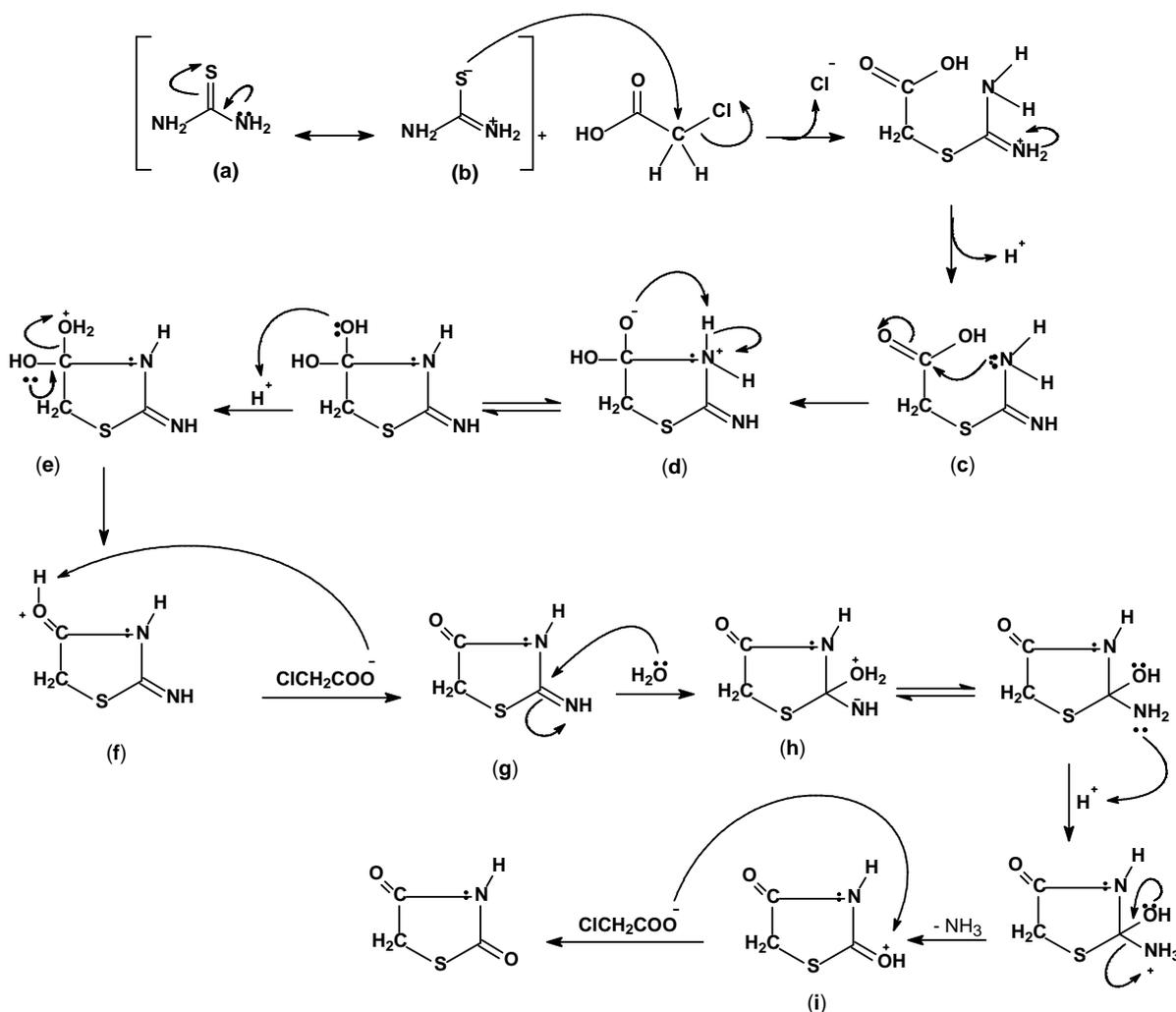


Figura 9 - mecanismo de síntese da tiazolidina-2,4-diona (I)

4.4.1 Mecanismo de reação do 5-arilideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (IIIa-f)

O átomo de hidrogênio do carbono da posição 5 da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (II) é abstraído pela base (íon acetato) para formação do carbânio. Este carbânio originado atacou a carbonila do benzaldeído, formando o intermediário (a') que captura um próton do meio reacional formando a hidroxila em (b') que em seguida foi protonada levando a (c'). O íon CH_3COO^- atacou o hidrogênio C_5 formando a dupla ligação e expulsando a molécula de H_2O , formando a estrutura (III) (ALBUQUERQUE, 1996) (Figura 11).

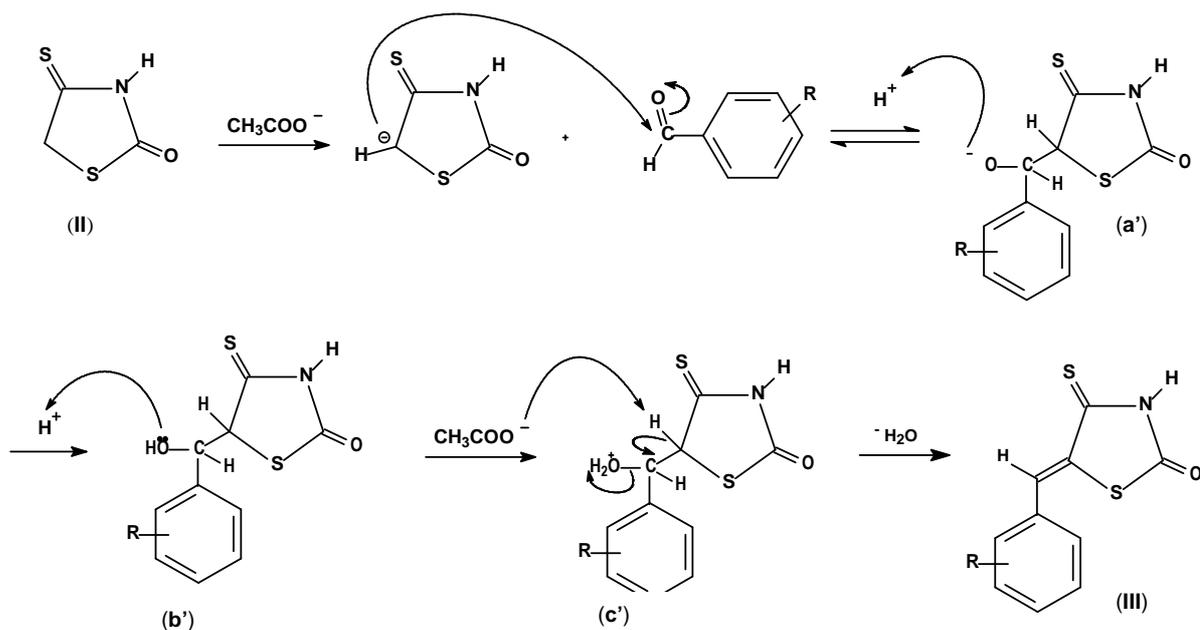


Figura 10 - mecanismo de síntese do 5-arilideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (IIIa-f)

4.4.2 Mecanismo de reação do 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g)

O próton ligado ao nitrogênio da posição 3, do composto 5-(benzilideno-substituído)-tiazolidina-2,4-diona (IV) tem caráter levemente ácido, uma vez que o nitrogênio está hibridizado em sp^3 e atribuí ao hidrogênio o caráter parcialmente positivo. Dessa maneira, a remoção do hidrogênio pela base é facilitada. O intermediário formado (a'') atacou o carbono do grupo benzila, pelo mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$, formando o produto final (VI) (Figura 12).

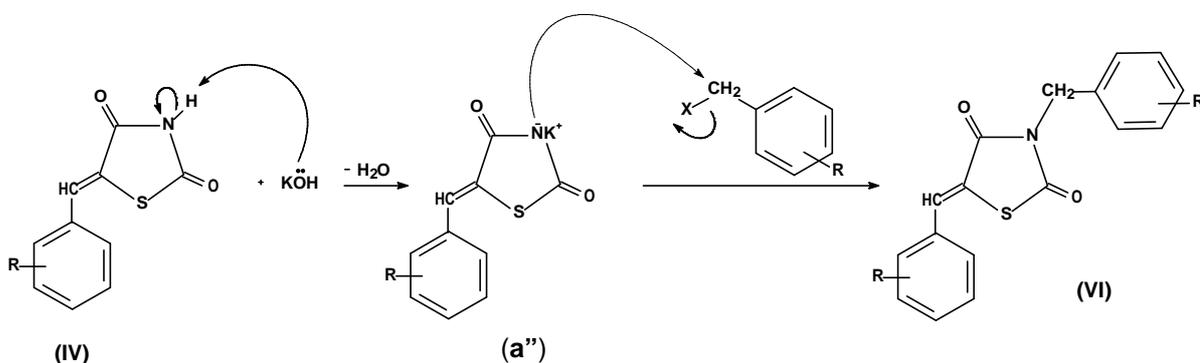


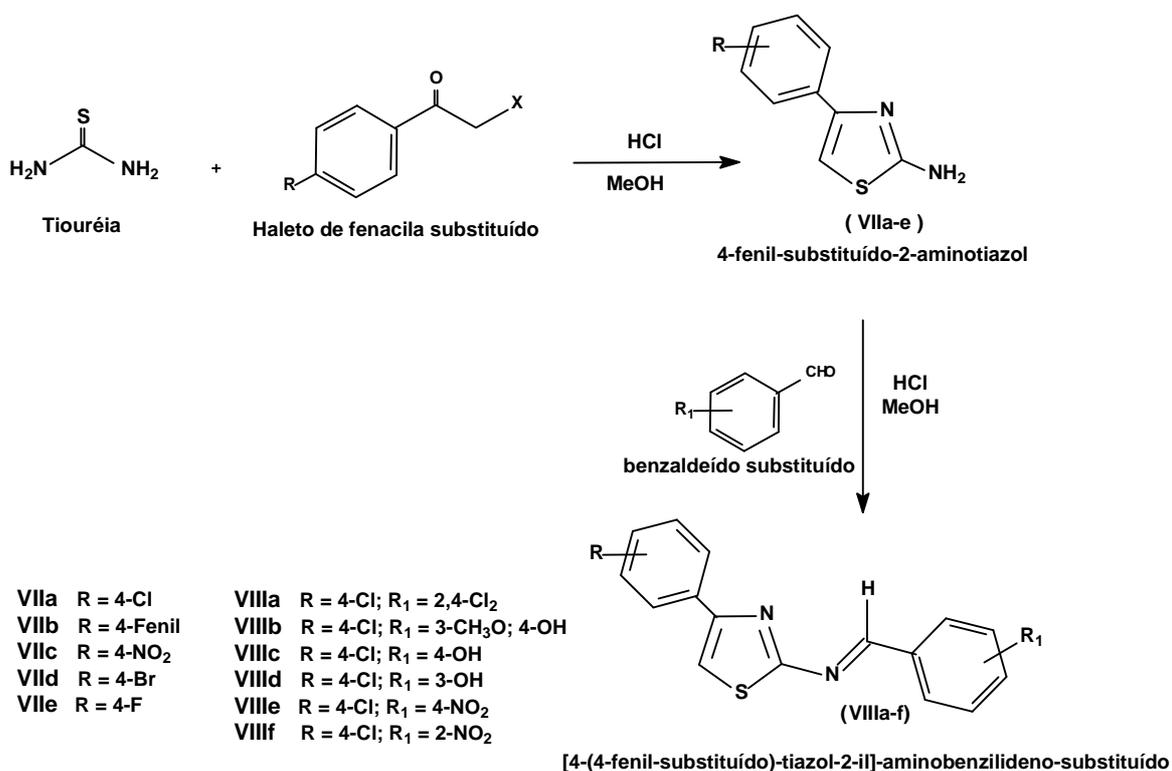
Figura 11 - mecanismo de síntese do 5-arilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g)

4.5 METODOLOGIA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS TIAZÓLICOS (VIIa-e) e (VIIIa-f)

Os derivados tiazólicos (**VIIa-e**) foram obtidos a partir da reação de condensação da tiouréia com haleto de fenacila substituído na presença de ácido clorídrico e metanol sob refluxo e agitação magnética. O processo de otimização desta reação conduziu ao tempo reacional de 2 horas.

Os compostos (**VIIa-e**) obtidos nestas reações foram usados como compostos de partida na obtenção dos derivados [4-(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-aminobenzilideno-substituídos (**VIIIa-f**) usando quantidades equimolares ($2,3 \times 10^{-3}$ mol) de 4-(fenil-substituído)-2-aminotiazol e bezaldeídos substituídos em meio levemente ácido, com pH do meio reacional controlado entre 4 e 5. A reação ocorreu sob agitação em banho de óleo a 90 °C com tempo reacional variado entre 2-50 horas.

A síntese de amino-tiazóis deste trabalho foi realizada utilizando um método simples e eficiente que teve como base a metodologia desenvolvida por Hantzsch em 1887, descrita por Souza et al. (2005), baseada na condensação de compostos α -halocarbonílicos com tiouréia, sendo um dos primeiros e mais amplos métodos sintéticos empregados para obtenção de tiazóis substituídos (**Esquema 45**).



Esquema 45 - Rota de síntese empregada na preparação dos derivados tiazólicos (**VIIa-e**) e (**VIIIa-f**)

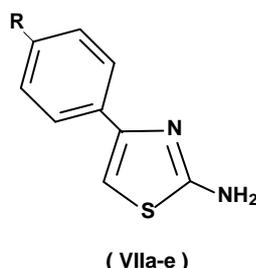
4.5.1 Derivados do 4-fenil-substituído-2-aminotiazol (VIIa-e)

A síntese dos derivados tiazólicos ocorreu por reação de ciclização da tiouréia com haletos de acetofenonas substituídas, em meio ácido com pH ajustado. As reações subsequentes ocorreram por condensação de benzaldeídos substituídos com o grupo amina da posição 2 do anel tiazólico.

4.5.2 Síntese dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e)

Os compostos 4-(fenil-substituído)-2-aminotiazol foram obtidos a partir da mistura de quantidades equimolares 0,175 g ($2,3 \times 10^{-3}$ mol) de tiouréia dissolvida em 15 mL de metanol seguido de adição lenta de 0,513 g ($2,3 \times 10^{-3}$ mol) do haleto de acetofenona substituído dissolvido em 20 mL de MeOH, formando uma suspensão de aspecto leitoso. A reação foi deixada por 15 minutos à temperatura ambiente sob agitação, após a mistura estar totalmente dissolvida foi adicionado 0,6 mL de HCl (gota a gota), a reação foi aquecida a 90 °C em banho de óleo, tendo o pH ajustado entre 4-5. O tempo reacional variou entre 2-50 horas. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada. Ao término das reações o material foi submetido a banho de gelo e filtrado. Os compostos foram purificados por cristalização em metanol.

VIIa R = 4-Cl
 VIIb R = 4-Fenil
 VIIc R = 4-NO₂
 VIId R = 4-Br
 VIIe R = 4-F

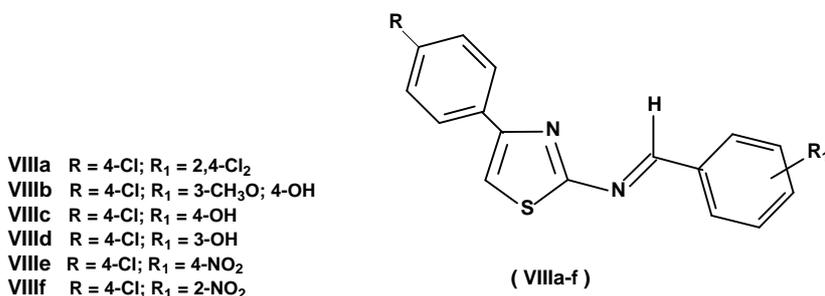


4.5.3 Síntese dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIIa-f)

A condensação de benzaldeídos na posição 2, foi outra rota sintética usada para a obtenção de derivados tiazólicos neste trabalho. Este método de síntese foi baseado na obtenção da base de Schiff, descrita com muita propriedade pela literatura (**Esquema 37**) (SANGOVA et al., 2003).

4.5.3.1 Procedimento geral para a síntese das iminas (VIIIa-f)

Os derivados 4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il-amina-arilideno-substituído (**VIIIa-f**) foram sintetizados a partir da mistura de quantidades equimolares 0,483 g ($2,3 \times 10^{-3}$ mol) de 4-(4-clorofenil)-2-aminotiazol (**VIIa**) e 0,350 g ($2,3 \times 10^{-3}$ mol) de benzaldeídos substituídos. Nestas reações, os benzaldeídos substituídos foram dissolvidos em 15 mL de MeOH sob agitação à temperatura ambiente e adicionado 0,08 mL de $\text{HCl}_{(\text{conc.})}$ gota a gota dissolvido em MeOH. Após 5 min. sob agitação a frio, foi adicionado também gota a gota o 4-(4-clorofenil)-2-aminotiazol (**VIIa**) previamente dissolvido em 15 mL de MeOH, o pH foi então ajustado entre 4-5 e a reação foi aquecida a 75 °C e mantida sob agitação e refluxo em banho de óleo durante 2-24 horas. O progresso da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada. Ao término, o solvente foi reduzido a metade do volume e adicionado gelo. O precipitado foi separado por filtração e recristalizado em solvente apropriado.



4.5.4 Mecanismos de reação dos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e)

O mecanismo desta reação pode ser explicado pelo ataque nucleofílico da tiouréia (**a''**) sobre o carbono α -carbonílico do halo-cetona (**b''**), fornecendo assim, o intermediário (**c''**). Após esta etapa, ocorre a ciclização pelo ataque nucleofílico intramolecular do par de elétrons do nitrogênio à carbonila, originando o intermediário (**d''**), que protonado pelo meio reacional e substituição nucleofílica intramolecular seguido de eliminação de água formou o produto (**VII**) (**Figura 13**).

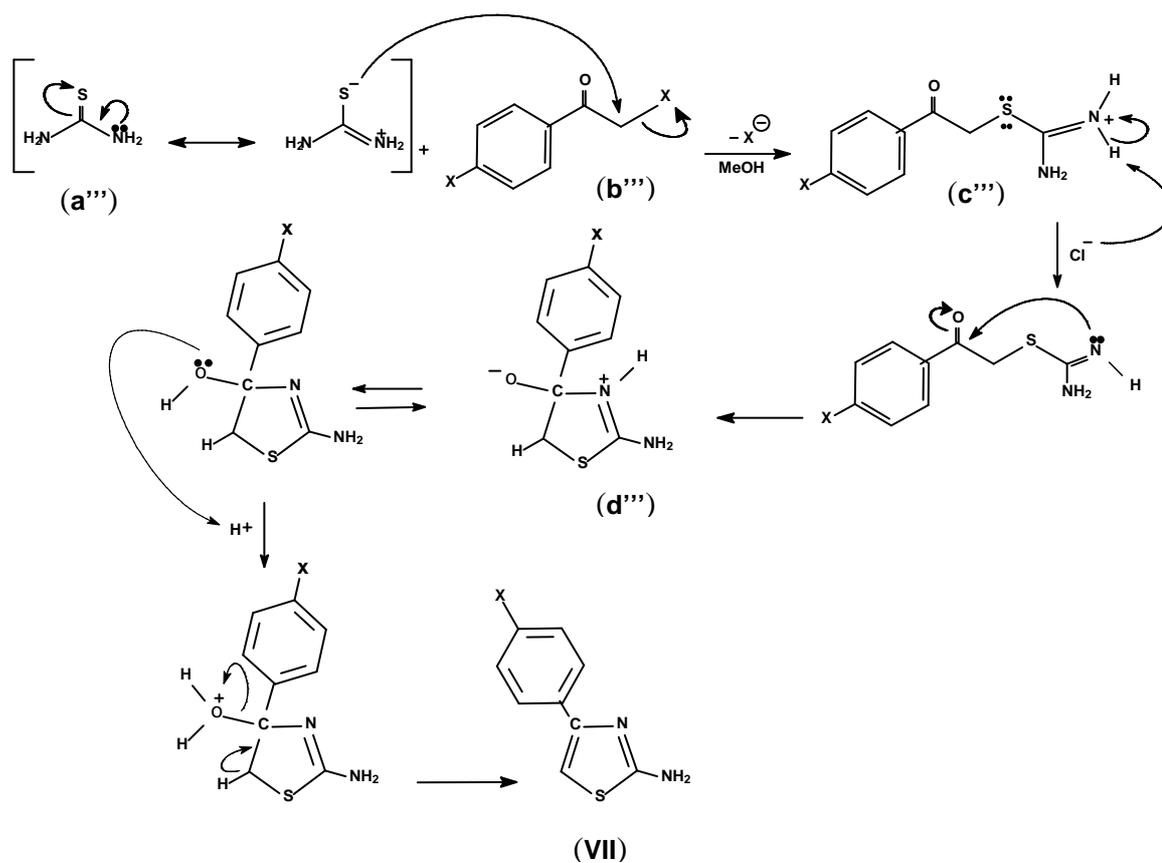


Figura 12 - Mecanismo proposto para síntese de derivados tiazólicos 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e)

4.5.4.1 Mecanismo de reação dos 4-(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-aminobenzilideno-substituído (VIIIa-f)

O mecanismo proposto para esta série de derivados tiazólicos partiu do ataque nucleófilo do grupo 2-amina do tiazol-4-substituído (VII) à carbonila do benzaldeído substituído, que foi protonado pela ação catalítica do ácido, originando o equilíbrio ácido-base que ao eliminar uma molécula de água formou a base de Schiff ou grupo imina resultando no produto final (VIII) (Figura 14).

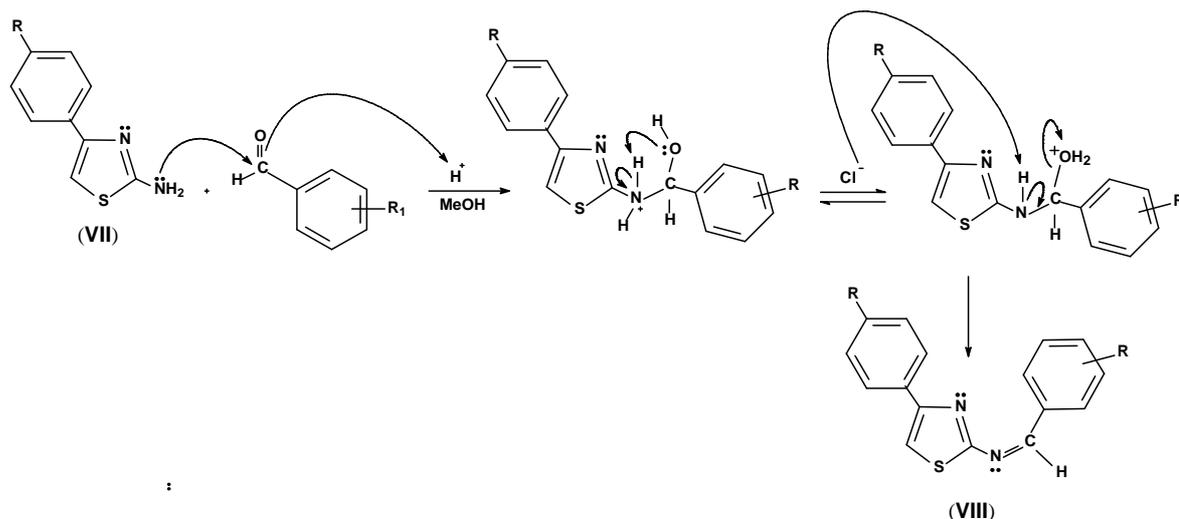


Figura 13 - Mecanismo proposto para síntese de derivados tiazólicos 4-(4-fenil-substituído)-tiazol-2-il]-aminobenzilideno-substituído (VIIIa-f)

4.6 ATIVIDADE BIOLÓGICA

A atividade biológica dos compostos sintetizados foi avaliada pelo teste de difusão em disco e posterior determinação da CMI (concentração mínima inibitória) e CMB (concentração mínima bactericida) para determinação da atividade antimicrobiana. A atividade citotóxica foi verificada com quatro linhagens celulares de tumores, HT29 (carcinoma de cólon-humano), MCF-7 (carcinoma de mama-humano) e NCI H-292 (câncer de pulmão-humano) e Hep-2 (carcinoma de laringe)

4.6.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos derivados tiazolidinônicos

A atividade antimicrobiana foi avaliada *in vitro*, pelo método convencional de difusão em disco de papel preconizado por Bauer et al., (1966). Os testes foram realizados em triplicata e a análise qualitativa dos derivados tiazolidinônicos e tiazólicos foi realizada pela medição do halo de inibição do crescimento dos micro-organismos ao redor dos discos.

4.6.2 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados na avaliação antimicrobiana dos compostos sintetizados foram: Sabouraud-ágar, Müller-Hinton ágar, Glicose-extrato de levedura-ágar (**Tabela 1**). Para preparação dos inóculos, manutenção dos micro-

organismos, teste bacteriostático (CMI) e teste Bactericida (CMB), foram utilizados meios sólidos e líquidos.

Tabela 1 – Meios de cultura utilizados no experimento

| Meio de cultura | Utilização no experimento |
|---------------------------------------|--|
| Müeller-Hinton ágar (MH) | Realização de experimentos com bactérias Gram-positivas <i>Enterococcus faecalis</i> e Gram-negativas <i>Mycobacterium smegmatis</i> . |
| Glicose extrato de levedura agar (GL) | Manutenção e realização de experimentos com <i>Mycobacterium smegmatis</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> . |
| Sabouraud agar | Manutenção e realização de experimentos com <i>Candida albicans</i> e <i>Monilia sitophila</i> . |

Os meios de cultura foram solubilizados em água destilada estéril, e tiveram o pH ajustado, de acordo com as normas preconizadas pelos fabricantes. Em seguida foram distribuídos em Erlenmeyer e esterilizados em autoclave por 15 minutos à temperatura de 121 °C.

4.6.2.1 Micro-organismos-teste e padronização dos inóculos

Os testes foram realizados frente à bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, álcool-ácido resistentes, uma levedura e um fungo filamentoso, pertencentes à Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da UFPE (**Tabela 2**).

Tabela 2: Cepas de bactérias e fungos utilizadas na avaliação antimicrobiana dos compostos sintetizados

| | |
|---|--|
| Bactérias Gram-positivas | <i>Staphylococcus aureus</i> DAUFPE 01 <i>Bacillus subtilis</i> DAUFPE 16 <i>Micrococcus luteus</i> DAUFPE 06 <i>Enterococcus faecalis</i> DAUFPE 138 |
| Bactérias Gram-negativas | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DAUFPE 39 <i>Escherichia coli</i> DAUFPE 224 <i>Serratia marcescens</i> DAUFPE 398 |
| Bactérias álcool-ácido resistentes | <i>Mycobacterium smegmatis</i> DAUFPE 71 |
| Levedura | <i>Candida albicans</i> DAUFPE 1007 |
| Fungo filamentoso | <i>Monilia sitophila</i> DAUFPE 2083 |

4.6.3 Testes de atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de difusão em disco de papel no meio gelosado Müller-Hinton, Glicose extrato de levedura e Sabouraud Agar (Oxoid). As suspensões padronizadas dos micro-organismos-teste foram semeadas em placas de Petri contendo 10 mL do meio, com auxílio de alça de Drigalsky (100 µL/placa). Foram utilizados discos de papel (Whatman nº 2) com 6 mm de diâmetro, embebidos em solução a 15000 µg/mL das substâncias em estudo dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO), adicionada em cada disco e colocados sobre a superfície do meio semeado com os micro-organismos-teste. Após a colocação dos discos, as placas foram deixadas na geladeira a 10 °C, durante 20 minutos, para difusão da substância no meio, antes de serem incubados à temperatura adequada ao crescimento do micro-organismo teste (**Tabela 3**).

Tabela 3: Condições de crescimento dos micro-organismos utilizados nos testes de antagonismo para diferentes compostos.

| Micro-organismo | Meio de cultura | Temp.(°C) | Tempo(h) |
|--------------------------------|----------------------------------|-----------|----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Müller-Hinton ágar | 35 | 24 |
| <i>Micrococcus luteus</i> | | | |
| <i>Bacillus subtilis</i> | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | |
| <i>Mycobacterium smegmatis</i> | Glicose-extrato de levedura ágar | 35 | 48 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | | 35 | 24 |
| <i>Escherichia coli</i> | Müller-Hinton ágar | 35 | 24 |
| <i>Serratia marcescens</i> | | 27 | 24 |
| <i>Candida albicans</i> | Sabouraud ágar | 30 | 48 |
| <i>Manilia sitophila</i> | | 30 | 48 |

As placas *Serratia marcescens*, cuja temperatura ótima é em torno de 27 °C foram deixadas à temperatura ambiente, durante 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mm, pela média aritmética do diâmetro do halo de inibição formado ao redor dos discos nas três repetições. O teste controle foi realizado com discos embebidos em DMSO. Como padrão foram utilizados cetoconazol (Neoquímica), para fungos e leveduras e cefalexina (Eurofarma), para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

4.6.4 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e da Concentração Mínima Bactericida (CMB)

A Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) e da Concentração Mínima Bactericida (CMB), foi realizada de acordo com o método adotado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2010) utilizando placa multipoços.

4.6.4.1 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A concentração mínima inibitória (CMI) corresponde a menor concentração do produto expressa em $\mu\text{g/mL}$, em presença da qual não ocorre crescimento microbiano visível a olho nu.

A determinação da CMI foi avaliada segundo os critérios adotados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2010). Foi utilizada uma placa multipoços (96 poços), enumeradas de 1 a 12 na horizontal e em ordem alfabética, de A a H, na vertical. As substâncias foram totalmente dissolvidas em DMSO até formar uma mistura homogênea a 1280 $\mu\text{g/mL}$ intitulada solução mãe. Foi feita uma suspensão padronizada dos micro-organismos teste de acordo com o tubo 0,5 da escala de MacFarland.

O método para determinar a CMI dos compostos testados consiste em colocar 100 μL do meio caldo Müller-Hinton, nos poços de todas as colunas da placa, com exceção da terceira. A primeira coluna contém apenas o caldo Müller-Hinton, sendo considerado “controle negativo”, na segunda, foram adicionados 10 μL da suspensão microbiana padronizada aos 100 μL do meio caldo Müller-Hinton, formando o “controle positivo” e na terceira coluna, foram colocados 180 μL do caldo Müller-Hinton e adicionado 20 μL da solução mãe (dos compostos testados).

A partir dessa última coluna foram feitas diluições seriadas de 1:2, ou seja, foram retirados 100 μL da coluna atual e adicionados na coluna seguinte, até a décima segunda coluna. Aos poços das diluições foram colocados 10 μL da suspensão dos micro-organismos-teste. A placa foi incubada durante 18 horas e após o período de incubação foi aplicado um corante revelador (resazurina sódica), capaz de exibir de forma mais precisa se houve ou não turbidez no poço.

O valor da CMI foi determinado na concentração do último poço que não houve turbidez visível.

A partir deste poço foram feitos semeios por esgotamento em placas com meio Agar Müeller-Hinton, para estabelecer a CMB, que será a concentração onde não houve crescimento de colônias. Toda a análise foi feita em triplicata (**Figura 9**) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2010).

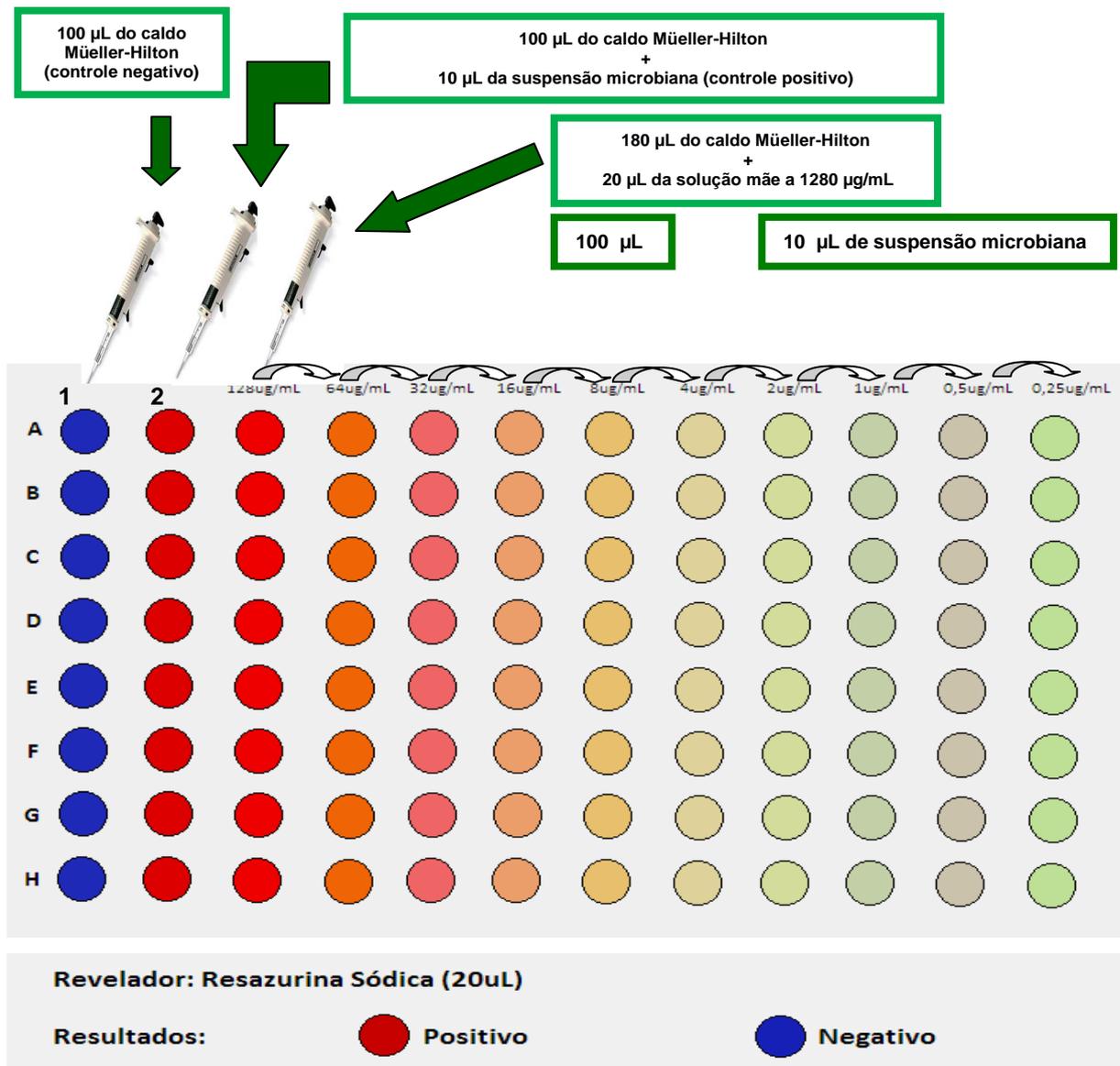


Figura 14 - Esquema metodológico para determinação da CMI do composto-teste contendo diferentes concentrações do composto em caldo Müeller-Hinton inoculados com o micro-organismo-teste.

4.7 ATIVIDADE CITOTÓXICA *in vitro*

Verificar a citotoxicidade *in vitro* de substâncias puras em 4 linhagens de células tumorais. Essa análise faz parte de um *screening* inicial para determinação do potencial antitumoral destas amostras.

4.7.1 Linhagens celulares

As linhagens celulares tumorais utilizadas foram, HT29 (carcinoma de cólon - humano), MCF-7 (carcinoma de mama-humano) e NCI H-292 (câncer de pulmão-humano), HL60 (leucemia promielocítica). Estas linhagens foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, BCRJ/UFRJ, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640 ou DMEN, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos e mantidas em estufa a 37 °C sob atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 25 µg/mL.

4.7.2 Viabilidade celular

Análise da citotoxicidade pelo método do MTT - brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-*H*-brometo de tetrazolium, vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN et al., 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-*H*-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1996).

As células foram plaqueadas na concentração de 1 x 10⁵ células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100 µL/poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5 % de CO₂ a 37 °C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), as placas foram incubadas por três horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

4.7.3 Método de Análise dos Resultados

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvio no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20 % de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50 %), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70 %) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100 %).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho seguiu dois esquemas de síntese diferentes, tendo como composto de partida na primeira rota sintética a tiazolidina-2,4-diona e na segunda rota o 2-amino-tiazol-4-substituído. Os resultados estão descritos considerando os aspectos químicos como: meios reacionais, rotas sintéticas, mecanismos de reação, dados físico-químicos, estereoquímica, elucidação estrutural por meio de espectros de infravermelho, RMN¹H e RMN¹³C, massa e análise elementar e atividades biológicas como citotoxicidade e ação antimicrobiana destes produtos.

Os deslocamentos químicos dos prótons (δ) dos derivados listados nas tabelas estão expressos em ppm (parte por milhão). A multiplicidade dos sinais estão representadas por s (singlete), d (dublete), dd (duplo dublete), t (triplete), q (quadriplete) e m (multiplete) e as constantes de acoplamentos (J) estão expressas em Hz (Hertz).

Sinais na região 3 e 4 ppm apresentaram a absorção de água em alguns compostos. Prótons residuais do DMSO-*d*₆ também foram observados na região entre 2 e 3 ppm, já os picos de absorção observados na região entre 1 e 2 ppm, foram devido a provável impureza do solvente.

O esquema abaixo apresenta as rotas de síntese empregada na obtenção dos derivados tiazolidínicos.

5.1 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DOS DERIVADOS DA TIAZOLIDINA-2,4-DIONA E DA 4-TIOXO-TIAZOLIDINA-2-ONA (I, II, IIIa-f, IVa-f, Va-b, VIa-g, VIIa-e; VIIIa-f)

Os dados Físico-químicos dos derivados da tiazolidina-2,4-diona e da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona e tiazólicos aqui descritos foram obtidos após o processo de síntese de cada composto sintetizado, utilizando os procedimentos laboratoriais descritos pela literatura especializada nesta área de estudo (**Tabela 4, 5, 6, 7, 8 e 9**).

Tabela 4: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados da tiazolidina e 4-tioxo-5-benzilideno-tiazolidina-2-ona (**I**; **II**; **IIIa-f**)

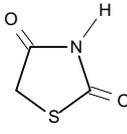
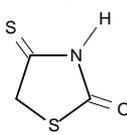
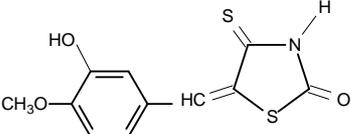
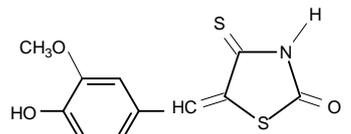
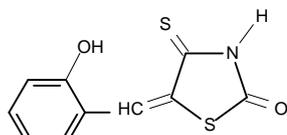
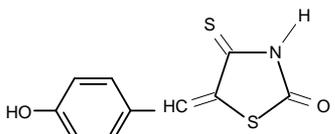
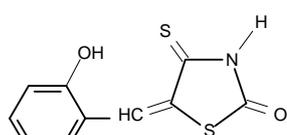
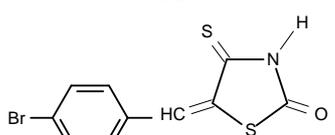
| Derivados Tiazolidínicos Sintetizados | | | | | |
|---|---------|-----------------|----------------|---|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recristalização | R _f | Eluente | Rd.% |
|  | 118-120 | água | 0,48 | CHCl ₃ /MeOH (0,9:0,1) | 78% |
| I | | | | | |
|  | 140-141 | etanol | 0,46 | CHCl ₃ /MeOH (0,95:0,05) | 85% |
| II | | | | | |
|  | 180-181 | metanol | 0,51 | CHCl ₃ /MeOH (0,97:0,03) | 20% |
| IIIa | | | | | |
|  | 215-216 | metanol | 0,50 | CHCl ₃ /EtOH (0,94:0,06) | 35% |
| IIIb | | | | | |
|  | 209-210 | acetona | 0,48 | Hex/Acet.(0,7:0,3) | 57% |
| IIIc | | | | | |
|  | 149-150 | metanol | 0,49 | CH ₂ Cl ₂ /Hex. (0,5:0,5) | 45% |
| III d | | | | | |
|  | 211 | metanol | 0,61 | CHCl ₃ /MeOH (0,98:0,02) | 58% |
| IIIe | | | | | |
|  | 147-149 | metanol | 0,46 | CHCl ₃ /EtOH (0,96:0,04) | 61% |
| III f | | | | | |

Tabela 5: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados da tiazolidina-2,4-diona (**IVa-f**)

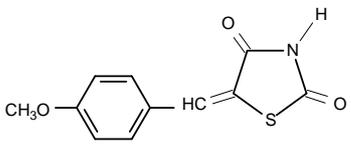
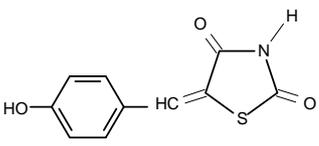
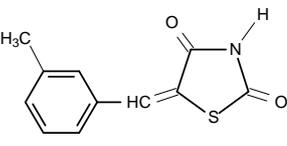
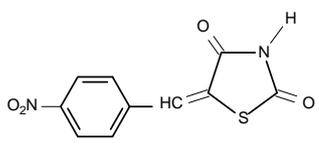
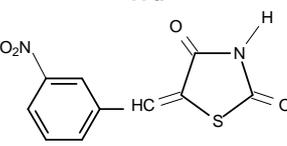
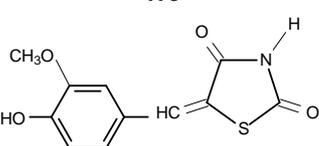
| Derivados Tiazolidínicos Sintetizados | | | | | |
|---|---------|-----------------|----------------|-------------------------------------|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recristalização | R _f | Eluente | Rd.% |
|  <p>IVa</p> | 210-211 | cloroformio | 0,48 | CHCl ₃ /MeOH (0,96:0,04) | 55% |
|  <p>IVb</p> | 249-250 | metanol | 0,50 | CHCl ₃ /MeOH (0,95:0,05) | 71% |
|  <p>IVc</p> | 195-196 | ácido acético | 0,50 | Hex/Acet. (0,85:0,15) | 52% |
|  <p>IVd</p> | 278-279 | THF | 0,52 | Hex/Acet.(0,7:0,3) | 69% |
|  <p>IVe</p> | 250 | ácido acetico | 0,51 | CHCl ₃ /MeOH (0,96:0,04) | 71% |
|  <p>IVf</p> | 220 | ácido acético | 0,50 | Hex/Acet. (0,85:0,15) | 72% |

Tabela 6: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados 3-benzil da tiazolidina-2,4-diona (**Va-b**)

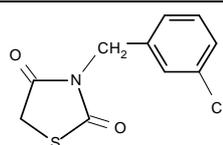
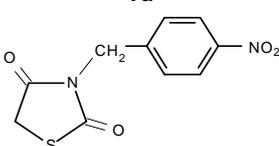
| Derivados Tiazolidínicos Sintetizados | | | | | |
|--|---------|-----------------|----------------|-------------------------------------|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recristalização | R _f | Eluente | Rd.% |
|  <p>Va</p> | 70-71 | etanol | 0,50 | CHCl ₃ (100%) | 52% |
|  <p>Vb</p> | 116-117 | etanol | 0,50 | CHCl ₃ /EtOH (0,99:0,01) | 57% |

Tabela 7: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-tiazolidina-2,4-diona (**VIa-g**)

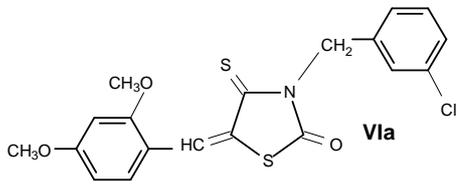
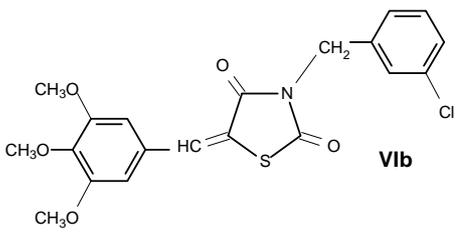
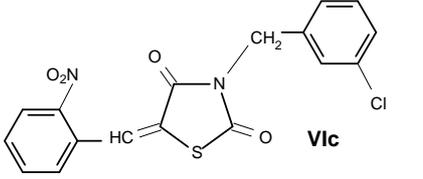
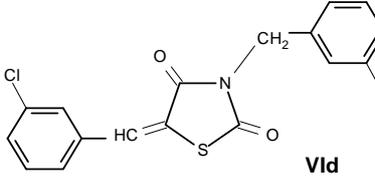
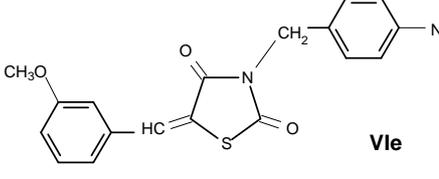
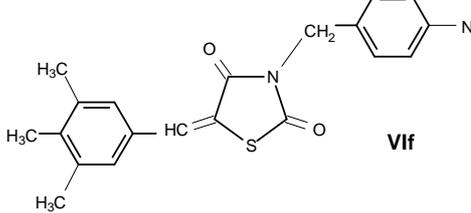
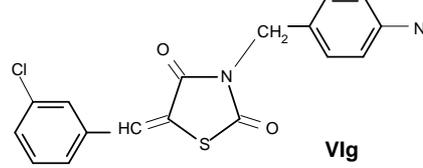
| Derivados Tiazolidínicos Sintetizados | | | | | |
|--|---------|-------------|----------------|---|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recrist. | R _f | Eluente | Rd.% |
|  <p>VIa</p> | 131-133 | etanol | 0,51 | CHCl ₃ /Hex. (0,7:0,3) | 75% |
|  <p>VIb</p> | 108-109 | tolueno | 0,39 | CHCl ₃ /Hex. (0,90:0,01) | 42% |
|  <p>VIc</p> | 157-158 | etanol | 0,51 | CHCl ₃ /Hex. (0,45:0,55) | 33% |
|  <p>VI d</p> | 136-138 | etanol | 0,52 | CHCl ₃ /Hex. (0,20:0,80) | 56% |
|  <p>VIe</p> | 144-145 | acetona | 0,61 | CHCl ₃ /MeOH (0,9:0,1) | 54% |
|  <p>VI f</p> | 189-190 | acetona | 0,57 | CH ₂ Cl ₂ (100%) | 30% |
|  <p>VIg</p> | 174-176 | clorofórmio | 0,55 | CHCl ₃ /Hex. (0,8:0,2) | 35% |

Tabela 8: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados 4-(4-fenil-substituído)-2-aminotiazol (VIIa-e)

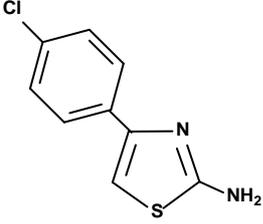
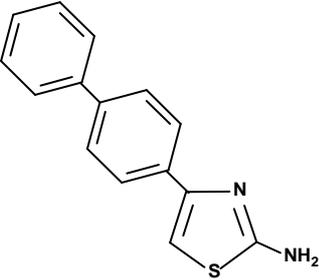
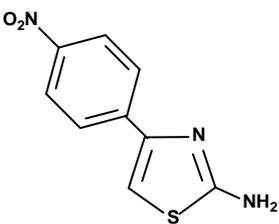
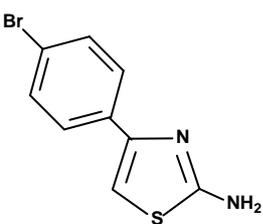
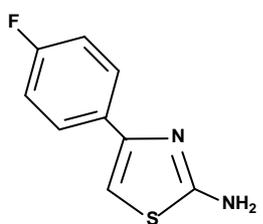
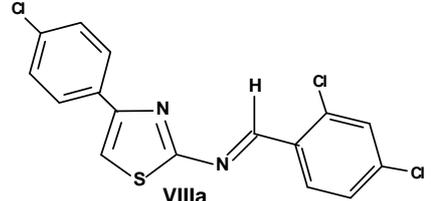
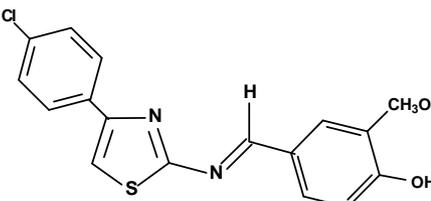
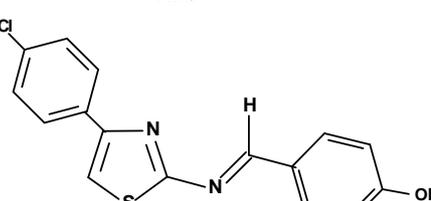
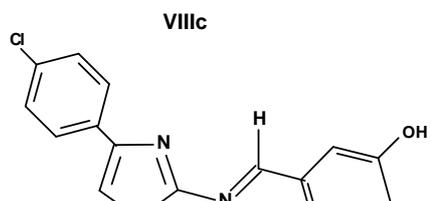
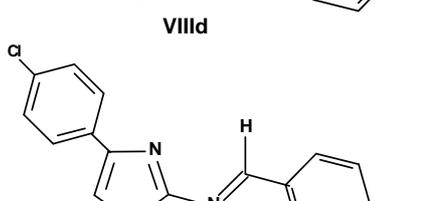
| Derivados Tiazólicos Sintetizados | | | | | |
|--|----------|----------|------|--|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recrist. | Rf | Eluente | Rd.% |
|  <p>VIIa</p> | 183-184 | metanol | 0,52 | CHCl ₃ /MeOH (0,96:0,04) | 92% |
|  <p>VIIb</p> | 194 | metanol | 0,48 | Hex./Acet. (0,7:0,3) | 70% |
|  <p>VIIc</p> | 228 -229 | metanol | 0,50 | Hex/Acet. (0,6:0,4) | 90% |
|  <p>VII d</p> | 216-217 | metanol | 0,50 | Hex/Acet. (0,7:0,3) | 98% |
|  <p>VII e</p> | 213-214 | metanol | 0,48 | Hex/Acet. (0,7:0,3) | 90% |

Tabela 9: Propriedades físico-químicas e rendimentos dos derivados 4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il-amina-arilideno-substituído (**VIIIa-f**)

| Derivados Tiazólicos Sintetizados | | | | | |
|--|---------|----------|------|---|------|
| Estrutura dos compostos | PF(°C) | Recrist. | Rf | Eluente | Rd.% |
|  <p style="text-align: center;">VIIIa</p> | 223-224 | acetona | 0,44 | CHCl ₃ /MeOH. (0,96:0,04) | 23% |
|  <p style="text-align: center;">VIIIb</p> | 234-235 | metanol | 0,45 | CH ₂ Cl ₂ /MeOH. (0,92:0,08) | 35% |
|  <p style="text-align: center;">VIIIc</p> | 187-189 | metanol | 0,50 | CH ₂ Cl ₂ /MeOH (0,96:0,04) | 33% |
|  <p style="text-align: center;">VIII d</p> | 260-261 | metanol | 0,42 | CHCl ₃ /MeOH (0,9:0,1) | 35% |
|  <p style="text-align: center;">VIII e</p> | 195 | metanol | 0,48 | CHCl ₃ /MeOH (0,95:0,05) | 84% |
|  <p style="text-align: center;">VIII f</p> | 203-204 | metanol | 0,50 | Hex/Acet. (0,7:0,3) | 40% |

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g)

A caracterização estrutural dos derivados tiazolidínicos (I; II), 5-arilideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (IIIa-f), 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (IVa-f), 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (Va-b) e 5-arilideno-3-(benzil)-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g), foi feita através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio, de Carbono, infravermelho, massa e análise elementar.

5.2.1 Caracterização estrutural no Infravermelho dos derivados tiazolidínicos (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g)

As principais bandas de absorção nos espectros de Infravermelho (IV) para os derivados da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (IIIa-f) estão descritas na (Tabela 10). A análise destes dados permitiu observar que cada um dos compostos em estudo, revelaram bandas de absorção entre $3115-3170\text{ cm}^{-1}$, referente a vibração de deformação axial de N-H (Figura 15) (GOUVEIA et al., 2009).

Ainda foram observadas fortes bandas de estiramento (ν) de deformação axial simétrica entre $1688-1610\text{ cm}^{-1}$, característica do grupo C=O (LESYK et al., 2006). Outros estiramentos (ν) em destaque são as bandas de absorção entre $1460-1570\text{ cm}^{-1}$, característica da deformação axial de C=S (LESYK et al., 2007). Outras bandas de absorção também foram reveladas para alguns compostos (IIIa-d) entre $3443-3440\text{ cm}^{-1}$, caracterizando a presença do grupo O-H, com deformação axial nesta faixa (Figura 15) (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

O grupo da 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona (IVa-f) revelou bandas de absorção compreendida entre $3115-3170\text{ cm}^{-1}$, evidenciando assim o grupo amida N-H com estiramento de deformação axial. Foram percebidas bandas de estiramento entre $1747-1688\text{ cm}^{-1}$ para ligação C=O com deformação axial simétrica (MADHAVAN et al., 2002). Esta mesma faixa de absorção com estiramento (ν) de deformação axial foram percebidos para os compostos (IVa-f, Va-b e VIa-g) (Tabela 11, 12 e 13) (MADHAVAN et al., 2002; SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

Tabela 10: Principais frequências de absorção dos espectros de infravermelho para os derivados tiazolidínicos (**I**; **II**; **IIIa-f**)

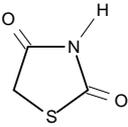
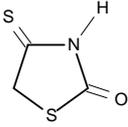
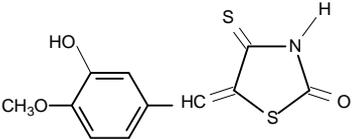
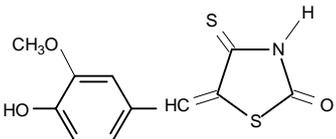
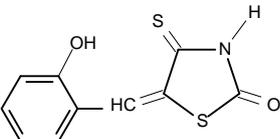
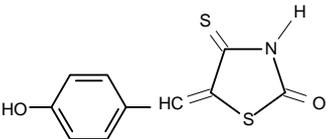
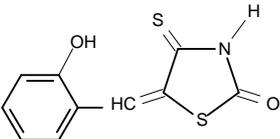
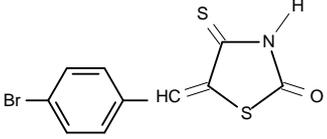
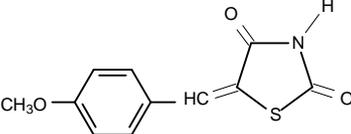
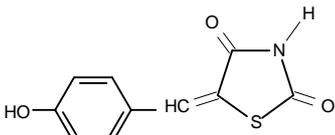
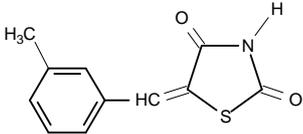
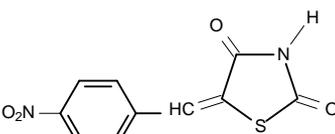
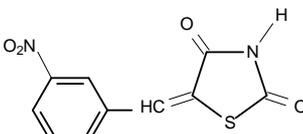
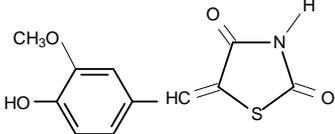
| Compostos | Espectros IV (KBr 1%, ν_{\max} cm^{-1}) | | | | |
|---|---|-----------|-------|-------|------|
| | (NH) | (C=O) | (C=S) | (C=C) | (OH) |
|  I | 3115 | 1727-1685 | – | 1670 | – |
|  II | 3115 | 1683 | 1460 | – | – |
|  IIIa | 3170 | 1680 | 1460 | 1540 | 3440 |
|  IIIb | 3161 | 1688 | 1570 | – | 3443 |
|  IIIc | 3147 | 1694 | 1462 | – | 3440 |
|  III d | 3140 | 1610 | 1462 | 1540 | 3443 |
|  III e | 3160 | 1660 | 1420 | 1560 | – |
|  III f | 3161 | 1688 | 1460 | 1582 | – |

Tabela 11: Principais frequências de absorção dos espectros de infravermelho para os derivados 5-
 arilideno-tiazolidina-2,4-diona (**IVa-f**)

| Compostos | Espectros IV (KBr 1%, ν_{\max} cm^{-1}) | | |
|---|---|-----------|------|
| | (NH) | (C=O) | (OH) |
|  IVa | 3151 | 1723-1688 | – |
|  IVb | 3153 | 1725-1688 | 3443 |
|  IVc | 3155 | 1745-1675 | – |
|  IVd | 3157 | 1740-1713 | – |
|  IVe | 3159 | 1740-1710 | – |
|  IVf | 3160 | 1747-1715 | 3443 |

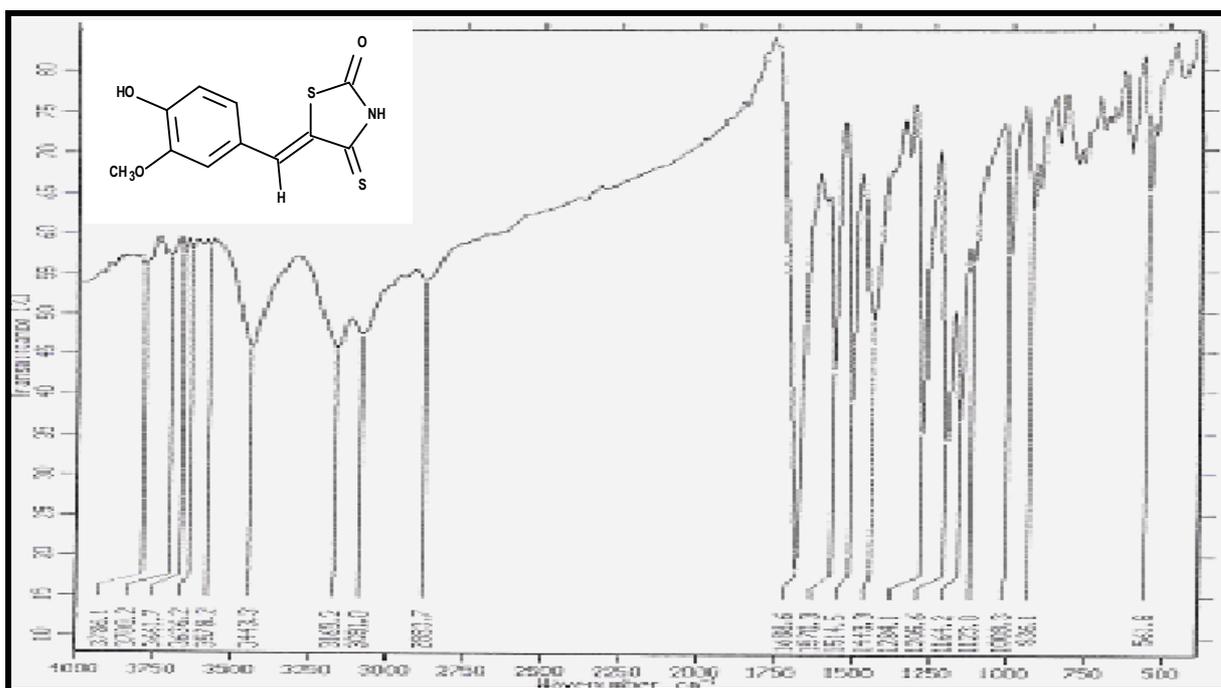


Figura 15 - Espectro de infravermelho do composto IIIb

Tabela 12: Principais frequências de absorção dos espectros de infravermelho para os derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (Va-b)

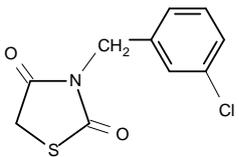
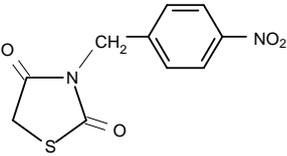
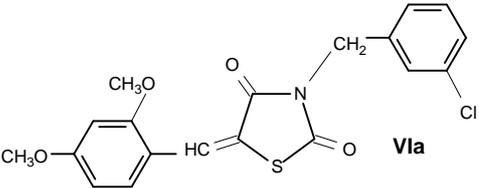
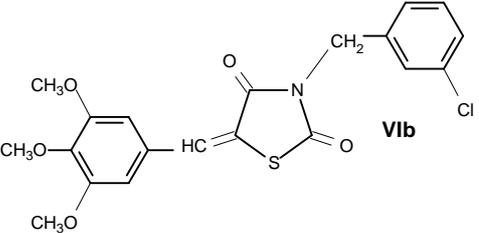
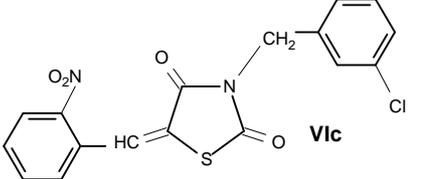
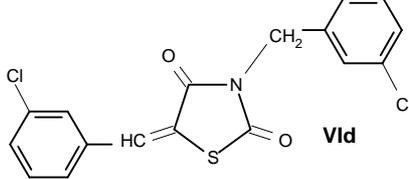
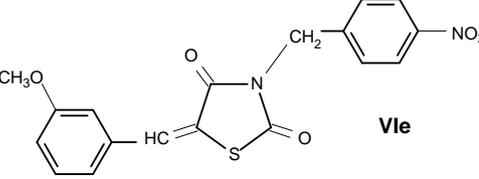
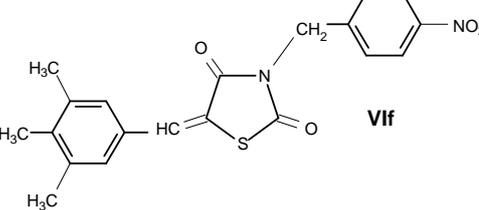
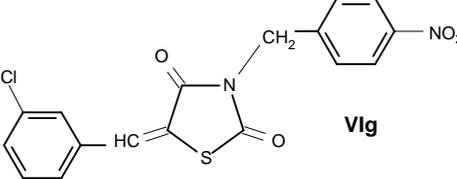
| Compostos | Espectros IV (KBr 1%, ν_{\max} cm^{-1}) | | |
|--|---|-----------|------|
| | (NH) | (C=O) | (OH) |
|  <p>Va</p> | - | 1751-1670 | - |
|  <p>Vb</p> | - | 1770-1760 | - |

Tabela 13: Principais frequências de absorção dos espectros de infravermelho para os derivados 5-arilideno-3-(benzil)-tiazolidina-2,4-diona (VIa-g)

| Compostos | Espectros IV (KBr 1%, ν_{\max} cm^{-1}) | | | |
|--|---|-------|-------|------|
| | (C=O) | (C=S) | (C=C) | (OH) |
|  <p>VIa</p> | 1744–1695 | – | 1605 | – |
|  <p>VIb</p> | 1729–1673 | – | 1582 | – |
|  <p>VIc</p> | 1744–1695 | – | 1602 | – |
|  <p>VI d</p> | 1735–1645 | – | 1602 | – |
|  <p>VIe</p> | 1727–1670 | – | 1580 | – |
|  <p>VI f</p> | 1730–1669 | – | 1590 | – |
|  <p>VIg</p> | 1740–1676 | – | 1610 | – |

5.2.2 Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN¹H dos derivados tiazolidínicos (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g)

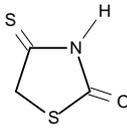
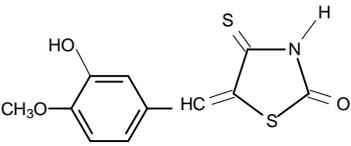
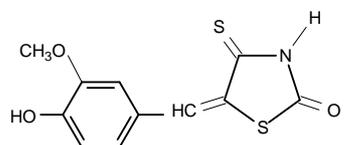
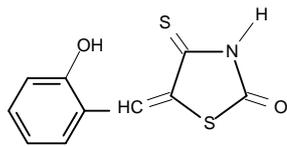
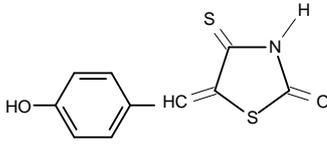
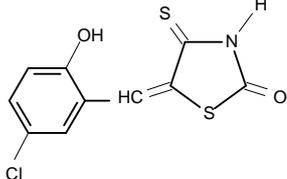
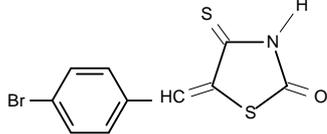
A caracterização estrutural dos derivados tiazolidínicos, das séries da tiazolidina-2,4-diona e da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**II**; **IIIa-f**; **IVa-f**; **Va-b** e **VIa-g**) por espectroscopia de RMN¹H (**Tabela 14, 15, 16 e 17**), possibilitou observar que os sinais do hidrogênio do grupo NH destes anéis heterocíclicos como um singlete largo compreendidos na faixa entre 1390-1271 ppm, (1 H), conforme já havia sido destacado por Gouveia et al., (2009) e Tomasic et al., (2010). O sinal do hidrogênio do grupo metileno (-CH=) do anel tiazolidínico aparece na forma de um singlete entre 7,86-8,05 ppm (**Figura 16 e 17**).

Essa caracterização em função do deslocamento químico do hidrogênio do carbono metilênico tanto para os 5-arilideno-substituídos, derivados da tiazolidina-2,4-diona como para os derivados da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona, indicam que os compostos sintetizados apresentaram configuração *Z* para estas moléculas. Isso porque de acordo com a literatura, a influência magnética da carbonila (C=O) ou tiocarbonila (C=S) sobre o deslocamento químico do hidrogênio metilênico em RMN¹H, aparece como singlete em 7,70-7,75 ppm para a configuração *Z*, enquanto que, devido à menor influência magnética do átomo de enxofre, este singlete aparece com deslocamento inferior a 7,70 ppm para isômeros *E* (LIESEN et al., 2008; Gouveia et al., 2009).

Em específico, a tiazolidina-2,4-diona revelou singlete em 4,60 ppm, referente aos 2 H do grupo CH₂ do núcleo tiazolidínico. Generalizando, os prótons aromáticos de todos os compostos (**IIIa-f** e **IVa-f**) tiveram deslocamentos químicos entre 7,96 e 8,50 ppm, (**Tabela 14 e 15**), comprovando as características estruturais destes produtos (ALBUQUERQUE et al., 1999b; TUNÇBILEK et al., 2003).

Os hidrogênios presentes nos seguintes substituintes do anel benzilidênico: OH, CH₃ e OCH₃ apresentaram deslocamentos químicos variados. Os hidrogênios do grupo CH₃O, apresentaram singlete com deslocamento entre 3,84-3,80 ppm, os prótons do grupo CH₃, presentes no composto **IVc**, como singlete em 2,36 ppm e o Hidrogênio do OH como um singlete largo entre 10,85 a 7,20 ppm (**IIIa-e**) e **IVb** e **IVf**, (**Tabela 14 e 15**) (OTTANÀ et al., 2009).

Tabela 14: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, DMSO-*d*₆ ou acetona-*d*₆) para os derivados da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**II**), 5-arylideno-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**IIIa-f**)

| Derivados da Tiazolidina Sintetizados | | | | | | |
|---|--------|---------------------|-----------------------|--------|--------|--|
| Compostos | CH (s) | CH ₂ (s) | CH ₃ O (s) | NH (s) | OH (s) | Prótons Benzilidênicos |
|  II | - | 4,60 | - | 13,54 | - | |
|  IIIa | 7,93 | - | 3,81 | 13,90 | 9,28 | 7,0 (s, 1H ₂) 7,11 (d, 1H ₅) J = 8,0 Hz 7,14 (d, 1H ₆) J = 8,0 Hz |
|  IIIb | 8,06 | - | 3,84 | 13,68 | 10,20 | 7,25 (s, 1H ₂) 6,96 (d; H _{5'}) J = 8,29 Hz 7,19 (d; H _{6'}) J = 8,29 Hz |
|  IIIc | 8,45 | - | - | 13,77 | 10,85 | 7,42 (d; H _{3'}) J = 7,86 Hz 7,09 (td; H _{4'}) J = 7,80; 0,34 Hz 7,36 (td; H _{5'}) J = 8,50; 1,42 Hz 6,99 (d; H _{6'}) J = 8,28 Hz |
|  III d | 7,70 | - | - | 13,80 | 8,18 | 8,50 (dd, 2 H ₂ , H ₆) J = 8,18, 1,85 Hz 8,50 (dd, 2 H ₃ , H ₅) J = 8,18, 1,85 Hz |
|  III e | 8,10 | - | - | 13,69 | 10,25 | 7,61 (s, 1H ₆) 6,97 (d, 1H ₃) J = 8,4 Hz 7,16 (d, 1H ₄) J = 8,4 Hz |
|  III f | 8,09 | - | - | 13,54 | - | 7,78–7,73 (m, 2H); 7,68–7,63 (m, 2H) |

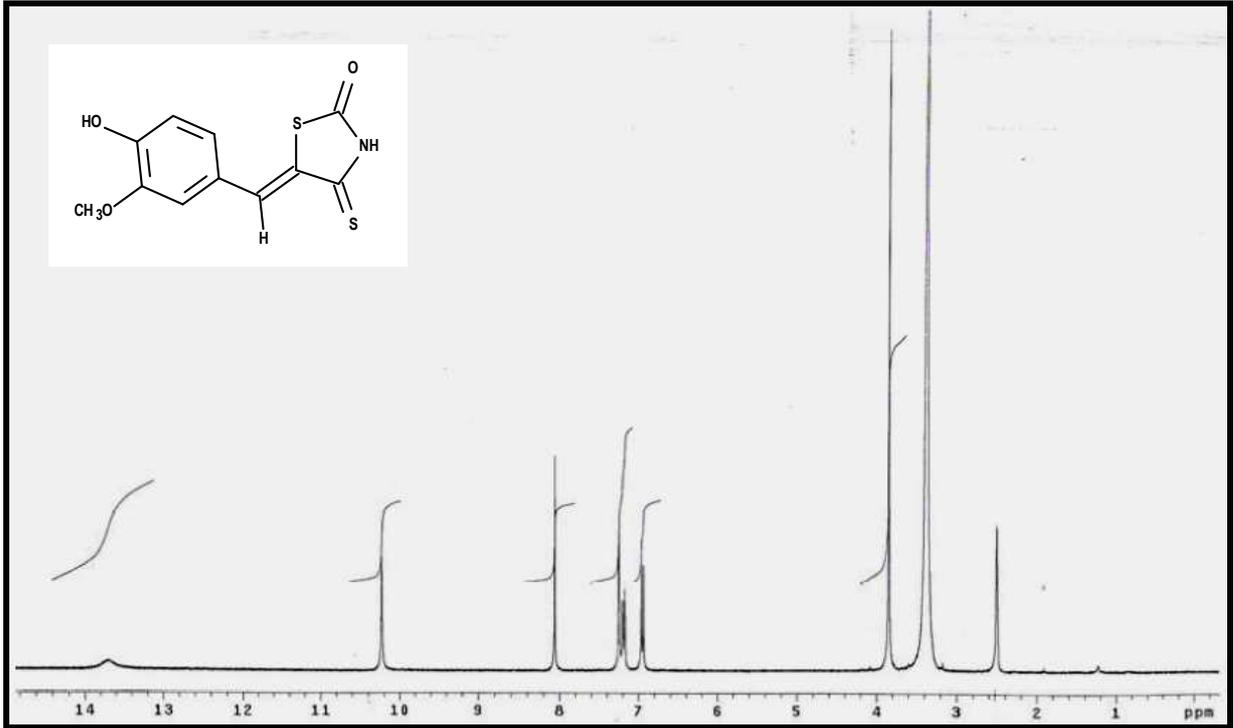


Figura 16 - Espectro de RMN¹H (300 MHz, DMSO-d₆) para o composto 5-(3-metoxi-4-hidroxibenzilideno)-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (IIIb)

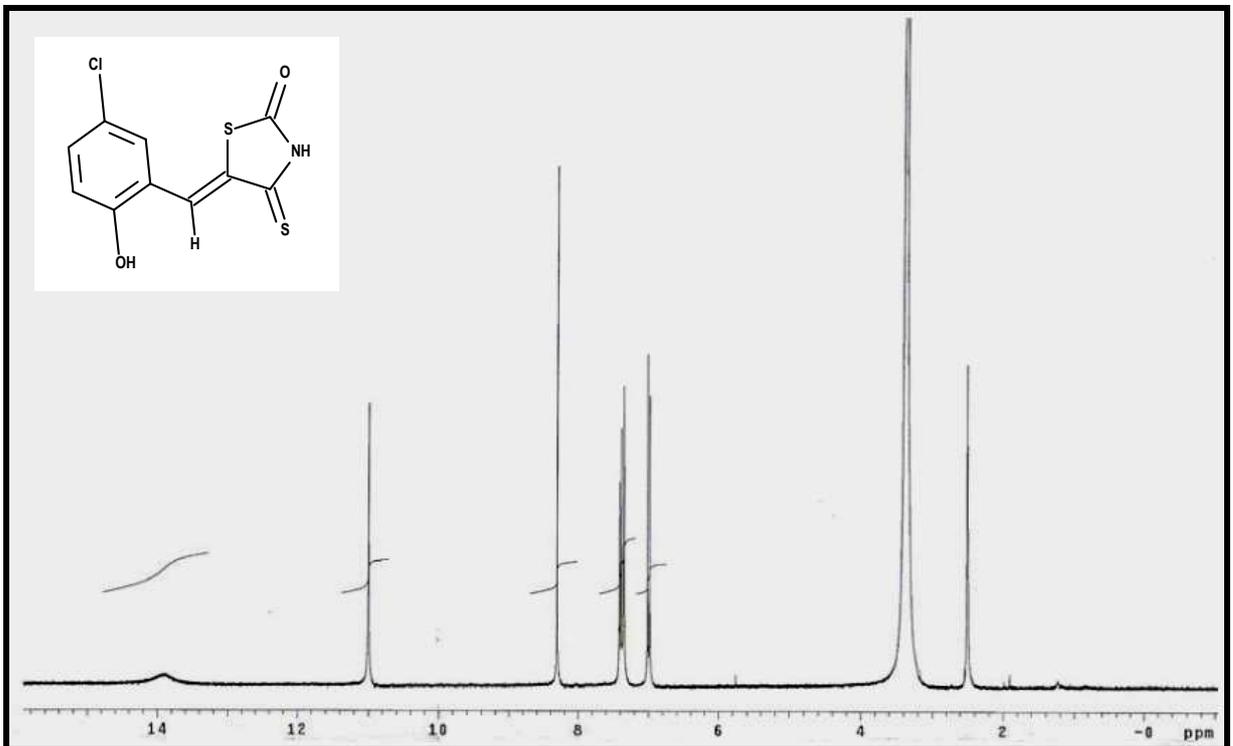


Figura 17 - Espectro de RMN¹H (300 MHz, DMSO-d₆) para o composto 5-(2-hidroxi-5-clorobenzilideno)-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (IIIe)

Tabela 15: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para os derivados do 5-arilideno-tiazolindina-2,4-diona (**IVa-f**)

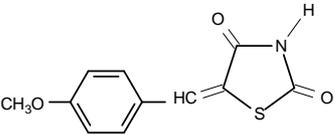
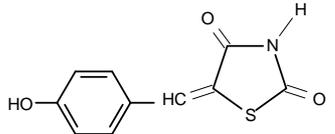
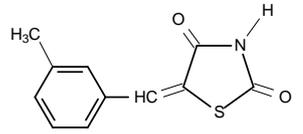
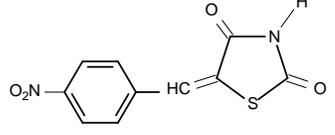
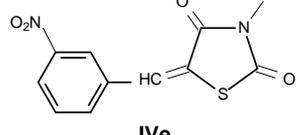
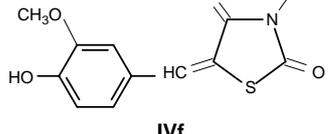
| Derivados da Tiazolindina Sintetizados | | | | | | |
|---|---------|---------------------|-----------------------|--------|------|--|
| Compostos | CH= (s) | CH ₃ (s) | CH ₃ O (s) | NH (s) | OH | Prótons Benzilídênicos |
|  <p>IVa</p> | 7,89 | - | 3,80 | 12,90 | - | 7,51-7,50 (dd, 2H, H ₃ -H ₅) J=8,62; J=1,86 Hz 7,20-7,18 (dd, 2H, H ₃ -H ₅) J=8,61, J=2,49 Hz |
|  <p>IVb</p> | 7,96 | - | - | 13,38 | 8,91 | 7,48-7,41 (dd 2H, H ₂ -H ₆) J=8,49, J=1,81 Hz 7,42-7,40 (dd 2H, H ₃ -H ₅) J=8,49, J= 2,61 Hz |
|  <p>IVc</p> | 8,05 | 2,36 | - | 13,20 | - | 7,40 (dd 1H, H ₂) J=2,40 J=2,10 Hz. 6,84-6,82 (ddd, H ₄ , J=7,70; J=1,84; J=1,60 Hz 7,52 (t, 1H, H ₅) J=7,60 Hz.. |
|  <p>IVd</p> | 8,01 | - | - | 13,37 | - | 7,71 (ddd 2H, H ₂ -H ₆) J=8,71, J=1,86 Hz 8,10 (ddd 2H, H ₃ -H ₅) J=8,71; J=2,20 Hz |
|  <p>IVe</p> | 8,00 | - | - | 13,27 | - | 7,71 (dd, 1H, H ₂) J=2,19, J=2,01 Hz. 8,31 (dd, 1H, H ₄) J=2,22, J=2,00 Hz. 7,62 (t 1H, H ₅) J=8,0, J=7,68 Hz. 7,80 (ddd, 1H, H ₆) J=7,70, J=2,00 J=1,90 Hz |
|  <p>IVf</p> | 7,86 | - | 3,80 | 12,71 | 7,20 | 7,19 (s 1H, H ₂) 7,18 (dd 1H, H ₅) J = 8,30, J=1,05 Hz 7,15 (dd 1H, H ₆) J = 8,30, J=1,60 Hz |

Tabela 16: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para os derivados do 3-benzil-tiazolindina-2,4-diona (**Va-b**)

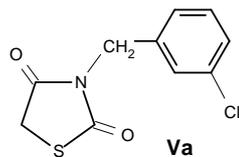
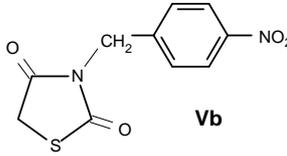
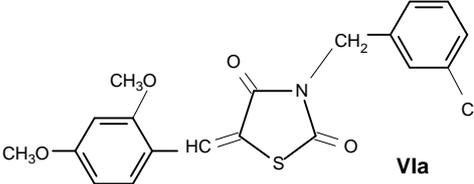
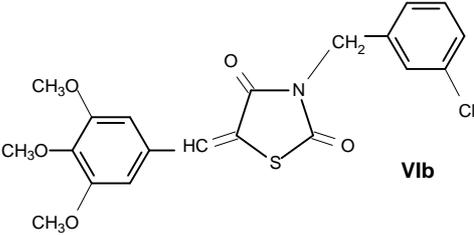
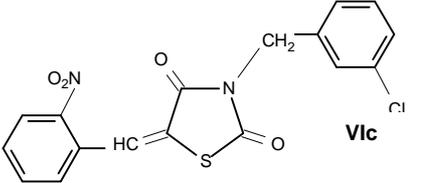
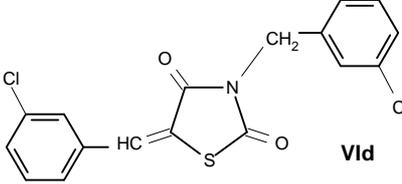
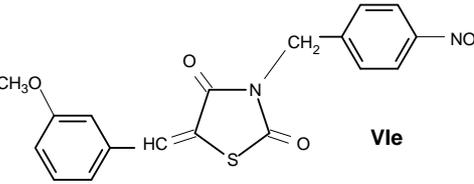
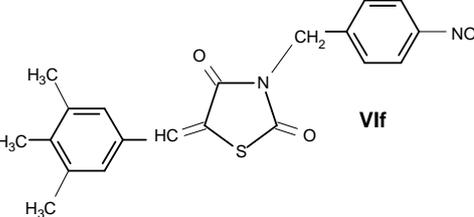
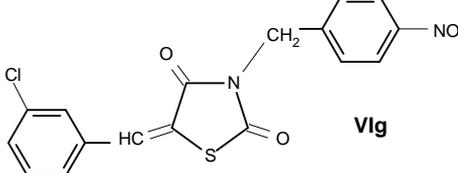
| Compostos | CH ₂ (s) heterociclo | CH ₂ (s) | Prótons Aromáticos |
|--|---------------------------------|---------------------|--|
|  <p>Va</p> | 4,75 | 3,99 | 7,40-7,27 (m, 4H) |
|  <p>Vb</p> | 4,84 | 4,00 | 7,54 (d, 2H; J = 8,70 Hz) 8,16 (d, 2H; J = 8,80 Hz) |

Tabela 17: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) para os derivados do 3,5-dissubstituídos-tiazolidina-2,4-diona (**VIa-g**)

| Derivados da Tiazolidina Sintetizados | | | | | | |
|---|---------|---------------------|------------------------------|---------------------|---|---|
| Compostos | CH= (s) | CH ₂ (s) | CH ₃ O (s) | CH ₃ (s) | Prótons aromáticos | |
| | | | | | Benzilideno | Benzila |
|  | 7,91 | 5,18 | 3,89(3H) 3,87 (3H) | | 6,57 (s, H ₃) 6,42 (dd, H ₅) J=8,55, J=0,56 Hz 7,17 (d, H ₆) J=8,56 Hz | 6,90 (s, H ₂) 7,48 (ddd, H ₄) J=7,97, J=2,15, J=1,01 Hz 7,46 (t, H ₅) J= 7,0 Hz 7,27 (dd, H ₆) J= 7,0, J=1,83 Hz |
|  | 8,21 | 5,40 | 3,86 (3H) 3,82 (6H) | | 6,86 (s, 2 H ₂ , H ₆) | 6,90 (s, H ₂) 7,48 (ddd, H ₄) J=7,97, J=2,15, J=1,01 Hz 7,46 (t, H ₅) J= 7,0) 7,27 (dd, H ₆) J=7,0, J=1,83 Hz |
|  | 8,19 | 4,84 | | | 8,42 (dd H ₃) J=8,0, J=1.12 Hz 7,41 (t H ₄) J= 7,78 Hz 7,20 (t H ₅) J= 7,8 Hz 7,28 (dd H ₆) J= 7,92, J=1,42 Hz | 6,90 (s H ₂) 7,48 (ddd H ₄) J=7,97, J=2,15, J=1,01 Hz 7,46 (t H ₅) J=7,0 Hz 7,27 (dd H ₆) J=7,0, J=1,83 Hz |
|  | 7,92 | 4,83 | | | 7,31 (s, H ₂) 7,31(ddd, H ₄) J=8,02, J= 2,23, J=1,92 Hz 7,41 (t, H ₅) J = 8,05 Hz 7,41 (ddd, H ₆) J=8,01, J=2,05, J=1,91 Hz | 6,90 (s, H ₂) 7,48 (ddd, H ₄) J=7,97, J=2,15, J=1,01 Hz 7,46 (t, H ₅) J=7,0 Hz 7,27 (dd, H ₆) J=7,0, J=1,83 Hz |
|  | 8,10 | 5,59 | 3,81 | | 7,31 (dd, H ₂) J=7,82, J=1,71 Hz 7,55-7,45 (m, H ₄ , H ₅ , H ₆) | 7,51 (d, H ₂ , H ₆) J=9,0 Hz 8,38 (d, H ₃ , H ₅) J=9,0 Hz |
|  | 8,31 | 5,60 | | 2,27 | 7,27 (s, 2H, H ₂ , H ₆) | 7,51 (d, H ₂ , H ₆) J=9,0 Hz 8,38 (d, H ₃ , H ₅) J=9,0 Hz |
|  | 8,48 | 5,60 | | | 7,34 (s, H ₂) 7,32 (ddd, H ₄) J=8,04, J=2,23, J=1,91 Hz 7,37 (t, H ₅) J=7,9, J= 8,05 Hz 7,40 (ddd, H ₆) J=7,8, J=2,04, J=190 Hz | 7,51 (d, H ₂ , H ₆) J=9,0 Hz 8,38 (d, H ₃ , H ₅) J=9,0 Hz |

5.2.3 Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN¹³C dos derivados tiazolidínicos (I; II; IIIa-f; IVa-f; Va-b e VIa-g)

As análises espectroscópicas de RMN¹³C dos derivados da tiazolidina-2,4-diona e 4-tioxi-tiazolidina-2-ona possibilitaram observar picos que caracterizam o número de carbonos ou ainda o número de hidrogênios ligados a estes carbonos (PAVIA et al., 2010), portanto algumas moléculas com um número de carbonos maior que o número de picos dos deslocamentos químicos, são devido a sobreposição de alguns picos.

Os deslocamentos químicos do carbono da tiocarbonila (C=S) aparecem entre 185,02-184,79 ppm, a carbonila (C=O) entre 170,83-170,77 ppm e os carbonos aromáticos na faixa entre 138,88-128,61 ppm (OTTANÀ et al., 2009; GOUVEIA et al., 2009). Outra evidência de caracterização molecular foram os deslocamentos químicos entre 57,44-55,64 ppm, do carbono do grupo OCH₃ presente nos compostos **IIIa e IIIb tabela 18**.

Os compostos da série **IVa-f** apresentaram picos característicos para os carbonos C=O entre 172,41-166,31 ppm, respectivamente **tabela 19** (LESYK et al., 2006). Os derivados **Va-b** apresentaram picos característicos do CH₂ do heterociclo, entre 36,27 – 36,22 e CH₂ do carbono benzílico entre 51,93 – 51,80 **tabela 20**.

De acordo com os espectros de RMN¹³C, todos os derivados tiazolidínicos dissustituídos apresentaram deslocamentos químicos referentes aos carbonos da carbonila C=O entre 168,29–166,26 ppm. Os compostos **VIa, VIb, VIe e VIf** apresentaram picos característicos dos grupos metoxila e metila nos seguintes deslocamentos químicos 57,76-57,41 ppm (**VIa**), 58,54–63,16 ppm (**VIb**) e 57,66 ppm (**VIe**) dos grupos metoxila e entre 23,39-17,35 ppm (**VIf**) característicos dos substituintes metila nas posições 3, 4 e 5 do anel aromático, aparecendo apenas dois picos de deslocamentos químicos nos derivados **VIb e VIf (Tabela 21)**.

Tabela 18: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C para os derivados 5-arylideno-4-tioxi-tiazolindina-2-ona (**IIIa-f**)

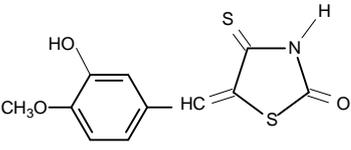
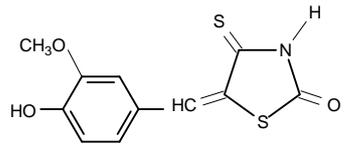
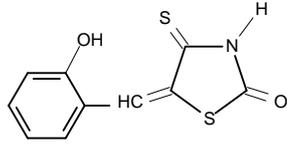
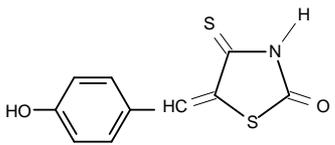
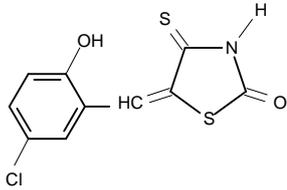
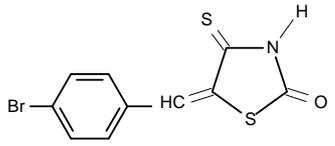
| RMN ¹³ C (75.4 MHz, CDCl ₃) | | | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|------------------|--|
| Compostos | C=O | C=S | C=C | CH= | OCH ₃ | Aromáticos |
|  <p>IIIa</p> | 170,81 | 184,99 | 149,64 | 136,08 | 57,44 | 136,05; 119,03; 151,74; 151,19; 115,61; 126,68 |
|  <p>IIIb</p> | 170,83 | 185,02 | 149,59 | 136,08 | 55,64 | 133,68; 114,61; 151,23; 150,16; 118,69 127,38 |
|  <p>IIIc</p> | 170,81 | 185,02 | 150,39 | 134,73 | | 127,91; 160,08; 119,76; 133,49 128,48; 131,39 |
|  <p>III d</p> | 170,81 | 184,99 | 149,64 | 135,16 | | 133,19; 133,39; 119,50; 161,62; 119,50; 133,39 |
|  <p>IIIe</p> | 170,77 | 197,79 | 137,44 | 135,33 | | 127,23 157,83; 120,61 135,95 131,01 135,37 |
|  <p>III f</p> | 170,81 | 185,02 | 149,59 | 135,10 | | 138,88 133,97; 135,12 125,93 135,12 133,97 |

Tabela 19: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C (75,4 MHz, CDCl₃) para os derivados do 5-arylideno-tiazolindina-2,4-diona (**IVa-f**)

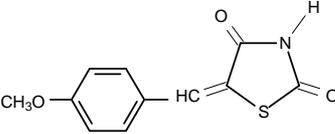
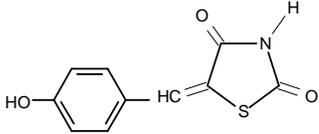
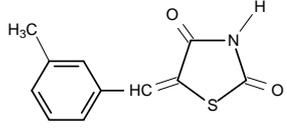
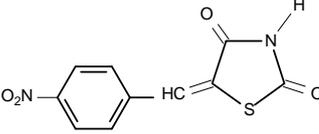
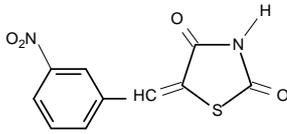
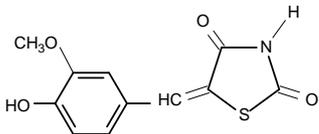
| RMN ¹³ C (75.4 MHz, CDCl ₃) | | | | | | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------|--------|------------------|-----------------|------------------------------|--------------------|-------------------|
| Compostos | C=O ₍₂₎ | C=O ₍₄₎ | C=C | CH= | OCH ₃ | CH ₃ | Benzilideno | | |
|  IVa | 172,41 | 166,31 | 119,10 | 143,19 | 55,66 | | 129,49; 155,51 | 130,23; | 114,09; |
|  IVb | 171,51 | 167,28 | 117,07 | 143,49 | | | 129,40; 116,01 | 129,72; | 157,95; |
|  IVc | 171,51 | 167,38 | 119,06 | 143,79 | | 20,07 | 136,21; 124,58; | 124,10; 128,15; | 135,35; 128,22 |
|  IVd | 171,51 | 166,48 | 118,09 | 142,49 | | | 141,51; 124,69 | 130,21; | 130,23; |
|  IVe | 171,41 | 166,31 | 118,10 | 144,19 | | | 135,66; 123,39; | 139,47; 130,01; | 129,00; 130,50 |
|  IVf | 172,41 | 166,38 | 119,09 | 144,49 | 55,56 | | 129,59; 146,44 115,32; | 110,80; | 148,01; 123,92 |

Tabela 20: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ¹³C (75.4 MHz, CDCl₃) para os derivados do 5-arylideno-tiazolindina-2,4-diona (**Va-b**)

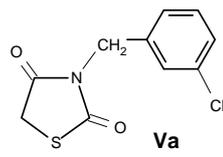
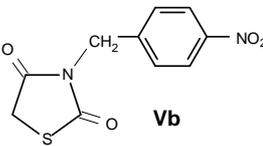
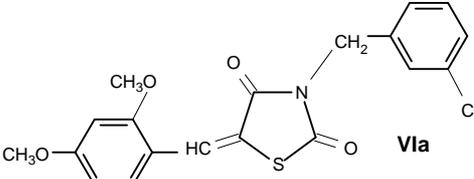
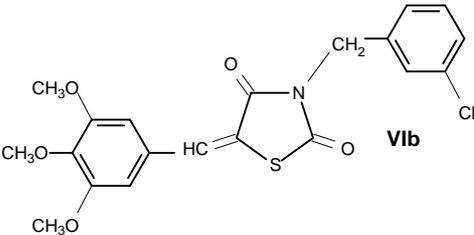
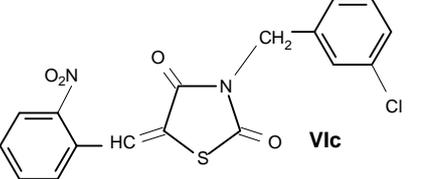
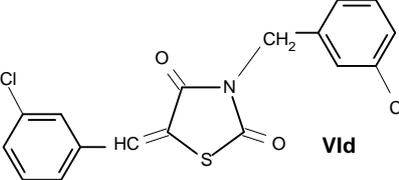
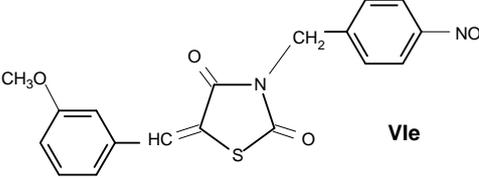
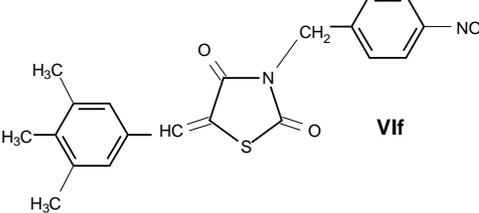
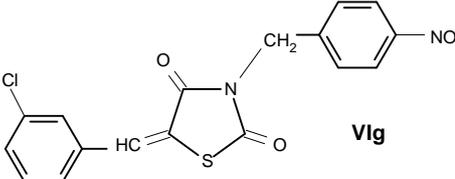
| RMN ¹³ C (75.4 MHz, CDCl ₃) | | | | |
|--|---------------|----------------------------------|-----------------------------|---|
| Compostos | C=O | CH ₂ (heterociclo) | CH ₂ (benzil) | Benzil |
|  Va | 178,97-174,38 | 36,22 | 51,93 | 142,19; 127,20; 136,88; 128,22; 132,33; 127,49 |
|  Vb | 178,94-174,32 | 36,27 | 51,80 | 145,93; 130,87; 125,96; 150,38; 125,96; 130,87 |

Tabela 21: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C para os derivados do 3,5-dissubstituídos-tiazolidina-2,4-diona (**VIa-g**)

| Composto | RMN ¹³ C (75,4 MHz, CDCl ₃) | | | | | |
|--|--|--------|--------|-----------------|--|--|
| | C=O | C=C | CH= | CH ₂ | Outros | Aromáticos |
|  VIa | 168,58- 166,26 | 119,35 | 146,27 | 52,15 | (OCH ₃) 57,76 57,41 | 119,65; 142,07; 165,04; 129,47; 131,66; 136,91; 163,41; 128,28; 129,26; 132,28; 133,81 129,76 |
|  VIb | 168,70- 166,29 | 119,98 | 147,91 | 52,12 | (OCH ₃) 58,54 63,16 58,54 | 132,77; 142,12; 109,75; 129,51; 154,33; 136,88; 143,34; 128,22; 154,33; 132,33; 109,75 129,80 |
|  VIc | 168,70- 166,29 | 121,47 | 144,23 | 52,12 | | 133,53; 142,12; 147,60; 129,48; 129,10; 137,10; 132,81; 128,28; 136,84; 132,40; 134,12 129,82 |
|  VI d | 168,71- 166,29 | 119,98 | 146,57 | 52,12 | | 119,65; 142,12; 165,04; 129,48; 131,66; 137,10; 163,41; 128,28; 129,26; 132,40; 133,81 129,82 |
|  VIe | 168,70- 166,29 | 119,98 | 146,57 | 52,12 | (OCH ₃) 57,66 | 138,46; 145,87; 117,33; 133,12; 162,68; 125,93; 116,26; 150,16; 133,22; 125,93; 124,98 133,12 |
|  VI f | 168,70- 166,29 | 120,04 | 148,73 | 51,91 | (CH ₃) 23,39 17,35 23,39 | 137,53; 145,86; 126,50; 133,20; 139,25; 125,98; 136,74; 150,33; 139,25; 125,98; 126,50 133,20 |
|  VI g | 168,70- 166,29 | 119,98 | 146,57 | 52,12 | | 137,57; 145,87; 131,58; 133,12; 136,51; 125,93; 131,58; 150,16; 133,08; 125,93; 129,65 133,12 |

5.2.4 Caracterização estrutural no Infravermelho dos derivados tiazólicos (VIIa-f; VIIIa-b)

As principais bandas de absorção nos espectros de infravermelho (IV) para os derivados da 4-(4-fenil-substituído)-2-amino-tiazol (**VIIa-e; VIIIa-f**) estão descritas nas **tabelas 22 e 24**. Este estudo revelou bandas de absorção entre $3436-3264\text{ cm}^{-1}$, referente ao estiramento com deformação axial para NH_2 (PAVIA et al., 2010; SADIGOVA et al., 2003).

Foram também identificadas bandas de estiramento (ν) de deformação axial entre $1630-1595\text{ cm}^{-1}$, características do grupo azetina $\text{C}=\text{N}$ (RAJ et al., 2007). Outros estiramentos (ν) foram percebidos em bandas de absorção entre $3124-3105\text{ cm}^{-1}$, característico da deformação axial de (C-H) aromático (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000). Outras bandas de absorção também foram observadas para os compostos (**VIIa-e; VIIIa-f**) entre $1562-1492\text{ cm}^{-1}$, caracterizando a presença do grupo $\text{C}=\text{C}$ aromático (KUMAR et al., 2007; BHARTI et al., 2010).

Para os compostos de (**VIIIa-f**) a ausência de banda de absorção em $1700-1750\text{ cm}^{-1}$ também confirma a conversão do grupo $-\text{CHO}$ do benzaldeído em grupo $\text{N}=\text{CH}$, o que possibilita caracterizar os compostos (BHARTI et al., 2010). Outras bandas de absorção encontram-se descritas na **tabela 24**.

Tabela 22: Principais frequências de absorção observados nos espectros de infravermelho para os derivados do tiazol (**VIIa-e**)

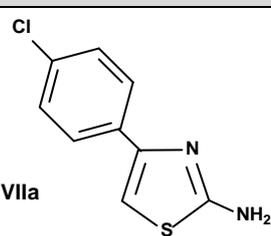
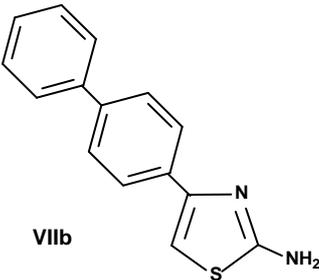
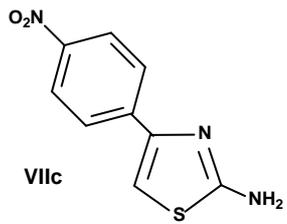
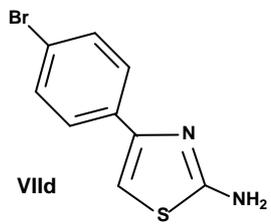
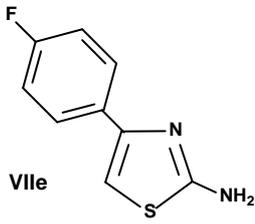
| Compostos | Espectros IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}) | | | | | | | |
|---|--|---------|-------|---------|-------|---------|--------|---------|
| | (-NH ₂) | (C-H)Ar | (C=N) | (C=C)Ar | (C-N) | (C-S-C) | (C-Ar) | (Ar-Cl) |
| <p>VIIa</p>  | 3420-3310 | 3105 | 1630 | 1497 | 1185 | 1092 | 826 | 747 |
| <p>VIIb</p>  | 3436-3286 | 3106 | 1630 | 1522 | 1331 | 1040 | 853 | - |
| <p>VIIc</p>  | 3390-3314 | 3110 | 1624 | 1572 | 1184 | 1047 | 821 | 738 |
| <p>VII d</p>  | 3390-3317 | 3110 | 1624 | 1570 | 1185 | 1058 | 815 | 739 |
| <p>VII e</p>  | 3385-3233 | 3104 | 1631 | 1535 | 1236 | 1160 | 833 | - |

Tabela 23: Análise elementar os derivados do tiazol (**VIIa-e**)

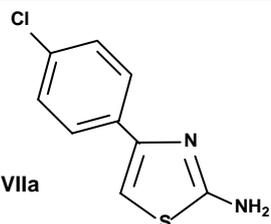
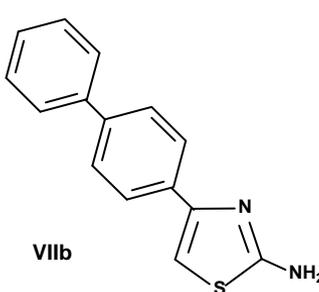
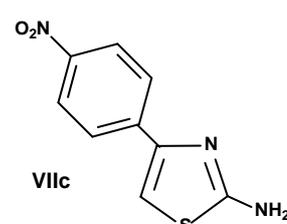
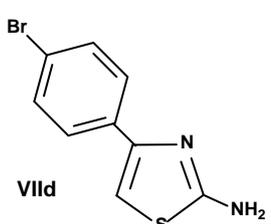
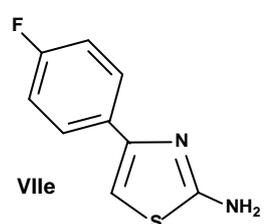
| Compostos | Fórmula Molecular | | | | | | |
|---|-------------------|--------------------|--------|-------|------|-------|-------|
| | Fórmula Molecular | Massa | C | H | N | S | |
|  VIIa | Teórico | $C_9H_7ClN_2S$ | 210,00 | 51,31 | 3,35 | 13,30 | 15,22 |
| | Calculado | | 210,68 | 51,37 | 3,30 | 13,34 | 15,19 |
|  VIIb | Teórico | $C_{15}H_{12}N_2S$ | 252,07 | 71,40 | 4,79 | 11,10 | 12,71 |
| | Calculado | | 252,33 | 71,45 | 4,82 | 11,08 | 12,74 |
|  VIIc | Teórico | $C_9H_7ClN_3O_2S$ | 221,03 | 48,86 | 3,19 | 18,97 | 14,49 |
| | Calculado | | 221,23 | 48,89 | 3,24 | 18,99 | 14,57 |
|  VII d | Teórico | $C_9H_7BrN_2S$ | 253,95 | 42,37 | 2,77 | 10,92 | 12,57 |
| | Calculado | | 255,13 | 42,47 | 2,82 | 10,99 | 12,68 |
|  VII e | Teórico | $C_9H_7FN_2S$ | 194,03 | 55,65 | 3,63 | 14,42 | 16,51 |
| | Calculado | | 194,23 | 55,69 | 3,68 | 14,49 | 16,56 |

Tabela 24: Principais frequências de absorção observadas nos espectros de infravermelho para os derivados do tiazol (**VIIIa-f**)

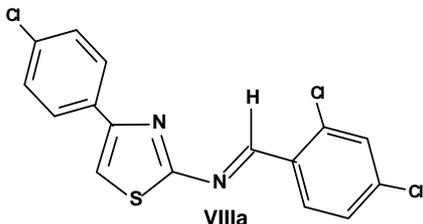
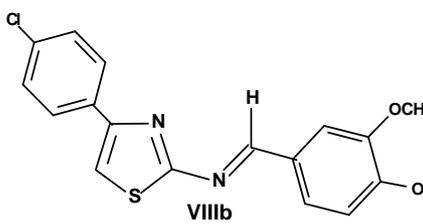
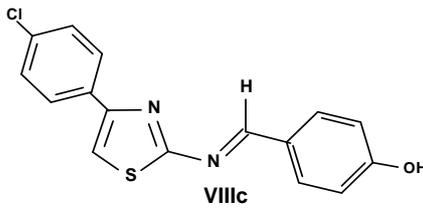
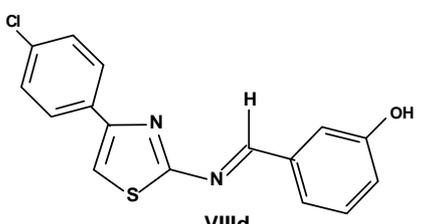
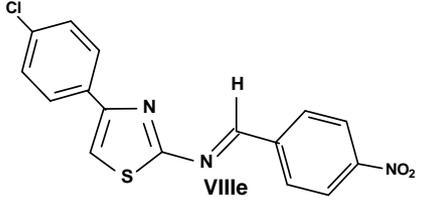
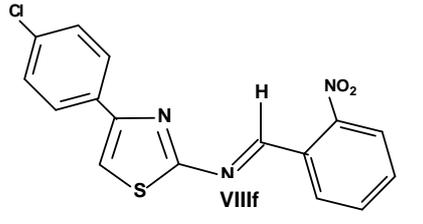
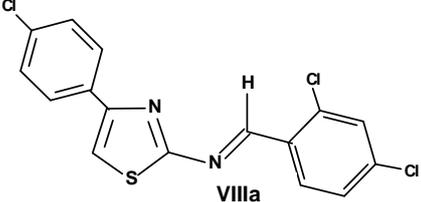
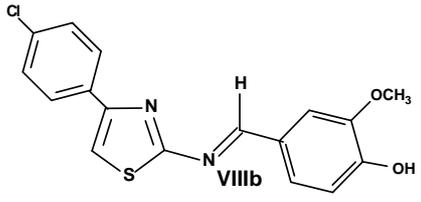
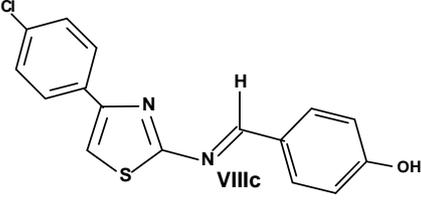
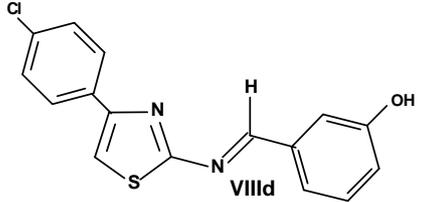
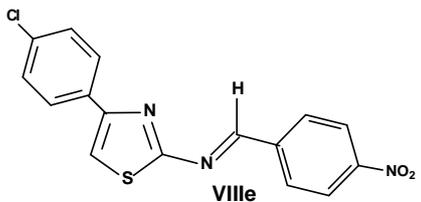
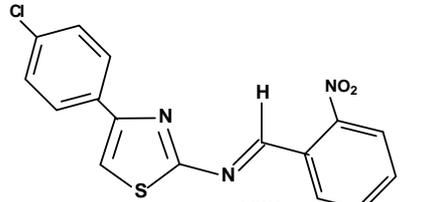
| Compostos | Espectros IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}) | | | | | | | |
|--|--|---------|-------|-----------|-------|---------|--------|---------|
| | (-NH ₂) | (C-H)Ar | (C=N) | (C=C)Ar | (C-N) | (C-S-C) | (C-Ar) | (Ar-Cl) |
|  <p>VIIIa</p> | 3385-3312 | 3120 | 1595 | 1497 | 1178 | 1049 | 823 | 724 |
|  <p>VIIIb</p> | 3385-3312 | 3125 | 1600 | 1498 | 1179 | 1050 | 824 | 712 |
|  <p>VIIIc</p> | 3385-3312 | 3123 | 1605 | 1498 | 1182 | 1048 | 822 | 711 |
|  <p>VIII d</p> | 3390-3315 | 3125 | 1614 | 1492 | 1183 | 1049 | 825 | 698 |
|  <p>VIII e</p> | 3395-3315 | 3125 | 1617 | 1492 | 1169 | 1052 | 825 | 697 |
|  <p>VIII f</p> | 3373-3264 | 3106 | 1630 | 1572-1496 | - | 1091 | 826 | 747 |

Tabela 25: Análise elementar os derivados do tiazol (**VIIIa-f**)

| Compostos | Fórmula Molecular | | | | | |
|--|----------------------|--|----------------|--------------|----------------|----------------|
| | Fórmula Molecular | Massa | C | H | N | S |
|  <p style="text-align: center;">VIIIa</p> | Teórico Calculado | C ₁₆ H ₉ Cl ₃ N ₂ S 367,68 | 52,28 52,32 | 2,46 2,49 | 7,62 7,68 | 8,70 8,72 |
|  <p style="text-align: center;">VIIIb</p> | Teórico Calculado | C ₁₇ H ₁₃ Cl ₃ N ₂ S 344,81 | 59,19 59,27 | 3,78 3,87 | 8,10 8,15 | 9,33 9,39 |
|  <p style="text-align: center;">VIIIc</p> | Teórico Calculado | C ₁₆ H ₁₁ Cl N ₂ O S 314,79 | 61,05 61,25 | 3,52 3,59 | 8,90 8,97 | 10,19 10,29 |
|  <p style="text-align: center;">VIII d</p> | Teórico Calculado | C ₁₆ H ₁₁ Cl N ₂ O S 314,77 | 61,05 61,25 | 3,42 3,45 | 8,95 8,98 | 10,29 10,32 |
|  <p style="text-align: center;">VIII e</p> | Teórico Calculado | C ₁₆ H ₁₀ Cl N ₃ O ₂ S 343,79 | 55,85 55,89 | 2,85 2,89 | 12,27 12,36 | 9,33 9,39 |
|  <p style="text-align: center;">VIII f</p> | Teórico Calculado | C ₁₆ H ₁₀ Cl N ₃ O ₂ S 343,78 | 55,90 55,96 | 2,90 2,93 | 12,22 12,24 | 9,30 9,35 |

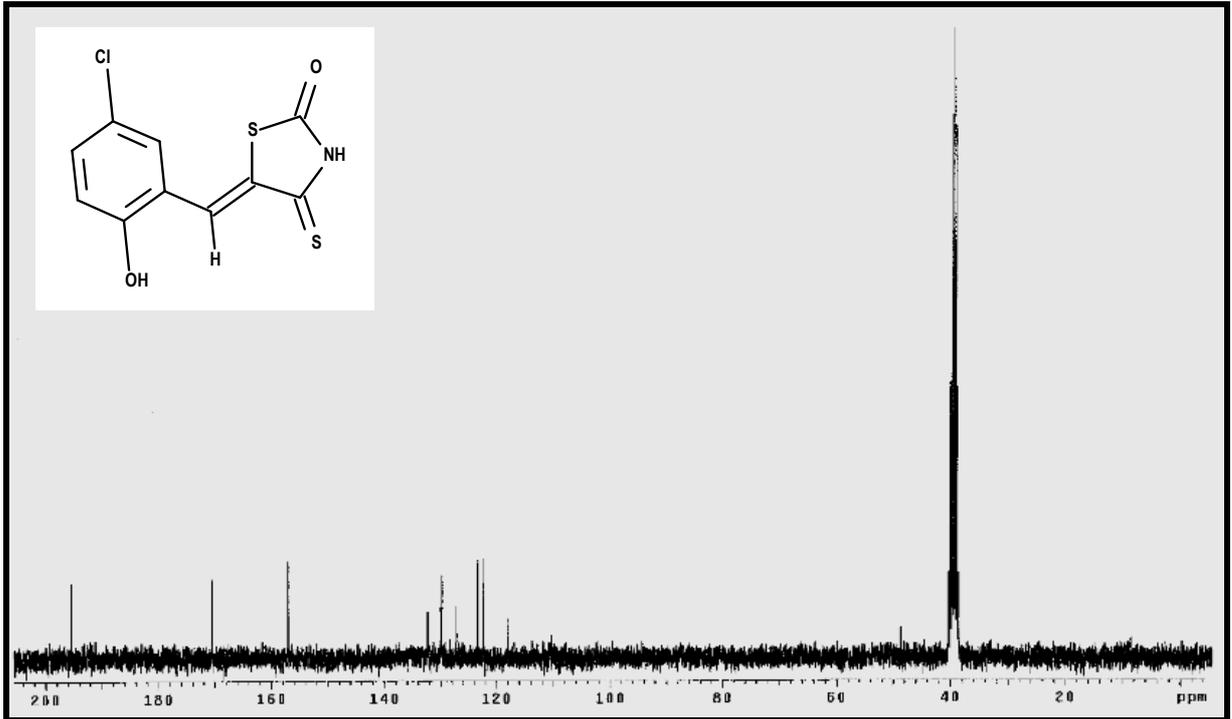


Figura 19 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d $_6$) para o composto 5-(2-hidroxi-5-clorobenzilideno)-4-tioxi-tiazolidina-2-ona (IIIe)

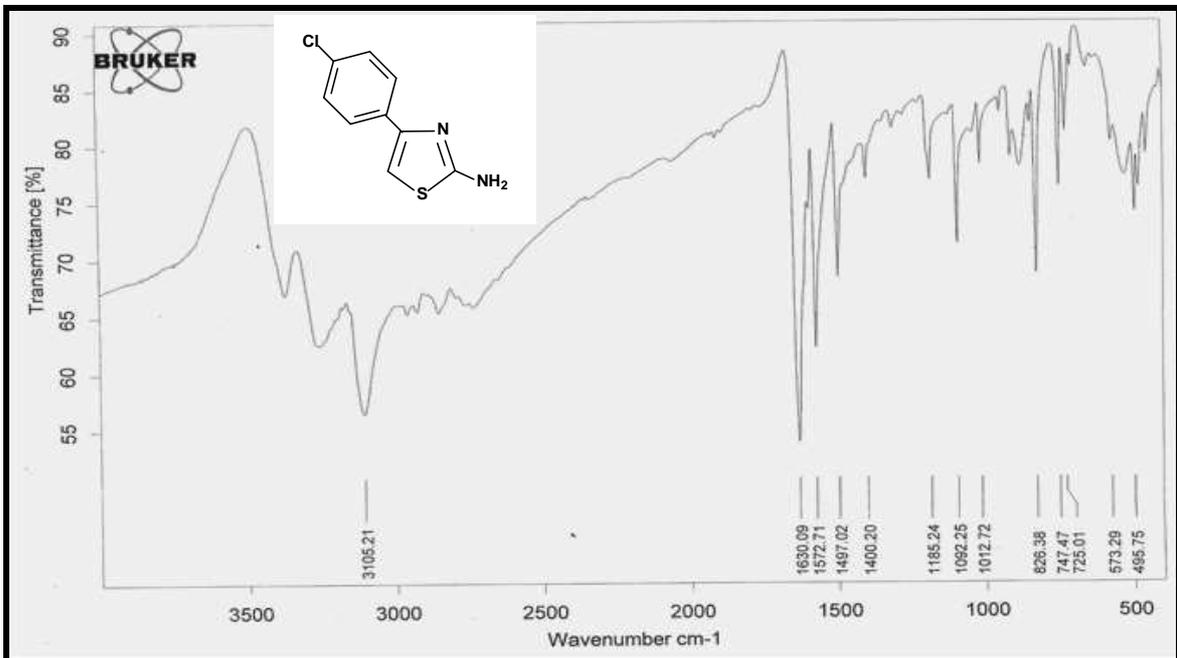


Figura 20 - Espectro de infravermelho do composto VIIa

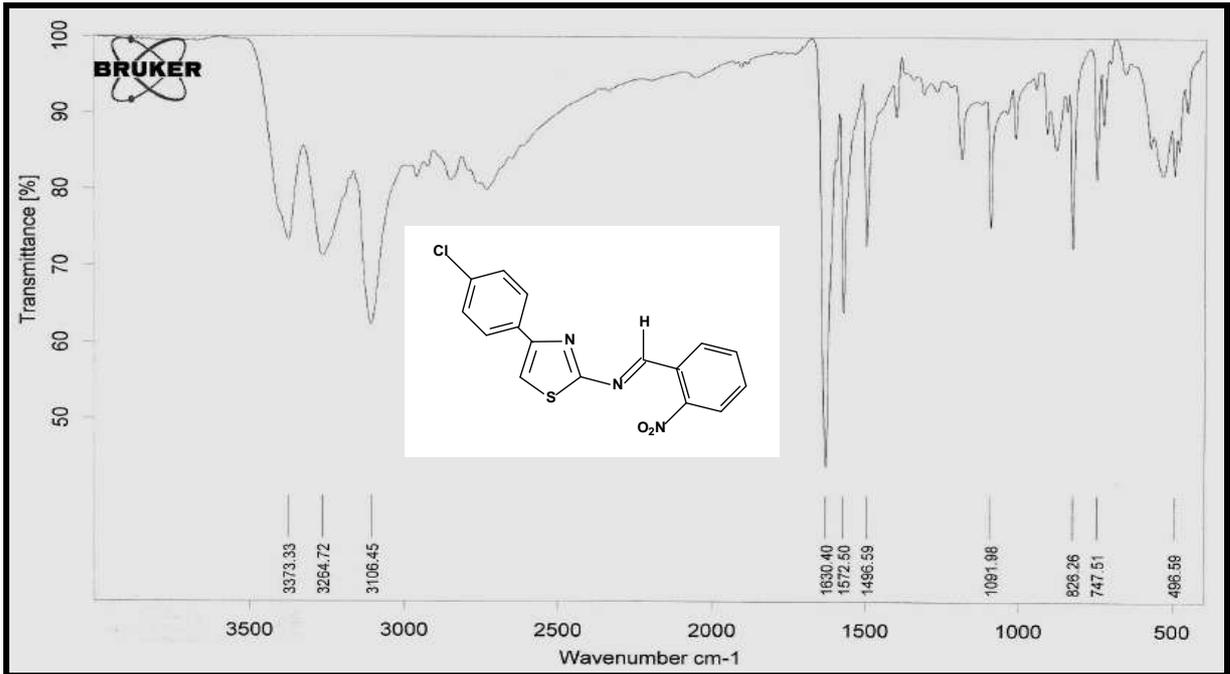


Figura 21 - Espectro de infravermelho do composto VIII f

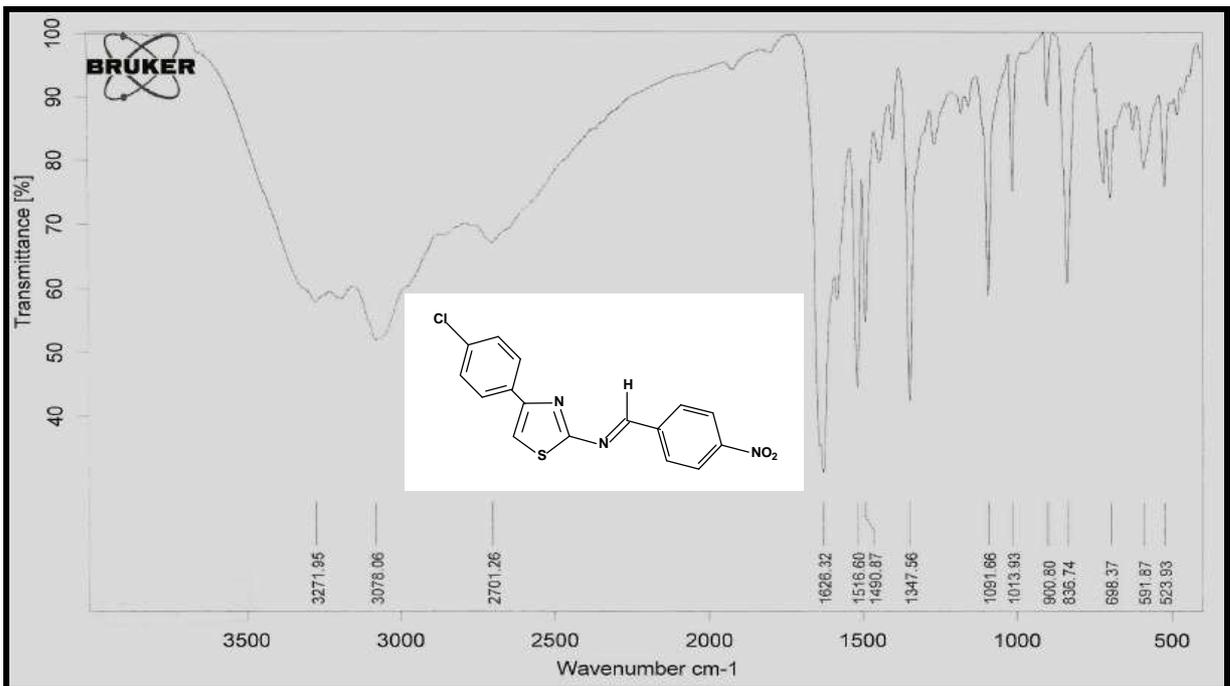


Figura 22: espectro de infravermelho do composto VIII e

5.2.5 Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN¹H dos derivados tiazolidínicos (VIIa-e; VIIIa-f)

Para os compostos tiazolidínicos (VIIa-e) os principais deslocamentos químicos que caracterizaram estas moléculas foram o hidrogênio do grupo CH=C do heterocíclico ciclopentano, os hidrogênios do grupo NH₂ e os hidrogênios aromáticos (Tabela 26).

A partir dos espectros de RMN¹H dos derivados tiazólicos (VIIa-e) (Tabela 26), foram observados deslocamentos químicos de dois hidrogênios do grupo NH₂ como singletos compreendidos entre 7,22-5,43 ppm, (SADIGOVA et al., 2003; MOKALE; SANAP; SHINDE, 2010; GORCZYNSKI et al., 2004), o hidrogênio característico da função azometina (CH=N) mostrou deslocamentos entre 7,40-6,99 ppm (CHIMENTI et al., 2011).

Para os compostos (VIIIa-f) foram observados os deslocamentos do grupo CH=N em substituição aqueles do grupo NH₂ das moléculas anteriormente citadas (VIIa-e), o que facilita a diferenciação das moléculas e a comprovação das reações pela presença dos hidrogênios dos dois anéis aromáticos (Tabela 27).

Os prótons aromáticos dos compostos foram observados entre 8,24-7,41 ppm (VIIa-f) e 8,20-7,05 ppm (VIIIa-f) com diferentes multiplicidades, dependendo do composto (Tabela 26 e 27). Desse modo, as características estruturais destes produtos, foram comprovadas conforme já descrito por (KUMAR, RAJPUT e BHATI, 2007; CHIMENTI et al., 2011).

Para os compostos (VIIIa-f) os deslocamentos químicos do hidrogênio do grupo N=CH-Ar foram observados na faixa compreendida entre 4,92-4,53 ppm (Tabela 27).

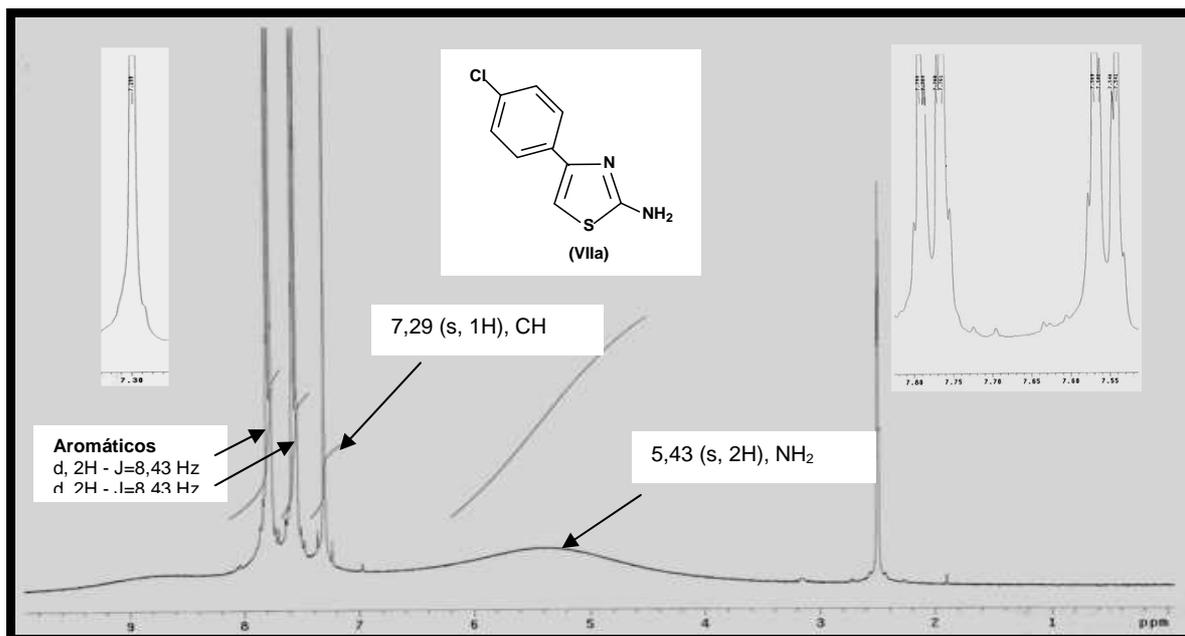


Figura 23: Espectro de RMN¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) para o composto 4-(4-clorofenil)-2-aminotiazol (VIIa)

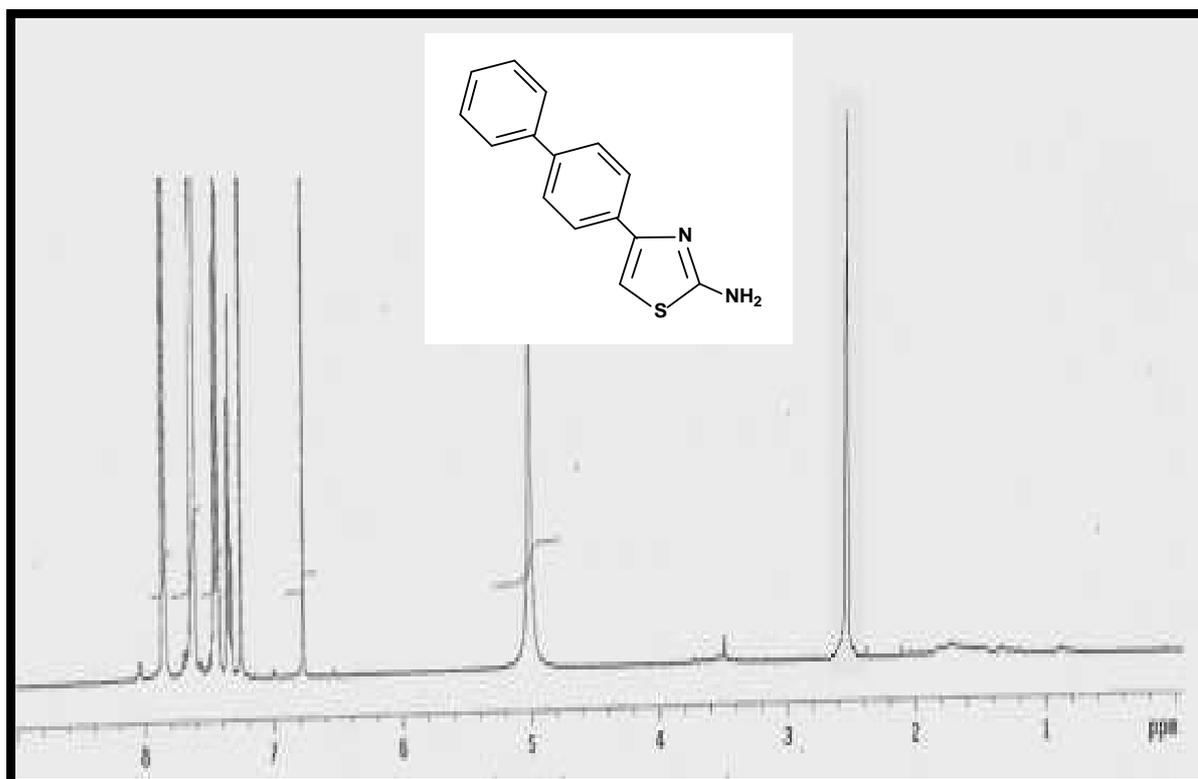
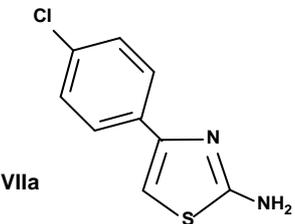
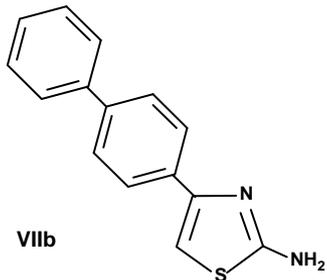
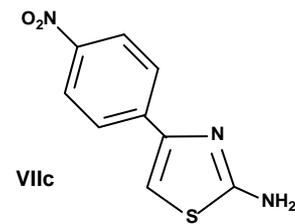
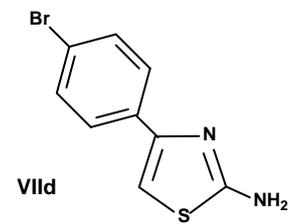
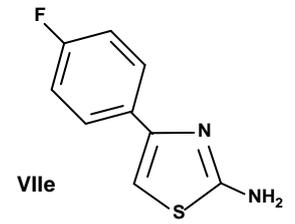


Figura 24: Espectro de RMN¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) para o composto 4-(4-difenil)-2-amino-tiazol (VIIb)

Tabela 26: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) para os derivados do tiazol (**VIIa-e**)

| Derivados de Tiazol Sintetizados | | | |
|--|----------------------|--------------|--|
| Compostos | -NH ₂ (s) | =CH (s) | Prótons aromáticos |
| <p>VIIa</p>  | 5,43 (s, 2H) | 7,29 (s, 1H) | 7,79-7,61 (d, 2H) J=8,43 Hz 7,56-7,41 (d, 2H) J=8,43 Hz |
| <p>VIIb</p>  | 5,01 (s, 2H) | 6,77 (s, 1H) | 7,58 (m, 9H), Ar - difenil |
| <p>VIIc</p>  | 7,22 (s, 2H) | 7,40 (s, 1H) | 8,24-8,21 (d, 2H) J=8; 8,99 Hz 8,05-8,02 (d, 2H) J=8; 8,99 Hz |
| <p>VIIId</p>  | 6,39 (s, 2H) | 6,99 (s, 1H) | 7,77-7,74 (d, 2H) J=8,50 Hz 7,76-7,71 (d, 2H) J=8,50 Hz |
| <p>VIIe</p>  | 7,22 (s, 2H) | 8,49 (s, 1H) | 7,09-7,01 (d, 2H) J=8,28 Hz 8,04-7,93 (d, 2H) J=8,28 Hz |

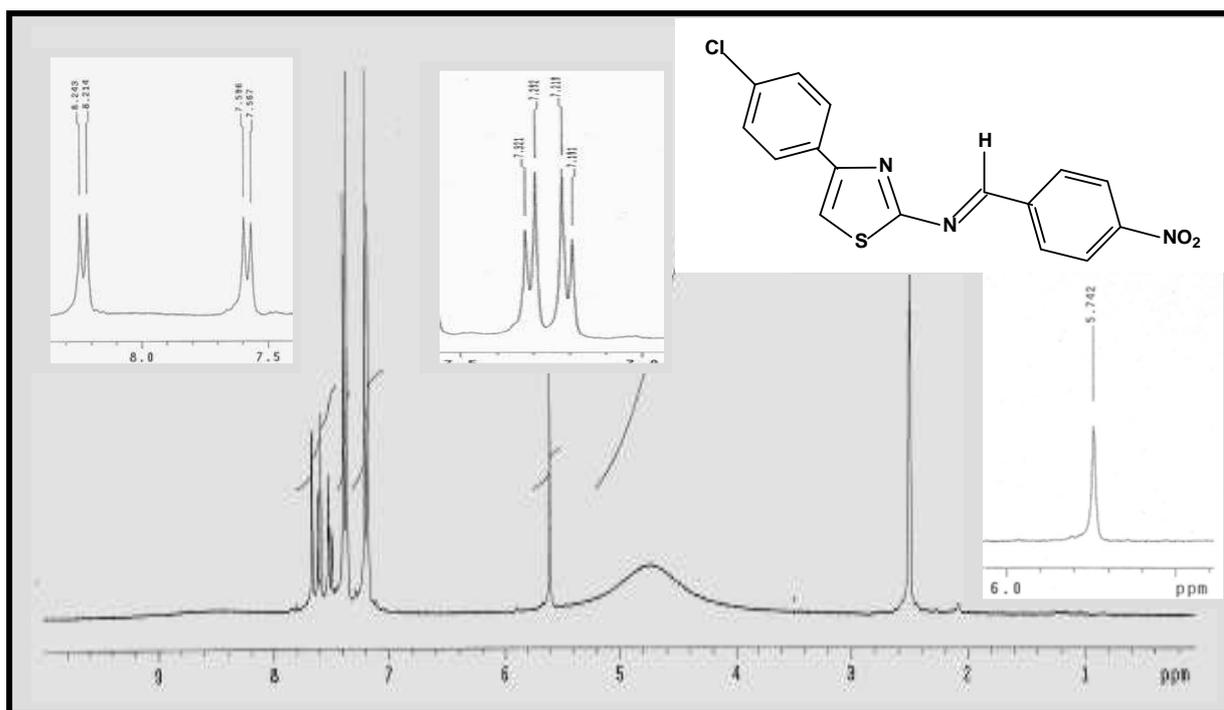


Figura 25: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) para o composto 4-cloro-benzilideno-[4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amina (VIIIe)

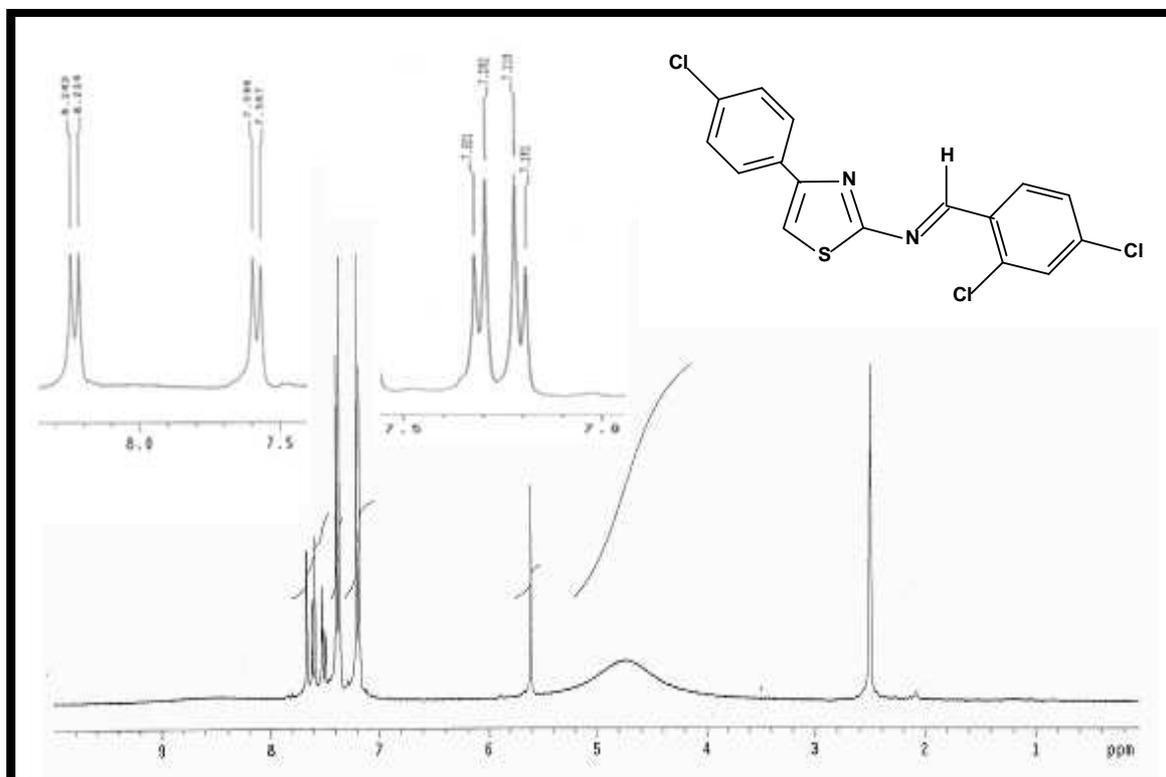


Figura 26: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) para o composto 2,4-dicloro-benzilideno-[4-(4-cloro-fenil)-tiazol-2-il]-amina (VIIIa)

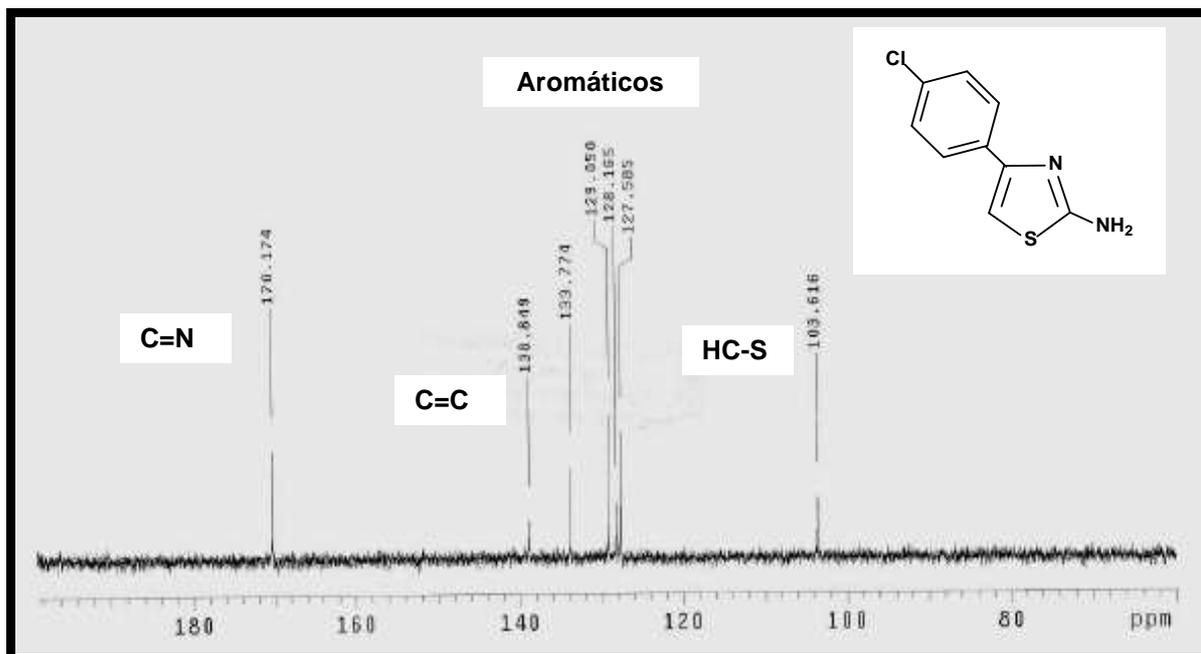


Figura 27: Espectro de RMN^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) para o composto 4-(4-clorofenil)-2-amino-tiazol (VIIa)

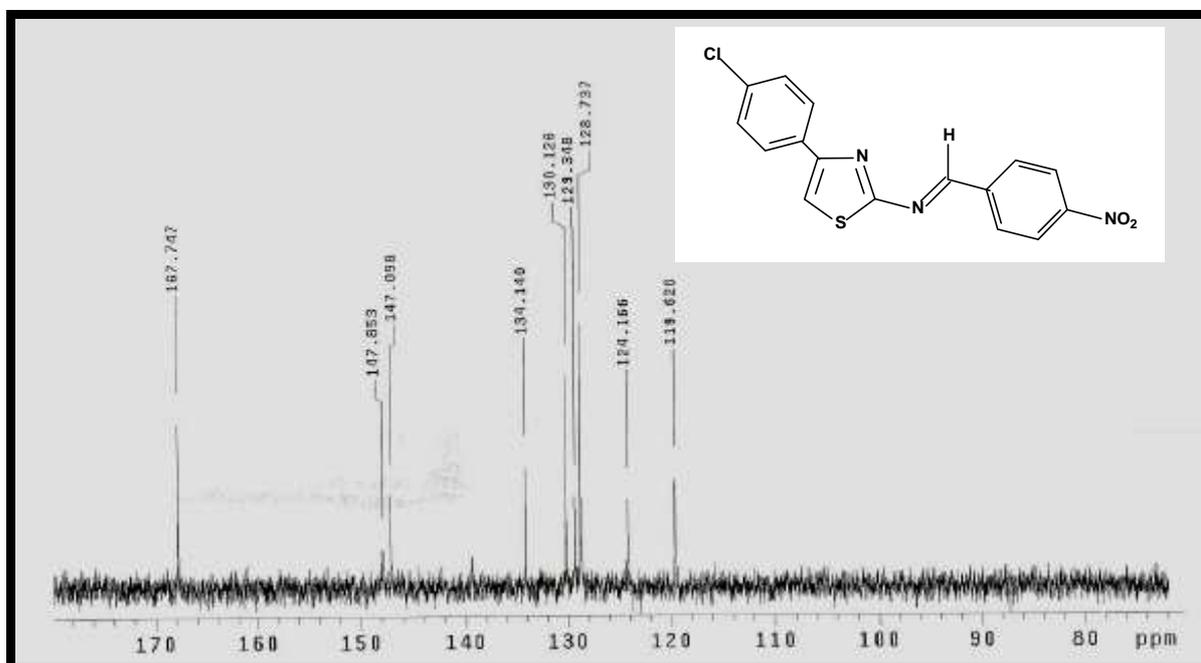
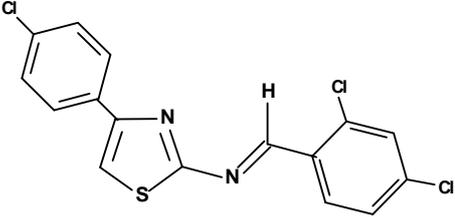
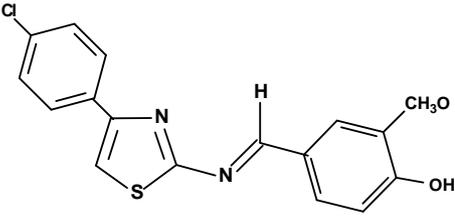
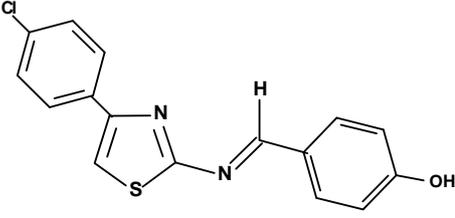
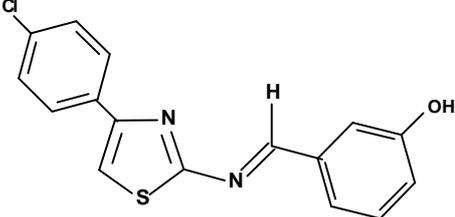
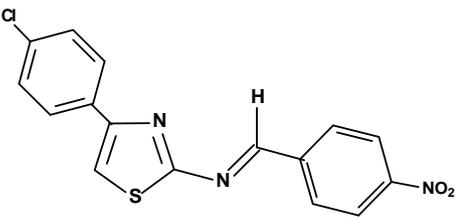
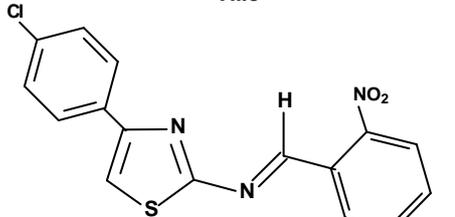


Figura 28: Espectro de RMN^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) para o composto 4-nitro-benzilideno-[4-(4-clorofenil)-tiazol-2-il]-amina (VIIIe)

Tabela 27: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) para os derivados do tiazol (**VIIIa-f**)

| Derivados dos Tiazóis Sintetizados | | | | | | |
|---|----------------|----------------|--------------------------|----------------|--|---|
| Compostos | N=CH (s) | C=CH (s) | CH ₃ O (s) | OH (s) | Prótons aromáticos | |
| | | | | | Fenil | Benzilideno |
|  <p>VIIIa</p> | 4,74 (s,1H) | 5,60 (s,1H) | - | - | 7,39-7,36 (d, 2H) J= 8,99 7,20-7,17 (d, 2H) J= 8,99 | 7,61-7,58 (d, 1H) J=8,39 Hz 7,51-7,49 (dd, 1H) J=8,39, J=2,09 Hz 7,66 (s, 1H) |
|  <p>VIIIb</p> | 4,53 (s,1H) | 5,93 (s,1H) | 3,67 (s,3H) | 9,39 (s,1H) | 7,57-7,54 (d, 2H) J=8,43 Hz 7,43-7,41 (d, 2H) J=8,43 Hz | 7,07-7,05 (d, 1H) J=8,20 Hz 7,33 (d, 1H) J=8,20 Hz 7,10 (s, 1H) |
|  <p>VIIIc</p> | 4,88 (s,1H) | 5,60 (s,1H) | - | 9,47 (s,1H) | 7,56-7,54 (d, 2H) J=8,43 Hz 7,43-7,41 (d, 2H) J=8,43 Hz | 7,90-7,88 (d, 2H) J=8,46 Hz 7,60-7,58 (d, 2H) J=8,46 Hz |
|  <p>VIIIId</p> | 4,92 (s,1H) | 5,87 (s,1H) | - | 9,78 (s,1H) | 7,56-7,53 (d, 2H) J=8,43 Hz 7,42-7,39 (d, 2H) J=8,43 Hz | 7,45-7,43 (dd, 1H) J=7,91; 2,11 Hz 7,35-7,31 (t, 1H) J=8,80; 7,91 Hz 7,24-7,21 (dd, 1H) J=8,80; 2,70 Hz 7,07 (s, 1H) |
|  <p>VIIIe</p> | 4,77 (s,1H) | 5,74 (s,1H) | - | - | 7,60-7,57 (d, 2H) J=843 Hz 7,46-7,44 (d, 2H) J=843 Hz | 8,20-8,17 (d, 2H) J=8,69 Hz 7,55-7,51 (d, 2H) J=8,69 Hz |
|  <p>VIIIIf</p> | 4,67 (s,1H) | 5,70 (s,1H) | - | - | 7,69-7,66 (d, 2H) J=8,43 Hz 7,55-7,52 (d, 2H) J=8,43 Hz | 8,08-8,06 (dd, 1H) J=8,00; 1,27 Hz 7,77-7,73 (td, 1H) J=8,00; 7,80; 1,14 Hz 7,55-7,64 (td, 1H) J=8,00; 7,80; 1,27 Hz 8,03-8,01 (d, 2H) J=8,00 Hz |

5.2.6 Caracterização estrutural por espectroscopia de RMN¹³C dos derivados tiazólicos (VIIa-e; VIIIa-f)

As (Tabelas 28 e 29) apresentam os principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C para os derivados tiazólicos (VIIa-e; VIIIa-f). Os dados abaixo (Tabela 29) mostram picos característicos dos carbonos (C=N); (HC-S); (C=C) aromático. Para a série dos derivados 4-(4-fenil-substituído)-2-amino-tiazol (VIIa-e) foram observados picos entre 171,76-168,25 ppm característicos do carbono (C=N). Entre 147,93-138,84 ppm característicos do carbono C=C e entre 117,65-101,79 ppm que identifica o (HC-S). Os carbonos aromáticos de todos os compostos (VIIa-e) apresentaram picos entre 154,66-114,38 ppm, porém, o derivado VIIa também apresentou deslocamentos na faixa entre 133,77-127,58 ppm (Figura 27), conforme já descrito por Bharti et al., (2010).

Para os derivados 4-(4-fenil-substituído)-2-amino-tiazol benzilideno-substituído[4-(fenil-substituído)-tiazol-2-il]-amina (VIIIa-f) conforme demonstrado na tabela 21, os espectros de RMN¹³C dos compostos desta série, além dos picos característicos do anel, apresentaram deslocamentos na faixa entre 159,62-147,85 ppm, característicos do carbono do grupo imino (CH=N), evidenciando a substituição no grupo amina da posição 2 do anel tiazólico e confirmando a formação da base de Schiff e formação do anel tiazol-2,4-dissubstituído Figura 24 (ZHAO et al., 2006).

Tabela 28: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) para os derivados do tiazol (**VIa-g**)

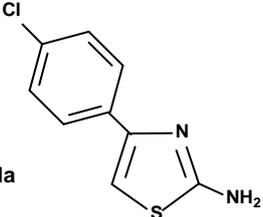
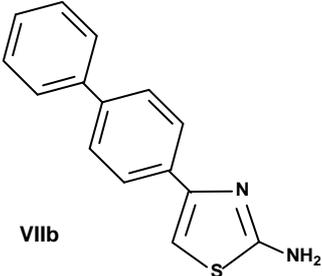
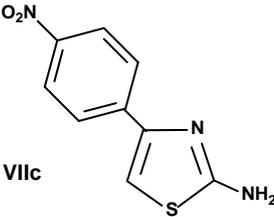
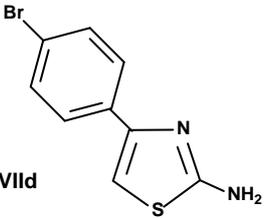
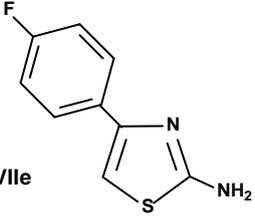
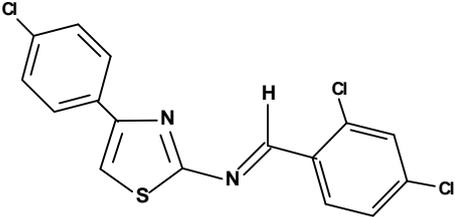
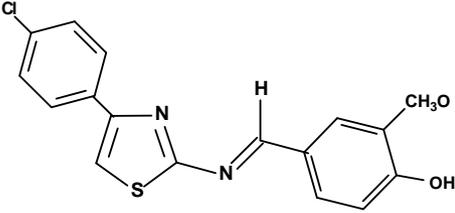
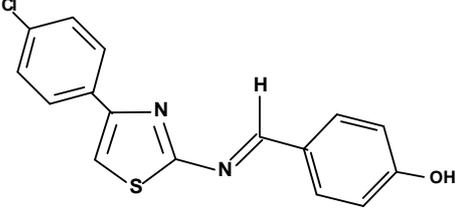
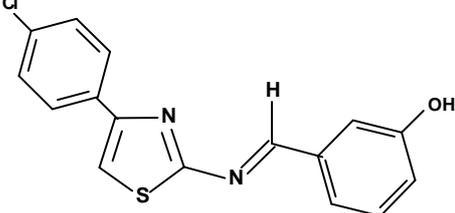
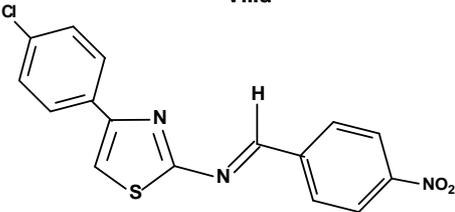
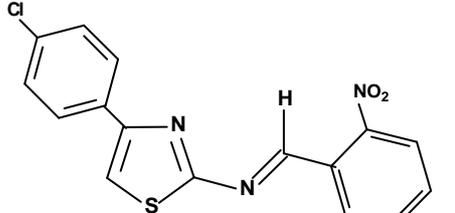
| Composto | RMN ¹³ C (Acetona- <i>d</i> ₆ , 75,4 MHz, δ ppm) | | | |
|--|--|--------|--------|--|
| | C=N | HC-S | C=C | Aromáticos |
|  <p>VIIa</p> | 170,17 | 103,61 | 138,84 | 133,77; 129,05; 128,16; 127,58 |
|  <p>VIIb</p> | 168,25 | 101,79 | 149,48 | 139,71; 138,68; 134,06; 128,98; 127,41; 126,71; 126,44; 126,12 |
|  <p>VIIc</p> | 169,49 | 107,45 | 143,18 | 140,09; 138,36; 126,30; 127,07; |
|  <p>VIIId</p> | 167,89 | 109,65 | 144,32 | 129,42; 126,05; 125,05; 119,35 |
|  <p>VIIe</p> | 171,76 | 117,65 | 147,93 | 154,66; 154,30; 129,05; 128,87; 115,78; 114,38 |

Tabela 29: Principais deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) para os derivados do tiazol (VIIIa-f)

| Composto | (δ) Deslocamentos Químicos | | | | | |
|---|----------------------------|--------|--------|--------|-------------------|--|
| | N=C-N | HC-S | C=C-N | CH=N | CH ₃ O | Aromáticos |
|  <p>VIIIa</p> | 169,17 | 113,46 | 148,22 | 159,62 | - | 137,25; 133,18; 132,86; 132,13; 129,48; 127,78; 126,38; 124,83 |
|  <p>VIIIb</p> | 167,95 | 114,15 | 148,46 | 155,44 | 53,47 | 146,47; 146,13; 135,50; 134,28; 129,13; 128,41; 122,98; 108,11 |
|  <p>VIIIc</p> | 169,71 | 113,41 | 148,36 | 157,84 | - | 136,10; 135,84; 135,14; 132,58; 129,14; 130,58; 128,38; 113,11; 111,71 |
|  <p>VIII d</p> | 168,99 | 113,10 | 147,89 | 157,96 | - | 155,82; 136,53; 135,62; 133,88; 129,21; 128,46; 120,58; 128,38; 120,36; 117,23; |
|  <p>VIII e</p> | 167,74 | 119,62 | 147,09 | 147,85 | - | 134,14; 130,12; 129,34; 128,73; 124,16 |
|  <p>VIII f</p> | 169,15 | 109,12 | 146,83 | 149,61 | - | 147,19; 135,20; 138,95; 134,17; 129,81; 127,36; 130,73; 147,46; 123,76; 129,81; 131,66; 129,34; 126,78 |

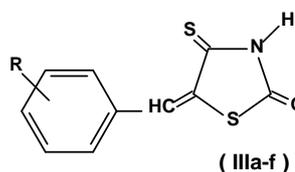
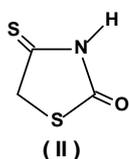
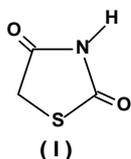
5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

Entre os compostos testados ficou evidente uma ação antimicrobiana mais efetiva pelos compostos derivados da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona, evidenciada pela formação dos maiores halos de inibição e apresentarem, um maior espectro de ação frente as cepas dos micro-organismos testados.

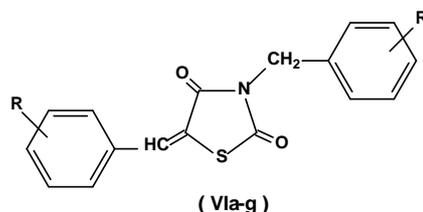
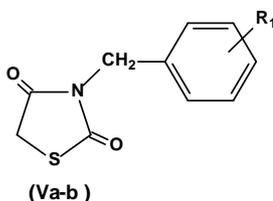
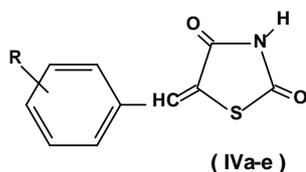
5.3.1 Halos de inibição dos derivados da tiazolidina-2,4-diona e 4-tioxi-tiazolidina-2-ona frente às cepas testadas

Entre os 23 compostos testados, 16 formaram halos de inibição em pelo menos um micro-organismo testado, confirmando a potencial atividade antimicrobiana desses heterocíclis conforme observado por Tomasic et al. (2010). Os derivados tiazolidínicos, que possuem o grupo tiocarbonila foram os que apresentaram maior potencial contra os *S. aureus*.

Dentre os compostos avaliados, **IIIa**, **IIIb** e **IIIe** foram os que apresentaram os maiores halos de inibição frente ao maior número de micro-organismos testados. Outro fato importante é que estes compostos apresentaram melhor desempenho frente às bactérias Gram-positivas (**Tabela 28**).



IIIa R = 3-OH; 4-OCH₃
IIIb R = 3-OCH₃, 4-OH
IIIc R = 2-OH
IIId R = 4-OH
IIIe R = 2-OH; 5-Cl
IIIf R = 4-Br



IVa R = 4-OCH₃
IVb R = 4-OH
IVc R = 3-CH₃
IVd R = 4-NO₂
IVe R = 3-NO₂
IVf R = 3-CH₃O, 4-OH

Va R₁ = 3-Cl
Vb R₁ = 4-NO₂

VIa R = 2,4-(OCH₃)₂; R₁ = 3-Cl
VIb R = 3,4,5-(OCH₃)₃; R₁ = 3-Cl
VIc R = 2-NO₂; R₁ = 3-Cl
VId R = 3-Cl; R₁ = 3-Cl
VIe R = 3-OCH₃; R₁ = 4-NO₂
VI f R = 3,4,5-(CH₃)₃; R₁ = 4-NO₂
VIg R = 3-Cl; R₁ = 4-NO₂

Tabela 30: halo de inibição dos derivados tiazolidínicos

| Compostos 300µg (X ± δ) | Micro-organismos-teste | | | | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Gram-positivo | | | | Gram-negativo | | | Álcool-ácido resistente | Levedura | Fungo Filamentoso |
| | <i>S. aureus</i> 1 | <i>M. luteus</i> 6 | <i>E. faecalis</i> 138 | <i>B. subtilis</i> 16 | <i>P. aeruginosa</i> 39 | <i>E. coli</i> 224 | <i>S. marcescens</i> 398 | <i>M. smegmatis</i> 71 | <i>C. albicans</i> 1007 | <i>M. sitophila</i> 2083 |
| I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| II | 19,3±0,47 | 25,8±0,16 | 22,2±0,62 | 21,0±0,16 | 0 | 0 | 0 | 18,5± 0,41 | 19,2±0,62 | 0 |
| IIIa | 21,7±0,47 | 35,0±0,82 | 21,8±0,25 | 11,7±0,47 | 13,0±0,82 | 13,1±0,19 | 0 | 45,5±0,41 | 20,9±0,19 | 9,2±0,16 |
| IIIb | 18,3±0,09 | 48,8±0,16 | 21,0±0,16 | 25,8±0,16 | 10,9±0,09 | 11,2±0,16 | 10,9±0,09 | 24,9±0,09 | 20,9±0,19 | Nt |
| IIIc | 19,3±0,47 | 24,7±0,94 | 21,8±0,62 | 30,8±0,62 | 0 | 0 | 0 | 24,7±0,85 | 0 | 0 |
| IIId | 18,5±0,41 | 27,0±0,82 | 22,2±0,62 | 51,2±0,24 | 0 | 11,4±0,80 | 0 | 45,5±0,41 | 26,7±0,47 | 0 |
| IIIe | 20,3±0,47 | 40,5±0,41 | 25,7±0,57 | 30,0±0,41 | 11,9±0,09 | 11,3±0,47 | 12,0±0,12 | 29,8±0,62 | 20,0±0,82 | 10,3±0,24 |
| IIIff | 22,9±0,09 | 21,0±0,16 | 17,1±0,19 | 18,0±0,41 | 0 | 0 | 0 | 17,1±0,19 | 15,2±0,62 | nt |
| IVa | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| IVb | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| IVc | 8,20±0,62 | 0 | 10,9±0,09 | 13,0±0,82 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| IVd | 20,3±0,47 | 0 | 10,2±0,95 | 15,3±0,47 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| IVe | 10,2±0,95 | 0 | 0 | 12,0±0,12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nt |
| IVff | 10,9±0,09 | 27,1±1,15 | 0 | 11,8±0,56 | 15,3±0,47 | 0 | 0 | 19,3±0,77 | 16,0±0,82 | nt |
| Va | 9,4±0,08 | 28±0,16 | 8,4±0,17 | 8,4±0,05 | 0 | 0 | 0 | 12,1±0,09 | 0 | 0 |
| Vb | 8,2±0,62 | 0 | 11,0±0,82 | 0 | 0 | 0 | 10,5±0,81 | 11,8±0,56 | 11,3±0,47 | 0 |
| VIa | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIb | 8,5±0,41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIc | 8,3±0,47 | 0 | 0 | 17,8±0,62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIId | 8,2±0,62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIe | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIff | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIg | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Can [®] (30µg) | 23,0±0,82 | 28,3±0,09 | 0 | 14,0±0,82 | 20,0±0,12 | 15,1±0,19 | 15,0±0,12 | 40,0±0,12 | nt | nt |
| Cef [®] (30µg) | 35,3±0,09 | 54,0±0,12 | 24,1±0,19 | 45,0±0,12 | 0 | 24,3±0,09 | 0 | 0 | nt | nt |
| Cet [®] (300µg) | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | 24,1±0,19 | 22,0±0,82 |

Compostos padrão[®]: Cef = Cefalexina; Cet = Cetoconazol; Can = Canamicina; nt = não testado

X = Média

δ = Desvio padrão

Os compostos (**IIIb e IIIe**) inibiram 100% dos micro-organismos testados e o composto (**IIIa**) também se mostrou eficaz, porém não inibiu o crescimento de apenas um micro-organismo Gram-negativo da *Serratia marcescens* (DAUFPE-398).

Os halos formados pelo composto **IIId** frente ao *B. Subtilis* e **IIIa** e **IIId** ao *M. smegmatis* foram maiores que os formados pelos padrões testados (**Tabela 30**).

Três compostos (**IIIa**, **IIIc** e **IIIe**) apresentaram halos de inibição maiores do que os padrões testados, estes compostos foram considerados excelentes. Os compostos com maior atividade antimicrobiana foram os que possuem o grupo tioxo na posição 4 do anel tiazolidínico, indicando que, conforme já mostrado por Gouveia et al., (2009). O bioisosterismo na síntese orgânica constitui um elemento potencializador da atividade microbiológica desses compostos.

Os derivados tiazolidínicos que revelaram halos de maior expressão nos testes de disco foram escolhidas para a determinação da (CMI) Concentração Mínima Inibitória e (CMB) Concentração Mínima Bactericida.

5.3.2 Halos de inibição dos derivados tiazólicos frente às cepas testadas

Os derivados tiazólicos **VIIa**, **VIIe** e **VIIc** formaram halos de inibição frente aos micro-organismos testados, com destaque para o **VIIe** que apresentou maior espectro de ação antimicrobiana, com halos que se aproximam dos expressos pelos compostos padrão para as cepas *S. marcescens*, *M. smegmatis* (**Tabela 31**). Este mesmo produto formou halo significativo frente a *C. albicans*, indicando também potencial antifúngico, como já é relatado pela literatura (MAMOLO et al., 2003; BHARTI et al., 2010).

Mamolo et al., (2003) afirmaram que o potencial antimicrobiano dos derivados tiazólicos não estão condicionados aos efeitos retiradores ou doadores de elétrons dos substituintes do anel aromático ligado ao anel tiazol, embora que, contraditoriamente, afirmem que estar relacionada a posição **para** ou **meta** do anel aromático que além do fator estérico, também implica na questão eletrônica. Porém, nesse estudo os composto com os substituintes Cl (cloro) e F (fluor) na posição **para**, apresentaram maior ação antimicrobiana frente às cepas testadas.

Siddiqui et al., (2009) associaram a ampliação do potencial bioativo e a redução da toxicidade desses derivados às modificações do anel tiazólico. Todavia Bharti et al., (2010) atribuíram a potencialização antimicrobiana, em especial o efeito antifúngico à introdução do anel cíclico 2,4-dissubstituído do anel aromático ligados ao grupo azometina (N=CH) das bases de Schiff ligadas ao anel tiazol. Embora neste estudo os compostos **VIIe** e **VIIc** tenham apresentado ação antimicrobiana com halos que variaram entre 8 e 20 mm. Isto mostra que os compostos que

apresentam em sua estrutura a ligação (N=CH) das bases de Schiff ligadas ao anel tiazólico não foram os que apresentaram maior potencial antimicrobiano.

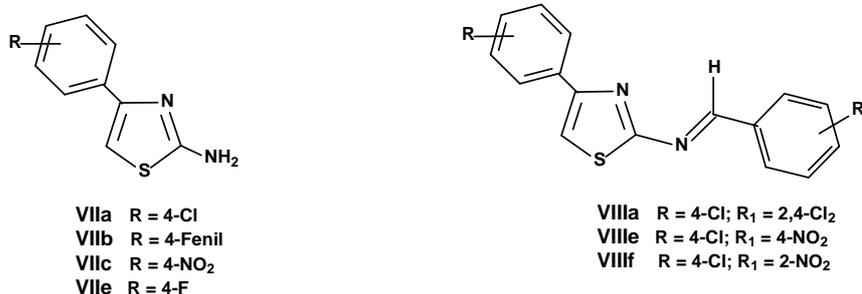


Tabela 31: halos de inibição dos derivados tiazólicos em discos de papel de 6 mm

| Compostos 300µg (X ± δ) | Micro-organismos-teste | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | Gram-positivo | | | | Gram-negativo | | | Álcool-ácido resistente | Levedura |
| | <i>S. aureus</i> 1 | <i>M. luteus</i> 6 | <i>E. faecalis</i> 138 | <i>B. subtilis</i> 16 | <i>P. aeruginosa</i> 39 | <i>E. coli</i> 224 | <i>S. marcescens</i> 398 | <i>M. smegmatis</i> 71 | <i>C. albicans</i> 1007 |
| VIIa | 11,67±0,47 | 20,67±0,47 | 11,66±0,47 | 8,66±0,47 | 0 | 0 | 0 | 17,33±0,47 | 8,67±0,47 |
| VIIb | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIIc | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIIe | 14,33±0,47 | 20,33±0,47 | 12,67±0,47 | 12,67±0,47 | 0 | 11,67±0,47 | 11,33±0,47 | 34,67±0,47 | 20,67±0,47 |
| VIIIa | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIIIe | 10,33±0,47 | 10,00±0,00 | 0 | 8,33±0,47 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VIIIf | 11,67±0,47 | 0 | 8,33±0,47 | 8,33±0,47 | 0 | 0 | 0 | 20,67±0,47 | 8,33±0,47 |
| Can[®] (30µg) | 23,0±0,82 | 28,3±0,09 | 0 | 14,0±0,82 | 20,0±0,12 | 15,1±0,19 | 15,0±0,12 | 40,0±0,12 | nt |
| Cef[®] (30µg) | 35,3±0,09 | 54,0±0,12 | 24,1±0,19 | 45,0±0,12 | 0 | 24,3±0,09 | 0 | 0 | nt |
| Cet[®] (300µg) | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | 24,1±0,19 |

Compostos padrão[®]: Cef = Cefalexina; Cet = Cetoconazol; Can = Canamicina; nt = não testado

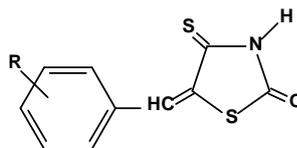
X = Média

δ = Desvio padrão

5.3.3 Concentração mínima inibitória (CMI) e Concentração mínima bactericida (CMB)

A CMI e CMB foram determinadas para os produtos testados que obtiveram maiores espectros de ação antimicrobiana. Com isso essa parte do estudo foi feita apenas para os derivados da 4-tioxi-tiazolidina-2-ona (**IIIa-f**) (**Tabela 32**).

A CMI dos compostos **IIIe** e **IIIf** quando expostos ao *Micrococcus luteus* (2 µg/mL) foi semelhante a CMB obtida com a droga padrão (2 µg/mL). Quando exposto ao *Enterococcus faecalis*, tanto a CMI quanto a CMB para os compostos **IIIe** e **IIIf** foram maiores do que aquela observada para a cefalexina.



IIIa R = 3-OH; 4-OCH₃

IIIb R = 3-OCH₃; 4-OH

IIIc R = 2-OH

IIId R = 4-OH

IIIe R = 2-OH; 5-Cl

IIIf R = 4-Br

Tabela 32 – Determinação da CMI e CMB dos derivados 4-tioxo-tiazolidin-2-ona

| Compostos | Micro-organismos-teste | | | | | | | | | | | |
|-------------|------------------------------|------|---------------------------|-----|--------------------------|-----|--------------------------------|------|------------------------------|------|-------------------------|-----|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Micrococcus luteus</i> | | <i>Bacillus subtilis</i> | | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | | <i>Enterococcus faecalis</i> | | <i>Candida albicans</i> | |
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| IIIa | 64 | 128 | 16 | 32 | 16 | 32 | 32 | 64 | 128 | >128 | nt | nt |
| IIIb | 32 | 64 | 4 | 8 | 16 | 32 | nt | nt | 128 | >128 | 16 | 32 |
| IIIc | 32 | 64 | 4 | 8 | 4 | 8 | 8 | 16 | 64 | 128 | 4 | 8 |
| IIId | 8 | >128 | 4 | 64 | 4 | 16 | nt | nt | 64 | >128 | nt | nt |
| IIIe | 8 | 16 | 2 | 4 | 2 | 4 | 2 | 4 | 16 | 32 | 4 | 8 |
| IIIf | 8 | 16 | 2 | 4 | 4 | 8 | 16 | 32 | 16 | 32 | 16 | 32 |
| Cefalexina | 8 | 16 | <2 | 2 | <2 | <2 | >128 | >128 | >128 | >128 | nt | nt |
| Cetoconazol | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | <2 | 2 |

5.4 ATIVIDADE CITOTÓXICA DE DERIVADOS TIAZÓLICOS

Os derivados tiazólicos sintetizados e testados mostraram atividade citotóxica entre moderada e boa para os quatro tipos de células utilizadas nesse estudo. De acordo com o percentual de inibição mostrado na **tabela 33**, ficou evidente que o derivado tiazólico **VIIIe** apresentou maior espectro de ação frente aos quatro tipos de células testadas, exercendo uma ação citotóxica significativa (percentual de inibição acima de 50%) para células HEp-2, HT29, MCF-7 e NCI-H-292 (**Tabela 33**), chegando a exibir um potencial de inibição das linhagens celulares testadas que variaram entre 55,4 e 100%.

O derivado **VIIIa** também apresentou ação citotóxica significativa para as células HEp-2, HT29 e NCI-H-292 com percentuais de inibição entre 82,4±0,4 e 98±0,2. O derivado **VIIIf** só apresentou boa ação inibitória frente as células NCI-H-292 com percentual de inibição de 65,7±5,1.

Os demais derivados tiazólicos testados apresentaram apenas moderada ação citotóxica evidenciando a melhor citotoxicidade dos derivados que possuem na sua

estrutura química a presença da ligação (N=CH) referentes às base de Schiff do anel tiazólico-2,4-dissubstituído.

Tabela 33 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em quatro linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.

| Amostra | HEP-2 | HT29 | MCF-7 | NCI-H-292 |
|---------|----------|----------|-----------|-----------|
| | %IC ± δ | %IC ± δ | %IC ± δ | %IC ± δ |
| VIIa | nt | 43,2±4,9 | 26,7±1,6 | 33±5,7 |
| VIIb | nt | 0±0 | 0±0 | 0±0 |
| VIIc | nt | 26,7±4,2 | 0±0 | 26,7±4,2 |
| VIIIa | 82,4±0,4 | 98±0,2 | 40,3±10,1 | 94,2±0,1 |
| VIIIb | 84,4±0,6 | 100±0,1 | 55,4±0,8 | 99,7±0,8 |
| VIIIc | nt | 46,1±2 | 0±0 | 65,7±5,1 |

IC% = Média do percentual de inibição celular em triplicata

δ = Desvio Padrão

nt = não testado

Na impossibilidade de continuidade deste estudo, os resultados preliminares sugerem a continuidade do estudo para calcular a CI_{50} (Concentração que reduz cinquenta por cento da proliferação celular). Também sugere fazer a curva em diferentes concentrações testadas e descobrir através da reta de regressão relacionando o percentual de inibição em função da concentração logarítma em todas as concentrações verificadas para os diferentes tipos de células.

6 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Diante dos resultados apresentados nos testes biológicos *in vitro*, foi sugerida a possibilidade de testar estes compostos para diferentes atividades farmacológicas como: antiinflamatória, antiglicemiante, anticonvulsivante etc. Pois a literatura já descreve alguns compostos dessa classe com comprovada atividade.

Estudos envolvendo mecanismos de ação são necessários para o completo entendimento das atividades antimicrobianas dos compostos sintetizados nesta pesquisa e estabelecer um comparativo de atividade pela substituição nas diferentes posições do anel heterocíclico para verificar a relação entre tamanho da molécula, absorção molecular e atividade biológica.

Avaliar a toxicidade aguda "*in vivo*" para os derivados 5-amilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona e da 4-fenil-substituído-2-amino-tiazol comparar esse perfil de toxicidade com antibióticos utilizados atualmente e testados "*in vivo*".

Realizar estudo de Docking para avaliar o planejamento de síntese com alvo mais específico. Modificações moleculares e avaliação da influência gerada sobre as atividades antimicrobiana e antiproliferativa.

Promover a continuação da síntese de novos derivados tiazolidínicos e tiazólicos e submeter à atividade citotóxica com outras linhagens de células.

7 CONCLUSÃO

- Neste estudo foram sintetizados 23 compostos tiazolidínicos e 11 compostos tiazólicos, por meio de reações de tionação, condensação e alquilação com rendimentos entre 30 e 85%.
- Entre as séries de compostos sintetizados, estão os derivados da tiazolidina-2,4-diona e da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona.
- A série da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona originou seis compostos substituindo o oxigênio da posição 4, por enxofre, caracterizando assim, o bioissterismo.
- Os derivados tiazólicos obtidos apresentaram rendimentos variados entre 23 e 92% e foram caracterizados por métodos espectroscópicos convencionais como RMN ^1H , RMN ^{13}C , IV, Massa e análise elementar.
- Os derivados 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona (**IIIa-f**) apresentaram relevante atividade antimicrobiana, com ação frente às bactérias Gram-positivas.
- Os derivados tiazólicos sintetizados e testados apresentaram evidente atividade antifúngica e citotóxica.
- Estes compostos revelaram promissora atividade antiproliferativa frente às células neoplásicas derivadas de carcinomas humanos como: HEP-2 (epidermóide de laringe) HT29 (de cólon), MCF-7 (de mama) e NCI H-292 (de pulmão).
- Os derivados 5-arilideno apresentaram boa atividade contra bactérias Gram-positivas.
- Os derivados 5-arilideno-4-tioxo-tiazolidina-2-ona foram responsáveis pela ação antibacteriana dessa classe de compostos.
- Os derivados da 4-tioxo-tiazolidina-2-ona apresentaram atividade antimicrobiana com largo espectro de ação para bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, álcool ácido resistente e levedura.
- Os compostos com maior espectro de ação apresentaram também baixa concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB).
- Apesar dos derivados 3-substituídos da tiazolidina-2,4-diona formarem halos de inibição contra alguns dos micro-organismos testados, não se revelaram mais potentes que a cefalexina.

8 REFERÊNCIAS

- ABDEL-WAHAB, B. F.; ABDEL-AZIZ, H. A.; AHMED, E. M. Synthesis and antimicrobial evaluation of 1-(benzofuran-2-yl)-4-nitro-3-arylbutan-1-ones and 3-(benzofuran-2-yl)-4,5-dihydro-5-aryl-1-[4-(aryl)-1,3-thiazol-2-yl]-1H-pyrazoles, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 44, p 2632–2635, 2009
- ALBRECHT, U.; GÖRDES, D.; SCHMIDT, E.; THUROW, K.; LALK, M.; LANGER, P.. Synthesis and structure–activity relationships of 2-alkylidenethiazolidine-4,5-diones as antibiotic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 13, p 4402-4407, 2005.
- ALBUQUERQUE, J. F. C. Thioxo-imidazolidinones et Thiazolidinones Substituées: Synthèse Structure et Étude Pharmacologique. [Tese de Doutorado], Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, França, 1996
- ALBUQUERQUE, J. F. C.; GALDINO, S. L.; CHANTEGREL, PITTA, I. R.; LUUDUC; GALDINO, S. L.; THOMASSON, F.; CHANTEGREL, J.; CATANHO, M. T. J.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Thio-arilideno thiazolidines substituées, synthese et etude structurale. **Annales Pharmaceutiques Françaises**. v.55, p 201-205, 1997.
- ALBUQUERQUE, J. F. C; ROCHA FILHO, J. A.; BRANDÃO, S. S. F.; LIMA M. C. A.; XIMENES, E. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; CHANTEGREL, J.; PERRISSIN, M.; LUU-DUC, C., Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones, **II Farmaco** v 54, p 77–82, 1999a.
- ALBUQUERQUE, J. F. C.; ANDRADE, A. M. C.; BARROS, NASCIMENTO, M. R.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; PERRISSIN, M. Thiazolidinediones et thioxothiazolidinones substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v 57, p 77-82, 1999b.
- AMR, A. El-Galil E.; SABRRY, N. M.; ABDALLA, M. M.; ABDEL-WAHAB, B. F. Synthesis, antiarrhythmic and anticoagulant activities of novel thiazolo derivatives from methyl 2-(thiazol-2-ylcarbamoyl)acetate, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 44, p 725-735, 2009.
- ANDRADE, A. M. C.; LIMA, W. T.; ROCHA, M. P. A.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; BARBOSA FILHO, J. M.; GÓES, A. J. S.; PITTA, I. R. Synthesis and structural study of substituted thioxothiazolidinones and thioxoimidazolidinines. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v.141, p 428-433, 2002.
- ARROIO, A.; HONORIO, K. M.; SILVA, A. B. F.. Propriedades Químico-Quânticas Empregadas em Estudos das Relações Estrutura-Atividade. **Química Nova**, v. 33, p. 694-699, 2010.
- ATAMANYUK, D.; ZIMENKOVSKY, B.; LESYK, R.. Synthesis and anticancer activity of novel thiopyrano[2,3-d]thiazole-based compounds containing norbornane moiety, **Journal of Sulfur Chemistry**, v 29, p 151-162, 2008.

BARRETEAU, H.; KOVAČ, A.; BONIFACE, A.; SOVA, M.; GOBEC, S.; BLANOT, D.. Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis, **FEMS Microbiology Reviews**. v 32, p 168-207, 2008.

BARROS, C. D.; AMATO, A. A.; OLIVEIRA, T. B.; IANNINI, K. B. R.; SILVA, A. L.; SILVA, T. G.; LEITE, E. S.; HERNANDES, M. Z.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; NEVES, F. A. R.; PITTA, I. R.. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPARc ligands **Bioorganic & Medicinal Chemistry** v 18, p 3805-3811, 2010.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHEVIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p 493-496, 1966.

BENNET, J. E.; GILMAN, **Antimicrobianos**, In: Alfred Goodman; LIMBIRD, Lee E.; Hardman, Joel Griffith and Goodman, Louis Sanford, **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10^a edição, Rio de Janeiro: McGraw-Hill - ARTMED, 2005.

BHARTI S.K.; NATH G.; TILAK R.; SINGH S.K. Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 45, p 651-660, 2010.

BILODEAU, M. T.; RODMAN, L. D.; MCGAUGHEY, G. B.; COLL, K. E.; KOESTER, T. J.; HOFFMAN, W. F.; HUNGATE, R. W.; KENDALL, R. L.; MCFALL, R. C.; RICKERT, K. W.; RUTLEDGEC, R. Z.; THOMAS, K. A. The discovery of N-(1,3-thiazol-2-yl)pyridin-2-amines as potent inhibitors of KDR kinase **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v 14, p 2941–2945, 2004.

BONASSA, E. M.. **Enfermagem em terapêutica oncológica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

BONDE, C. G.; GAIKWAD, N. J. Synthesis and preliminary evaluation of some pyrazine containing thiazolines and thiazolidinones as antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 12, p 2151-2161, 2004.

DANDIA, A.; SINGH, R.; KHATURIA, S.; MÉRIENNE, C.; MORGANTC, G.; LOUPYD, A.. Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro [indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro[3*H*-indole-3,2'-thiazolidine]-3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1*H*)-dione **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p 2409-2417, 2006.

DUNDAR, O. B.; OZGEN, O.; MENTES, A.; ALTANLAR, N.; ATLI, O.; KENDIB, E.; ERTANA, R.. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 15, p 6012-6017, 2007.

DÜNDAR, O. B.; VERSPOHL, E. J.; KAUP, R. M.; SARIKAYA, M.; EVRANOS, B.; ERTAN, R.; BAUER, K. Synthesis and biological activity of some new flavonyl-2,4-thiazolidinediones, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 16, p 6747–6751, 2008.

CARTER, P. H.; SCHERLE, P. A.; MUCKELBAUER, J. A.; VOSS, M. E.; LIU, R. Q.; THOMPSON, L. A.; TEBBEN, A. J.; SOLOMON, K. A.; LO, Y. C., LI, Z.; STRZEMIENSKI, P.; YANG, G.; FALAHATPISHEH, N.; XU, M.; WU, Z.; FARROW, N. A.; RAMNARAYAN, K.; WANG, J.; RIDEOUT, D.; YALAMOORI, V.; DOMAILLE, P.; UNDERWOOD, D. J.; TRZASKOS, J. M.; FRIEDMAN, S. M.; NEWTON, R. C.; DECICCO, C. P. Photochemically enhanced binding of small molecules to the tumor necrosis factor receptor-1 inhibits the binding of TNF- α , **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v 98, p 11879-11884, 2001.

CAVA, M. P.; LEVINSON, M. I. Thionation reactions of lawesson's reagents, **Tetrahedron**, v 41, p 5061-5087, 1985.

CHANTEGREL, J.; ALBUQUERQUE, J. F. C.; GUARDA, V. L.; PERRISSIN, M.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; BRANDÃO, S. S.; THOMASSON, F.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Travail original synthèse et étude structurale de nouvelles 4-thioxothiazolidin-2-ones substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v 60, p 403-409, 2002.

CHIMENTI, F.; BIZZARRI, B.; BOLASCO, A.; SECCI, D.; CHIMENTI, P.; GRANESE, A.; CARRADORI, S.; D'ASCENZIO, M.; LILLI, D.; RIVANERA, D. Synthesis and biological evaluation of novel 2,4-disubstituted-1,3-thiazoles as anti-Candida spp. Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 46, p 378-382, 2011.

CLAUSEN, K.; THORSEN, M.; LAWESSON, S. O. Studies on amino acids and peptides-I: Synthesis of N-benzyloxycarbonylendo-thiodipeptide esters, **Tetrahedron**, v 37, p 3635-3639, 1981.

CUTSHALL, N. S.; O'DAY, C.; PRERZHDO, M. Rhodanine derivatives as inhibitors of JSP-1, **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v 15, p 3374-3379, 2005.

DAYAM, R.; AIELLO, F.; DENG, J.; WU, Y.; GAROFALO, A.; CHEN, X.; NEAMATI, N. Discovery of Small Molecule Integrin $\alpha_v\beta_3$ Antagonists as Novel Anticancer Agents, **Journal of medicinal chemistry**, v 49, p 4526-4534, 2006.

DEGTEREV, A.; LUGOVSKOY, A.; CARDONE, M.; MULLEY, B.; WAGNER, G.; MITCHISON, T. Identification of small-molecule inhibitors of interaction between the BH3 domain and Bcl-x_L, J. Yuan, **Nature Cell Biology**, v 3, p 173-182, 2001.

DOLEZAL, M.; PALEK, L.; VINSOVA, J.; BUCHTA, V.; JAMPILEK, J.; KRALOVA, K. Substituted Pyrazinecarboxamides: Synthesis and Biological Evaluation, **Molecules**, v 11, p 242-256, 2006.

DWIVEDI, C.; GUPTA T. K.; PARMAR, Surendra S., Substituted Thiazolidones as Anticonvulsants, **Journal of Medicinal Chemistry**, v 15, p 553-554, 1972.

ERGENC, N.; CAPAN, G.; GUNAY N. S.; OZKIRIMLI, S.; GUNGOR, M.; OZBEY, S.; KENDI, E. Synthesis and Hypnotic Activity of New 4-Thiazolidinone and 2-Thioxo-4,5-Imidazolidinedione Derivatives. **Archiv der Pharmazie**, v 332, p 343-347, 1999.

FARIAS, W. V. L.; SADER, H. S.; LEME, I. L.; PIGNATARI, A. C. Sensitivity pattern of 117 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from 12 hospitals. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v 43, p 199-204, 1997.

FRANKLIN, P. X.; PILLAI, A. D.; RATHOD, P. D.; YERANDE, S.; NIVSARKAR, M.; PADH, H.; VASU, K. K.; SUDARSANAM, V.. 2-Amino-5-thiazolyl motif: A novel scaffold for designing anti-inflammatory agents of diverse structures, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 43, p 129 -134, 2008.

GORCZYNSKI, M. J.; LEAL, R. M.; MOOBERRY, S. L.; BUSHWELLERA, J. H.; BROWNA, M. L.. Synthesis and evaluation of substituted 4-aryloxy- and 4-arylsulfanyl-phenyl-2-aminothiazoles as inhibitors of human breast cancer cell proliferation, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 12, p 1029-1036, 2004.

GOUVEIA, F. L.; OLIVEIRA, R. M. B.; OLIVEIRA, T. B.; SILVA, I. M.; NASCIMENTO, S. C.; SENA, K. X. F. R.; ALBUQUERQUE, J. F. C.. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 44, p 2038-2043, 2009.

GRISHCHUK, A. P.; BARANOV, S. N.; GORIZDRA, T. E.; KOMARITSA, I. D. Conversion of some heterocyclic oxo compounds to their thio analogs. **Zhurnal Prikladnoi Khimii**, v.40, p.1389-1392, 1967.

GUDUDURU, V.; HURH, E.; SULLIVAN, J.; DALTONB, J. T.; MILLERA D. D. SAR studies of 2-arylthiazolidine-4-carboxylic acid amides: A novel class of cytotoxic agents for prostate cancer, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v 15, p 4010-4013, 2005.

GÜZELDEMIRCI, N. U.; ILHAN, E.; KÜÇÜKBASMACI, Ö.; SATANA, D.. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of New 3-Alkyl/aryl-2-[(α,α -diphenyl- α -hydroxy)acetyl]hydrazono]-5-methyl-4-thiazolidinones, **Archives of Pharmacal Research**, v 33, p 17-24, 2010.

GUPTA, D.; GHOSH, N. N.; CHANDRA, R.. Synthesis and pharmacological evaluation of substituted 5-[4-[2-(6,7-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-2-oxo-4-quinoxalinyloxy)ethoxy]phenyl]methylene]thiazolidine-2,4-dione derivatives as potent euglycemic and hypolipidemic agents, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v 15, p 1019-1022, 2005.

GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiologia Medica**. 10^a Edição, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro: 2001.

HOLLA, B. S.; MALINI, K. V.; RAO, B. S.; SAROJINI, B. K.; KUMARI, N. S. Synthesis of some new 2,4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 38, p 313-318, 2003.

HAVRYLYUK, D.; ZIMENKOVSKY, B.; VASYLENKO, O.; ZAPRUTKO, L.; LESYK, R.. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety

and evaluation of their anticancer activity, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 44, p 1396–1404, 2009.

HAVRYLYUK, D.; MOSULA, L.; ZIMENKOVSKY, B.; VASYLENKO, O.; GZELLA, A.; LESYK, R.; Synthesis and anticancer activity evaluation of 4-thiazolidinones containing benzothiazole moiety, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 45, p 5012-5021, 2010.

HOLMES, C. P.; CHINN, J. P.; LOOK, G. C.; GORDON, E. M.; GALLOP, M. A.; Strategies for Combinatorial Organic Synthesis: Solution and Polymer-Supported Synthesis of 4-Thiazolidinones and 4-Metathiazanones Derived from Amino Acids, **Journal of Organic Chemistry**, 1995, v 60, p 7328-7333, 1995.

HU, D. J.; LIU, S. F.; HUANG, T. H.; TU, H. Y.; ZHANG, A. D.. Synthesis and Herbicidal Activities of Novel 4-(4-(5-methyl-3-arylisoaxazol-4-yl)thiazol-2-yl)piperidyl Carboxamides and Thiocarboxamides **Molecules**, v 14, p 1288-1303, 2009.

IP M. M.; SYLVESTER, P. W.; SCHENKEL, L.. Antitumor Efficacy in Rats of CGP 19984, a Thiazolidinedione Derivative That Inhibits Luteinizing Hormone Secretion, **Cancer Research**, v 46, p 1735-1740, 1986.

JUNG, K. Y., KIM, S. K., GAO, Z. G., GROSS, A. S., MELMAN, N., JACOBSON, K. A., KIM, Y.C.. Structure–activity relationships of thiazole and thiadiazole derivatives as potent and selective human adenosine A₃ receptor antagonists, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 12, p 613-623, 2004.

KAVITHA, C. V. et al. Synthesis of new bioactive venlafaxine analogs: Novel thiazolidin-4-ones as antimicrobials. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p 2290-2299, 2006.

KOYAMA, H.; BOUERES, J. K.; HAN, W.; METZGER, E. J.; BERGMAN, J. P.; GRATALE, D. F.; MILLER, D. J.; TOLMAN, R. L.; MACNAUL, K. L.; BERGER, J. P.; DOEBBER, T. W.; LEUNG, K.; MOLLER, D. E.; HECK, J. V.; SAHOO, S. P. 5- Aryl Thiazolidine-2,4-diones as Seletive PPAR γ Agonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.13, p 1801-1804, 2003.

KUMAR, A. C. S; KAVITHA, C. V.; VINAYA, K.; PRASAD, S. B.; THIMMEGOWDA, N. R.; CHANDRAPPA, S.; RAGHAVAN, S. C.; RANGAPPA, K. S. Synthesis and in vitro cytotoxic evaluation of novel diazaspino bicyclo hydantoin derivatives in human leukemia cells: A SAR study. **Invest New Drugs**, v 27, p 327-337, 2008.

KUMAR, A.; RAJPUT, C. S.; BHATI, S. K..Synthesis of 3-[4'-(p-chlorophenyl)-thiazol-2'-yl]-2-[(substituted azetidinone/thiazolidinone)-aminomethyl]-6-bromoquinazolin-4-ones as anti-inflammatory agent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 15, p 3089-96, 2007.

KUMAR, B. R. P.; PRAVEEN, T. K.; NAJAN, M. J.; KARVEKAR, M. D.; SURESH, B.. Serum glucose and triglyceride lowering activity of some novel glitazones against dexamethazone-induced hiperlipidemia and insulin resistance. **Indian Journal of pharmacology**, v 39, p 299-302, 2007.

KUMAR, B. R. P.; KARVEKAR, M. D.; ADHIKARY, L.; NANJAN, M. J.; SURESH, B. Microwave Induced Synthesis of the Thiazolidine-2,4-dione Motif and the Efficient Solvent Free-Solid Phase Parallel Syntheses of 5-Benzylidene-thiazolidine-2,4-dione and 5-Benzylidene-2-thioxo-thiazolidine-4-one Compounds, **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v 43, p 897-903, 2006.

KUMAR, R.; GUPTA, T. K.; PARMAR, S. S.. Synthesis and Anticonvulsant Properties of some 4-Thiazolidones. **Journal für Praktische Chemie**, v. 312, p 201-204, 1970.

LABOUTA, I. M.; SALAMA, H. M.; ESHBA, N. H.; KADER, O; CHRIBINI, E. E.. Potential anti-microbial - Syntheses and in vitro anti-microbial evaluation of some 5-arylaazo-thiazolidones and related-compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 22, p 485-489, 1987.

LESYK, R. B.; ZIMENKOVSKY, B. S. 4-thiazolidones: Centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. **Current Organic Chemistry**, v 8, p 1547-1577, 2004.

LESYK, R.; ZIMENKOVSKY, B.; ATAMANYUK, D.; JENSEN, F.; KONONOWICZ, K. K.; GZELLAD, A.. Anticancer thiopyrano[2,3-d][1,3]thiazol-2-ones with norbornane moiety. Synthesis, cytotoxicity, physico-chemical properties, and computational studies **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p 5230-5240, 2006.

LESYK, R.; VLADZIMIRSKA, O.; HOLOTA, S.; ZAPRUTKO, L.; GZELLA, A. New 5-substituted thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-6-ones: Synthesis and anticancer evaluation, **European Journal of Medicinal Chemistry**. v 42, p 641-648, 2007.

LI, J.; XUB, Z.; TANA, M.; SUB, W.; GONGA, X. G.. 3-(4-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-1-phenyl-1H-pyrazol-3-yl) phenyl acetate induced Hep G2 cell apoptosis through a ROS-mediated pathway, **Chemico-Biological Interactions**, v 183, p 341-348, 2010.

LIESEN, A. P.; AQUINO, T. M.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; GÓES, A. J. S.. Métodos de Obtenção, Reatividade e Importância Biológica de 4-Tiazolidinonas, **Quimica Nova**, v 31, p 369-376, 2008.

LIMA, M. C. A.; COSTA, D. L. B.; GOÉS, A. J. S.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antimicrobienne de dérivés chlorobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées = Synthesis and antimicrobial activity of chlorobenzyl benzylidene imidazolidine diones and substituted thiazolidinediones, **Pharmazie**, v 47, p 182, 1992.

LIU, Z. Y.; WANG, Y. M.; LI, Z. R.; JIANG, J. D.; BOYKIN, D. W.. Synthesis and anticancer activity of novel 3,4-diarylthiazol-2(3H)-ones (imines). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v 19, p 5661-5664, 2009.

LOGU, A. D.; SADDI, M.; CARDIA, M. C.; BORGNA, R.; SANNA, C.; SADDI, B.; MACCIONI, E.. *In vitro* activity of 2-cyclohexylidenehydrazo-4-phenyl-thiazole compared with those of amphotericin B and fluconazole against clinical isolates of

Candida spp. and fluconazole-resistant *Candida albicans* **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v 55, p 692-698, 2005.

LU, M.; GONG, X.; LU, Y.; GUO, J.; WANG, C.; PAN, Y. Molecular cloning and functional characterization of a cell-permeable superoxide dismutase targeted to lung adenocarcinoma cells. Inhibition cell proliferation through the Akt/p27kip1 pathway, **Journal Biological Chemistry**, v 281, p 13620-13627, 2006.

LUO, Y.; XIAO, F.; QIAN, S.; LU, W.; YANG, B.. Synthesis and in vitro cytotoxic evaluation of some thiazolylbenzimidazole Derivatives, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 46, p 417-422, 2011.

MADHAVAN, G. R.; CHAKRABARTI, R.; REDDY, K. A.; RAJESH, B. M.; BALRAJU, V.; RAO, P. B.; RAJAGOPALAN, R.; IQBALA, J.. Dual PPAR-a and -c activators derived from novel benzoxazinone containing thiazolidinediones having antidiabetic and hypolipidemic potential, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p 584–591, 2006.

MADHAVAN, G. R.; CHAKRABARTI, R.; VIKRAMADITHYAN, R. K.; MAMIDI, R. N. V. S.; BALRAJU, V.; RAJESH, B.M.; MISRA, P.; KUMAR, S. K. B.; LOHRAY, B. B.; LOHRAY, V. B.; RAJAGOPALAN, R.. Synthesis and biological activity of novel pyrimidinone containing thiazolidinedione derivatives **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 10, p 2671-2680, 2002.

MAHRAN, M. A.; EL-NASSY, S. M. F.; ALLAM, S. R.; EL-ZAWAWY, L. A.. Synthesis of some new benzothiazole derivatives as potential antimicrobial and antiparasitic agents, **Pharmazie**, 58, 527-530, 2003.

MAMOLO, M. G.; FALAGIANI, V.; ZAMPIERI, D.; VIO, L.; BANFI, E.; SCIALINO, G.. Synthesis and antimycobacterial activity of (3,4-diaryl-3H-thiazol-2-ylidene)-hydrazide derivatives, **Il Farmaco**, v 58, p 631-637, 2003.

MARUYAMA, T.; KANO, Y.; YAMAMOTO, Y.; KURAZONO, M.; IWAMATSU, K.; ATSUMI, K.; SHITARA, E.. Synthesis and SAR study of novel 7-(pyridinium-3-yl)-carbonyl imidazo[5,1-b]thiazol-2-yl carbapenems, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 15, p 392-402, 2007.

MALIK, S.; UPADHYAYA, P. K.; MIGLANI, S.. Thiazolidinediones: A Plethro of Biological Load. **International Journal of PharmTech Research**, v 3, p 62-75, 2011.

MOKALE, S. N.; SANAP, P. T.; SHINDE, D. B.. Synthesis and hypolipidemic activity of novel 2-(4-(2-substituted aminothiazole-4-yl) phenoxy) acetic acid derivatives, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 45, p 3096-3100, 2010.

MOURÃO, R. H. V.; SILVA, T. G.; SOARES, A. L. M.; VIEIRA, E. S.; SANTOS, J. N.; LIMA, M. C. A.; LIMA, V. L. M.; GALDINO, S. L.; BARBE, J.; PITTA, I. R.. Synthesis and biological activity of novel acridinylidene and benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 40, p 1129-1133, 2005.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes Antineoplásicos Biorredutíveis: Uma Nova Alternativa Para o Tratamento de Tumores Sólidos. **Química Nova**, v.25, p.976-984, 2002.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M. L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; Di PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREA, S.; VIGORITA, M. G., 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.13, p.4243-4252, 2005.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; CIURLEO, R.; PAOLI, P.; JACOMELLI, M.; MANAO, G.; CAMICI, G.; LAGGNER, C.; LANGER, T.. 5-Arylidene-2-phenylimino-4-thiazolidinones as PTP1Band LMW-PTP inhibitors, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 17, p 1928–1937, 2009.

PANDEYA, S. N.; SRIRAMA, D.; NATHB, G.; DECLERCQC, E. Synthesis, antibacterial, antifungal and anti-HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and *N*-[4-(49-chlorophenyl)thiazol-2-yl] thiosemicarbazide, **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v 9, p 25–31, 1999.

PATT, W. C.; HAMILTON, H. W.; TAYLOR, M.D.; RYAN, M. J.; TAYLOR, Jr. D. G.; CONNOLLY, C. J. C.; DOHERTY, A. M.; KLUTCHKO, S. R.; SIRCAR, I.; STEINBAUGH, B. A.; BATLEY, B. L.; PAINCHAUD, C. A.; RAPUNDALO, S. T.; MICHNIEWICZ, B. M.; OLSON, S. C. J. Structure-activity relationships of a Series of 2-Amino-4-thiazole Containing Renin Inhibitors, **Journal of Medicinal Chemistry**, v 35, p 2562-2572, 1992.

PAVIA, D L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução a espectroscopia**: tradução da 4ª Ed. norte-americana. São Paulo: Cengage Learning. 2010.

RAJ, V. K. K.; NARAYANA, B.; ASHALATHA, B. V.; KUMARI, N. S.; SAROJINI, B. K. Synthesis of some bioactive 2-bromo-5-methoxy-*N'*-[4-(aryl)-1,3-thiazol-2-yl]benzohydrazide derivatives, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 42, 425–429, 2007.

RAO, A.; BALZARINI, J.; CARBONE, A.; CHIMIRRI, A.; CLERCQ, E.; MONFORTE, A. M.; MONFORTE, P.; PANNECOUQUE, C.; ZAPPALÀ, M.. 2-(2,6-Dihalophenyl)-3-(pyrimidin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones as non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, **Antiviral Research**, v 63, p 79–84, 2004.

ROHAYEM, J.; DIESTELKOETTER, P.; WEIGLE, B.; OEHMICHEN, A.; SCHMITZ, M., MEHLHORN, J.; CONRAD, K.; RIEBER, E.P. Antibody response to the tumor-associated inhibitor of apoptosis protein survivin in cancer patients, **Cancer Res**, v 60, p 1815-1817, 2000.

ROSTOM, S. A. F. Synthesis and in vitro antitumor evaluation of some indeno[1,2-c]pyrazol(in)es substituted with sulfonamide, sulfonylurea(-thiourea) pharmacophores, and some derived thiazole ring systems. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 6475-6485, 2006.

SADIGOVA, S. E.; MAGERRAMOV, A. M.; ALLAKHVERDIEV, M. A.; ALIEVA R. A., CHYRAGOV, F. M.; VEKILOVA, T. M.. Synthesis and Complexing Properties of 4-Arylthiazolyl-substituted Schiff Bases. **Russian journal of general chemistry**, v 73, p 1932-1935, 2003.

SHIAU, C. W.; YANG, C. C.; KULP, S. K.; CHEN, K. F.; CHEN, C. S.; HUANG, J. W.; CHEN, C. S.. Thiazolidenediones Mediate Apoptosis in Prostate Cancer Cells in Part through Inhibition of Bcl-xL/Bcl-2 Functions Independently of PPAR, **Cancer Res**, v 65, 2005.

SHIRADKAR, M. R.; MURAHARI, K. K.; GANGADASU, H. R.; SURESH, T.; KALYAN, C. A.; PANCHAL, D.; KAUR, R.; BURANGE, P.; GHOGARE, J.; MOKALEC, V.; RAUT, M.. Synthesis of new S-derivatives of clubbed triazolyl thiazole as anti-Mycobacterium tuberculosis agents, **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v 15, p 3997-4008, 2007.

SHUKLA, U. K.; SINGH, R.; KHANNA, J. M.; SAXENA, A. K.; SINGH, H. K.; SUR, R. N.; DHAWAN, B. N.; ANAND, N.. Synthesis of trans-2-[N-(2-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-1-yl)]imino-thiazolidine and Related Compounds - A New Class of Antidepressants Creators. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, v 57, p. 415-424, 2004.

SIDDIQUI, N.; ARSHAD, M. F.; AHSAN, W.; ALAM, M. S.. Thiazoles: A Valuable Insight into the Recent Advances and Biological Activities, **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v 1, p 136-143, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 6ª edição, Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2000.

SINGH, C. B.; MURRU, S.; KAVALA, V.; PATE, B. K.. It is "Thiazolidene-2-imine" and Not Imidazole-2-thione as the Reaction Product of 1-Benzoyl-3-phenylthiourea with Br₂/Enolizable Ketone, **Organic Letters**, v. 8, p 5397-5399, 2006.

SINGH, W. M.; BARUAH, J. B. N.. copper and zinc complexes of (2-methoxycarbonylmethylimino-5-methyl-thiazol-3-yl)-acetic acid, **Polyhedron**, v 27, p 2968–2972, 2008.

SRIVASTAVA, T.; HAQ, W. and KATTI, S. B.. Carbodiimide mediated synthesis of 4-thiazolidinones by one-pot three-component condensation, **Tetrahedron**, v 58, p 7619–7624, 2002.

SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, v 82, p 1107-1112, 1990.

SOUZA, M. V. N.; FERREIRA, S. B.; MENDONÇA, J. S.; COSTA, M.; REBELLO, F. R.. Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química. Nova**, v 28, 2005.

STEFANI, H. A. **Introdução a química de compostos heterocíclicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

SUP, R. C.; SUP, R. Y.; BANG, C. W. KOREAN. Synthesis and fungicidal activity of novel 2-amino thiazol carboxamide derivatives. Korean, **J. Med. Chem.**, v 5, p 72-??, 1995.

SURENDIRAN, T.; BALASUBRAMANIAN, S.; SIVARAJ. D.. Microwave Assisted Synthesis of Novel 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazolyl thiazolidin-4-ones and Azetidin-2-ones and its Biological Behavior, **E-Journal of Chemistry**, v 6, p 374-380, 2009.

TENÓRIO, R. P. et al. Synthesis of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone derivatives and their in vitro anti-Toxoplasma gondii activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 2575-2578, 2005.

THOMAS, G. **Química Medicinal: Uma Introdução**. ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro: 2003, p.36-37.

TOMASIC, T.; ZIDAR, N.; MUELLER, P. M.; KIKELJ, D.; MASIC, L. P.. Synthesis and antibacterial activity of 5-ylidenethiazolidin-4-ones and 5-benzylidene-4,6-pyrimidinediones, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 45, p 1667–1672, 2010.

TUNÇBILEK, M.; DÜNDAR, O.B., KILCIGIL, G. A.; CEYLAN, M.; WAHEED, A.; VERSPOHL, E. J. ERTAN, R.. Synthesis and hypoglycemic activity of some substituted flavonyl thiazolidinedione derivatives - fifth communication: flavonyl benzyl substituted 2,4-thiazolidinediones, **IL Farmaco**, v 58, p 79-83, 2003.

TUNNÇBILEK, M.; ALTANLAR, N. Synthesis and antimicrobial evolution of some 3-(substituted-phenacyl)-5-[4`-(4H-oxo-1-benzopyran-2yl)-benzylidene}-2-4-thiazolidine-diones. **IL Farmaco**, v.54, p.475-478, 1999.

TURAN Z., G.; OZDEMIR, A.; KAPLANCIKLI, Z. A.; BENKLI, K.; CHEVALLET, P.; AKALIN, G.. Synthesis and antituberculosis activity of new thiazolylylhydrazone Derivatives, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 43, p 981-985, 2008.

VERMA, A.; SARAF, S. K., 4-Thiazolidinone e A biologically active scaffold, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 43, p 897-905, 2008.

VICINI P, GERONIKAKI A, ANASTASIA K, INCERTI M, ZANI F. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p 3859-3864, 2006.

VICINI, P.; ZANI, F., COZZINI, P.; DOYTCHINOVA, I.. Hydrazones of 1,2-benzisothiazole hydrazides: synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 553-564, 2003.

VIGORITA, M. G.; OTTANA, R.; MONFORTE, F.; MACCARI, R.; MONFORTE, M. T.; TROVATO, A.; TAVIANO, M. F.; MICELI, N.; DE LUCA, G.; ALCAROD, S.;

ORTUSOD, F. Chiral 3,30-(1,2-Ethanediy)l-bis[2-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-thiazolidin-ones] with Anti-Inflammatory Activity. Part 11: Evaluation of COX-2 Selectivity and Modellingy, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 11, p 999–1006, 2003.

VISAGAPERUMAL, D.; KUMAR, R. J.; VIJAYARAJ, R.; ANBALAGAN, N.. Microwave induced synthesis of some new 3-substituted-1, 3-thiazolidin-4-ones for their potent anti microbial and antitubercular activities, **International Journal of ChemTech Research**, v 1, p 1048-1051, 2009.

VULPETTI, A.; CASALE, E.; ROLETTO, F.; AMICI, R.; VILLA, M.; PEVARELLO, P.. Structure-based drug design to the discovery of new 2-aminothiazole CDK2 inhibitors, **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v 24, p 341–348, 2006

WANG, X. C.; WANG, F.; QUAN, Z. J.; WANG, M. G.; LI, Z. An efficient and clean synthesis of 1-aryyl-3-aryl-4-substituted imidazole-2-thiones in water, **J. Chem. Res.**, v 2, p 689–690, 2005.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION (2002), Antimicrobial resistance. Fact sheet 194. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/. acessado em 06 de Janeiro de 2008.

WROBEL, J.; JETTER, J.; KAO, W.; ROGERS, J.; DI, L.; CHI, J.; M. PERE'Z, C.; CHENB, G. C.; SHEN, E. S.. 5-Alkylated thiazolidinones as follicle-stimulating hormone (FSH) receptor agonists, **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v 14, p 5729-5741, 2006.

YAMAMOTO, Y.; NAKAJIMA, M.; YAMAZAKI, H.; YOKOI, T. Cytotoxicity and apoptosis produced by troglitazone in human hepatoma cells. **Life Sciences**, v 70, p 471-482, 2001.

YOGEE SWARI, P.; SRIRAM, D.; MEHTA, S.; NIGAM, D.; KUMAR, M. M.; MURUGESAN, S.; STABLES, J. P. Anticonvulsant and neurotoxicity evaluation of some 6-substituted benzothiazolyl-2-thiosemicarbazones, **Il Farmaco**, v 60, p 1-5, 2005.

ZENG, R. S.; ZOU, J. P.; ZHI, S. J.; CHEN, J.; SHEN, Q.. Novel Synthesis of 1-Aroyl-3-aryl-4-substituted Imidazole-2-thiones, **Organic Letters**, v 5, p 1657-1659, 2003.

ZHAO, M.; YIN, J.; MARK, A. H.; McNAMARA, J. M.. A very concise synthesis of a potent N-(1,3-thiazol-2-yl)pyridin-2-amine KDR kinase inhibitor. **Tetrahedron**, v 62, 1110–1115, 2006.

ZHAO, Q.; SHEN, C.; ZHENG, H.; ZHANG, J.; ZHANG, P.. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of some novel glycosyl thiazol-2-imines as antitumoral agents **Carbohydrate Research**, v 345, p 437–441, 2010.

ZHOU, G. B.; GUAN, Y. Q.; SHEN, C.; WANG, Q.; Liu, X. M.; ZHANG, P. F.; LI, L. L. A Novel and Convenient Synthesis of Thiazol-2(3H)-imine-Linked Glycoconjugates. **Synthesis**, v 13, p 1994–1996, 2008.

ZHOU, H.; WU, S.; ZHAI, S.; LIU, A.; SUN, Y.; LI, R.; ZHANG, Y.; EKINS, S.; SWAAN, P.W.; FANG, B.; ZHANG, B.; YAN, B.. Design, synthesis, cytoselective toxicity, structure-activity relationships, and pharmacophore of thiazolidinone derivatives targeting drug-resistant lung cancer cells, **Journal of Medicinal Chemistry**, v 51, p 1242–1251, 2008.

ZHOU, X.; SHAO, L.; ZHONG, J.; LIU, J.B.; DAI, H.; FANG, J.X.. Synthesis and Antitumor Activity Evaluation of Some Schiff Bases Derived from 2-Aminothiazole Derivatives, **Heteroatom. Chemistry**, v 18, p 55-59, 2007.

9. APÊNDICES

9.1 Artigo 1

Synthesis and antimicrobial activity of thiazolidinedione and 4-thioxo-thiazolidinone derivatives

Ivanildo Manguiera da Silva^a, Carlos André de Souza^b; Frederico Leite Gouveia^a; Alda de Andrade Chiappeta^b, Kêsia Xisto da Fonseca Ribeiro de Sena^b, Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque^{a,b*}

^a Departamento de Farmácia; Universidade Federal de Pernambuco; Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária; 50670-901; Recife – Pe – Brazil.

^b Departamento de Antibióticos; Universidade Federal de Pernambuco; Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária; 50670-901; Recife – Pe – Brazil.

Abstract With the intention of extending the spectrum of antimicrobial activity, thiazolidine derivatives were synthesized using alkylation, thionation, and condensation reactions to promote substitution at positions 3, 4, and 5 on the heterocyclic ring respectively. The compounds were synthesized from thiazolidine-2,4-dione in 2 series: thiazolidine-2,4-dione (1) and its derivatives and 4-thioxo- thiazolidine-2-one (2) and its derivatives. All the synthesized compounds only exhibited the configuration Z. Using a disc diffusion method, antagonistic activity was verified against gram-positive and gram-negative bacteria, acid-alcohol resistant bacteria, yeast, and filamentous fungi. The minimum inhibition concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) were determined. All compounds containing the 4-thioxo group demonstrated antimicrobial activity, especially compounds 3b-c, which had the widest spectrum of antimicrobial action inhibiting 100% of the microorganisms tested. The compound 3c was more effective than the standard drug cefalexin. The MBCs of compounds 3d and 3f were similar to those of the standard drug ketoconazole used to treat *Candida albicans*, demonstrating the excellent antifungal activity of these compounds.

*Corresponding author: Dra. Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque.

Phone/Fax: (+55) 81 2126 8347

e-mail address: julianna@ufpe.br

Postal address: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária CEP 50670-901, Recife-Pernambuco, Brazil

1 Introduction

The emergence of a variety of new bacterial strains that are capable of causing infection and death has challenged specialists researching bioactive compounds. This has led to the production of new, broad-spectrum antibiotics.

Bacterial infections have been responsible for some of the most deadly diseases and epidemics in human history. The recent increase in bacterial resistance to antibiotics, has created a need for more effective and less aggressive antimicrobial therapies.^[1] A molecular modification method using a pharmacophore group called prototype, which has known biological activity, is used to research new drugs. New compounds based on this prototype can be synthesized.^[2]

Structural changes to a molecule can alter its physical properties and reactivity affecting its access to enzyme active centres and receptors.^[3] The synthesis of new compounds based on a prototype can result in new drugs that are more efficient at combating antimicrobial resistance.

These antimicrobial drugs have saved lives and reduced the suffering of millions of people. 'By helping to bring many serious infectious diseases under control, these drugs have also contributed to the major gains in life expectancy experienced during the latter part of the last century'.^[4]

Several literary works have addressed the synthesis of compounds with biological activity, including antimicrobial compounds.^[5-8]

Thiazolidine derivatives and their analogous structures, synthesized by substituting various positions on the heterocyclic ring, are powerful and active molecules.

Owing to their pharmacological and antimicrobial properties, thiazolidine derivatives have been synthesized and evaluated in a number of studies over the last decades.^[9-12] Many researchers have examined the biological properties of thiazolidinone derivatives synthesized by substituting different positions on the heterocyclic ring, and have found cardiogenic,¹³ anticancer,^[14] anticonvulsant,^[15] and antimicrobial actions.^[5-8,16] Many of these synthesized derivatives have been tested against gram-positive and gram-negative bacteria, including *Mycobacterium tuberculosis*, with satisfactory results.^[17] Some derivatives of thiazolidine-2,4-dione have been synthesized to determine their antimicrobial activities *in vitro* against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. The tested compounds demonstrated moderate activity against *S. aureus*. None of the compounds were active against *E. coli*, and only 2 compounds show antifungal activity against *C. albicans* comparable to that

of fluconazole.^[18] Thiazolidinone was also tested against other microorganisms, such as *Aspergillus ochraceus* Wilhelm (AUCC-230) and *Penicillium chrysogenum* Thom (AUCC-530), and was shown to be active against all these microorganisms. These results were comparable to the antimicrobial drug mycostatine.^[19] 4-Thiazolidinones have been shown to be new inhibitors of the bacterial enzyme Mur B, which acts as a precursor during the biosynthesis of peptidoglycan. Mur B is an enzyme unique to prokaryotic cells. Peptidoglycan is an essential component of the cell wall of both gram-positive and gram-negative bacteria [20, 21]

In an attempt to develop substances with more effective biological activity, new derivations of thiazolidine were designed and synthesized using alkylation, thionation, and condensation reactions to promote substitution at positions 3, 4, and 5 respectively on the heterocyclic pentagonal ring. The antimicrobial activities of these compounds were tested.

2 Results and discussion

2.1 Chemistry

The thiazolidinone derivatives tested were synthesized from thiazolidine-2,4-dione in 2 series: thiazolidine-2,4-dione (**1**) and its derivatives and 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**) and its derivatives.^[22-24] In the first series, the carbonyl group 4 of thiazolidine-2,4-dione was substituted with sulphur to compose 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**). For this study, thiazolidine-2,4-dione (**1**) was prepared by a reaction of monochloroacetic acid and thiourea refluxed in water.^[22]

The 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**) was prepared by reacting compound **1** with Lawesson's reagent in dry dioxane.^[14,25-26] The 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones **3a-f** were prepared using sodium acetate as a basic catalyst for the substitution of aromatic aldehydes to equimolecular amounts of **2** in glacial acetic acid.^[22,26] The 3-(benzyl)-thiazolidine-2,4-diones **4a-b** were synthesized by reacting compound **1** with 3-chlorobenzyl chloride or 4-nitrobenzyl bromide and KOH dissolved in ethanol under reflux. The 5-arylidene-3-benzyl-thiazolidine-2,4-diones **5a-g** were prepared by condensing **4a-b**, aromatic aldehydes, glacial acetic acid, and sodium acetate reagents.^[22,27] The synthetic route of compounds is outlined in **Scheme 1**.

Insert **Scheme 1** here

Insert **Table 1** here

The chemical structures of the synthesized compounds were determined using spectroscopic methods such as: infrared, nuclear magnetic resonance (NMR) spectra, mass spectrometry and elemental analysis. Complete data concerning the physicochemical properties of all the synthesized compounds, **1, 2, 3a-f, 4a-b and 5a-g**, are summarized in the experimental section of this paper. The method described works well with a variety of aromatic aldehydes including those with mono and disubstitutions. The electron donating and electron withdrawing groups present in aryl aldehydes did not appear to alter the method in terms of yield and reaction times.

The condensation of benzaldehyde in position 5 of the 4-thiazolidinone ring should theoretically produce both geometric isomers Z and E.^[28] All of the synthesized compounds, however, only exhibited the configuration Z, as verified by the ¹H NMR spectra. Past literature has described similar results. After reacting isostere imidazolidines and benzaldehydes in medium acid, the major product obtained was also isomer Z.^[29]

In addition, the study of the ¹³C NMR coupling constants for the ethylene vicinal proton and adjacent carbonyl group in arylidene thiazolidine and imidazolidine, demonstrated that these compounds also exhibited the configuration Z.^[11,29] In the 5-substituted thiazolidinone derivatives, the most commonly observed configuration was Z because the methine proton was deshielded by the adjacent C=O, and was detected at 7.76-8.30 ppm.^[30] These conclusions are strengthened by the fact that the isomer Z is the more thermodynamically stable isomer.^[28,30]

The Z configuration of the arylidene-5-thiazolidine-2,4-dione derivatives was determined using crystallization and X-ray guided ¹H NMR analysis under a variety of experimental conditions.^[31-32]

2.2 Microbiological activity

Gram-positive and gram-negative bacteria, acid-alcohol resistant bacteria, filamentous fungi, and yeast were selected for the examination of antimicrobial activity in vitro, via the disk diffusion method, and determination of the minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC).

2.2.1 Disk diffusion method

This method tests antimicrobial activity by examining diffusion in paper disks^[34] against gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* - DAUFPE 1, *Micrococcus luteus* - DAUFPE 6, *Bacillus subtilis* - DAUFPE 16, *Enterococcus faecalis* - DAUFPE 138), gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* - DAUFPE 39, *Escherichia coli* - DAUFPE 224, *Serratia marcescens* - DAUFPE 398), acid-alcohol-resistant bacteria (*Mycobacterium smegmatis* - DAUFPE 71), yeast (*Candida albicans* - DAUFPE 1007), and filamentous fungi (*Monilia sitophila* - DAUFPE 2083) obtained from the cultures collection of the Antibiotics Department at the Federal University of Pernambuco (UFPE) Brazil.

Paper disks (Whatman n° 2) with 6 mm diameters were impregnated with 20 µL of a 15.000 µg/mL solution of the synthesized compounds, dissolved in dimethylsulphoxide (DMSO). The disks were then placed in medium sown with one of the various test microorganisms. Ketoconazole® (Neoquímica), for fungi and yeast, and Cefalexin® (Eurofarma) and Kanamicin (CECON- Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos Ltda.), for gram-positive and gram-negative bacteria, were used as standards against which the antimicrobial activity of the synthesized compounds was compared. The tests were carried out 3 times, with the results expressed as arithmetic averages (in millimeters) of the diameters of the inhibition halos that formed around the disks in each of the three trials. The control test was carried out with DMSO soaked disks. Compound **1** did not demonstrate antimicrobial activity, but when the carbonyl oxygen 4 was exchanged with sulphur to form the compound **2**, three classes of microorganisms were inhibited: Gram-positive bacteria, acid-alcohol-resistant bacteria, and yeast. This demonstrates that the substituting sulphur in the place of oxygen at position 4 of the thiazolidinic ring can enhance the antimicrobial activity of the pharmacophore group in these compounds. The condensation of benzaldehyde at position 5 of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**), forming the products **3a-f**, increased the action of compound **3a** against gram-negative bacteria.

On the other hand, when aryl chlorides and bromides, was substituted at **position 3** of thiazolidine-2,4-dione (**1**) yielding **4a-b**, the products showed decreased antimicrobial activity. When compounds **4a-b** was condensed by benzaldehyde at position 5, the derivatives (**5a-g**) almost completely lost their ability to act against the tested microorganisms (**Table 2**).

The results of this study demonstrate significant antimicrobial activity for compounds **3a-f**, with emphasis on **3c** demonstrating the largest spectrum of inhibition halos. The antimicrobial

activity of **3c** was comparable to the standard compounds tested, confirming the antimicrobial activity of thiazolidinic compounds described in the literature.^[5-8]

The compounds with the greatest antimicrobial activity were those with the sulphur atom at position 4, indicating that this atom may have an important role in this position. This result corresponds with the findings mentioned in past literature.^[26]

All compounds containing the 4-thioxo group showed positive results, especially **3b-c**, which demonstrated the widest spectrum of antimicrobial action. These compounds inhibited 100% of the microorganisms tested, including *Serratia marcescens*. The compound **3c** was more effective than the standard drug cephalexin with respect to *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterim smegmatis*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacillus subtilis*. It was also more effective than kanamycin against *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis* (Table 2). While kanamycin was inactive against *Enterococcus faecalis*, all the compounds of the 4-thioxo group were active against this microbe.

The compounds revealing the greatest and most significant halos in the disk tests were chosen for the determination of MIC and MBC.

2.2.2 Minimal Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC)

Minimal inhibition concentration (MIC) values, expressed in $\mu\text{g/mL}$, are shown in Table 3. MIC is considered to be the smallest concentration of an inhibitor drug that is active against any visible growth of a microorganism (medium turbidity) after 24 hours of incubation.^[35]

The analysis was performed considering the concentration of the last plate that inhibited growth of the microorganism (greater than 50% over the control for MIC) and the first plate, where there was no bacterial growth (100% over control for MBC)

Tests were conducted to determine the MIC and MBC of the compound (**2**, **3a-f**) and the standard drugs, cephalexin and kanamycin with all microorganisms (Table 3)

Insert **table 2** here

Insert **table 3** here

The compounds that exhibited the widest spectrum of antimicrobial activity in the disk diffusion tests, compounds **2** and **3a-f**, were selected to determine the MIC and MBC. MIC

was found by inoculating a series of tubes containing a specific volume of Müller–Hinton nutrient broth and different concentrations of compounds **2** and **3a-f** with known volumes of various microorganisms in suspension.

The compounds **2**, **3b**, and **3c** gave MIC values of 8 and MBC values of 16 µg/mL against *Staphylococcus aureus*. These results were similar to those obtained using standard cefalexin. MIC and MBC values showed that **3c** was more effective than the standard drug cefalexin when used against *Enterococcus faecalis* and *Mycobacterium smegmatis*.

3 Conclusion

This study was able to identify certain factors in the tested compounds that were responsible for antimicrobial activity. It may be concluded that antimicrobial activity depends on 3 factors: the atoms that exist in the molecule, the position of these atoms in the molecule, and the substituent groups present. The sulphur atom at position 4 and the benzylidene group at position 5 of the thiazolidine ring were responsible for the antimicrobial activity of the most effective compounds. When the 4-nitrobenzyl group was attached to position 3 on the heterocyclic ring to produce compound **4b**, the molecule lost all remaining antimicrobial activity.

The compounds **2**, **3c**, and **3d** produced an MIC of 8 and an MBC of 16 µg/mL in response to *Staphylococcus aureus*, similar to the results obtained with the standard cefalexin.

The MBC of compounds **3c** and **3d** when exposed to *Micrococcus luteus* (4 µg/mL) was similar to that obtained using the standard drug (2 µg/mL). When exposed to *Enterococcus faecalis*, both the MIC and the MBC for compounds **3c** and **3d** were higher than that observed for cefalexin.

The MBCs for compounds **3d** and **3f** against *Candida albicans* were similar to the standard drug ketoconazole, demonstrating the excellent antifungal activity of these compounds.

A series of derivatives, (Z) 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-one and (Z) 5-arylidene-3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione, were synthesized by thiocarbonylation, condensation, and alkylation reactions, replacing positions 4, 5, and 3, respectively, on the ring. All condensation reactions were stereoselective producing the Z configuration, consistent with what has been reported in the literature.^[26] The structures of the compounds obtained were characterized by conventional spectroscopic methods (¹H NMR, ¹³C NMR and IR). Derivatives like 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-one showed significant activity against

gram-positive bacteria, highlighting the importance of the 4-thioxo and 5 benzylidene substituents for increasing the antibacterial activity of this class of compounds. Additionally, the compound **3b** (with substitutions of hydroxy and methoxy in the arylidene group) demonstrated a broad spectrum of activity and a good inhibitory effect, highlighting the importance of substituents on the benzylidene group for increasing antibacterial activity. The thiazolidine 3-substituted derivative in the thiazolidine-2,4-dione series demonstrated reduced antimicrobial activity as compared to the 5-substituted 4-thioxo-thiazolidine-2-one, suggesting that the sulphur atom in position 4, as well as an extended structure and lower molecular weight, may favour antimicrobial activity in these compounds.

Past literature suggests that in lateral chain compounds, adding various rings to the structure, or replacing chains for rings and vice-versa, are manipulations that may affect the biological activity of these compound.^[35]

4 Experimental

4.1 Chemistry

All melting points were determined using QUIMIS (model 320.23) and are uncorrected. IR spectra were recorded using KBr discs pressed into pellets) (ν_{\max} in cm^{-1}) on a BRUKER IFS-66 IR spectrophotometer. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were measured on a VARIAN VNMRS 400-MR, using 400 MHz for ^1H and 75.4 MHz for ^{13}C in CDCl_3 and DMSO maintained at 25 °C using Me_4Si (TMS) as an internal standard. The chemical shifts were reported in δ units and the coupling constants (J) were reported in hertz. The following abbreviations were used to indicate the peak multiplicity: s (singlet), d (doublet), dd (double doublet), ddd (double doublet, doublet), t (triplet), and m (multiplet). C, H, N, and S analyses were performed with a Carlo Erba model EA1108 elemental analyzer. Mass spectra were recorded on a Varian MAT 711 spectrometer at an electron impact of 70eV. Thin layer chromatography was performed on pre-coated silica plates (Merck Kiesegel 60 F254), and column chromatography was performed using silica gel (mesh 70–230). The spots were easily visualized under ultraviolet light.

4.1.1 Synthesis of thiazolidine-2,4-dione (1)

Compound **1** (thiazolidine-2,4-dione), was synthesized by refluxing monochloroacetic acid and thiourea in water. This compound was synthesized according to a published procedure.^[24,36] Molecular formula C₃H₃O₂NS; yield 78%; mp 118-120 °C; Rf 0.48 (0.9:0.1 CHCl₃/MeOH). Recrystallisation: water.

4.1.2 Synthesis of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (2)

The compound 4-thioxo-thiazolidine-2-one was synthesized by refluxing a suspension of 5 g thiazolidine-2,4-dione (**1**) (4.27×10^{-2} mol) and Lawesson's reagent (4.27×10^{-2} mol) in dry dioxane (35 mL) for 7 hours with continuous stirring. After cooling, the compound was evaporated to half its original volume and allowed to cool to room temperature. The separated solid product was filtered, washed with n-hexane, and recrystallised in ethanol. This compound was synthesized according to a published procedure.^[22,26] Yield 85%; mp 140–141 °C; Rf 0.46 (0.95:0.05 CHCl₃/MeOH). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{\max} cm⁻¹) 3115 (NH); 1710 (C=O); 1640 (C=S). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ ppm): 13.54 (s, 1H, NH); 4.60 (s, 2H, CH₂). Anal. Calcd. for C₃H₃ONS₂: C, 27.06; H, 2.27; N, 10.52; S, 48.14. Found: C, 27.18; H, 2.37; N, 10.48; S, 48.24. HRMS⁺, 133.1915.

4.1.3 Synthesis of substituted 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (3a–f)

The compounds **3a–f** were synthesized from a solution of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**) (0.300 g, 2.25×10^{-3} mol) in glacial acetic acid (7.0 mL), with added sodium acetate and aromatic aldehyde (0.184 g, 2.25×10^{-3} mol). The reaction mixture was heated under reflux and continuously stirred for a period of 2–6 hours until the mixture reached approximately half its original volume. The products were allowed cool to room temperature before being submitted to an ice-water bath. The compounds were then filtered, washed with water followed by n-hexane, and placed into a chromatography column. These compounds were synthesized according to a published procedure.^[26]

4.1.3.1 5-(4-bromobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3a)

Molecular formula $C_{10}H_6ONS_2Br$; yield 61%; mp 147–149 °C; Rf 0.46 (0.96:0.04 $CHCl_3/EtOH$). Recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 3161–3075 (NH); 1688 (C=O); 1582 (C=C); 1460 (C=S). 1H NMR (acetone- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 8.09 (s, 1H, CH=); 13.54 (s, 1H, NH); 7.78–7.73 (m, 2H, Ar); 7.68–7.63 (m, 2H, Ar) benzylidene. ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.81 (C=O); 185.02 (C=S); 149.59 (C=C); 135.10 (CH=); 138.88 C_1 ; 133.97 C_2 ; 135.12 C_3 ; 125.93 C_4 ; 135.12 C_5 ; 133.97 C_6 .(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{10}H_6ONS_2Br$: C, 40.01; H, 2.01; N, 4.67; S, 21.36. Found: C, 40.03; H, 2.13; N, 4.67; S, 21.39. HRMS⁺, 300.2024.

4.1.3.2 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine -2-one (3b)

Molecular formula $C_{11}H_9O_2NS_2$; yield 35%; mp 215–216 °C; Rf 0.50 (0.94:0.06 $CHCl_3/EtOH$). Recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1688 (C=O); 1570 (C=S); 3443 (OH). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 3.84 (s, 3H); 8.06 (s, 1H, CH=); 10.20 (s, 1H); 13.68 (s, 1H, NH); H2' 7.25 (s, 1H); H5' 6.96 (d; J = 8.29 Hz); H6' 7.19 (d; J = 8.29 Hz). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.83 (C=O); 185.02 (C=S); 149.59 (C=C); 176.08 (CH=); 133.68 C_1 ; 114.61 C_2 ; 151.23 C_3 ; 150.16 C_4 ; 118.69 C_5 ; 127.38 C_6 (benzylidene) Anal. Calcd. for $C_{11}H_9O_2NS_2$: C, 49.43; H, 3.37; N, 5.24; S, 23.97. Found: C, 49.47; H, 2.37; N, 5.29; S, 23.97. HRMS⁺, 267.3273. OK Ok

4.1.3.3 5-(2-hydroxy-5-chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3c)

Molecular formula $C_{10}H_6O_2NS_2Cl$; yield 58%; mp 211 °C; Rf 0.61 (0.98:0.02 $CHCl_3/MeOH$). Recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 3160–3040 (NH); 1660 (C=O); 1560 (C=C); 1420 (C=S). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 8.20 (s, 1H, CH=); 10.70 (s, 1H, de, OH); 7.61 (s, 1H, Ar); 6.97 (d, 1H; J = 8.4 Hz); 7.16 (d, 1H; J=8.4Hz), 13.69 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.77 (C=O); 184.79 (C=S); 150.44 (C=C); 135.33 (CH=); 127.23 C_1 ; 157.83 C_2 ; 120.61 C_3 ; 135.95 C_4 ; 131.01 C_5 ; 135.37 C_6 .(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{10}H_6O_2NS_2Cl$: C, 44.19; H, 2.20; N, 5.15; S, 23.57; Cl, 13.07. Found: C, 44.26; H, 2.32; N, 5.19; S, 23.67; Cl, 13.09. HRMS⁺, 271.7458.

4.1.3.4 5-(3-hydroxy-4-methoxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3d)

Molecular formula $C_{11}H_9O_3NS_2$; yield 20%; mp 180–181 °C; Rf 0.51 (0.97:0.03 $CHCl_3/MeOH$). Recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 3170–3020 (NH); 1680 (C=O); 1540 (C=C); 1460 (C=S); 3440 (OH). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 4.28 (s, 1H, OH); 7.93 (s, 1H, CH=); 3.81 (s, 3H, OCH_3); 7.0 (s, 1H₂, Ar); 7.11 (d, 1H₅, Ar; J = 8.0); 7.14 (d, 1H₆, Ar; J = 8.0); 13.9 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.81 (C=O₂); 184.99 (C=S); 149.64 (C=C); 136.08 (CH=); 57.44 (OCH_3); 136.05 C₁; 119.03 C₂; 151.74 C₃; 151.19 C₄; 115.61 C₅; 126.68 C₆(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{11}H_9O_3NS_2$: C, 49.43; H, 3.37; N, 5.24; S, 23.97. Found: C, 49.49; H, 3.47; N, 5.27; S, 23.99. HRMS⁺, 267.3273.OK OK

4.1.3.5 5-(4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3e)

Molecular formula $C_{10}H_7O_2NS_2$; yield 45%; mp 149–150 °C; Rf 0.49 (0.5:0.5 CH_2Cl_2/Hex). Recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 3140–3019 (NH); 1610 (C=O); 1540 (C=C); 1462 (C=S); 3443 (OH). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 7.70 (s, 1H, CH=); 8.18 (s, 1H, (OH)) ; 8.50 (dd, 2 H₂, H₆, Ar; J = 8.18, J = 1.85); 8.50 (dd, 2 H₃, H₅, Ar; J = 8.18, J = 1.85); 13.80 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.81 (C=O₂); 184.99 (C=S); 149.64 (C=C); 135.16 (CH=); 133.19 C₁; 133.39 C₂; 119.50 C₃; 161.62 C₄; 119.50 C₅; 133.39 C₆(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{10}H_7O_2NS_2$: C, 50.63; H, 2.95; N, 5.90; S, 27.00. Found: C, 50.69; H, 2.98; N, 5.99; S, 27.14. HRMS⁺, 237.3008.

4.1.3.6 5-(2-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3f)

Molecular formula $C_{10}H_7O_2NS_2$; yield 57%; mp 209–210 °C; Rf 0.48 (0.7:0.3 Hex/Acet). Recrystallisation: acetone; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1694 (C=O); 1462 (C=S); 3440 (OH); 30.47 (NH). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 8.45 (s, 1H, CH=); 10.85 (s, 1H, OH); 13.77 (s, 1H, NH); H_{3'} 7.42 (d; J = 7.86 Hz); H_{4'} (td; J = 7.80, 0.34 Hz); H_{5'} 7.36 (td; J = 8.50, 7.09, 1.42 Hz); H_{6'} 6.99 (d; J = 8.28 Hz). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 170.81 (C=O₂); 185.02 (C=S); 150.39 (C=C); 134.73 (CH=); 127.91 C₁; 160.08 C₂; 119.76 C₃; 133.49 C₄; 128.48 C₅; 131.39 C₆(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{10}H_7O_2NS_2$: C, 50.63; H, 2.95; N, 5.90; S, 27.00. Found: C, 50.68; H, 2.97; N, 5.98; S, 27.17. HRMS⁺, 237.3008.

4.1.4 General procedure for the synthesis of 3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione substituted (4a–b)

Equimolar quantities (3.3×10^{-3} mol) of the substituted thiazolidine-2,4-diones were dissolved in ethanol and added drop by drop into a solution of KOH dissolved in methanol at ambient temperature. The mixtures were stirred for 30 min. after which either 3-chlorobenzyl chloride or 4-nitrobenzyl bromide (3.3×10^{-3} mol) was added. The mixtures were then heated in an oil bath to 75 °C for 2 h. The reactions were monitored using precoated aluminium silica gel 60F 254 thin layer plates (Merck) and recrystallisation was performed in ethanol. OK OK

4.1.4.1 3-(3-chlorobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (4a)

Molecular formula $C_{10}H_8O_2NSCl$; yield 52%; mp 70–71 °C; Rf 0.50 (chloroform). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1751–1670 (C=O). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 3.99 (s, 2H); 4.75 (s, 2H); 7.40–7.27 (m, 4H). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 174.38 (C=O₍₂₎); 178.97 (C=O₍₄₎); 36.22 (CH₂) heterocycle; 51.93 (CH₂) benzyl; 142.19 C₁; 127.20 C₂; 136.88 C₃; 128.22 C₄; 132.33 C₅; 127.49 C₆. Anal. Calcd. for $C_{10}H_8O_2NSCl$: C, 49.68; H, 3.31; N, 5.79; S, 13.25; Cl, 14.08. Found: C, 49.63; H, 3.34; N, 5.87; S, 13.29; Cl, 14.12. HRMS⁺, 241.6978.

4.1.4.2 3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (4b)

Molecular formula $C_{10}H_8O_4N_2S$; yield 57%; mp 116–117 °C; Rf 0.50 (0.99:0.01 $CHCl_3/EtOH$). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1760–1770 (C=O). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 4.00 (s, 2H); 4.84 (s, 2H); 7.54 (d, 2H; J = 8.70 Hz) benzyl; 8.16 (d, 2H; J = 8.80 Hz) benzyl. ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 174.32 (C=O₍₂₎); 178.94 (C=O₍₄₎); 36.27 (CH₂) heterocycle; 51.80 (CH₂) benzyl; 145.93 C₁; 130.87 C₂; 125.96 C₃; 150.38 C₄; 125.96 C₅; 130.87 C₆. Anal. Calcd. for $C_{10}H_8O_4N_2S$: C, 57.21; H, 4.29; N, 3.33; S, 7.62; Cl, 8.46. Found: C, 57.27; H, 4.33; N, 3.39; S, 7.67; Cl, 8.48. HRMS⁺, 252.2503.

4.1.5 General procedure for the synthesis of 5-arylidene-3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione (5a–g)

The 5-arylidene-3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione derivatives were synthesized using equimolar quantities (3.3×10^{-3} mol) of 3-(3-chlorobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (**4a**) or 3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (**4b**) dissolved in 15 mL of methanol. These solutions were added drop by drop to a solution of KOH dissolved in methanol at room temperature. The mixtures were stirred for 0.30 h after which 3.3×10^{-3} mol of substituted benzaldehydes were added. The mixtures were then heated in an oil bath to 55 °C for 2 h. The reactions were monitored using precoated aluminium silica gel 60F 254 thin layer plates (Merck) and recrystallised in an appropriate solvent.

4.1.5.1 5-(2,4-dimethoxybenzylidene)-3-(3-chloro benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5a)

Molecular formula $C_{19}H_{16}ClNO_4S$; yield 75%; mp 131–133 °C; Rf 0.510.7:0.3 $CHCl_3/Hex.$). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1744–1695 (C=O); 1605 (C=C). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 5.18 (s, 2H, CH_2); 7.91 (s, 1H, CH=); 6.90 (s, H_2); 7.48 (ddd, H_4 ; J = 7.97, J = 2.15, J = 1.01); 7.46 (t, H_5 ; J = 7.0); 7.27 (dd, H_6 ; J = 7.0, J = 1.83) benzyl; 3.87 (s, 3H, OCH_3); 3.89 (s, 3H, OCH_3); 6.57 (s, H_3); 6.42 (dd, H_5 ; J = 8.55, J = 0.56); 7.17 (d, H_6 ; J = 8.56) benzylidene. ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 168.58 (C=O₍₂₎); 166.26 (C=O₍₄₎); 119.35 (C=C); 57.76 (OCH_3 , C₂); 57.41 (OCH_3 , C₄); 146.27 (CH=); 52.15 (CH_2) benzyl; 142.07 C₁; 129.47 C₂; 136.91 C₃; 128.28 C₄; 132.28 C₅; 129.76 C₆.(benzyl) 119.65 C_{1'}; 165.04 C_{2'}; 101.66 C_{3'}; 163.41 C_{4'}; 109.26 C_{5'}; 133.81 C_{6'}.(benzylidene). Calcd. for $C_{19}H_{16}ClNO_4S$: C, 58.53; H, 4.10; N, 3.59; S, 8.21; Cl, 9.11. Found: C, 58.63; H, 4.14; N, 3.56; S, 8.18; Cl, 9.05. HRMS⁺, 388.8607.

4.1.5.2 5-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)-3-(3-chloro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5b)

Molecular formula $C_{20}H_{18}O_5NSCl$; yield 42%; mp 108–109 °C; Rf 0.39 (0.90:0.01 $CHCl_3/Hex.$). Recrystallisation: toluene; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}): 1582 (C=C); 1729–1673 (C=O). 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ ppm): 3.86 (s, 9H, OCH_3); 5.40 (s, 2H, CH_2); 8.21 (s, 1H CH=); 6.90 (s, H_2); 7.48 (ddd, H_4 ; J = 7.97, J = 2.15, J = 1.01); 7.46 (t, H_5 ; J = 7.0); 7.27 (dd, H_6 ; J = 7.0, J = 1.83) benzyl; 6.86 (s, 2 H_2' , H_6') benzylidene. ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4

MHz, δ ppm): 168.70 (C=O₍₂₎); 166.29 (C=O₍₄₎); 119.98 (C=C); 58.54 (OCH₃, C₃); 63.16 (OCH₃, C₄); 58.54 (OCH₃, C₅); 147.91 (CH=); 52.12 (CH₂) benzyl; 142.12 C₁; 129.51 C₂; 136.88 C₃; 128.22 C₄; 132.33 C₅; 129.80 C₆.(benzyl) 132.77 C₁, 109.75 C₂, 154.33 C₃, 143.34 C₄, 154.33 C₅, 109.75 C₆.(benzylidene). Anal. Calcd. for C₂₀H₁₈O₅NSCl, C, 57.21; H, 4.29; N, 3.33; S, 7.62; Cl, 8.46. Found: C, 57.29; H, 4.37; N, 3.33; S, 7.50; Cl, 8.53. HRMS⁺, 419.8872.

4.1.5.3 5-(2-nitrobenzylidene)-3-(3-chloro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5c)

Molecular formula C₁₇H₁₁O₄N₂SCl; yield 33%; mp 157–158 °C; R_f 0.51 (0.45:0.55 CHCl₃/Hex.); Recrystallisation: ethanol. IR (KBr 1%, ν_{\max} cm⁻¹) 1744–1695, C=O, 1602 C=C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm) 4.84 (s 2H, CH₂); 8.19 (s 1H, CH=); 6.90 (s H₂); 7.48 (ddd H₄);, J = 7.97, J = 2.15, J = 1.01; 7.46 (t H₅);, J = 7.0; 7.27 (dd H₆);, J = 7.0, J = 1.83) benzyl; 8.42 (dd H₃; J = 8.0, J = 1.12); 7.41 (t H₄; J = 7.78); 7.20 (t H₅; J = 7.8); 7.28 (dd H₆; J = 7.92, J = 1.42) benzylidene; ¹³C NMR (Acetone-d₆, 75.4 MHz, δ ppm): 168.70 (C=O₍₂₎); 166.29 (C=O₍₄₎); 121.47 (C=C); 144.23 (CH=); 52.12 (CH₂) benzyl; 142.12 C₁; 129.48 C₂; 137.10 C₃; 128.28 C₄; 132.40 C₅; 129.82 C₆.(benzyl); 133.53 C₁, 147.60 C₂, 129.10 C₃, 132.81 C₄, 136.84 C₅, 134.12 C₆.(benzylidene). Anal. Calcd. for C₁₇H₁₁O₄N₂SCl C, 54.47; H, 2.93; N, 7.47; S, 8.54; Cl, 9.47. Found: C, 54.42; H, 2.99; N, 7.49; S, 8.44; Cl, 9.54. HRMS⁺ 374.8052.

4.1.5.4 5-(3-chlorobenzylidene)-3-(3-chlorobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5d)

Molecular formula C₁₇H₁₁O₂NSCl₂; yield 56%; mp 136–138 °C; R_f 0.52 (0.20:0.80 CHCl₃/Hex.). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{\max} cm⁻¹) 1735–1645 (C=O), 1602 (C=C). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 4.83 (s, 2H, CH₂); 7.92 (s, 1H, CH=), 6.90 (s, H₂); 7.48 (ddd, H₄; J = 7.97, J = 2.15, J = 1.01); 7.46 (t, H₅; J = 7.0); 7.27 (dd, H₆; J = 7.0, J = 1.83) benzyl; 7.31 (s, H₂); 7.31 (ddd, H₄; J = 8.02, J = 2.23, J = 1.92); 7.41 (t, H₅; J = 8.05); 7.41 (ddd, H₆; J = 8.01, J = 2.05, J = 1.91) benzylidene. ¹³C NMR (Acetone-d₆, 75.4 MHz, δ ppm): 168.71 (C=O₍₂₎); 166.29 (C=O₍₄₎); 119.98 (C=C); 146.57 (CH=); 52.12 (CH₂) benzyl; 142.12 C₁; 129.48 C₂; 137.10 C₃; 128.28 C₄; 132.40 C₅; 129.82 C₆.(benzyl); 119.65 C₁, 165.04 C₂, 101.66 C₃, 163.41 C₄, 109.26 C₅, 133.81 C₆.(benzylidene) Anal. Calcd. for

$C_{17}H_{11}O_2NSCl_2$: C, 56.04; H, 3.02; N, 3.84; S, 8.79; Cl, 19.50. Found: C, 56.09; H, 3.02; N, 3.77; S, 8.82; Cl, 19.53. HRMS⁺, 364.2527.

4.1.5.5 5-(3-methoxybenzylidene)-3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5e)

Molecular formula $C_{18}H_{14}O_5N_2S$; yield 54%; mp 144–145 °C; Rf 0.61 (0.9:0.1 $CHCl_3/MeOH$). Recrystallisation: acetone; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1580(C=C); 1727-1670 (C=O). ¹H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 5.59 (s, 2H, CH_2); 8.10 (s, 1H, CH=); 3.81 (s, 3H, OCH_3); 7.51 (d, H_2, H_6 ; J = 9.0); 8.38 (d, H_3, H_5 ; J = 9.0) benzyl; 7.31 (dd, H_2' ; J = 7.82, J = 1.71); 7.55–7.45 (m, H_4', H_5', H_6') benzylidene. ¹³C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 168.70 (C=O₍₂₎); 166.29 (C=O₍₄₎); 119.98 (C=C); 57.66 (OCH_3, C_3); 146.57 (CH=); 52.12 (CH_2) benzyl; 145.87 C_1 ; 133.12 C_2 ; 125.93 C_3 ; 150.16 C_4 ; 125.93 C_5 ; 133.12 C_6 .(benzyl) 138.46 C_1' 117.33 C_2' 162.68 C_3' 116.26 C_4' 133.22 C_5' 124.98 C_6' .(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{18}H_{14}O_5N_2S$: C, 55.95; H, 3.62; N, 7.25; S, 8.29. Found: C, 55.90; H, 3.75; N, 7.31; S, 8.32. HRMS⁺, 370.3861.

4.1.5.6 5-(3,4,5-trimethylbenzylidene)-3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione, (5f)

Molecular formula $C_{20}H_{14}O_5N_2S$; yield 30%; mp 189–190 °C; Rf 0.57 (CH_2Cl_2). Recrystallisation: acetone; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}): 1590 (C=C); 1730, 1669 (C=O). ¹H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 5.60 (s, 2H CH_2); 8.31 (s, 1H, CH=); 2.27 (s, 9H, CH_3); 7.51 (d, H_2, H_6 ; J = 9.0), 8.38 (d, H_3, H_5 ; J = 9.0) benzyl; 7.27 (s, 2H, H_2', H_6') benzylidene. ¹³C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 168.70 (C=O₍₂₎); 166.29 (C=O₍₄₎); 120.04 (C=C); 23.39 (CH_3, C_3); 17.35 (CH_3, C_4); 23.39 (CH_3, C_5); 148.73 (CH=); 51.91 (CH_2) benzyl; 145.86 C_1 ; 133.20 C_2 ; 125.98 C_3 ; 150.33 C_4 ; 125.98 C_5 ; 133.20 C_6 .(benzyl); 137.53 C_1' 126.50 C_2' 139.25 C_3' 136.74 C_4' 139.25 C_5' 126.50 C_6' .(benzylidene). Anal. Calcd. for $C_{20}H_{14}O_5N_2S$: C, 57.30; H, 3.37; N, 7.86; S, 8.98. Found: C, 57.39; H, 3.47; N, 7.82; S, 8.90. HRMS⁺, 382.0981.

4.1.5.7 5-(3-chlorobenzylidene)-3-(4-nitrobenzyl)-thiazolidine-2,4-dione (5g)

Molecular formula $C_{17}H_{11}O_4N_2SCl$; yield 35%; mp 174–176 °C; Rf 0.55 (0.8:0.2 $CHCl_3/Hex.$). Recrystallisation: chloroform; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1610 (C=C); 1740; 1676

(C=O). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 5.60 (s, 2H, CH_2); 8.48 (s, 1H, C=); 7.51 (d, H_2 , H_6 ; $J = 9.0$), 8.38 (d, H_3 , H_5 ; $J = 9.0$) benzyl; 7.34 (s, H_2'); 7.32 (ddd, H_4' ; $J = 8.04$, $J = 2.23$, $J = 1.91$); 7.37 (t, H_5' ; $J = 7.9$, $J = 8.05$); 7.40 (ddd, H_6' ; $J = 7.8$, $J = 2.04$, $J = 1.90$) benzylidene. ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, δ ppm): 168.70 ($\text{C}=\text{O}_{(2)}$); 166.29 ($\text{C}=\text{O}_{(4)}$); 119.98 ($\text{C}=\text{C}$); 146.57 ($\text{CH}=\text{}$); 52.12 (CH_2) benzyl; 145.87 C_1 ; 133.12 C_2 ; 125.93 C_3 ; 150.16 C_4 ; 125.93 C_5 ; 133.12 C_6 .(benzyl); 137.57 C_1' ; 131.58 C_2' ; 136.51 C_3' ; 131.58 C_4' ; 133.08 C_5' ; 129.65 C_6' .(benzylidene). Anal. Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_2\text{SCl}$: C, 52.98; H, 2.85; N, 10.90; S, 8.31. Found: C, 52.99; H, 2.77; N, 10.88; S, 8.23. HRMS $^+$, 374.0125.

Acknowledgments

We would like to thank the CNPq for financial support and the Fundamental Chemistry Department for the use of its Analysis Central.

References

- 1 Bozdog-Dünder, O.; Özgen, Ö.; Menten, A.; Altanlar, N.; Ath, O.; Kendi, E.; Ertana, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 6012–6017.
- 2 Tataridis, D.; Fytas, G.; Kolocouris, A.; Fytas, C.; Kolocouris, N.; Foscolos, G. B.; Padalko, E.; Neyts, J. and Clercq, E. De. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 692.
- 3 Patrick, G.L. An introduction to medical chemistry. University Press, **1997**, p. 26.
- 4 World Health Organization, 2002. Fact sheet 194: Antimicrobial resistance www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/. Accessed on January 06, **2007**.
- 5 Çapan, G.; Ulusoy, N.; Ergenç, N.; Kiraz, M.; *Monatsh. Chem.* **1999**, 130, 1399-1407.
- 6 Eid, A. I.; Ragab, F. A.; El-Ansary, S. L.; Gazayerly, S. M.; Mourad, F. E. *Arch. Pharm.* **1994**, 327, 211-213.
- 7 Kocabalkanli, A.; Ates, Ö.; Ötük, G. *Arch. Pharm.* **2001**, 334, 35-39.
- 8 Küçükgülzel, S. G.; Oruç, E. E.; Rollas, S.; Sahin, F.; Özbek, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 197-206.
- 9 Tunçbilek, M.; Dünder, O. B.; Ayhan-Kilcigil, G.; Ceylan, M.; Waheed, A.; Verspohl, E. J.; Ertan, R. *IL Farmaco.* **2003**, 58, 79-83.
- 10 Madhavan, G. R.; Chakrabarti, R.; Vikramadithyan, R. K.; Mamidi, R. N. V. S.; Balraju, V.; Rajesh, B.M.; Misra, P.; Kumar, S. K. B.; Lohray, B. B.; Lohray, V. B.; Rajagopalan, R. *Bioorg Med Chem.* **2002**, 10, 2671-2680.

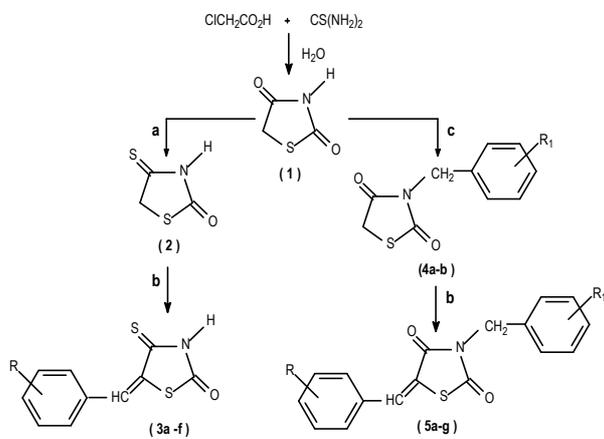
- 11 Albuquerque, J. F. C.; Azevedo, C. C.; Galdino, S. L.; Chantegrel, J.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C. *Ann. Pharm. Fr.* **1995**, 53, 209-214.
- 12 Costa, D. L. B.; Chantegrel, J.; Lima, M. C. A.; Albuquerque, J. F. C.; Lima, R. M. O. C.; Galdino, S. L.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C. *J. Pharm. Belg.* **1995**, 50, 5-10.
- 13 Nakai, H.; Wada, H.; Meguro, N. T.; Yabana, H. N-substituted-2-[2-[2-(4-phenylpiperazine-1-yl)ethoxy]phenyl]-thiazolidine-3-carboxamides useful as cardiotoxic agent. *U.S. Patent* N. 4,689,327. Aug. 25, 1987.
- 14 Lesyk, R.; Zimenkovsky, B.; Atamanyuk, D.; Jensen, F.; Kiec-Kononowicz, K.; Gzella, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 5230-5240.
- 15 El-Feky, S. A. H. *Pharmazie.* **1993**, 48, 894-896.
- 16 Vicini, P.; Geronikaki, A.; Anastasia, K.; Incerti, M.; Zani, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 3859-3864.
- 17 Bonde, C. G.; Gaikwad, N. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 2151-2161b.
- 18 Tunçbilek, M.; Altanlar, N. *IL Farmaco.* **1999**, 54, 475-78.
- 19 El-Gaby, M. S. A.; El-Hag Ali, G. A. M.; El-Maghraby, A. A.; El-Rahman, M. T.; Abd Mohamed, H. M.; Helal, M. H. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 4148-4152.
- 20 Andres, C. J.; Bronson, J. J.; D'Andrea, S. V.; Deshpande, M. S.; Falk, P. J.; Grant-Young, K. A.; Harte, W.E.; Ho, H. T.; Misco, P. F.; Robertson, J. G.; Stock, D.; Sun, Y.; Walsh, A. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 715-717.
- 21 Koyama, H.; Boueres, J. K.; Han, W.; Metzger, E. J.; Bergman, J. P.; Gratale, D. F.; Miller, D. J.; Tolman, R. L.; MacNaul, K. L.; Berger, J. P.; Doebber, T. W.; Leung, K.; Moller, D. E.; Heck, J. V.; Sahoo, S. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1801-1804
- 22 Albuquerque, J. F. C.; Galdino, S. L.; Chantegrel, J.; Thomasson, F.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C. *Ann. Pharm. Fr.* **1997**, 55, 201-205.
- 23 Srivastava, T.; Haq, W.; Katti, S. B. *Tetrahedron.* **2002**, 58, 7619-7624.
- 24 Albuquerque, J. F. C.; Albuquerque, A.; Azevedo, C. C.; Thomasson, F.; Galdino, S. L.; Chantegrel, J.; Catanho, M. T. J.; Pitta, I. R.; Luu-Duc, C. *Pharmazie.* **1995**, 50, 6, 387-389.
- 25 Omar, M. T.; El-Aasar, N. K.; Saied, K. F. J. *Chem. Res.(M)* **2001**, 11, 1127.
- 26 Gouveia, F. L.; Oliveira, R. M. B.; Oliveira, T. B.; Silva, I. M.; Nascimento, S. C.; Sena, K. X. F. R.; Albuquerque, J. F. C. *Eur J Med Chem.* **2009**, 44, 2038-2043.
- 27 Maccari, R.; Ottanà, R.; Ciurleo, R.; Vigorita, M. G.; Rakowitz, D.; Steindl, T.; Langer, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 3886-3893.

- 28 Bruno, G.; Costantino, L.; Curinga, C.; Maccari, R.; Monforte, F.; Nicolo, F.; Ottana, R.; Vigorita, M. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 1077–1084.
- 29 Bourahla, K.; Derdour, A.; Rahmouni, M.; Carreaux, F.; Bazureau, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 5785-5789
- 30 Souad, K-M.; Djafri, A.; Paquin, L.; Hamelin, J.; Rahmouni, M. *Molecules* **2006**, 11, 597-602.
- 31 Ottana, R.; Maccari, R.; Barreca, M.L.; Bruno, G.; Rotondo, A.; Rossi, A.; Chiricosta, G.; Di Paola, R.; Sautebin, L.; Cuzzocread, S.; Vigorita, M.G. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 4243-4252.
- 32 Verma, A.; Saraf, S. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 897-905.
- 33 Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, 45, 493-494.
- 34 Carvalho, A. A. T.; Sampaio, M. C. C.; Sampaio, F. C.; Melo, A. F. M.; Sena, K. X. F. R.; Chiappeta, A. A.; Higino, J. S. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, **2002**, 21, 4, 255-258.
- 35 Thomas, G. *Medicinal chemistry: an introduction*. John Willey & Sons Ltd., Eds.; Guanabara koogan: Rio de Janeiro, **2003**, pp 23-71.
- 36 Libermann, D.; Himbert, J.; Hengl, L. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1948**, 1120-1124.

Legends for Scheme

Scheme 1: (a) Lawesson's reagent in dry dioxane^{25,27} (b) Substituted aromatic aldehydes, sodium acetate and acetic acid (c) 3-chlorobenzyl chloride, or 4-nitrobenzyl bromide, KOH, and ethanol.

Scheme 1:



Legends for Tables

Table 1: Substituents in the synthesis of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3a-f**); thiazolidine-2,4-dione (**4a-b** and **5a-g**)

Table 2: Antimicrobial activity of compounds tested against different microorganisms (diameter of inhibition halo in mm).

Table 3: Inhibition and bactericidal concentrations of compounds **2** and (**3a-f**), with respect to different microorganisms ($\mu\text{g/mL}$).

Table 1:

| Compound | R | Compound | R | R₁ |
|-----------------|----------------------------|-----------------|--|----------------------|
| 1 | thiazolidine-2,4-dione | 4a | - | 3-Cl |
| 2 | 4-thioxothiazolidine-2-one | 4b | - | 4-NO ₂ |
| 3a | 4-Br | 5a | 2,4-(OCH ₃) ₂ , | 3-Cl |
| 3b | 3-OCH ₃ , 4-OH | 5b | 3,4,5-(OCH ₃) ₃ | 3-Cl |
| 3c | 2-OH, 5-Cl | 5c | 2-NO ₂ | 3-Cl |
| 3d | 3-OH, 4-OCH ₃ | 5d | 3-Cl | 3-Cl |
| 3e | 4-OH | 5e | 3-OCH ₃ | 4-NO ₂ |
| 3f | 2-OH | 5f | 3,4,5-(CH ₃) ₃ | 4-NO ₂ |
| | | 5g | 3 Cl | 4-NO ₂ |

Table 2:

| Synthesized Compounds 300µg (X ± δ) | Microorganism-test | | | | | | | | | |
|---|-----------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Gram-positive | | | | Gram-negative | | | Resistant alcohol-acid | Yeast | Filamentous fungi |
| | <i>S. aureus</i> 1 | <i>M. luteus</i> 6 | <i>E. faecalis</i> 138 | <i>B. subtilis</i> 16 | <i>P. aeruginosa</i> 39 | <i>E. coli</i> 224 | <i>S. marcescens</i> 398 | <i>M. smegmatis</i> 71 | <i>C. albicans</i> 1007 | <i>M. sitophila</i> 2083 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 19.3±0.47 | 25.8±0.16 | 22.2±0.62 | 21.0±0.16 | 0 | 0 | 0 | 18.5±0.41 | 19.2±0.62 | 0 |
| 3a | 19.3±0.77 | 37.5±0.50 | 20.5±0.50 | 24.6±0.99 | 10.2±0.95 | 10.8±0.88 | 0 | 27.1±1.15 | 12.2±1.40 | 10.8±1.07 |
| 3b | 18.3±0.09 | 48.8±0.16 | 21.0±0.16 | 25.8±0.16 | 10.9±0.09 | 11.2±0.16 | 10.9±0.09 | 24.9±0.09 | 20.9±0.19 | 9.2±0.16 |
| 3c | 20.3±0.47 | 40.5±0.41 | 25.7±0.57 | 30.0±0.41 | 11.9±0.09 | 11.3±0.47 | 12.0±0.12 | 29.8±0.62 | 20.0±0.82 | 10.3±0.24 |
| 3d | 21.7±0.47 | 35.0±0.82 | 21.8±0.25 | 11.7±0.47 | 13.0±0.82 | 13.1±0.19 | 0 | 45.5±0.41 | 20.9±0.19 | 9.2±0.16 |
| 3e | 18.5±0.41 | 27.0±0.82 | 22.2±0.62 | 51.2±0.24 | 0 | 11.4±0.80 | 0 | 45.5±0.41 | 26.7±0.47 | 0 |
| 3f | 19.3±0.47 | 24.7±0.94 | 21.8±0.62 | 30.8±0.62 | 0 | 0 | 0 | 24.7±0.85 | 0 | 0 |
| 4a | 9.4±0.08 | 28v | 8.4±0.17 | 8.4±0.05 | 0 | 0 | 0 | 12.1±0.09 | 0 | 0 |
| 4b | 8.2±0.62 | 0 | 11.0±0.82 | 0 | 0 | 0 | 10.5±0.81 | 11.8±0.56 | 11.3±0.47 | 0 |
| 5a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5b | 8.5±0.41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5c | 8.3±0.47 | 0 | 0 | 17.8±0.62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5d | 8.2±0.62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5e | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5f | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5g | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kan [®] (30µg) | 23.0±0.82 | 28.3±0.09 | 0 | 14.0±0.82 | 20.0±0.12 | 15.1±0.19 | 15.0±0.12 | 40.0±0.12 | nt | nt |
| Cef [®] (30µg) | 35.3±0.09 | 54.0±0.12 | 24.1±0.19 | 45.0±0.12 | 0 | 24.3±0.09 | 0 | 0 | nt | nt |
| Ket [®] (300µg) | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | 24.1±0.19 | 22.0±0.82 |

Compounds Standard[®]: Cef = Cefalexin; Ket = Ketoconazole; Kan = Kanamycin; nt = not tested

X = Medium function

δ = Standard deviation

Table 3:

| Compostos | Micro-organismos-teste | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------------------------|------|---------------------------|-----|--------------------------|-----|--------------------------------|------|------------------------------|------|-------------------------|-----|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Micrococcus luteus</i> | | <i>Bacillus subtilis</i> | | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | | <i>Enterococcus faecalis</i> | | <i>Candida albicans</i> | |
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| 2 | 8 | 16 | 4 | 8 | 4 | 8 | 32 | 64 | 64 | >128 | 8 | 32 |
| 3a | 8 | >128 | 4 | 64 | 4 | 16 | nt | nt | 64 | >128 | nt | nt |
| 3b | 32 | 64 | 4 | 8 | 16 | 32 | nt | nt | 128 | >128 | 16 | 32 |
| 3c | 8 | 16 | 2 | 4 | 4 | 8 | 16 | 32 | 16 | 32 | 16 | 32 |
| 3d | 8 | 16 | 2 | 4 | 2 | 4 | 2 | 4 | 16 | 32 | 4 | 8 |
| 3e | 32 | 64 | 4 | 8 | 4 | 8 | 8 | 16 | 64 | 128 | 4 | 8 |
| 3f | 64 | 128 | 16 | 32 | 16 | 32 | 32 | 64 | 128 | >128 | nt | nt |
| Cefalexin | 8 | 16 | <2 | 2 | <2 | <2 | >128 | >128 | >128 | >128 | nt | nt |
| Ketoconazole | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | <2 | 2 |

MIC – Minimum Inhibitory Concentration

MBC – Minimum Bactericidal Concentration

9.2 Artigo 2

Antimicrobial Activity of 4-thioxo-5-arylidene-thiazolidine-2-one against multiresistant clinicals isolated

Ivanildo Manguiera da Silva^{1,2,3}; Ana Carolina Cintra de Melo Medeiros¹; Carlos André de Souza; Kêsia Xisto da Fonseca Ribeiro de Sena¹; Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque*^{1,2}

¹Departamento de Antibiótico, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 50670-901, Brazil.

²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

³Faculdade de Formação de Professores de Belo Jardim, Belo Jardim, PE. 55150-000, Brasil

Abstract –Currently hospitals are carriers of many microorganisms multiresistant to various drugs used to treat various infections. To combat this problem, a new thiazolidine derivative was synthesized and tested against *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp and *Staphylococcus coagulase-negative*. The compound was synthesized using condensation reactions and thionation in positions 4 and 5 on the thiazolidine ring. The microbiological evaluation tests were performed with disk diffusion for Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The new derivative was compared with the antibiotics ampicillin and cephalexin demonstrating activity against all clinical isolates tested.

Keywords: 4-thioxo-thiazolidine-2-one; thiazolidine-2,4-dione; multiresistant microorganisms; clinical isolates; Antimicrobial Activity; 5-arylidene-thiazolidinone

*Corresponding author: Prof^a. Dra. Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque.

Phone: (+55) 21 81 2126 8347

Fax: (+55) 21 81 2126 8346

e-mail address: julianna@ufpe.br

Postal address: Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária CEP 50670-901, Recife-Pernambuco, Brazil

1 Introduction

Bacterial infections and the increase of multidrug-resistant microbial pathogens are important elements in the growth of infectious diseases [1]. Despite the large number of antibiotics and chemotherapy drugs available for medical assistance, the emergence of new antibiotic-resistant bacteria is increasing and constitutes a substantial reason for the development of new antibacterial agents [1,2].

The mechanisms of bacterial resistance to chemotherapeutic agents vary from pathogen to pathogen due to such basic factors as: enzymatic transformation, molecular modification of the target, drug seizure, and active flow from inside the cell or, conversely, the prevention of entry of the compound into the cell [3]. Another important factor is the acquisition of new mobile genetic material such as plasmid [4-6]. Semi-synthetic antibiotics effective in treating Gram-positive and Gram-negative pathogens, were derived from prototypes of β -lactam antibiotics (penicillin and cephalosporin analogues, clavulanic acid, aztreonam), and also analogs of tetracycline, aminoglycoside derivatives (gentamicin, tobramycin, amikacin) [7] *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates demonstrated multiple resistance to other β -lactam antibiotics such as chloramphenicol, sulfonamides, tetracyclines and macrolides [8,9].

Thiazolidine derivatives and their structural analogues are potentially active molecules. These compounds have been studied for their biological and pharmacological properties. The comparative study is important because of the placement of various substituents in different positions on the thiazolidine ring, with the objective of increasing their biological potential [10-12]. Thiazolidione and isosters of oxazolidinone have common properties. This means that antimicrobial agents can be checked by both. Linezolid is an oxazolidinone antimicrobial agent developed and approved to combat various types of Gram-positive bacteria, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant enterococci (VRE). Despite the fact that the resistance of multidrug-resistant enterococci to vancomycin has been observed with linezolid, only one case has been observed among the clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [13].

Among the properties of biological and pharmacological thiazolidines, the following have been verified: cytotoxic, [14,15], antidiabetic [11], antitumoral [16], anti-inflammatory [17], antifungal [18], antiparasitic [19], antimicrobial, [15,20,21] and new inhibitors of *Schistosoma mansoni* [22].

The need for new, more effective and intense bacterial resistant drugs led us to test various compounds and to choose the 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one to be evaluated against clinical isolates for having the best preliminary results.

2 Chemistry

In an attempt to obtain a substance with a more effective biological activity, new derivatives of thiazolidine were planned and synthesized through substitutions on the heterocyclic pentagonal ring. Two series of thiazolidine derivatives were synthesized and analyzed. One series was replaced only at position 5 and another with substitution at positions 4 and 5. The first series was synthesized starting with thiazolidine-2,4-dione (**1**) and condensed with aromatic aldehydes at position 5, forming derivatives 5-(substituted benzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (**4**) with carbonyl at positions 2 and 4. The second series was synthesized replacing oxygen by sulfur at position 4 and then condensing it at position 5 on the heterocyclic ring (**2**), (**3**) (**scheme 1: table 1**).

Insert **Scheme 1** here

Insert **Table 1** here

The two series of compounds were first tested for microbiological activity using disk diffusion and the results compared. The structures of the compounds were determined by spectroscopic methods ^1H RMN, ^{13}C RMN, infrared, mass spectrometry and confirmed by elemental analysis. According to the literature [**15,23**], thiazolidine compounds have two conformations, *E* and *Z* in relation to the exocyclical double bond at position 5 on the ring. These results have also been confirmed by X-ray crystallography [**24,25**]. All the synthesized compounds manifested the configuration *Z* only. The spectrum for the hydrogen ^1H RMN showed a chemical shift (δ) between 7.90 and 8.30 ppm for the double bond.

This absorption is characteristic of the double bonded methine hydrogen which is uncoupled owing to the sulfur at position 4 on the thiazolidine ring. The literature shows that for the *E*-isomer, this absorption appears in a lower field even when the substituent is oxygen [**18,26**].

3 Microbiology

3.1 Evaluation of antimicrobial activity

The Initial tests were performed on all compounds synthesized. For this test the microorganisms of the culture collection from the Antibiotics Department of Federal University of Pernambuco, Brazil (UFPE) were used. The compound 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3a**) was chosen for testing against the clinical isolates because it showed better antimicrobial activity. In this case, it was active for all microorganisms tested including all Gram-negative (**table 2**). This did not happen with the other compounds tested.

Insert **table 2** here

The microorganisms used were *Staphylococcus aureus* (I-X), and *Micrococcus spp.* (XI-XII), obtained from the Department of Bacteriology Laboratory Unit of Clinical Hospital UFPE (HC) and *Staphylococcus Coagulase-negative* (XIII-XVI), from the Department of Bacteriology, Hospital Agamenon Magalhães (HAM), which had been isolated from different infection sites.

3.2 Susceptibility of the clinical isolates test

An antibiotic susceptibility test of the multiresistant microorganisms (clinical isolates) used was conducted to evaluate the resistance pattern and to compare the results with the antagonism of the compound 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3a**)

The antibiogram revealed multiresistance in most of the strains used, especially for *Staphylococcus aureus* (I) and (VIII) which were resistant to all antibiotics tested except vancomycin (**table 3**). Clinical isolates that were resistant for two or more groups of antibiotics were considered multiresistant.

Insert **table 3** here

3.3 Disk diffusion method

Two series of compounds with similar structures were tested, differing only in the exchange of the carbonyl by the thioxo group at position 4 on the thiazolidine ring. An evaluation of two series of compounds was performed using a disk diffusion paper test [27, 28]. Three different concentrations were tested: solution (A) with concentration 30000 µg/mL; solution (B), 15000 µg/mL and solution (C), 7000 µg/mL. Disks 6 mm in diameter were impregnated with 10 µL of each solution separately in order to obtain discs with volumes of 300 µg, 150 µg and 75 µg of drug respectively.

The discs, one for each concentration, were placed in Petri dishes on a sown medium surface. The microbial suspensions were standardized to the turbidity of the tube equivalent 0.5 on the McFarland scale, which indicates approximately 10^8 CFU/mL for bacteria. The plates were incubated at 35 °C for 24 hours. After this incubation period, a reading of the results was performed by measuring the diameter of the inhibition halos formed around the disks. Halos of 12 mm or more were considered relevant. The tests were performed in triplicate and the results expressed as the arithmetic average of inhibition zones in mm and the standard deviations calculated.

The standards controls used were ampicillin (semi-synthetic penicillin) and cephalexin (first generation cephalosporin), in concentrations of 10µg/disc and 30 µg/disc respectively.

The choice of antibiotic patterns was performed by examining their chemical structures and comparing with the structures of the compounds synthesized. It was observed that antibiotics derived from penicillin have a thiazolidine ring in their structures, thus leading us to choose ampicillin and cephalexin as the standard. Among the compounds tested using primary disk diffusion, the compound (**3a**) showed the largest inhibition zone, so it was chosen to be tested with clinical isolates.

4 Results and Discussion

The compound (**3a**) manifested activity for all isolates in all concentrations tested, confirming the efficacy of this compound for multidrug-resistant clinical isolates.

The compound tested at a concentration of 300µg formed inhibition halos against most strains used, presenting a diameter (mm) compatible with those formed by the composite pattern, in which the microorganisms are sensitive to cephalexin (**table 4**).

The halos formed against clinical isolates (I), (VI) (VII) and (VIII) were greater than the halo formed by antimicrobial use patterns.

The compounds (**4a-b**) showed no activity for any microorganism tested. The compounds (**4c-f**) showed low activity for only two microorganisms *S. aureus* and *B. subtilis*, both in the Gram-positive group.

The compounds of the series (**3a-f**) showed excellent activity for all microorganisms tested. Among these compounds, 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3a**) had the greatest antimicrobial activity in the disc diffusion test and therefore was chosen to be tested with the multidrug-resistant clinical isolates.

The compound (**3a**) showed inhibition halos compatible with the standard antibiotic ampicillin for the strains (II), (IV) and (XV) (**table 4**).

Insert **table 4** here

4.1 Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

The (MIC) and (MBC) were determined in solid medium [29,30]. Aliquots of different volumes of the compound (**3a**) were taken from a stock solution of 1280 µg/mL, placed in Petri dishes and mixed with a Müeller-Hinton medium resulting in plate concentrations of 128 µg/mL, 64 µg/mL, 32 µg/mL, 16 µg/mL, 8 µg/mL 4 µg/mL and 2 µg/mL. The microorganisms tested were sown in a groove on the surface of the culture medium and the plates were incubated at 35 °C for 24 hours.

The analysis was performed considering the concentration of the last plate that inhibited growth of the microorganism (greater than 50 % over the control for MIC) and the first plate, where there was no bacterial growth (100 % over control for MBC)

Tests were conducted to determine the MIC and MBC of the compound (**3a**) and the standard drugs, cephalixin and ampicillin with all clinical isolates (**table 5**).

Insert **table 5** here

MIC and the MBC for the chemical compound tested against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (I) (III) (VI) (VII) and (VIII) were lower than those obtained with cephalixin (standard test), demonstrating that the standard ampicillin for both MIC and MBC

were similar to the compound studied in relation to the strains (III), (VII) and (VIII), while for the strain (VI) MIC and MBC values were even lower when compared with two standard compounds tested.

For multi-resistant microorganisms isolated from *Staphylococcus coagulase-negative* (XIII-XVI) the MIC and MBC was lower than that of cephalixin (**table 5**).

5 Conclusion

All microorganisms tested were inhibited by the compound (**3a**) 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one in all concentrations tested.

The series 4-thioxo-thiazolidine-2-one derivatives manifested a range of inhibition for all microorganisms in the disc diffusion test.

The series thiazolidine-2,4-dione derivatives showed lower antimicrobial activity for all microorganisms in the disc diffusion test. Some compounds of this series were inactive for all microorganisms tested.

The MIC and MBC of the evaluated compound (**3a**) against most clinical isolates were more effective than the standard ampicillin and cephalixin drugs. The compound tested has antimicrobial property with the ability to inhibit multidrug-resistant microorganisms.

The 4-thioxo group in position 4 is responsible for the best activity in this series.

6 Experimental

6.1 Chemistry

All melting points were determined using QUIMIS (model 320.23) and are uncorrected. IR spectra were recorded using KBr discs (pressed into pellets) (ν_{\max} in cm^{-1}), on a BRUKER IFS-66 IR spectrophotometer. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were measured on VARIAN VNMRS 400-MR (400 MHz) for ^1H and 75.4 MHz for ^{13}C in CDCl_3 and DMSO maintained at 25 °C using Me_4Si (TMS) as an internal standard. The chemical shifts were reported in δ units and the coupling constants (J) are reported in Hertz. The following abbreviations were used to indicate the peak multiplicity: s (singlet), d (doublet), dd (double doublet), ddd (double doublet, doublet), t (triplet), m (multiplet). C, H, N and S analyses were performed with a Carlo Erba model EA1108 elemental analyzer. Mass spectra were recorded on a Varian MAT 711 spectrometer 70 eV electron impact, Thin layer chromatography was performed on

pre-coated silica plates (Merck Kieselgel 60 F254) and column chromatography using silica gel (mesh 70–230). The spots could be visualized easily under ultraviolet light.

6.1.1 Synthesis of 2,4-thiazolidine dione (1)

Thiazolidin-2,4-dione was obtained by refluxing thiourea and monochloroacetic acid in water for 24 hours, according to the methods reported in the literature [31]. Molecular formula $C_3H_3O_2NS$; yield 78%; mp 118-120 °C; Rf 0.48 (0.9:0.1 $CHCl_3/MeOH$). Recrystallisation: water.

6.1.2 Synthesis of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (2)

The compound 4-thioxo-thiazolidine-2-one was synthesized by refluxing a suspension of thiazolidine-2,4-dione (1), 5g (4.27×10^{-2} mol) and Lawesson's reagent (4.27×10^{-2} mol) in dry dioxane (35 mL) for 7 hours with continuous stirring. After cooling, the compound was evaporated to half volume and allowed to cool at room temperature. The separated solid product was filtered, washed with n-hexane and recrystallized in ethanol. This product was synthesized according to a published procedure. [15,23]. Molecular formula $C_3H_3ONS_2$; yield 85%; mp 140-141 °C; Rf 0.46 (0.95:0.05 $CHCl_3/MeOH$). Recrystallisation: ethanol; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 3115 (NH); 1710 (C=O); 1640 C=S. 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm): 13.54 (s, 1H, NH; 4.60) (s, 2H, CH_2). Anal. Calcd. C, 27.06; H, 2.27; N, 10.52; S, 48.14. Found: C, 27.18; H, 2.37; N, 10.48; S, 48.24. HRMS⁺ 133.1915.

6.1.3 General Synthesis of substituted 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (3a-f)

The compounds **3a-f** were synthesized from a solution of 4-thioxo-thiazolidine-2-one **2** (0.300g, 2.25×10^{-3} mol) in glacial acetic acid (7.0 mL), sodium acetate and aromatic aldehyde (0.184g, 2.25×10^{-3} mol) added. The reaction mixture was heated under reflux for a period of 2-6 hours under stirring. The product was concentrated to approximately half volume and then was allowed cool to room temperature. The compounds were filtered, washed with water followed by n-hexane and submitted to a chromatography column. This product was synthesized according to a published procedure [15,23].

6.1.3.1 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3a).

Yield 35%; mp 215-216 °C; Rf 0.50 (0.94:0.06 CHCl₃/ EtOH); recrystallisation: methanol; IR (KBr 1%, ν_{\max} cm⁻¹) 1688 (C=O), 1570 (C=S), 3443 (OH). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm): 3.84 (s, 3H); 8.06 (s, 1H, CH=); 10.20 (s, 1H); 13.68 (s, 1H, NH); H₂: 7.25 (s, 1H); H₅: 6.96 (d, J = 8.29 Hz); H₆: 7.19 (d, J = 8.29 Hz). ¹³C NMR (Acetone-d₆, 75.4 MHz, δ ppm): 170.83 (C=O); 185.02 (C=S); 149.59 (C=C); 176.08 (CH=); 133.68 C₁; 114.61 C₂; 151.23 C₃; 150.16 C₄; 118.69 C₅; 127.38 C₆ (benzylidene). Anal. Calcd. for C₁₀H₆BrNOS₂: C, 49.43; H, 3.37; N, 5.24; S, 23.97. Found: C, 49.47; H, 2.37; N, 5.29; S, 23.97. HRMS⁺ 267.3273.

All compounds (3b-3f) were synthesized according to published procedure [15].

6.1.3.2 5-(2-fluorbenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3b)

Yield 30%; mp: 159–160 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 3163–3080 (NH); 1690 (C=O); 1592 (C=C). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, ppm): δ 13.97 (s, 1H, NH); 8.14 (s, 1H, –CH=); 7.62–7.54 (m, 2H, Ar); 7.41–7.35 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 116.35 (d, J_{CF}=21.3); 125.53 (d, J_{CF}=3.0); 126.39 (d, J_{CF} = 6.97); 128.61, 133.23 (d, J_{CF}=9.0) (CH); 121.50 (d, J_{CF}=11.0), 131.88, 161.09 (d, J_{CF}=251.4) (Cq); 170.43 (C=O); 195.41 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆FNOS₂ (239.28): C 50.20; H, 2.53; N, 5.85; S, 26.80. Found: C, 50.42; H, 2.54; N, 5.79; S, 21.09.

6.1.3.3 5-(4-bromobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3c)

Yield 22%; mp: 188–189 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 3161–3075 (NH); 1688 (C=O); 1582 (C=C). ¹H NMR (Acetone-d₆, 300 MHz, ppm): δ 8.09 (s, 1H, –CH=); 7.78–7.73 (m, 2H, Ar); 7.68–7.63 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (Acetone-d₆, 75.4 MHz, ppm): δ 126.15, 130.28, 132.09, 133.09, 133.62, 134.08, 134.59, 135.95; 170.83 (C=O); 196.75 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆BrNOS₂ (300.19): C, 40.01; H, 2.01; N, 4.67; S, 21.36. Found: C, 40.03; H, 2.31; N, 4.79; S, 21.49.

6.1.3.4 5-(2-chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3d)

Yield 40%; mp: 166–167 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 3166–3080 (NH); 1715 (C=O); 1581 (C=C). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, ppm): δ 14.05 (s, 1H, NH); 8.29 (s, 1H, –CH=); 7.65–7.61 (m, 2H, Ar); 7.54–7.49 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75.4 MHz, ppm): δ 128.19,

128.93, 130.47, 130.82, 131.59, 132.21, 132.74, 135.13; 170.48 (C=O); 195.31 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆ClNOS₂ (255.74): C, 46.97; H, 2.36; N, 5.48; S, 25.07. Found: C, 47.07; H, 2.41; N, 5.48; S, 25.27.

6.1.3.5 5-(4-chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3e)

Yield 15%; mp: 183–184 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 3161–3080 (NH); 1691 (C=O); 1577 (C=C). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, ppm): δ 13.93 (s, 1H, NH); 8.04 (s, 1H, –CH=); 7.69–7.66 (m, 2H, Ar); 7.61–7.58 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 129.54, 132.07, 134.33 (CH); 130.43, 132.28, 135.50 (Cq); 170.43 (C=O); 195.39 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆ClNOS₂ (255.74): C, 46.97; H, 2.36; N, 5.48; S, 25.07. Found: C, 46.09; H, 2.51; N, 5.48; S, 25.37.

6.1.3.6 5-(2,3,5-trichlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3f)

Yield 70%; mp: 186–187 °C; IR (KBr, cm⁻¹): 3103–3057 (NH); 1753 (C=O); 1600 (C=C). ¹H NMR (Acetone-d₆, 300 MHz, ppm): δ 8.24 (s, 1H, –CH=); 7.82 (d, 1H, J_m = 2.4, Ar); 7.62 (d, 1H, J_m = 2.4, Ar). ¹³C NMR (Acetone-d₆, 75.4 MHz, ppm): δ 170.83 (C=O); 185.02 (C=S); 149.59 (C=C); 176.08 (CH=); 133.68 C₁; 114.61 C₂; 151.23 C₃; 150.16 C₄; 118.69 C₅; 127.38 C₆. (benzylidene) Anal. Calcd. for C₁₀H₄Cl₃NOS₂ (324.63): C, 37.00; H, 1.24; N, 4.31; S, 19.75. Found: C, 37.02; H, 1.25; N, 4.32; S, 19.85.

6.1.4 General synthesis of substituted 5-arylidene-thiazolidine-2,4-diones (4a-f)

The compounds (**4a-f**) were synthesized from a solution of thiazolidine-2,4-dione (0.200g, 2.25 x 10⁻³) in ethanol, (7.0 mL), piperidine (2 drops) and aromatic aldehyde (0.184g, 2.25 x 10⁻³ mol) added. The reaction mixture was heated under 70 °C for a period of ten hours under stirring. After this period the product was cooled in an ice bath, filtered and recrystallized with an appropriate solvent. This product was synthesized according to published procedure [32-34].

6.1.4.1 5-(4-methoxybenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (4a).

Molecular formula $C_{11}H_9O_3NS$; yield 55%; mp 210-211 °C; Rf 0.48 (0.96:0.04 $CHCl_3/MeOH$); recrystallisation: chloroform; IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1688 (C=O₂); 1723 (C=O₄); ¹H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 12.90, (1H, NH); 7.89 (s br 1H, CH=); 3.80 (s 3H, OCH₃); 7.51-7.50 (dd, 2H, H₃-H₅) J=8.62; J=1.86); 7.20-7.18 (dd, 2H, H₃-H₅) J=8.61, J=2.49). ¹³C NMR (C=O₂), 172.4; (C=O₄), 166.31; C=C 119.10; CH= 143.19; (Ar. C₁, 129.49, C₂-C₆ 130.23, C₃-C₅ 114.09, C₄ 155.51. Anal. Calcd. for: C, 56.16; H, 3.86; N, 5.95; S, 13.63. Found: C, 56.19; H, 3.91; N, 5.93; S, 13.69. HRMS⁺ 235.2633.

6.1.4.2 5-(4-hydroxybenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (4b).

Molecular formula $C_{10}H_7O_3NS$; yield 71%; mp 249-250 °C; Rf 0.50 (0.95:0.05 $CHCl_3/MeOH$); recrystallisation: methanol. IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1688 (C=O₂); 1725 (C=O₄); ¹H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 13.38 (s br, 1H, NH); 7.96 (s, 1H, CH=); 8.91 (s 1H, OH); 7.48-7.41 (dd 2H H₂-H₆ J=8.49, J=1.81); 7.42-7.40 (H₃-H₅ dd, J=8.49, 2.61). ¹³C NMR (C=O₂), 171.51; (C=O₄), 167.28; C=C 117.07; CH=C 143.49; C₁ 129.40; C₂-C₆ 129.7; C₃-C₅ 116.01; C₄ 157.95. Anal. Calcd. for: C, 56.16; H, 3.86; N, 5.95; S, 13.63. Found: C, 56.19; H, 3.91; N, 5.93; S, 13.69. HRMS⁺ 235.2633

6.1.4.3 5-(4-methylbenzylidene)-thiazolidin-2,4-dione (4c) Ju-326

Molecular formula $C_{11}H_9O_2NS$; yield 52%; 195-196 °C; Rf 0.50 (0.85:0.15 hex/ethyl acetate); Purification: washing with hexane, followed by recrystallisation in acetic acid. IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1675 (C=O₂); 1745 (C=O₄); ¹H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 13.20 (s br, 1H, NH); (s, 1H, CH=); 2.36 (s 3H, CH₃); 7.40 (dd 1H, H₂) J=2.40 J=2.10; 6.84-6.82 (ddd, H₄, J=7.70; J=1.84; J=1.60); 7.52 (t, 1H, H₅) J=7.60). ¹³C NMR (C=O₂), 171.51; (C=O₄), 167.38; C=C 119.06; CH= 143.79; CH₃ 20.07, C₁ 136.21; C₂, 124.10; C₃ 135.35; C₄ 124.58; C₅ 128.15; C₆, 128.220. Anal. Calcd. for: C, 60.26; H, 4.14; N, 6.39; S, 14.62. Found: C, 60.29; H, 4.17; N, 6.34; S, 14.58. HRMS⁺ 219.2639

6.1.4.4 5-(3-Nitrobenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (4d).

Molecular formula $C_{10}H_6O_4N_2S$; yield 71%; mp 250 °C; Rf 0.51 (0.96:0.04 $CHCl_3/MeOH$); Purification: washing with water, followed by recrystallisation in glacial acetic acid. IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1710 ($C=O_2$), 1740 ($C=O_4$), 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 13.27 (s br, 1H, NH); 8.00 (s 1H CH=); 7.71 (1H, H_2 , dd, $J=2.19$; $J=2.01$); 8.31 (dd, 1H H_4 $J=2.22$, $J=2.00$); 7.62 (t H_5 , $J=8.0$, $J=7.68$); 7.80 (ddd, H_6) $J=7.70$, $J=2.00$ $J=1.90$. ^{13}C NMR ($C=O_2$), 171.41; ($C=O_4$), 166.31; $C=C$ 118.10; CH= 144.19; C_1 , 135.66; C_2 139.47; C_3 129.00; C_4 123.39; C_5 130.01; C_6 130.50. Anal. Calcd. for: C, 48.00; H, 2.42; N, 11.20; S, 12.81. Found: C, 48.08; H, 2.48; N, 11.16; S, 12.77. HRMS⁺ 250.2343.

6.1.4.5 5-(4-Nitrobenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (4e).

Molecular formula $C_{10}H_6O_4N_2S$; yield 69%; mp 278-279 °C; Rf 0.52 (0.7:0.3 Hex/ethyl acetate); Purification: washing with water, followed by recrystallisation in THF. IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1713 ($C=O_2$); 1740 ($C=O_4$). 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 13.37 (s br, 1H, NH); 8.01 (s, 1H, CH=); 7.71 (ddd 2H H_2 - H_6) $J=8.71$, $J=1.86$, $J=0.39$); 8.10 (ddd 2H H_3 - H_5) $J=8.71$; $J=2.20$; $J=0.38$. ^{13}C NMR ($C=O_2$), 171.51; ($C=O_4$), 166.48; ($C=C$) 118.09; (CH=) 142.49; (C_1) 141.51; (C_2 - C_6) 130.21; (C_3 - C_5) 124.69; (C_6) 130.23. Anal. Calcd. for: (C), 48.00; (H), 2.42; (N), 11.20; (S), 12.81. Found (C), 48.08; (H), 2.48; (N), 11.16; (S), 12.77. HRMS⁺ 250.2343.

6.1.4.6 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)-thiazolidine-2,4-dione (4f).

Molecular formula $C_{11}H_9O_4NS$; yield 72%; mp 220 °C; Rf 0.50 (0.85:0.15 hex/ethyl acetate); Purification: washing with water, followed by recrystallisation in acetic acid. IR (KBr 1%, ν_{max} cm^{-1}) 1715 ($C=O_2$), 1747 ($C=O_4$); 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm): 12.71 (s br, 1H, NH); 7.86 (s 1H, CH=); 3.80 (s, 3H, OCH_3); 7.20 (s 1H, OH); 7.19 (s 1H, H_2); 7.18 (dd 1H, H_5); $J=8.30$, $J=1.05$; 7.15 (dd 1H, H_6), $J=8.30$, $J=1.60$. ^{13}C NMR ($C=O_2$) 172.41; ($C=O_4$) 166.38; ($C=C$) 119.09; (CH=) 144.49; CH_3 55.56; C_1 129.59; C_2 110.80; C_3 148.01; C_4 146.44; C_5 115.32; C_6 , 123.92. Anal. Calcd. for: C, 52.58; H, 3.61; N, 5.57; S, 12.76. Found: C, 52.53; H, 3.66; N, 5.55; S, 12.73. HRMS⁺ 251.2627.

Acknowledgments

We would like to thank the CNPq (National Research Council) for financial support and the Fundamental Chemistry Department for the use of its Analysis Central.

We thank Sidney A. Pratt for reviewing the English

References

- [1] I. Chopra, C. Schofield, M. Everett, A.O'Neill, K. Miller, M. Wilcox, J.M. Frere, M. Dawson, L. Czaplewski, U. Urleb, P. Courvalin, Treatment of health-care-associated infections caused by Gram-negative bacteria: a consensus statement, *Lancet Infect. Dis.* 8 (2008) 133-139.
- [2] T. Tomasic, N. Zidar, M. Mueller-Premru, D. Kikelj, L.P. Masic, Synthesis and antibacterial activity of 5-ylidenethiazolidin-4-ones and 5-benzylidene-4,6-pyrimidinediones, *Eur. J. Med.Chem.* 45 (2010) 1667–1672.
- [3] G.D. Wright, Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57 (2005) 1451–1470.
- [4] G.D. Wright, The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity, *Nat. Rev. Microbiol.* 5 (2007) 175–186.
- [5] A.O. Summers, Genetic linkage and horizontal gene transfer, the roots of the antibiotic multi-resistance problem, *Anim. Biotechnol.* 17 (2006) 125–135.
- [6] G.D. Wright, A.D. Sutherland, New strategies for combating multidrug-resistant bacteria, *TRENDS in Molecular Medicine.* 13 (2007) 260-267.
- [7] D.O. Guimarães, L.S. Momesso, M.T. Pupo, Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes, *Quim. Nova* 33 (2010) 667-679.

- [8] G.V. Doern, M.A. Pfaller, K. Kugler, J. Freeman, R.N. Jones, Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract *Streptococcus pneumoniae* in North America: 1997. Results from the SENTRY antimicrobial surveillance program, *Clin. Infect. Dis.* 27 (1998) 764-770.
- [9] Y.S. Or, R.F. Clark, S. Wang, D.T.W. Chu, A.M. Nilius, R.K. Flamm, M.E. Michael, P. Ewing, A. Jeff, Z. Ma, Design, synthesis, and antimicrobial activity of 6-O-substituted cetolides active against resistant respiratory tract pathogens, *J. Med. Chem.* 43 (2000) 1045-1049.
- [10] M. Tunçbilek, O.B. Dünder, G. Ayhan-Kilcigil, M. Ceylan, A. Waheed, E.J. Verspohl, R. Ertan, Synthesis and hypoglycemic activity of some substituted flavonyl thiazolidinedione derivatives - fifth communication: flavonyl benzyl substituted 2,4-thiazolidinediones, *IL Farmaco.* 58 (2003) 79-83.
- [11] G.R. Madhavan, R. Chakrabarti, R.K. Vikramadithyan, R.N.V.S. Mamidi, V. Balraju, B.M. Rajes, P. Misra, S.K.B. Kumar, B.B. Lohray, V.B. **Lohray**, R. Rajagopalan, Synthesis and biological activity of novel pyrimidinone containing thiazolidinedione derivatives, *Bioorg Med Chem.* 10 (2002) 2671-2680.
- [12] J.F.C. Albuquerque, A. Albuquerque, C.C. Azevedo, F. Thomasson, L.S. Galdino, J. Chantegrel, M.T.J. Catanho, I.R. Pitta, C. Luu-Duc. Substituted thiazolidinediones and thioimidazolidinones: synthesis, structural study and pharmacological activity, *Pharmazie*, 50 (1995) 387-389.
- [13] S. Tsiodras, H.S. Gold, G. Sakoulas, G.M. Eliopoulos, C. Wennersten, L. Venkataraman, R.C. Moellering, M.J. Ferraro, Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*, *The Lancet.* 358 (2001) 207-208.
- [14] R. Lesyk, B. Zimenkovsky, D. Atamanyuk, F. Jensen, K. Kiec'-Kononowicz, A. Gzella, Anticancer thiopyrano[2,3-*d*][1,3]thiazol-2-ones with norbornane moiety. Synthesis, cytotoxicity, physico-chemical properties, and computational studies, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 5230-5240.

- [15] F.L. Gouveia, R.M.B. Oliveira, T.B. Oliveira, I.M. Silva, S.C. Nascimento, K.X.F.R. Sena, J.F.C. Albuquerque, Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 2038-2043.
- [16] D. Kaminsky, B. Zimenkovsky, R. Lesyk, Synthesis and *in vitro* anticancer activity of 2,4-azolidinedione-acetic acids derivatives, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 3627–3636.
- [17] R. Ottana, R. Maccari, M.L. Barreca, G. Bruno, A. Rotondo, A. Rossi, G. Chiricosta, R. Di Paola, L. Sautebin, S. Cuzzocread, M.G. Vigorita, 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: design and synthesis of novel anti-inflammatory agents, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005), 4243-4252.
- [18] O. Bozdağ-Dündar, Ö. Özgen, A. Mentşe, N. Altanlar, O.Atılı, E. Kendi, R. Ertan, Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 6012–6017.
- [19] X. Zhang, X. Li, D. Li, **G. Qu**, J. Wang, P.M. Loiseau, X. Fan, Ionic liquid mediated and promoted eco-friendly preparation of thiazolidinone and pyrimidine nucleoside–thiazolidinone hybrids and their antiparasitic activities, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 6280-6283.
- [20] M.S.A El-Gaby, G.A.M. El-Hag Ali, A.A. El-Maghraby; M.T. El-Rahman, H.M. Abd Mohamed, M.H M. Helal, Synthesis, characterization and *in vitro* antimicrobial activity of novel 2-thioxo-4-thiazolidinones and 4,4'-bis(2-thioxo-4-thiazolidinone-3-yl)diphenylsulfones, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 4148-4152.
- [21] S. Bondock, W. Khalifa, A.A. Fadda, Synthesis and antimicrobial evaluation of some new thiazole, thiazolidinone and thiazoline derivatives starting from 1-chloro-3,4-dihydronaphthalene-2-carboxaldehyde, *Eur. J. Med. Chem.* 42 (2007) 948–954.
- [22] M.P. Postigo, R.C.V. Guido, G. Oliva, I.R. Pitta, J.F.C. Albuquerque, A.D. Andricopulo Discovery of new inhibitors of *Schistosoma mansoni* PNP by pharmacophore-based virtual screening, *J. Chem. Inf. Model.* 50 (2010) 1693-1705.

- [23] J.F.C. Albuquerque, S.L. Galdino, J. Cantegrel, F. Thomasson, I.R. Pitta, C. Luu-Duc, Thio-arylidène thiazolidinones substitués: synthèse et étude structurale, *Ann. Pharm. Fr.* 55 (1997) 201–205.
- [24] S.F. Tan, K.P. Ang, Y.F. Fong, (*Z*)- and (*E*)-5-Arylmethylenehydantoins: spectroscopic properties and configuration assignment, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1986) 1941–1944.
- [25] G. Bruno, L. Costantino, C. Curinga, R. Maccari, F. Monforte, F. Nicolo, R. Ottana, M.G. Vigorita, Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones, *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 1077-1084.
- [26] T. Ishida, M. Inoue, Y. Ueno, C. Tanaka, N. Hamanaka, Structural elucidation of epalrestat (ONO-2235), a potent aldose reductase inhibitor and isomerization of its double bonds, *Tetrahedron Letters*. 30 (1989) 959-962.
- [27] A.W. Bauer, W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, M. Turck, Antibiotics susceptibility test by a standardized single disk method, *Am. J. Clinl. Pathl.* 45 (1966).493-494.
- [28] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, NCCLS Approved Standard M2–A8. Wayne. PA. USA. 2010.
- [29] A.A.T. Carvalho, M.C.C. Sampaio, F.C. Sampaio, A.F.M. Melo, K. X. F. R. Sena, A.A. Chiappeta, J.S. Higino Atividade antimicrobiana “in vitro” de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-negativas. *Acta Farmacêutica Bonaerense*. 21 (2002) 255-258.
- [30] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, NCCLS approved standard M27–A2. Wayne. PA. USA. 2002.
- [31] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, NCCLS approved standard M7–A6. Wayne. PA. USA. 2003.

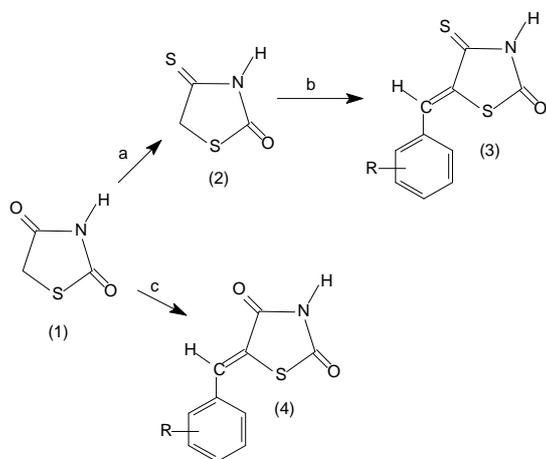
[32] J.F.C. Albuquerque, C.C. Azevedo, S.L. Galdino, J. Chantegrel, I.R. Pitta, C. Luu-Duc, Synthèse et étude structurale des 5-arylidène thiazolidine-2,4-diones et 4-thio-imidazolidine-2-ones-3-substituées, *Ann. Pharm. Fr.* 53 (1995) 209-214.

[33] R. Maccari, R. Ottanà, R. Rosaria, R. Ciurleo, M.G. Vigorita, R. Dietmar, T. Steindl, T. Langer, Evaluation of in vitro aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 3886-3893.

[34] R. Maccari, R. Ottanà, R. Rosaria; R. Ciurleo, M.G. Vigorita, R. Dietmar, T. Steindl, T. Lange, Structure–activity relationships and molecular modelling of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones active as aldose reductase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 2809-2823.

Legends for Scheme**Scheme 1** Synthesis of thiazolidine compounds

Scheme 1



a = Lawesson's reagent, piperidina, dry dioxane

b = Aromatic aldehyde, ethanol, piperidina

c = Aromatic aldehyde, glacial acetic acid, CH_3COONa

Legends for Tables

Table 1: Substituent of the compounds 5-benzylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3a-f); 5-benzylidene-thiazolidine-2,4-dione (4a-f)

Table 2: Antimicrobial activity of compounds tested against different microorganisms-test (diameter of inhibition halo in mm).

Table 3: Antibioframe clinical isolates (*Staphylococcus aureus* and *Micrococcus* spp.) Obtained from the Department of Bacteriology Laboratory Unit of Clinicals Hospital (HC) and *Staphylococcus coagulase-negative* obtained in the Department of Bacteriology, Hospital Agamenon Magalhães (HAM)

Table 4: Antimicrobial activity of 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylideno)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3-a) by the disk diffusion paper test against clinical isolates of various origins. Inhibition zones in mm.

Table 5: Minimum Inhibitory Concentration (MIC), in solid medium, the thiazolidine derivative and standard drugs, cephalexin and ampicillin (1280 µg/mL solution).

Table 1:

| Compound | R | Compound | R |
|-----------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|
| 1 | thiazolidine-2,4-dione | 4a | 4-OCH ₃ |
| 2 | 4-thioxothiazolidine-2-one | 4b | 4-OH |
| 3a | 3-OCH ₃ , 4-OH | 4c | 3-CH ₃ |
| 3b | 2-F | 4d | 4,NO ₂ |
| 3c | 4-Br | 4e | 3-NO ₂ |
| 3d | 2-Cl | 4f | 3-CH ₃ O, 4-OH |
| 3e | 4-Cl | | |
| 3f | 2,3,5-Cl ₃ | | |

Table 2:

| Synthesized Compounds 300µg (X ± δ) | Microorganism-test | | | | | | | | |
|--|--------------------|-----------|------------|------------|---------------|------------|------------|----------------------------|----------------|
| | Gram-positive | | | | Gram-negative | | | Resistant alcohol- acid | Yeast |
| | <i>1</i> | <i>6</i> | <i>138</i> | <i>16</i> | <i>39</i> | <i>224</i> | <i>398</i> | <i>71</i> | <i>1007</i> |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 19.3±0.47 | 25.8±0.16 | 22.2±0.95 | 21.0±0.16 | 0 | 0 | 0 | 18.3±0.09 | 19.0±0.82 |
| 3a | 18.3±0.09 | 48.8±0.16 | 21.0±0.16 | 25.8±0.16 | 10.9±0.09 | 11.2±0.16 | 10.9±0.09 | 24.9±0.09 | 20.9±0.19 |
| 3b | 24.0± 0.12 | 24.3±0.57 | 20.0±0.82 | 22.9±0.09 | 0 | 0 | 0 | 20.0±0.82 | 16.0± 0.41 |
| 3c | 22.9±0.09 | 21.0±0.16 | 17.1±0.19 | 18.0±0.41 | 0 | 0 | 0 | 17.1±0.19 | 15.2 ± 0.62 |
| 3d | 24.7±0.94 | 18.3±0.09 | 16.3±0.09 | 17.1±0.19 | 0 | 0 | 0 | 20.0±0.82 | 12.1±0.19 |
| 3e | 20.0±0.82 | 17.8±0.62 | 0 | 20.5±0.50 | 0 | 0 | 0 | 17.2±0.62 | 15.3±0.09 |
| 3f | 16.3±0.09 | 21.7±0.47 | 19.3±0.47 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4b | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4c | 8.20±0.62 | 0 | 10.9±0.09 | 13.0 ±0.82 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4d | 20.3±0.47 | 0 | 10.2±0.95 | 15.3±0.47 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4e | 10.2±0.95 | 0 | 0 | 12.0±0.12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4f | 10.9±0.09 | 27.1±1.15 | 0 | 11.8±0.56 | 15.3±0.47 | 0 | 0 | 19.3±0.77 | 16.0±0.82 |
| Kan[®] (30µg) | 23.3±0.57 | 28.3±0.09 | 0 | 14.2±0.62 | 20.0±0.82 | 15.3±0.47 | 15.0±0.82 | 40.0±0.12 | nt |
| Cef[®] (30µg) | 35.0±0.82 | 54.0±0.12 | 24.0±0.12 | 45.0±0.16 | 0 | 24.3±0.57 | 0 | 0 | nt |
| Ket[®] (300µg) | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | nt | 24.0± 0.12 |

Compounds Standard[®]: Cef = Cefalexin; Ket = Ketoconazole; Kan = Kanamycin; nt = not tested

X = Medium function

δ = Standard deviation

Microorganism-test: (Gram-positive) *S. aureu* (*1*); *M. luteus* (*6*); *E. faecalis* (*138*); *B. subtilis* (*16*); (Gram-negative) *P. aeruginosa* (*39*); *E. coli* (*224*); *S. marcescens* (*398*); (Resistant alcohol-acid) *M. smegmatis* (*71*); (Yeast) *C. albicans* (*1007*)

Table 3:

| ANTIBIOTICS | Clinical Isolate Strains | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------------------------|------|-------|------|-----|------|-------|--------|------|-----|------|-------|--------|-------|------|-------|
| | (I) | (II) | (III) | (IV) | (V) | (VI) | (VII) | (VIII) | (IX) | (X) | (XI) | (XII) | (XIII) | (XIV) | (XV) | (XVI) |
| Amikacin | R | S | S | S | S | R | S | R | S | S | S | S | S | NT | S | S |
| Ampicilin | R | R | S | R | R | R | R | R | S | R | S | S | NT | NT | NT | NT |
| Penicillin + Sulbactam | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | S | S | S | S |
| Azithromycin | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | R | S | S | S |
| Cefalotin | R | R | R | S | S | R | NT | NT | NT | NT | S | S | NT | NT | S | NT |
| Cefalexin | R | I | S | S | S | R | R | R | S | S | S | S | NT | NT | NT | NT |
| Cefepim | R | R | R | S | S | R | R | R | S | S | S | S | NT | NT | NT | NT |
| Cefoxitin | R | R | R | S | S | R | R | R | S | S | S | S | NT | NT | S | NT |
| Cefotaxim | R | R | R | S | S | R | R | R | S | S | S | S | NT | NT | S | NT |
| Ciprofloxacin | R | S | S | S | S | R | R | R | S | S | S | S | S | S | S | S |
| Clindamycin | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | R | S | S | S |
| Erhytromycin | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | NT | NT | S | S |
| Gentamicin | R | S | S | S | S | R | R | R | S | S | S | S | R | S | S | R |
| Imipenem | R | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | S | NT | NT | S | NT |
| Meropenem | R | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | S | NT | NT | NT | NT |
| Norfloxacin | R | S | S | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | R | R | S | S | S |
| Oxacillin | R | R | R | S | S | R | R | R | S | S | S | S | R | R | S | R |
| Penicilin | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | S | R |
| Sulfamet+trimet | R | S | S | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | S | NT | NT | NT | NT |
| Tetracyclin | R | S | S | S | S | I | R | R | S | S | S | S | S | S | NT | S |
| Teicoplanin | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Tobramycin | R | S | S | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | S | NT | NT | NT | NT |
| Vancomycin | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | NT |

S. aureus (I-X) *Micrococcus* spp. (XI-XII) *Staphylococcus coagulase-negative* (XIII-XVI)

Obs. (S) sensible; (R) resistant; (I) Intermediate, (NT) not tested

Table 4:

| Microorganisms-teste | 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylideno)-4-thioxo-thiazolidin-2-one (3a) | | | STANDARD | |
|----------------------|--|-------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| | 300µg (X±δ) | 150µg (X±δ) | 75 µg (X±δ) | Cefalexin 30µg (X±δ) | Ampicilin 10µg (X±δ) |
| (I) | 18.66±0.57 | 16.33±1.15 | 15.33±0.57 | 0 | 0 |
| (II) | 14.33±0.57 | 13.33±0.57 | 12±0 | 1.66±0.57 | 13.33±0.57 |
| (III) | 20.66±1.52 | 17.33±2.08 | 13.66±0.57 | 33.66±0.57 | 39.33±0.57 |
| (IV) | 16.66±0.57 | 15.66±1.15 | 14.5±0.50 | 26.66±0.57 | 16.66±0.57 |
| (V) | 18.33±1.15 | 16.66±0.57 | 15.0 ±0.82 | 34.33±0.57 | 27.66±0.57 |
| (VI) | 21.33±1.52 | 19.0±0.82 | 17.0±0.82 | 0 | 0 |
| (VII) | 18.66±0.57 | 16.0 ±0.82 | 16.5±0.50 | 0 | 0 |
| (VIII) | 22.5±0.50 | 19.66±0.57 | 18.0±0.82 | 0 | 10.33±0.57 |
| (IX) | 20.66±0.57 | 19.33±0.57 | 16.0 ±0.82 | 31.66±0.57 | 35.66±0.57 |
| (X) | 17.0±0.82 | 15.66±0.57 | 14.33±0.57 | 28.33±.57 | 22.33±0.57 |
| (XI) | 28.66±1.15 | 27.66±1.15 | 26.66±1.15 | 35.33±0.57 | 36.33±0.57 |
| (XII) | 26.0±0.82 | 24.66±0.57 | 23.33±0.57 | 35.66±0.57 | 34.66±0.57 |
| (XIII) | 11.33±1.52 | 10.0 ±0.82 | 8.33±1.15 | 22.66±0.57 | 15.66±0.57 |
| (XIV) | 11.5±0.50 | 10.0 ±0.82 | 9.33±0.57 | 29.66±0.57 | 27.66±0.57 |
| (V) | 33.66±1.15 | 32.33±1.15 | 30.33±1.15 | 32.66±0.57 | 35.33±0.57 |
| (XVI) | 20.0 ±0.82 | 18.33±0.57 | 16.66±0.57 | 30.33±0.57 | 27.33±0.57 |

X = Medium function

δ = Standard deviation

Table 5:

| Clinics Isolated | 5-(3-methoxy-4-hydroxybenzylidene)- 4-thioxo-thiazolidine-2-one (3a) | | Cefalexin | | Ampicilin | |
|------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | MBC ($\mu\text{g/mL}$) | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | MBC ($\mu\text{g/mL}$) | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | MBC ($\mu\text{g/mL}$) |
| (I) | 32 | 64 | 128 | >128 | 16 | 32 |
| (II) | 32 | 64 | 16 | 32 | 2 | 4 |
| (III) | 32 | 64 | >128 | >128 | 32 | 64 |
| (IV) | 32 | 64 | 2 | 4 | <1 | 1 |
| (V) | 32 | 64 | 4 | 8 | 2 | 4 |
| (VI) | 32 | 64 | >128 | >128 | 64 | 128 |
| (VII) | 32 | 64 | 128 | >128 | 32 | 64 |
| (VIII) | 16 | 32 | >128 | >128 | 16 | 32 |
| (IX) | 32 | 64 | 4 | 8 | <1 | 1 |
| (X) | 32 | 64 | 8 | 16 | <1 | 1 |
| (XI) | 8 | 16 | <1 | 1 | <1 | 1 |
| (XII) | 16 | 32 | 2 | 4 | <1 | 1 |
| (XIII) | 32 | 64 | 64 | 128 | 4 | 8 |
| (XIV) | 64 | 128 | 64 | 128 | <1 | 1 |
| (XV) | 4 | 8 | 128 | >128 | <1 | 1 |
| (XVI) | 4 | 8 | 64 | 128 | <1 | 1 |

S. aureus (I-X)

Micrococcus spp. (XI-XII)

Staphylococcus coagulase-negative (XIII-XVI)

9.3 Artigo 3

European Journal of Medicinal Chemistry 44 (2009) 2038–2043



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Original article

Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones

Frederico L. Gouveia^a, Renata M.B. de Oliveira^a, Tatiane B. de Oliveira^b, Ivanildo M. da Silva^b, Silene C. do Nascimento^b, Kêsia X.F.R. de Sena^b, Julianna F.C. de Albuquerque^{b,*}^a Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil^b Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 50670-901, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 February 2008

Received in revised form 8 September 2008

Accepted 6 October 2008

Available online 17 October 2008

Keywords:

4-Thioxothiazolidinones

Benzylidene derivatives

Antimicrobial activity

Cytotoxic activity

ABSTRACT

Several 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a–n**) were synthesized and evaluated as antimicrobial agents against representative strains, including multidrug-resistant strains of clinical isolates. Also, the antiproliferative activity was evaluated against two human carcinoma cell lines (NCI-H292 and HEP-2). The compounds containing the 5-arylidene subunit presented greater antimicrobial activities against Gram positive bacteria, including the multidrug-resistant clinical isolates, than the 4-thioxo-thiazolidine-2-one. Important SAR information was also gathered, such as the contribution of thiocarbonyl attached at 4-position on the thiazolidine heterocyclic for antimicrobial properties. None of the derivatives exhibited significant antiproliferative activity against the human carcinoma cell lines.

© 2008 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Infectious diseases are responsible for great number of deaths in the world population. The reduction of sensibility to antimicrobial agents in current use has been increasing for a great variety of pathogens and the resistance to multiple drugs is common for several microorganisms, especially for Gram positive bacteria. Infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant Enterococci (VRE) presents a difficult problem for medicine [1–4]. In addition, the treatment of infectious diseases is more complicated in immuno-suppressed patients, such as those infected with the HIV, undergoing anticancer therapy or transplants. Given the evidence for the rapid global spread of resistant clinical isolates and the appearance of drug-resistant strains among community acquired infections, the need for discovery or optimization of antimicrobial agents active against these resistant strains is of paramount importance. In this context, thiazolidines show remarkable antimicrobial activity [5,6], in addition to various biological properties, such as antiproliferative [7,8], antituberculosis [9], antihyperglycemic [10], antiinflammatory [11], among others [12].

Concurring with previous reports in the literature, illustrating various thiazolidinone derivatives, 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-one has a number of structural contributors which enable

antimicrobial activity. For example, the arylidene group at 5-position [13,14], the presence of halides in arylidene group [13,15,16] and non-substitution in nitrogen N-3. In one recent work, the alkylation at N-3 has not contributed to improve the antimicrobial properties [17]. Although extensive studies exist regarding the SAR between thiazolidinone analogues and biological activity, very little is known about the contribution of thiocarbonyl and the presence of arylidene subunit attached in 5-position to its antimicrobial activity.

In view of the facts mentioned above and as part of our initial efforts to discover potentially active new agents, thirteen 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a–n**) were synthesized and evaluated as antimicrobial agents, including against multidrug-resistant clinical isolates. In addition, the cytotoxicity of these compounds was tested against two human carcinoma cell lines.

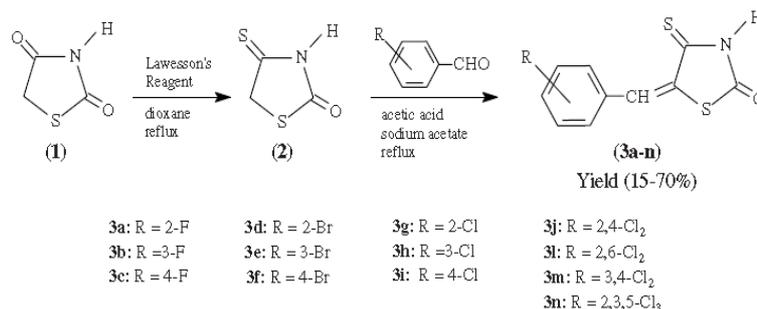
2. Results and discussion

2.1. Chemistry

The title compounds were synthesized as outline in Scheme 1. Thiazolidine-2,4-dione (**1**) was prepared using a prior method [18]. Then, 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**) was obtained using Lawesson's Reagent as an effective thionation reagent [19]. The compounds **3a–n** were prepared by a simple and direct method, which involves the Knoevenagel condensation with different

* Corresponding author. Av. Professor Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, CEP 50670-901 Recife, Pernambuco, Brazil. Tel./fax: +55 81 2126 8347.

E-mail address: julianna@ufpe.br (J.F.C. de Albuquerque).



Scheme 1. Synthesis of 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a-n**).

aromatic aldehydes [19]. The structures of the desired compounds were determined by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR and elemental analyses.

In theory, two geometrical isomers (*E* and *Z*) around the exocyclic double bond (CH=C) are possible for the above 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a-n**). However, all the synthesized compounds exhibited only the configuration *Z*, as expected from the literature and verified by the ¹H NMR spectra. The literature records that the condensation of imidazolidine-2,4-dione with aromatic aldehydes in acid medium, led only to the *Z* isomer [20]. Also, the data of coupled ¹³C NMR spectra indicated that 5-benzylidene thiazolidines and imidazolidines exhibit the *Z* configuration [19,21,22]. This assignment was also confirmed by X-ray crystallographic data [23].

The ¹H NMR spectra of the compounds (**3a-n**) showed one singlet at δ 7.91–8.29 ppm, correspondent to the methine proton, which is in agreement with the *Z* configuration, due to the deshielding effect of the C=S adjacent. The earlier literature reports that the methine proton in *E* isomers appears at lower chemical shift values, due to the lesser deshielding effect of the sulphur atom at 1-position [17,24].

2.2. Pharmacology

2.2.1. Antimicrobial activity

The *in vitro* antimicrobial activity was performed using the disk diffusion method and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) with different strains, including multidrug-resistant clinical isolates. Ampicillin and kanamycin were used as positive controls for bacteria and ketoconazole for yeast. In a preliminary assay (Table 1) 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a-n**) and the intermediate (**2**) showed activity against Gram positive and *Candida albicans* strains, but did not exhibit activity against Gram negative strains. Thiazolidine-2,4-dione (**1**) was inactive for all microorganisms tested, however, demonstrating that the replacing of the carbonyl by thiocarbonyl increased the antimicrobial activity.

The values of the MIC against the microorganisms susceptible in the preliminary test are reported in Table 2. The results showed significant inhibitory effects, and most compounds exhibit MIC values in the 2–16 μ g/mL range. This class of compounds presented high activity against *S. aureus*, especially the 5-substituted compounds, when the derivatives **3h** and **3j** were as active as the standard drug, ampicillin, but less active than cefalexin, the second standard used. Besides, the activity against *Bacillus subtilis* was found for compounds **3f**, **3j** and **3n**; while last one also was active against *Enterococcus faecalis*, in potency comparable with ampicillin. The derivatives **3f**, **3j** and **3l** exhibited significant values of MIC for *Mycobacterium smegmatis*. It is noteworthy that the intermediate **2** was able to inhibit the proliferation of yeast

when it was compared with compounds **3a-n** however, with less potency than ketoconazole (the reference drug). In contrast, the biological data indicated that 5-arylidene subunit is essential for antibacterial activity.

The compounds **2** and **3a-n** were also evaluated for antibacterial activity against a large number of clinical isolates of multidrug-resistant Gram positive bacteria. The values of the MIC are given in Table 3 compared with ampicillin and cefalexin, used as standards. All compounds showed significant inhibitory effects, especially 5-arylidene derivatives, confirming the importance of this substitution in increasing activity to inhibit growth of Gram positive bacteria. The compounds **3a-n** were more potent than cefalexin against most of the microorganisms tested. The most relevant results were verified for strains *S. aureus* III (H.C. 21036) and VI (H.C. 20905), whose inhibitory effect was much greater than that of ampicillin and cefalexin. It is interesting to note that the derivative **3n** showed a greater inhibitory capacity. This suggests that the introduction of three atoms of the halogens to the arylidene group may have exercised an important role to increase antibacterial properties.

Table 1

Inhibitory zone (diameter, mm) of compounds against bacterial and yeast strains using the disk diffusion method.

| Compound | Mean zone inhibition ^a | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | Sa | Bs | Ml | Ef | Pa | Ec | Sm | Ms | Ca |
| 1 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 2 | 19 | 21 | 26 | 22 | – | – | – | 18 | 19 |
| 3a | 24 | 23 | 25 | 20 | – | – | – | 20 | 16 |
| 3b | 28 | 20 | 27 | 22 | – | – | – | 20 | 16 |
| 3c | 29 | 26 | 29 | 24 | – | – | – | 25 | 17 |
| 3d | 25 | 19 | 18 | 19 | – | – | – | 21 | 13 |
| 3e | 28 | 26 | 29 | 25 | – | – | – | 25 | 14 |
| 3f | 23 | 18 | 21 | 17 | – | – | – | 17 | 15 |
| 3g | 25 | 17 | 18 | 16 | – | – | – | 20 | 12 |
| 3h | 31 | 25 | 29 | 22 | – | – | – | 24 | 13 |
| 3i | 27 | 22 | 25 | 17 | – | – | – | 20 | 12 |
| 3j | 23 | 24 | 24 | 18 | – | – | – | 19 | 15 |
| 3l | 20 | 20 | 18 | – | – | – | – | 17 | 15 |
| 3m | 25 | 27 | 27 | 20 | – | – | – | 20 | 14 |
| 3n^b | 16 | – | 21 | 19 | – | – | – | – | – |
| Ampicillin | 38 | 28 | 45 | 24 | NT | 20 | NT | NT | NT |
| Kanamycin | NT | NT | NT | NT | 20 | 15 | 45 | 40 | NT |
| Ketoconazole | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | 28 |

Ampicillin (10 μ g/disc), Kanamycin (30 μ g/disc) and Ketoconazole (25 μ g/disc) were used as positive references; Compounds **1**, **2** and **3a-n** (300 μ g/disc); –, indicates no sensitivity or mean zone inhibition lower than 7 mm; NT, not tested; Sa, *S. aureus*; Bs, *B. subtilis*; Ml, *M. luteus*; Ef, *E. faecalis*; Pa, *P. aeruginosa*; Ec, *E. coli*; Sm, *S. marcescens*; Ms, *M. smegmatis*; Ca, *C. albicans*.

^a Values are mean (n–3).

^b Solubility problems were observed at higher doses.

Table 2
Inhibitory activity of compounds **2** and **3a–n** expressed as MIC ($\mu\text{g/mL}$).

| Compound | Microorganism | | | | | |
|--------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>M. luteus</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>M. smegmatis</i> | <i>C. albicans</i> |
| 2 | 8 | 4 | 4 | 64 | 32 | 8 |
| 3a | 8 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| 3b | 4 | 16 | 16 | 32 | 32 | 64 |
| 3c | 4 | 16 | 16 | 32 | 16 | 32 |
| 3d | 4 | 8 | 16 | 32 | 32 | 32 |
| 3e | 4 | 8 | 8 | 16 | 16 | 64 |
| 3f | 4 | 2 | 8 | 16 | 4 | 32 |
| 3g | 4 | 16 | 16 | 16 | 16 | 32 |
| 3h | 2 | 8 | 8 | 8 | 16 | 32 |
| 3i | 4 | 16 | 32 | 32 | 32 | 64 |
| 3j | 2 | 2 | 8 | 16 | 4 | 32 |
| 3l | 4 | 8 | 16 | 16 | 4 | 32 |
| 3m | 4 | 4 | 4 | 8 | 32 | 32 |
| 3n | 4 | 2 | 4 | 2 | 32 | 64 |
| Ampicillin | 2 | 2 | 2 | 2 | 64 | NT |
| Cefalexin | ≤ 1 | ≤ 1 | ≤ 1 | 64 | >128 | NT |
| Ketoconazole | NT | NT | NT | NT | NT | ≤ 1 |

NT, not tested.

2.2.2. Cytotoxic activity

The in vitro cytotoxic activity was performed by MTT assay [25,26] against two human carcinoma cell lines: NCI-H292 (obtained from mucoepidermoid carcinoma of lung) and HEP-2 (obtained from epidermoid carcinoma of the larynx). The inhibitory effects of compounds **3a–n** on the growth of the two cell lines are shown in Table 4. All compounds showed lower cytotoxicity when they were compared with vincristine, the standard drug used ($\text{IC}_{50} = 0.04$ and $0.003 \mu\text{g/mL}$ for NCI-H292 and HEP-2, respectively). Moreover, they were not able to inhibit 50% of cell proliferation even at the highest dose used ($10 \mu\text{g/mL}$). The antiproliferative effect was only achieved at 45.03% for NCI-H292 cells and at 30.10% for HEP-2 cells. Also, we observed that the NCI-H292 line was more sensitive to synthesized compounds than the HEP-2 line.

Compounds containing thiazolidinedione ring have already been reported as apoptosis inducers in cancer cell strains and more recently have been shown to be active against drug-resistant lung cancer cells. Thus, although this inhibition is still not sufficient, we feel that further research would be able to improve the inhibitory

property. This could be done by putting one or more bulky group(s) in the arylidene ring [27,28].

3. Conclusion

This study demonstrated that the bioisosteric replacement of thiocarbonyl instead of carbonyl in thiazolidine ring, results in an enhancement of antimicrobial activity. Due to its antibacterial properties, especially against multidrug-resistant strains of clinical isolates, the 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones identified here may represent useful starting points for further lead optimization. Studies involving the mechanism of action are necessary for a complete understanding of their antimicrobial activity, as well as structural modifications on the title compounds to improve antiproliferative activity.

4. Experimental

4.1. Chemistry

All melting points were determined using QUIMIS (model 320.23) and are uncorrected. FTIR spectra were recorded on a BRUKER IFS-66 IR spectrophotometer in KBr pellet. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were measured on VARIAN UNITY PLUS (300 MHz for ^1H and 75.4 MHz for ^{13}C). The chemical shifts are reported in δ units and the coupling constants (J) are reported in hertz. C, H, N and S analyses were performed with a Carlo Erba model EA1108 elemental analyzer. Thin layer chromatography was performed on pre-coated silica plates (Merck Kiesegel 60 F₂₅₄) and column chromatography using silica gel (mesh 70–230). The spots could be visualized easily under ultraviolet light.

4.2. General procedure for the preparation of 4-thioxo-thiazolidine-2-one (**2**)

A mixture of thiazolidine-2,4-dione (**1**) (0.1 mol) and Lawesson's reagent (0.03 mol) in anhydrous dioxane, was heated under reflux for 24 h. Part of the solvent was evaporated and, after cooling, the precipitate was filtered, washed with *n*-hexane and recrystallized in ethanol. Yield 68%, mp: 140–141 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3115 (NH); 1710 (C=O). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm): δ 13.54 (s, 1H, NH); 4.60 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$). Anal. Calcd. for $\text{C}_3\text{H}_3\text{NOS}_2$ (133.18): C,

Table 3MIC values (in $\mu\text{g/mL}$) against clinical isolate of multidrug-resistant Gram positive bacterial strains.

| Compound | <i>S. aureus</i> | | | | | | <i>E. faecalis</i> | | | | Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i> | |
|------------|------------------|----------|------|----------|----|------|--------------------|----------|----|----|--|----------|
| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII |
| 2 | 32 | 32 | 32 | 64 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 64 | 64 |
| 3a | 4 | 8 | 2 | 4 | 8 | 8 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 16 |
| 3b | 2 | 16 | 2 | 2 | 2 | 2 | 16 | 8 | 8 | 8 | 16 | 16 |
| 3c | 4 | 32 | 2 | 2 | 2 | 2 | 32 | 32 | 16 | 16 | 32 | 32 |
| 3d | 4 | 16 | 4 | 4 | 4 | 4 | 8 | 16 | 16 | 16 | 2 | 16 |
| 3e | 16 | 32 | 16 | 8 | 8 | 16 | 8 | 16 | 8 | 16 | 64 | 64 |
| 3f | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 4 | 8 | 8 | 8 | 8 | 4 | 4 |
| 3g | 4 | 8 | 2 | 2 | 2 | 2 | 16 | 32 | 16 | 32 | 32 | 8 |
| 3h | 2 | 8 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 16 | 2 |
| 3i | 2 | 8 | 2 | 2 | 2 | 2 | 16 | 16 | 16 | 16 | 4 | 4 |
| 3j | 2 | 4 | 8 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 8 | 8 | 4 | 2 |
| 3l | 8 | 8 | 8 | 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 16 | 16 | 4 | 4 |
| 3m | 2 | 2 | 4 | 2 | 2 | 4 | 8 | 4 | 16 | 16 | 4 | 2 |
| 3n | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 2 | 2 |
| Ampicillin | 2 | ≤ 1 | 32 | ≤ 1 | 2 | 64 | 2 | ≤ 1 | 2 | 2 | ≤ 1 | ≤ 1 |
| Cefalexin | 8 | 2 | >128 | 2 | 4 | >128 | 64 | 64 | 64 | 64 | 128 | 128 |

S. aureus: H.C. 20981 (I), H.C. 21141 (II), H.C. 21036 (III), H.C. 20489 (IV); H.C. 20794 (V) and H.C. 20905 (VI); *E. faecalis*: H.C. 21752 (VII), H.C. 21944 (VIII), H.C. 24708 (IX) and H.C. 24962 (X); Coagulase-negative *Staphylococcus*: H.A.M. 278 (XI) and H.A.M. 338 (XII).

Table 4
Growth inhibitory effects (%) of **3a–n** on human carcinoma cell lines.

| Compound | 10 µg/mL | | 5 µg/mL | | 2.5 µg/mL | | 1.25 µg/mL | |
|-----------|----------|-------|----------|-------|-----------|--------|------------|--------|
| | NCI-H292 | HEp-2 | NCI-H292 | HEp-2 | NCI-H292 | HEp-2 | NCI-H292 | HEp-2 |
| 3a | 40.41 | 11.21 | 25.18 | 8.86 | 7.78 | 1.66 | 4.29 | –8.34 |
| 3b | 26.78 | 20.93 | 13.14 | 19.83 | 3.43 | 7.03 | 2.10 | 0.84 |
| 3c | 38.00 | 30.10 | 31.55 | 20.56 | 17.49 | –4.51 | 7.32 | –10.82 |
| 3d | 36.87 | 21.23 | 22.94 | 16.23 | 16.19 | 10.33 | 13.27 | 3.14 |
| 3e | 42.36 | 23.63 | 22.03 | –1.04 | 11.14 | –1.82 | 4.67 | –5.3 |
| 3f | 36.45 | 18.23 | 16.61 | 15.43 | 1.19 | –0.36 | 1.10 | –3.16 |
| 3g | 45.03 | 21.15 | 34.19 | 5.97 | 19.88 | –11.53 | 10.60 | –11.34 |
| 3h | 30.87 | 18.83 | 21.61 | 17.63 | 11.19 | 5.44 | 3.35 | –0.36 |
| 3i | 41.39 | 22.25 | 35.83 | 16.07 | 28.55 | 3.91 | 10.01 | 0.92 |
| 3j | 38.37 | 24.83 | 29.28 | 20.03 | 14.69 | 15.33 | 12.11 | 6.83 |
| 3l | 32.80 | 8.73 | 10.34 | –2.39 | 7.70 | –4.24 | 4.36 | –9.16 |
| 3m | 43.28 | 16.41 | 35.83 | 11.02 | 19.36 | 5.03 | 9.18 | –5.45 |
| 3n | 40.50 | 23.54 | 39.68 | 22.84 | 33.01 | 21.75 | 14.21 | 12.58 |

27.06; H, 2.27; N, 10.52; S, 48.14. Found: C, 27.18; H, 2.47; N, 10.22; S, 48.74.

4.3. General procedure for the preparation of 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones (**3a–n**)

To a solution of compound **2** (0.01 mol) and anhydrous sodium acetate (0.01 mol) in glacial acetic acid, was added the respective aromatic aldehyde. The mixture was stirred under reflux for 1–10 h and then poured into ice-cold water. Then, the precipitate was filtered, washed with water and *n*-hexane, dried and purified by column chromatography.

4.3.1. 5-(2-Fluorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3a**)

Yield 30%, mp: 159–160 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3163–3080 (NH); 1690 (C=O); 1592 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 13.97 (s, 1H, NH); 8.14 (s, 1H, –CH=); 7.62–7.54 (m, 2H, Ar); 7.41–7.35 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 116.35 (d, *J*_{CF} = 21.3), 125.53 (d, *J*_{CF} = 3.0), 126.39 (d, *J*_{CF} = 6.97), 128.61, 133.23 (d, *J*_{CF} = 9.0) (CH); 121.50 (d, *J*_{CF} = 11.0), 131.88, 161.09 (d, *J*_{CF} = 251.4) (Cq); 170.43 (C=O); 195.41 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆FNOS₂ (239.28): C, 50.20; H, 2.53; N, 5.85; S, 26.80. Found: C, 50.42; H, 2.54; N, 5.79; S, 21.09.

4.3.2. 5-(3-Fluorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3b**)

Yield 20%, mp: 103–104 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3080 (NH); 1700 (C=O); 1586 (C=C). ¹H NMR (Acetone-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 10.53 (s, 1H, NH); 8.12 (s, 1H, –CH=); 7.66–7.16 (m, 4H, Ar). Anal. Calcd. for C₁₀H₆FNOS₂ (239.28): C, 50.20; H, 2.53; N, 5.85; S, 26.80. Found: C, 50.60; H, 2.54; N, 5.70; S, 21.19.

4.3.3. 5-(4-Fluorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3c**)

Yield 18%, mp: 126–127 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3068 (NH); 1727 (C=O); 1573 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 13.89 (s, 1H, NH); 8.06 (s, 1H, –CH=); 7.76–7.71 (m, 2H, Ar); 7.41–7.35 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 116.70 (d, *J*_{CF} = 22.05), 133.06 (d, *J*_{CF} = 9.0), 134.73 (CH); 129.58 (d, *J*_{CF} = 2.55), 130.12 (d, *J*_{CF} = 3.0), 163.10 (d, *J*_{CF} = 250.87) (Cq); 170.54 (C=O); 195.43 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆FNOS₂ (239.28): C, 50.20; H, 2.53; N, 5.85; S, 26.80. Found: C, 50.40; H, 2.74; N, 5.29; S, 21.11.

4.3.4. 5-(2-Bromobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3d**)

Yield 39%, mp: 214–215 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3161–3080 (NH); 1710 (C=O); 1580 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 14.06 (s, 1H, NH); 8.25 (s, 1H, –CH=); 7.80 (d, 1H, Ar); 7.62–7.52 (m, 2H, Ar); 7.45–7.39 (m, 1H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm): δ 126.00, 128.69, 129.10, 132.38, 132.80, 133.73, 133.64,

133.73; 170.54 (C=O); 195.25 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆BrNOS₂ (300.19): C, 40.01; H, 2.01; N, 4.67; S, 21.36. Found: C, 40.07; H, 2.01; N, 4.79; S, 21.19.

4.3.5. 5-(3-Bromobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3e**)

Yield 40%, mp: 214–215 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3149–3064 (NH); 1685 (C=O); 1587 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 13.96 (s, 1H, NH); 8.02 (s, 1H, –CH=); 7.87 (s, 1H, Ar); 7.71–7.63 (m, 2H, Ar); 7.49 (t, 1H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 122.59, 128.53, 131.45, 133.09, 133.29 (CH); 131.32, 133.86, 135.82 (Cq); 170.37 (C=O); 195.35 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆BrNOS₂ (300.19): C, 40.01; H, 2.01; N, 4.67; S, 21.36. Found: C, 40.21; H, 2.01; N, 4.41; S, 21.56.

4.3.6. 5-(4-Bromobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3f**)

Yield 22%, mp: 188–189 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3161–3075 (NH); 1688 (C=O); 1582 (C=C). ¹H NMR (Acetone-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 8.09 (s, 1H, –CH=); 7.78–7.73 (m, 2H, Ar); 7.68–7.63 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (Acetone-*d*₆, 75.4 MHz, ppm): δ 126.15, 130.28, 132.09, 133.09, 133.62, 134.08, 134.59, 135.95; 170.83 (C=O); 196.75 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆BrNOS₂ (300.19): C, 40.01; H, 2.01; N, 4.67; S, 21.36. Found: C, 40.03; H, 2.31; N, 4.79; S, 21.49.

4.3.7. 5-(2-Chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3g**)

Yield 40%, mp: 166–167 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3166–3080 (NH); 1715 (C=O); 1581 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 14.05 (s, 1H, NH); 8.29 (s, 1H, –CH=); 7.65–7.61 (m, 2H, Ar); 7.54–7.49 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm): δ 128.19, 128.93, 130.47, 130.82, 131.59, 132.21, 132.74, 135.13; 170.48 (C=O); 195.31 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆ClNOS₂ (255.74): C, 46.97; H, 2.36; N, 5.48; S, 25.07. Found: C, 47.07; H, 2.41; N, 5.48; S, 25.27.

4.3.8. 5-(3-Chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3h**)

Yield 17%, mp: 112–113 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3081 (NH); 1686 (C=O); 1589 (C=C). ¹H NMR (Acetone-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 12.26 (s, 1H, NH); 8.08 (s, 1H, –CH=); 7.70 (s, 1H, Ar); 7.66–7.52 (m, 3H, Ar). ¹³C NMR (Acetone-*d*₆, 75.4 MHz, ppm): δ 129.77, 131.67, 131.88, 132.53, 132.79, 135.49, 136.29, 137.45; 189.88 (C=O); 196.56 (C=S). Anal. Calcd. for C₁₀H₆ClNOS₂ (255.74): C, 46.97; H, 2.36; N, 5.48; S, 25.07. Found: C, 47.17; H, 2.21; N, 5.48; S, 25.27.

4.3.9. 5-(4-Chlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (**3i**)

Yield 15%, mp: 183–184 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3161–3080 (NH); 1691 (C=O); 1577 (C=C). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): δ 13.93 (s, 1H, NH); 8.04 (s, 1H, –CH=); 7.69–7.66 (m, 2H, Ar); 7.61–7.58 (m, 2H, Ar). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75.4 MHz, ppm, DEPT):

δ 129.54, 132.07, 134.33 (CH); 130.43, 132.28, 135.50 (Cq); 170.43 (C=O); 195.39 (C=S). Anal. Calcd. for $C_{10}H_6ClNOS_2$ (255.74): C, 46.97; H, 2.36; N, 5.48; S, 25.07. Found: C, 46.09; H, 2.51; N, 5.48; S, 25.37.

4.3.10. 5-(2,4-Dichlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3j)

Yield 54%, mp: 162–163 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3041 (NH); 1733 (C=O); 1573 (C=C). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm): δ 8.22 (s, 1H, -CH=); 7.85 (d, 1H, Ar); 7.66 (m, 2H, Ar). ^{13}C NMR (Acetone- d_6 , 75.4 MHz, ppm): δ 129.73, 131.40, 131.67, 132.68, 133.46, 134.74, 137.84, 138.08; 170.87 (C=O); 196.61 (C=S). Anal. Calcd. for $C_{10}H_5Cl_2NOS_2$ (290.18): C, 41.39; H, 1.74; N, 4.83; S, 22.10. Found: C, 41.56; H, 1.91; N, 4.78; S, 22.27.

4.3.11. 5-(2,6-Dichlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3l)

Yield 41%, mp: 191–192 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3190–3111 (NH); 1715 (C=O); 1604 (C=C). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm): δ 7.91 (s, 1H, -CH=); 7.60–7.57 (m, 2H, Ar); 7.51–7.45 (m, 1H, Ar). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75.4 MHz, ppm): δ 128.58, 130.15, 131.93, 132.19, 133.04, 138.02, 168.50; 170.43 (C=O); 195.39 (C=S). Anal. Calcd. for $C_{10}H_5Cl_2NOS_2$ (290.18): C, 41.39; H, 1.74; N, 4.83; S, 22.10. Found: C, 41.57; H, 1.96; N, 4.78; S, 22.37.

4.3.12. 5-(3,4-Dichlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3m)

Yield 55%, mp: 183–184 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3161–3080 (NH); 1685 (C=O); 1583 (C=C). 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm): δ 13.99 (s, 1H, NH); 8.00 (s, 1H, -CH=); 7.94 (d, 1H, $J_m = 2.1$, Ar); 7.78 (d, 1H, $J_o = 8.4$, Ar); 7.60 (dd, 1H, $J_o = 8.3$, $J_m = 2.1$, Ar). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75.4 MHz, ppm, DEPT): δ 129.27, 131.51, 132.50, 132.77 (CH); 131.73, 132.20, 133.14, 134.11 (Cq); 168.49 (C=O); 170.22 (C=S). Anal. Calcd. for $C_{10}H_5Cl_2NOS_2$ (290.18): C, 41.39; H, 1.74; N, 4.83; S, 22.10. Found: C, 41.46; H, 1.92; N, 4.79; S, 22.27.

4.3.13. 5-(2,3,5-Trichlorobenzylidene)-4-thioxo-thiazolidine-2-one (3n)

Yield 70%, mp: 186–187 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3103–3057 (NH); 1753 (C=O); 1600 (C=C). 1H NMR (Acetone- d_6 , 300 MHz, ppm): δ 8.24 (s, 1H, -CH=); 7.82 (d, 1H, $J_m = 2.4$, Ar); 7.62 (d, 1H, $J_m = 2.4$, Ar). Anal. Calcd. for $C_{10}H_4Cl_3NOS_2$ (324.63): C, 37.00; H, 1.24; N, 4.31; S, 19.75. Found: C, 37.02; H, 1.25; N, 4.32; S, 19.85.

4.4. In vitro assay for antimicrobial activity

The microorganisms used in this study are *S. aureus* (UFPEDA 01), *B. subtilis* (UFPEDA 16), *M. luteus* (UFPEDA 06), *E. faecalis* (UFPEDA 138), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 39), *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Serratia marcescens* (UFPEDA 398), *M. smegmatis* (UFPEDA 71) and *C. albicans* (UFPEDA 1007) obtained from the cultures collection of the Antibiotics Department of the Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil. Strains of multidrug-resistant clinical isolates were also used and consisted of *S. aureus* (20981, 21141, 21036, 20489, 20794 and 20905), *E. faecalis* (21752, 21944, 24708 and 24962) obtained from Bacteriology Department of University Hospital of the Federal University of Pernambuco and Coagulase-negative *Staphylococcus* (278 and 338), obtained from Bacteriology Department of the Agamenon Magalhães Hospital, Pernambuco, Brazil. The clinical isolates were collected from various patients hospitalized in several clinics.

The antimicrobial activity was reported preliminarily using the disk diffusion method [29]. In this method, paper disks (6 mm) containing specific amounts of an antimicrobial agent (300 μ g for the synthesized compounds) were placed on the surface of an agar plate inoculated with a standardized suspension of the

microorganisms tested. The plates were incubated at 35 °C for 24 and 48 h, for bacteria and yeast respectively. Ketoconazole (25 μ g) for yeast, ampicillin (10 μ g) for Gram positive bacteria and kanamycin (30 μ g) for Gram negative bacteria, were used as standard drugs. Paper disks with only DMSO were utilized as negative controls.

A twofold serial dilution technique [30,31] was followed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the compounds against the susceptible microorganisms in the preliminary test (yeast and Gram positive bacteria) and against strains of clinical isolates of multidrug-resistant Gram positive bacteria. Test compounds, dissolved in DMSO, were added to culture media (Müller–Hinton agar for bacteria and Sabouraud Liquid Medium for yeast) to obtain final concentrations ranging from 128–1 μ g/mL. A plate (tube for *C. albicans*) containing only the culture medium and DMSO was used as negative control. The final amount applied was of 10^5 CFU/plate for bacteria and 10^3 CFU/tube for yeast. The MIC values were read after incubation at 35 °C for a period of 20 h (bacteria) and 48 h (yeast). The lowest concentration of the test substance that completely inhibited the growth of the microorganism was recorded as the MIC, expressed in μ g/mL. Ampicillin, cefalexin (bacteria) and ketoconazole (yeast) were used as standard drugs. All experiments were carried out three times.

4.5. In vitro assay for cytotoxic activity

The human lung carcinoma cell line (NCI-H292) and the human larynx carcinoma cell line (HEp-2) were purchased from the Adolfo Lutz Institute, São Paulo, Brazil. A DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), enriched with 10% of fetal bovine serum, 1% of L-glutamine and 1% of antibiotics (penicillin and streptomycin), was used for cell cultivation and to perform the tests.

The cytotoxic activity was investigated using the MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Cell suspensions were diluted to 10^5 cells/mL, suitably prepared and distributed in plates of culture with 96 wells (225 μ L in each well), then incubated at 37 °C in a humid atmosphere with 5% of CO_2 . After 24 h, 25 μ L of either the synthesized compounds or the reference drug (vincristine) was added to each well. The plates were incubated again at 37 °C for 72 h. Then, 25 μ L of MTT solution (5 mg/mL) was added to each well, and the mixture was incubated at 37 °C for 2 h. At the end of this period, the culture medium with the MTT excess was aspirated and after that, 100 μ L of DMSO was added to each well to dissolve the formazan crystals. The optical density (OD) of the wells was measured at 540 nm and compared to the control (cells with medium only). The assay was conducted in triplicate.

Acknowledgments

The authors acknowledge the Research Foundation of Pernambuco State (FACEPE), the Brazilian National Research Council (CNPq) for the financial support and Department of Fundamental Chemistry of UFPE for the analyses realized. F.L.G. was supported by FACEPE/CNPq fellowship.

References

- [1] F.C. Tenover, Clin. Infect. Dis. 33 (Suppl. 3) (2001) S108–S115.
- [2] D.C. Hooper, Clin. Infect. Dis. 33 (Suppl. 3) (2001) S157–S160.
- [3] K. Nagai, T.A. Davies, M.R. Jacobs, P.C. Appelbaum, Antimicrob. Agents Chemother. 46 (2002) 1273–1280.
- [4] R.F. Peltz, B.J. Wilkinson, Curr. Drug Targets Infect. Disord. 4 (2004) 273–294.
- [5] H.M. Salama, I.M. Labouta, M.A. Moustafa, Alex. J. Pharm. Sci. 4 (1990) 44–46.
- [6] C.G. Bonde, N.J. Gaikwad, Bioorg. Med. Chem. 12 (2004) 2151–2161.
- [7] R. Ottanà, S. Carotti, R. Maccari, I. Landini, G. Chiricosta, B. Caciagli, M.G. Vigorita, E. Mini, Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 (2005) 3930–3933.
- [8] W. Li, Y. Lu, Z. Wang, J.T. Dalton, D.D. Miller, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17 (2007) 4113–4117.

- [9] K. Babaoglu, M.A. Page, V.C. Jones, M.R. McNeil, C. Dong, J.H. Naismith, R.E. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003) 3227–3230.
- [10] H. Yanagisawa, M. Takamura, E. Yamada, S. Fujita, T. Fujiwara, M. Yachi, A. Isobe, Y. Hagsawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (2000) 373–375.
- [11] R. Ottanà, R. Maccari, M.L. Barreca, G. Bruno, A. Rotondo, A. Rossi, G. Chiricosta, R.D. Paola, L. Sautebin, S. Cuzzocrea, M.G. Vigorita, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 4243–4252.
- [12] A. Verma, S.K. Saraf, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 897–905.
- [13] P. Vicini, A. Geronikaki, K. Anastasia, M. Incerti, F. Zani, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 3859–3864.
- [14] J.V. Mandlik, V.A. Patwardhan, K.S. Nargund, *J. Univ. Poona. Sci. Technol.* 32 (1966) 43; *Chem. Abstr.* 68 (1968) 87228.
- [15] M. Tunçbilek, N. Altanlar, *Il Farmaco* 54 (1999) 475–478.
- [16] U. Albrecht, D. Gördes, E. Schmidt, K. Thurow, M. Lalk, P. Langer, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 4402–4407.
- [17] O. Bozdağ-Dündar, Ö. Özgen, A. Menteşe, N. Altanlar, O. Ath, E. Kendi, R. Ertan, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 6012–6017.
- [18] D. Libermann, J. Himbert, L. Hengl, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 15 (1948) 1120–1124.
- [19] J.F.C. Albuquerque, S.L. Galdino, J. Cantegrel, F. Thomasson, I.R. Pitta, C. Luu-Duc, *Ann. Pharm. Fr.* 55 (1997) 201–205.
- [20] S.F. Tan, K.P. Ang, Y.F. Fong, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1986) 1941–1944.
- [21] J.F.C. Albuquerque, A. Albuquerque, C.C. Azevedo, F. Thomasson, L.S. Galdino, J. Cantegrel, M.T.J. Catanho, I.R. Pitta, C. Luu-Duc, *Pharmazie* 50 (1995) 387–389.
- [22] U. Vögeli, W. Philipsborn, K. Nagarajan, M.D. Nair, *Helv. Chim. Acta* 61 (1978) 607–617.
- [23] G. Bruno, L. Costantino, C. Curinga, R. Maccari, F. Monforte, F. Nicolò, R. Ottanà, M.G. Vigorita, *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 1077–1084.
- [24] T. Ishida, Y. In, M. Inoue, C. Tanaka, N. Hamanaka, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* (1990) 1085–1091.
- [25] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* 65 (1983) 55–63.
- [26] M.C. Alley, D.A. Scudiero, A. Monks, M.L. Hursey, M.J. Czerwinski, D.L. Fine, B.J. Abbott, J.G. Mayo, R.H. Shoemaker, M.R. Boyd, *Cancer Res.* 48 (1988) 589–601.
- [27] H. Zhou, S. Wu, S. Zhai, A. Liu, Y. Sun, R. Li, Y. Zhang, S. Ekins, P.W. Swaan, B. Fang, B. Zhang, B. Yan, *J. Med. Chem.* 51 (2008) 1242–1251.
- [28] V. Gududuru, E. Hurh, J.T. Dalton, D.D. Miller, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 2584–2588.
- [29] Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard M2–A8, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA; 2003.
- [30] Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard M7–A6, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA; 2003.
- [31] Clinical and Laboratory Standards Institute, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard M27–A2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA; 2002.