

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NOVAS 4-TIAZOLIDINONAS OBTIDAS A PARTIR DE FORMILPIRIDINA TIOSEMICARBAZONAS

George Leonardo Verçoza, Dannel Delmondes Feitoza, Antônio José Alves, Thiago Mendonça de Aquino e José Gildo de Lima*

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50470-521 Recife – PE, Brasil
Janete Magali Araújo, Ivana Gláucia B. Cunha e Alexandre José da Silva Góes

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-901 Recife – PE, Brasil

Recebido em 14/5/08; aceito em 13/2/09; publicado na web em 3/7/09

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF NEW 4-THIAZOLIDONES DERIVED FROM FORMILPYRIDINE THIOSEMICARBAZONES. Twelve novel 4-thiazolidinone derivatives (**2a-l**) have been synthesized by reacting formilpyridine thiosemicarbazones (**1a-l**) and anhydride maleic in toluene. Their chemical structures were confirmed by IR, ¹H and ¹³C NMR. The new compounds were submitted to *in vitro* evaluation against pathogenic Gram-positive, Gram-negative bacteria and yeasts. The findings obtained showed that the compounds **2a**, **2d**, **2e** and **2g** were effective against some of the bacterial strains used, whereas the compounds **2d**, **2e** and **2i** exhibited a moderate antifungal activity against the yeast strains evaluated. An initial structure activity relationship (SAR) was established.

Keywords: 4-thiazolidinones; formilpyridine thiosemicarbazones; antimicrobial activities.

INTRODUÇÃO

O aumento da resistência a antibióticos, principalmente em populações bacterianas de origem hospitalar, é um assunto que vem sendo bastante estudado por pesquisadores da academia e das indústrias farmacêuticas. Na verdade, diversas bactérias, que anteriormente apresentavam sensibilidades às substâncias utilizadas nos tratamentos clínicos, passaram a ser resistentes a quase todos os fármacos disponíveis no mercado, tornando-se micro-organismos multirresistentes.^{1,2}

Atualmente, tem-se aumentado a procura por fármacos mais eficazes e seguros, que causem menos efeitos colaterais possíveis, proporcionando aos seus usuários menor rejeição e maior sucesso nos tratamentos. Nesse contexto, a química orgânica medicinal através dos planejamentos e modificações moleculares tem contribuído para a maior parte das novas descobertas, observando-se um crescimento considerável de compostos sintéticos para uso medicinal, os quais têm sido empregados no combate às diversas doenças. Os grupos bioisósteros possuem grande aplicação no planejamento de novos fármacos. Substituição clássica isostérica quando aplicada em um anel leva a diferentes sistemas heterocíclicos análogos que podem ser bioisósteros eficazes. De fato, a substituição do benzeno pelo heterociclo tiofeno ou piridina resultou em análogos estruturais com retenção da atividade biológica no âmbito de diferentes séries de agentes farmacológicos.^{3,4} O sucesso do emprego de bioisosterismo como estratégia no desenvolvimento de novas substâncias farmacoterapeuticamente atraentes tem observado significativo crescimento em distintas classes terapêuticas.⁵

4-tiazolidinonas representam uma classe de compostos de grande interesse científico devido as suas propriedades químicas e ao extenso espectro de atividades biológicas. O anel 4-tiazolidinona possui vários sítios de substituição, o que leva a um grande número de análogos estruturais. Portanto, as diferentes atividades biológicas podem ser atribuídas a grupos substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel (Figura 1a), onde promovem modificações nos parâmetros físico-químicos e estruturais (lipofílicos, eletrônicos, polares e estéricos) das moléculas.⁶

A enzima enolpiruvil uridina difosfato *N*-acetilglucosamina reductase (Mur B), uma flavoproteína que ocorre em procariontes, tem papel fundamental na biossíntese do peptidoglicano da parede celular bacteriana, que é de vital importância para a manutenção da integridade celular.^{7,8} Recentemente, as 4-tiazolidinonas substituídas têm sido relatadas na literatura como potenciais novos agentes inibidores da enzima Mur B. De fato, Andres *et al.*⁷ demonstraram uma potencial inibição dessa enzima por 4-tiazolidinonas 2,3,5-trissubstituídas, contendo um grupo ácido acético α -substituído em *N*-3. Em trabalho recente, Kavitha *et al.*⁹ relataram que 4-tiazolidinonas substituídas em *N*-3 contendo o grupo 1-[2-amino-1-(4-metóxi-fenil)-etil]-ciclo-hexanol apresentam atividade significativa para *Pseudomonas fluorescens* e *Trichoderma spp.* Os compostos apresentaram menores valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI) quando comparados com fármacos padrões, como estreptomicina e nistatina.

Trabalhos recentes desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa demonstraram que 4-tiazolidinonas contendo grupo ácido acético na posição 5, bem como com uma função aril-hidrazona substituída na posição 2 do anel tiazolidinônico, possuem consideráveis atividades antibióticas para várias bactérias e fungos (Figura 1b).^{10,11}

Com base nesses dados, o presente trabalho foi desenvolvido buscando sintetizar novos análogos estruturais das 4-tiazolidinonas baseado no conceito de bioisosterismo como modificação molecular (Figura 1c). Assim, nesta nova série o anel piridina foi escolhido como ciclo equivalente do grupo arila, sobretudo em relação aos derivados arilnitrosados. Além do mais, a variação dos substituintes R no anel 4-tiazolidinona visa a realizar uma possível relação estrutura-atividade contra diversos agentes microbianos.

PARTE EXPERIMENTAL

Os pontos de fusão foram medidos através dos aparelhos modelo Q.340.23-Quimis, em tubos capilares imersos em banho de silicone. A cromatografia em coluna foi efetuada, sob pressão, utilizando-se sílica gel 60 Merck 230-400 Mesh, segundo a técnica *flash*. A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando placas de sílica gel (Merck 60 F₂₅₄) de 0,25 mm de espessura ou placas de óxido de

*e-mail: jgildolima@gmail.com

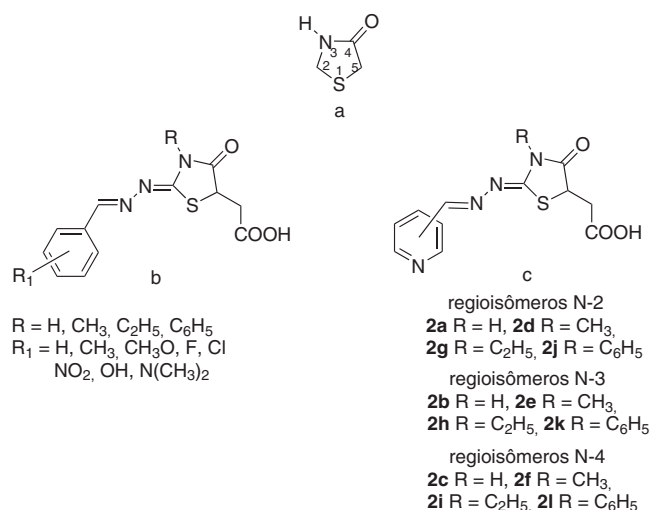


Figura 1. Estrutura geral da 4-tiazolidinona e dos análogos estruturais

alumínio neutro (Merck 60 F₂₅₄, tipo-E) de 0,2 mm de espessura. A revelação foi realizada por ultravioleta (UV) (254 nm). Os espectros de IV (ν , cm⁻¹ em pastilha de KBr) foram obtidos em um espectrômetro Bruker modelo IFS 66. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos em um aparelho Unityplus, 300 MHz, Varian, utilizando-se DMSO-d₆ como solvente. Os deslocamentos químicos (δ) indicados, expressos em ppm, foram medidos em relação ao tetrametilsilano, utilizado como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hertz (Hz) e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: s = singleto, d = dubleto, dd = duplo dubleto, t = tripleto, q = quarteto, m = multipletto.

Procedimento geral de obtenção dos derivados 4-tiazolidinônicos (2a-l)

Síntese do ácido [2-(2-piridinil-metileno-hidrazono)-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (**2a**)

Em um balão acoplado a aparelho Dean Stark contendo 259 mg (1,44 mmol) de 2-formilpiridina tiossemicarbazona **1a** e 155 mg (1,58 mmol) de anidrido maléico, adicionou-se 10 mL de tolueno seco. A mistura foi aquecida sob agitação vigorosa até refluxo. Posteriormente, adicionou-se à suspensão 2 mL de DMF, gota a gota, até total solubilização. A mistura reacional foi refluxada por 7 h. A reação foi acompanhada por CCD em placas de sílica utilizando o sistema AcOEt/Hexano (8:2). Após o resfriamento, o excesso de tolueno foi removido sob pressão reduzida e, então, a mistura foi diluída com água e extraída com acetato de etila (3 x 10 mL). A fase orgânica foi lavada com água, seca com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotatório. O produto foi purificado por recristalização em MeOH seguida de lavagem com água, fornecendo 208 mg (0,75 mmol) do ácido [2-(2-piridinil-metileno-hidrazono)-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético **2a**, na forma de um sólido de aspecto amorfo e coloração bege, com rendimento de 52%. P.f. = 275-276 °C.; IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 3448 (OH), 1747 (CO₂H), 1636 (C=O, lactama), 1585 (N=C), 1575 (CH=N), 1312 (NCS); RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz/ppm): 12,47 (1H, s, OH), 11,65 (1H, s, NH), 8,32 (1H, s, CH=N), 4,40 (1H, dd, S-CH, J = 8,4 Hz, J = 3,6 Hz), 3,04 (1H, dd, CH₂, J = 17,1 Hz, J = 3,6 Hz), 2,95 (1H, dd, CH₂, J = 17,1 Hz, J = 8,4 Hz), piridina: 8,64 (1H, d, J = 3,3 Hz, Hb), 7,46 (1H, m, Hc), 7,89 (1H, t, J = 7,2 Hz, Hb'), 7,97 (1H, d, J = 7,8 Hz, Ha'), RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,4 MHz/ppm): 175,60 (COOH), 171,80 (C=O, lactama), 156,30 (C=N), 152,80 (CH=N), piridina: 149,73; 136,99; 134,01; 124,96; 120,79, 43,70 (S-CH), 36,50 (CH₂).

Síntese do ácido [2-(3-piridinil-metileno-hidrazono)-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (**2b**)

Foram utilizados 259 mg (1,44 mmol) de 3-formilpiridina tiossemicarbazona **1b** e o tempo de reação foi de 7 h. Obteve-se 216 mg (0,78 mmol) do produto **2b** puro, um sólido de aspecto amorfo e coloração marrom, com um rendimento de 54%, após lavagem a quente com MeOH e água. P.f. = 258-260 °C. IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 3417 (OH), 1745 (CO₂H), 1641 (C=O, lactama), 1580 (N=C), 1571 (CH=N) 1321 (NCS); RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz/ppm): 12,41 (OH / NH), 8,46 (1H, s, CH=N); 4, 49 (1H, dd, S-CH, J = 8,1 Hz, J = 4,5 Hz), 3,02 (1H, dd, CH₂, J = 17,4 Hz, J = 4,5 Hz) 2,93 (1H, dd, CH₂, J = 17,4 Hz, J = 8,1 Hz, CH₂, J = 8,7 Hz); piridina: 8, 88 (1H, s, Ha), 8, 63 (1H, d, J = 3,8 Hz, Hc), 7,48 (1H, m, Hb'), 8,13 (1H, d, J = 7,8 Hz, Ha'). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,4 MHz/ppm): 175,4 (COOH), 171,7 (C=O, lactama), 165,4 (C=N), 153,7 (CH=N), piridina: 151,20; 149,23; 134,02; 130,07; 124,07, 43,6 (SCH), 36,5 (CH₂).

Ácido [2-(4-piridinil-metileno-hidrazono)-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (**2c**)

Foram utilizados 259 mg (1,44 mmol) de 4-formilpiridina tiossemicarbazona **1c** e o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 240 mg (0,86 mmol) do produto **2c** puro, um sólido de aspecto amorfo e coloração alaranjada, com um rendimento de 60%, após recristalização em MeOH. P.f. = 262-264 °C. IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 3433 (OH), 1737 (CO₂H), 1620 (C=O, lactama), 1595 (N=C), 1585 (CH=N) 1320 (NCS); RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz/ppm): 12,41 (OH e NH), 8,41 (1H, s, CH=N), 4,39 (1H, dd, S-CH, J = 8,7 Hz, J = 3,9 Hz), 3,03 (1H, dd, CH₂, J = 17,7 Hz, J = 3,9 Hz), 2,94 (1H, dd, CH₂, J = 17,7 Hz, J = 8,7 Hz), piridina: 8,65 (2H, d, J = 5,7 Hz, Hb, b'), 7,67 (2H, d, J = 5,7 Hz, Ha, a'); RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,4 MHz/ppm): 175,5 (COOH), 171,8 (C=O, lactama), 166,9 (C=N), 154,3 (CH=N), piridina: 150,31; 141,20; 121,40, 43,7 (SCH), 36,5 (CH₂).

Ácido [2-(2-piridinil-metileno-hidrazono)-3-metil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (**2d**)

Foram utilizados 150 mg (0,77 mmol) de 2-formilpiridina 4-metil-3-tiossemicarbazona **1d** e 83 mg (0,85 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 121,5 mg (0,42 mmol) do produto **2d** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-escuro, com um rendimento de 54% após recristalização em MeOH/H₂O (7:3). P.f. = 235-236 °C. IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 3286 (OH), 1732 (CO₂H), 1688 (C=O, lactama), 1575 (N=C), 1553 (CH=N), 1387 (NCS); RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz/ppm): 12,69 (1H, s, OH), 8,39 (1H, s, CH=N), 4,43 (1H, dd, SCH, J = 8,4 Hz, J = 4,5 Hz), 3,10 (3H, s, CH₃), 2,95 - 3,20 (2H, m, CH₂), piridina: 8,60 - 8,624 (1H, m, Hb), 7,40 - 7,45 (1H, m, Hc), 7,81-8,01 (2H, m, Ha', Hb'). RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,40 MHz/ppm): 177,90 (COOH), 173,80 (C=O, lactama), 171,70 (C=N), 157,50 (CH=N), piridina: 149,34; 141,93; 136,48; 125,05; 120,06, 42,7 (SCH), 36,60 (CH₂), 29,50 (CH₃).

Ácido [2-(3-piridinil-metileno-hidrazono)-3-metil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (**2e**)

Foram utilizados 350 mg (1,80 mmol) de 3-formilpiridina 4-metil-3-tiossemicarbazona **1e** e 195 mg (1,99 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 263 mg (0,90 mmol) do produto **2e** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-claro, com um rendimento de 50% após recristalização em AcOH/H₂O (8:2). P.f. = 220-222 °C. IV FT (ν cm⁻¹ KBr): 3455 (OH), 1733 (CO₂H), 1623 (C=O, lactama), 1578 (N=C), 1553 (CH=N), 1360 (NCS); RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz/ppm): 12,81 (1H, s, OH), 8,56 (1H, s, CH=N), 4,42 (1H, dd, S-CH, J = 8,4 Hz, J = 3,9 Hz), 3,17 (3H, s, CH₃), 3,08 (1H, dd, CH₂, J = 17,7 Hz, J = 3,9 Hz), 2,95 (1H, dd, CH₂, J = 17,7 Hz, J = 8,4 Hz), piridina: 8,90 (1H, s, Ha), 8,63 (1H, d, J = 4,8 Hz, Hc), 7,49 (1H, dd,

$J = 8,1$ Hz, $J = 4,8$ Hz, Hb'), $8,15$ (1H, d, $J = 8,1$ Hz, Ha'); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,8 (COOH), 171,7 (C=O, lactama), 165,3 (C=N), 155,1 (CH=N), piridina: 151,39; 149,35; 134,12; 129,91; 124,11, 42,7 (SCH), 36,7 (CH $_2$), 29,4 (CH $_3$).

Ácido [2-(4-piridinil-metileno-hidrazono)-3-metil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2f)

Foram utilizados 300 mg (1,44 mmol) de 4-formilpiridina 4-metil-3-tiossemicarbazona **1f** e 166 mg (1,69 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 198 mg (0,68 mmol) do produto **2f** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-claro, com um rendimento de 44% após recristalização em EtOH/H $_2$ O (8:2), fornecendo um sólido amorfo de coloração marrom-claro. P.f. = 270-272 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3286 (OH), 1731 (CO $_2$ H), 1688 (C=O, lactama), 1573 (N=C), 1553 (CH=N), 1340 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz/ppm): 8,53 (1H, s, CH=N), 4,43 (1H, dd, S-CH, $J = 8,7$ Hz, $J = 3,9$ Hz), 3,18 (3H, s, CH $_3$), 3,07 (1H, dd, CH $_2$, $J = 17,7$ Hz, $J = 3,9$ Hz), 2,93 (2H, dd, CH $_2$, $J = 17,7$ Hz, $J = 8,7$ Hz), piridina: 8,67 (2H, d, $J = 6,0$ Hz, Hb , Hb'), 7,70 (2H, d, $J = 6$ Hz, Ha , Ha'); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,8 (COOH), 171,7 (C=O, lactama), 155,6 (C=N), 150,4 (CH=N), piridina: 150,02; 141,09; 121,48, 42,7 (SCH), 36,6 (CH $_2$), 29,5 (CH $_3$).

Ácido [2-(2-piridinil-metileno-hidrazono)-3-etil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2g)

Foram utilizados 298 mg (1,44 mmol) de 2-formilpiridina 4-etil-3-tiossemicarbazona **1g** e 155 mg (1,58 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 10 h. Obteve-se 163 mg (0,53 mmol) do produto **2g** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-claro, com um rendimento de 37% após recristalização em EtOH/H $_2$ O (8:2). P.f. = 248-250 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3421 (OH), 1752 (CO $_2$ H), 1615 (C=O, lactama), 1580 (N=C), 1551 (CH=N), 1300 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz/ppm) 11,65 (OH), 8,38 (1H, s, CH=N), 4,43 (1H, dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 3,9$ Hz, S-CH), 3,78 (2H, d, $J = 7,2$ Hz, N-CH $_2$), 3,02 (1H, dd, $J = 17,9$ Hz, $J = 3,9$ Hz, CH $_2$), 2,96 (1H, dd, $J = 17,9$ Hz, $J = 8,1$ Hz, CH $_2$), 1,19 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH $_3$), piridina: 8,65 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, Hb), 7,87 - 7,98 (2H, m, Ha' , Hb'), 7,46 (1H, t, $J = 6$ Hz, Hc); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,7 (COOH), 171,6 (C=O, lactama), 157,4 (C=N), 153,3 (CH=N), piridina: 152,7; 149,3; 136,5; 125,07 (Cq); 120,9, 42,7 (SCH), 37,9 (CH $_2$ CH $_3$), 36,5 (CH $_2$), 12,1 (CH $_3$).

Ácido [2-(3-piridinil-metileno-hidrazono)-3-etil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2h)

Foram utilizados 298 mg (1,44 mmol) de 3-formilpiridina 4-etil-3-tiossemicarbazona **1h** e 155 mg (1,58 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 1,99 mg (0,65 mmol) do produto **2h** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom, com um rendimento de 45% após recristalização em EtOH/H $_2$ O (7:3). P.f. = 210-212 °C.; IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3401 (OH), 1731 (CO $_2$ H), 1612 (C=O, lactama), 1583 (N=C), 1553 (CH=N), 1354 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz / ppm): 12,73 (1H, s, OH), 8,56 (1H, s, CH=N), 4,42 (1H, dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 3,6$ Hz, S-CH), 3,76 (2H, d, $J = 6,9$ Hz, N-CH $_2$), 3,08 (1H, dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 3,6$ Hz, CH $_2$), 3,08 (1H, dd, $J = 17,4$ Hz, $J = 8,1$ Hz, CH $_2$), 1,16 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH $_3$), piridina: 8,92 (1H, s, Ha), 8,62 (1H, m, Hc), 8,16 (1H, d, $J = 6,9$ Hz, Ha'), 7,47 (1H, m, Hb'). RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,6 (COOH), 171,6 (C=O, lactama), 164,6 (C=N), 155,04 (CH=N), piridina: 151,33; 150,25; 149,34; 148,62; 138,70, 42,8 (SCH), 37,8 (CH $_2$ CH $_3$), 36,5 (CH $_2$), 12,1 (CH $_3$).

Ácido [2-(4-piridinil-metileno-hidrazono)-3-etil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2i)

Foram utilizados 298 mg (1,44 mmol) de 4-formilpiridina 4-etil-3-tiossemicarbazona **1h** e 155 mg (1,58 mmol) de anidrido maléico,

o tempo de reação foi de 8 h. Obteve-se 234 mg (0,76 mmol) do produto **2h** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom, com um rendimento de 53% após recristalização em MeOH/H $_2$ O (7:3). P.f. = 275-276 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3413 (OH), 1735 (CO $_2$ H), 1615 (C=O, lactama), 1552 (N=C), 1532 (CH=N), 1358 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz / ppm); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz / ppm): 8,53 (1H, s, CH=N), 4,44 (1H, dd, $J = 7,8$ Hz, $J = 4,2$ Hz S-CH), 3,76 (2H, q, $J = 7,2$ Hz, N-CH $_2$), 3,06 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, $J = 4,2$ Hz, CH $_2$), 2,98 (1H, d, $J = 17,6$ Hz, $J = 7,8$ Hz, CH $_2$), 1,18 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, CH $_3$), piridina: 8,65 (2H, d, $J = 6,0$ Hz, Hb , Hb'), 7,69 (2H, d, $J = 6,0$ Hz, Ha , Ha'). RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz / ppm): 173,7 (COOH), 171,6 (C=O, lactama), 166,1 (C=N), 155,5 (CH=N), piridina: 150,4; 141,1; 121,4, 42,8 (SCH), 37,9 (CH $_2$ CH $_3$), 36,6 (CH $_2$), 12,1 (CH $_3$).

Ácido [2-(2-piridinil-metileno-hidrazono)-3-fenil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2j)

Foram utilizados 400 mg (1,56 mmol) de 2-formilpiridina 4-fenil-3-tiossemicarbazona **1j** e 169 mg (1,72 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 237 mg (0,67 mmol) do produto **2j** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor castanho-escuro, com um rendimento de 43% após coluna *flash* utilizando como sistema de eluição hexano/acetato de etila 90%. P.f. = 264-266 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3431 (OH), 1752 (CO $_2$ H), 1613 (C=O, lactama), 1588 (N=C), 1550 (CH=N), 1382 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz / ppm): 12,80 (OH), 8,17 (1H, s, CH=N), 4,59 (1H, t, $J = 5,7$ Hz, S-CH), 3,13 (2H, d, CH $_2$, $J = 5,7$ Hz), piridina: 8,6 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, Hb), 7,97 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, Ha'), 7,88 (1H, m, Hb'), 7,53 (1H, m, Hc), fenil: 7,38-7,49 (5H, m); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,93 (COOH), 171,82 (C=O, lactama), 166,90 (C=N), 157,50 (CH=N), 152,60 (CH arom.), 149,82 (CH arom.), 137,00 (CH arom.), 135,07 (CH arom.), 129,10 (CH arom.), 128,83 (CH arom.), 125,09 (CH arom.), 121,06 (CH arom.), 42,6 (SCH), 36,7 (CH $_3$).

Ácido [2-(3-piridinil-metileno-hidrazono)-3-fenil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2k)

Foram utilizados 400 mg (1,56 mmol) de 2-formilpiridina 4-fenil-3-tiossemicarbazona **1k** e 169 mg (1,72 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h. Obteve-se 215 mg (0,61 mmol) do produto **2k** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-claro, com um rendimento de 39% após recristalização em AcOH/H $_2$ O (8:2). P.f.: 239-240 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3450 (OH), 1751 (CO $_2$ H), 1620 (C=O, lactama), 1580 (N=C), 1550 (CH=N), 1382 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz / ppm): 12,84 (1H, s, OH), 8,39 (1H, s, CH=N), 4,58 (1H, t, S-CH, $J = 5,1$ Hz), 3,12 (2H, d, CH $_2$, $J = 5,1$ Hz), piridina: 8,84 (1H, s, Ha), 8,62 (1H, s, Hc), 8,11 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, Ha'), 7,53 (1H, m, Hb'), fenil: 7,37-7,49 (5H, m); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75,4 MHz/ppm): 173,8 (COOH), 171,8 (C=O, lactama), 165,88 (C=N), 155,4 (CH=N), 151,4 (CH arom.), 149,3 (CH arom.), 135,1 (CH, arom.), 134,0 (CH arom.), 128,13 (CH arom.), 128,81 (CH arom.), 128,20 (CH arom.), 124,10 (CH arom.), 42,6 (SCH), 36,7 (CH $_3$).

Ácido [2-(4-piridinil-metileno-hidrazono)-3-fenil-4-oxo-1,3-tiazolidin-5-il] acético (2l)

Foram utilizados 400 mg (1,56 mmol) de 2-formilpiridina 4-fenil-3-tiossemicarbazona **1l** e 169 mg (1,72 mmol) de anidrido maléico, o tempo de reação foi de 6 h 30 min. Obteve-se 209 mg (0,59 mmol) do produto **2l** puro, um sólido de aspecto amorfo de cor marrom-escuro, com um rendimento de 38% após recristalização em MeOH/H $_2$ O (7:3). P.f. = 254-255 °C. IV FT (v cm $^{-1}$ KBr): 3431 (OH), 1743 (CO $_2$ H), 1625 (C=O, lactama), 1595 (N=C), 1554 (CH=N), 1384 (NCS); RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz/ppm): 12,78 (1H, s, OH), 8,18 (1H, s, CH=N), 4,59 (1H, t, $J = 6$ Hz, S-CH), 3,13

(2H, d, CH₂, J = 6 Hz), piridina: 8,62 (1H, d, J = 7,8 Hz, H_b, H_{b'}), 7,97 (1H, d, J = 7,8 Hz, H_a, H_{a'}), 7,13 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,88 (1H, d, J = 7,8 Hz), fenil: 7,39-7,48 (5H, m); RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,4 MHz/ppm): RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75,4 MHz/ppm): 176,56 (COOH), 171,50 (C=O, lactama), 150,20 (C=N), 149,91 (CH=N), 141,22 (CH arom.), 138, 78 (CH arom.), 128,06 (CH arom.), 129,02 (CH arom.), 126,09 (CH arom.), 125,5 (CH arom.), 121,3 (CH arom.), 40,3 (SCH), 38,6 (CH₂).

Avaliação da atividade antimicrobiana

Para avaliação qualitativa da atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados foi utilizado o teste de difusão em disco segundo Bauer-Kirby.¹² Foram utilizados micro-organismos pertencentes à coleção de microrganismos UFPEA: *Staphylococcus aureus* (UFPEA 02), *Bacillus subtilis* (UFPEA 16), *Streptococcus faecalis* (UFPEA 13), *Micrococcus luteus* (UFPEA 100), *Escherichia coli* (UFPEA 224); *Klesbsiela pneumoniae* (UFPEA 396), *Mycobacterium phlei* (UFPEA 70), *Mycobacterium smegmatis* (UFPEA 71), *Mycobacterium tuberculosis* (UFPEA 82), *Candida krusei* (UFPEA 1002); *Candida albicans* (UFPEA 1007); *Malassezia furfur* (UFPEA 4849).

Os discos de papel continham 300 µg das substâncias **2a-d**, **2f**, **2i**, **2j** e **2l**; 250 µg das substâncias **2g** e **2h** e 320 µg da substância **2k**. Após inoculação dos micro-organismos, os discos foram depositados sobre placas de Petri contendo os meios de cultura específicos para cada micro-organismo teste. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24-48 h a 37 °C (bactérias) ou 30 °C (leveduras). Discos previamente umedecidos com DMSO foram utilizados como controle negativo. Cloranfenicol, rifampicina e nistatina foram utilizados como padrão de referência na concentração de 100 µg/disco.

A CMI foi realizada segundo determinação do *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) com pequenas alterações.¹³ Foram utilizados 5 mg de cada composto dissolvidos em 5 mL de DMSO, seguida de diluições seriadas em tubos nas concentrações de 100 a 6,25 µg/mL no meio caldo nutritivo, para o composto **2g** foi utilizado o intervalo de concentrações de 300 a 50 µg/mL. Em seguida, os tubos teste e controle foram inoculados com as suspensões microbianas na concentração 10⁸ UFC/mL. Todo experimento foi realizado em duplicata e incubado a 37 °C (bactérias) ou 30 °C (leveduras) por 24-48 h. O resultado foi observado por plaqueamento em meio sólido para avaliar a presença ou ausência de crescimento microbiano determinando a CMI, CMB (Concentração Mínima Bacteriostática) e CMF (Concentração Mínima Fungistática) (Tabela 1).

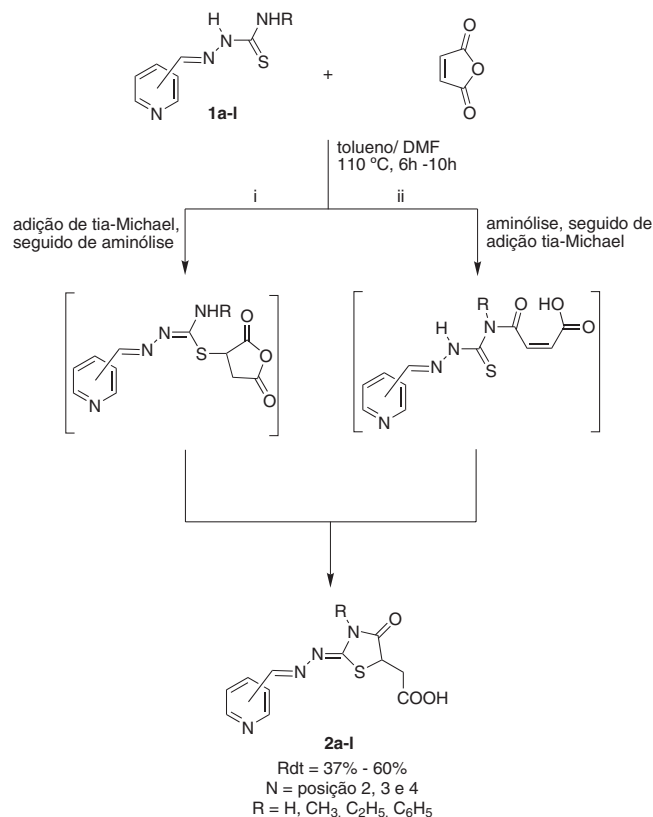
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Esquema 1 mostra a síntese das 4-tiazolidinonas **2a-l**.

As formilpiridinas tiossemicarbazonas **1a-l** já são relatadas na literatura.¹⁴⁻²⁰ Esses compostos podem ser facilmente preparados pela reação de condensação entre as piridinacarboxialdeídos e tiossemicarbazidas, disponíveis comercialmente.^{11,21,22} Em geral, as tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar preferencialmente o isômero *E*, termodinamicamente mais estável.^{23,24}

A síntese de 4-tiazolidinonas pode ser efetuada por vários métodos,^{6,25,26} sendo o mais comum aquele em que se empregam reações entre compostos α-aceto-halogenados e tioamidas. No caso em que se deseja obter esses heterocíclicos substituídos na posição 5 com o grupo ácido acético, utiliza-se anidrido maléico e seus derivados como bis-eletrófilos. A reação das tiossemicarbazonas **1a-l** com o anidrido maléico foi realizada em tolueno seco contendo quantidades suficientes de DMF para completa solubilização do meio reacional (Esquema 1). A partir disso, obteve-se as novas 4-tiazolidinonas com

rendimentos razoáveis, entre 37 e 60%. O mecanismo de formação das 4-tiazolidinonas a partir de tiossemicarbazonas deve ser semelhante ao que ocorre quando essa reação é feita com a tiouréia.²⁷ A reação pode ser visualizada por dois caminhos (Esquema 1): (i) adição tia-Michael em um dos carbonos da função C=C, seguido de aminólise na carbonila adjacente; ou (ii) aminólise inicial com consequente adição tia-Michael no carbono vizinho. Isto acontece devido à reatividade do anidrido maléico e seus derivados frente a dinucleófilos.²⁷ Semelhantemente à tiouréia, as tiossemicarbazonas são versáteis 1,3-dinucleófilos. Ademais, tanto a tiouréia quanto as tiossemicarbazonas apresentam as formas tautoméricas tiol e tiona em equilíbrio.^{26,28} Tal característica molecular é responsável pela etapa de adição tia-Michael ao anidrido maléico.



Esquema 1. Obtenção das 4-tiazolidinonas **2a-l** a partir de formilpiridina tiossemicarbazonas **1a-l**

As 4-tiazolidinonas **2a-l** foram caracterizadas estruturalmente pelos métodos espectroscópicos de IV e RMN ¹H e ¹³C. Na análise dos espectros de IV todas as 4-tiazolidinonas **2a-l** apresentaram a banda de estiramento de C=O entre 1752 e 1731 cm⁻¹, e bandas de absorção na região entre 3455 e 3286 cm⁻¹, correspondentes às vibrações do grupo OH, características da função ácida. Em adição, a banda de lactama também foi detectada na faixa de 1688-1612 cm⁻¹, provindo evidência confirmatória da formação do heterociclo.¹¹ Uma banda forte na região de 1387-1300 cm⁻¹ apareceu no espectro de IV de todas as 4-tiazolidinonas, correspondente à deformação angular do grupo funcional NCS.²⁹ Duas bandas, uma na região de 1585-1532 cm⁻¹ e outra em 1595-1552 cm⁻¹, foram atribuídas às vibrações de estiramento da função C=N, azometina e exocíclica, respectivamente, para todas as substâncias obtidas. Em relação ao estudo de RMN ¹H, a formação do heterociclo foi indicada pelos sinais característicos dos hidrogênios do grupo SCH do anel tiazolidínico que aparecem como um tripleto ou duplo dubleto (sistema de spin ABX) ente 4,59 a 4,38

ppm, devido a um acoplamento com os hidrogênios metilênicos do grupo acetil, os quais foram identificados como dubleto ou dois duplos dubletos entre 3,14 e 2,92 ppm.²⁷ Entretanto, devido a problemas de homogeneidade de campo, algumas substâncias apresentaram uma leve distorção no sinal, sendo atribuído nesses casos como múltiplo. Os hidrogênios característicos do grupo CH=N e da OH da função ácida foram observados na região de 8,56 a 8,18 ppm e 12,84 a 12,41 ppm, respectivamente. Por outro lado, os espectros de RMN ¹³C apresentaram deslocamentos químicos referentes aos carbonos dos grupos NC=O, SCH e imino (N=C) da posição dois do anel tiazolidínico, entre 173,80 e 171,50 ppm, 43,70 e 40,30 ppm e 171,70 e 150,20 ppm, respectivamente, confirmando a formação do heterociclo.^{30,31} Os compostos **2a-l** ainda apresentaram um importante sinal entre 177,90 e 173,60 ppm relativo à carbonila do grupamento ácido, além da ressonância do átomo de carbono da função azometina (CH=N) com deslocamento químico em 157,50-149,90 ppm. Os demais sinais, especificamente os dos carbonos aromáticos e os carbonos *N*-alquilas, estão de acordo com as estruturas propostas.

Em relação à atividade antimicrobiana, dos doze derivados **2a-l** apenas cinco (**2a**, **2d**, **2e**, **2g** e **2i**) apresentaram halo de inibição igual ou superior a 16 mm, sendo, estes, selecionados para os ensaios de CMI, CMB e CMF em meio líquido (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração Mínima Inibitória (CMI), Concentração Mínima Bacteriostática (CMB) e Concentração Mínima Fungistática (CMF) das 4-tiazolidinonas selecionadas

Micro-organismos	compostos	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)	CMF (µg/mL)
<i>M. luteus</i>	2a	100	75	
	2d	25	12,5	
	2e	> 100	100	
	cloranfenicol	50	40	
<i>S. aureus</i>	2g	200	150	
	cloranfenicol	50	40	
<i>K. pneumonia</i>	2g	250	200	
	cloranfenicol	25	20	
<i>M. phlei</i>	2d	75	50	
<i>M. tuberculosis</i>	2g	50	25	
<i>M. smegmatis</i>	2g	50	25	
	rifampicina	130	120	
<i>C. albicans</i>	2e	75		50
	2i	75		50
<i>M. furfur</i>	2d	75		50
	nistatina	80		70

Esses compostos apresentaram atividade antimicrobiana para bactérias Gram-positivas e para os fungos dos gêneros *C. albicans* e *M. furfur*. Entretanto, apenas o composto **2g** apresentou moderada atividade bacteriostática para *K. pneumoniae*. Esse mesmo composto exibiu baixa atividade inibitória para *S. aureus*, porém apresentou atividade antimicrobiana maior que a rifampicina frente ao *M.*

smegmatis e *M. tuberculosis*, com CMI de 50 µg/mL e CMB de 25 µg/mL para ambas as bactérias. Já o composto **2d** teve os menores valores de CMI (25 µg/mL) e CMB (12,5 µg/mL) frente ao *M. luteus*, sendo mais ativo que o cloranfenicol. Na atividade antifúngica contra *M. furfur*, este composto foi ligeiramente mais ativo que a nistatina, com CMI e CMF de 75 e 50 µg/mL, respectivamente. Por outro lado, os compostos **2e** e **2i** mostraram resultados idênticos quando testados contra *C. albicans*, com mesmos valores de CMI (75 µg/mL) e CMF (50 µg/mL).

Embora tendo um número reduzido de compostos ativos, uma relação qualitativa entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana foi estabelecida. Dois aspectos estruturais nessa série de compostos foram considerados: a posição do átomo de nitrogênio no heterociclo piridina em relação à cadeia lateral hidrazônica e a presença de um substituinte na posição 3 do anel 4-tiazolidinona. De acordo com os resultados, a variação molecular no anel piridina revela que a posição do átomo de nitrogênio pode influenciar a atividade antimicrobiana, pois dos cinco compostos testados três (**2a** R= H, **2d** R= CH₃ e **2g** R= C₂H₅) correspondem aos regioisômeros N-2. Quanto à modificação no anel 4-tiazolidinona verifica-se que os efeitos eletrônicos e estéricos dos substituintes também podem influenciar a atividade antimicrobiana. Nenhum dos compostos que têm em sua estrutura o radical fenila, um grupo mais volumoso e acceptor de elétrons, apresentou atividade antimicrobiana significativa, sugerindo que a presença desse substituinte não é importante para a atividade. Por outro lado, os compostos que possuem grupos doadores de elétrons, os radicais metila e etila, apresentaram atividade antibacteriana (R= CH₃ **2d** e **2e**, R= C₂H₅ **2g**) e antifúngica (R= CH₃ **2d** e **2e**, R= C₂H₅ **2i**), revelando que a presença deles pode contribuir para a atividade antimicrobiana.

CONCLUSÕES

Neste trabalho descrevemos a síntese e avaliação antimicrobiana de doze derivados 4-tiazolidínicos **2a-l**. Esses novos compostos foram obtidos em uma etapa com rendimentos entre 37 e 60%. Suas estruturas foram comprovadas pela análise dos espectros de IV e RMN, consubstanciada por dados da literatura. Todos os compostos foram avaliados *in vitro* contra diferentes bactérias e fungos. Contudo, poucos apresentaram boa atividade contra bactérias Gram-positivas (**2a**, **2d**, **2e**, **2g**) e contra fungos dos gêneros *C. albicans* (**2e**, **2i**) e *M. furfur* (**2d**). Em alguns casos, valores de CMI, CMB ou CMF menores que os dos fármacos de referência foram obtidos. Vale a pena ressaltar que só o composto **2g** apresentou moderada atividade bacteriostática para a bactéria Gram-negativa *K. pneumoniae*. Em um estudo preliminar da relação entre a estrutura química e a atividade antimicrobiana verificou-se que os compostos com o grupo fenila na posição 3 do anel 4-tiazolidinona não são ativos contra os micro-organismos testados, sugerindo que a presença desse substituinte é desfavorável para a atividade antimicrobiana. Por outro lado, foi constatado que a posição do átomo de nitrogênio no heterociclo piridina pode influenciar, sobretudo, as atividades antibacterianas das 4-tiazolidinonas estudadas.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro do CNPq e da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (PROPESQ).

REFERÊNCIAS

- Sakagami, Y.; Kajimura, K.; *J. Hosp. Infect.* **2002**, *50*, 140.
- Pittet, D.; *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2002**, *23*, 118.

3. Patani, G. A.; LaVoie, E. J.; *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147.
4. Wermuth, C. G. Em *The Practice of Medicinal Chemistry*; Wermuth, C. G., ed.; Academic Press: London, 1996, cap. 13.
5. Lima, L. M.; Barreiro, E. J.; *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23.
6. Liesen, A. P.; Aquino, T. M.; Góes, A. J. S.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 369.
7. 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.
8. Benson, T. E.; Walsh, C. T.; Massey, V.; *Biochemistry* **1997**, *36*, 796.
9. Kavitha, C. V.; Basappa, N. S. S.; Mantelingu, K.; Doreswamy, S.; Sridhar, M. A.; Prasad, J. S.; Rangappa, K. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2290.
10. Tenório, R. P.; De Lima, J. G.; Santos, D. M. S.; Alves, A. J.; Faria, A. R.; Araújo, J. M.; Góes, A. J. S.; *Resumos do I Congresso Norte-Nordeste de Multirresistência Bacteriana*, Recife, Brasil, 2004.
11. Aquino, T. M.; Liesen, A. P.; Silva, R. O. E.; Lima, V. T.; Carvalho, C. S.; Faria, A. R.; Araújo, J. M.; Lima, J. G.; Alves, A. J.; Melo, E. J. T.; Góes, A. J. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 446.
12. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Scherris, J. C.; Truck, M.; *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, *45*, 493.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards; *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, 3rd ed., Approved Standard, NCCLS publication M7-A3, Villanova, PA, 1993; National Committee for Clinical Laboratory Standards; *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Proposed Standard, NCCLS Document M27-P, Villanova, PA, 1992.
14. Mendes, I. C.; Teixeira, L. R.; Lima, R.; Beraldo, H.; Speziali, N. L.; West, D. X.; *J. Mol. Struct.* **2001**, *559*, 355.
15. Beraldo, H.; Teixeira, L. R.; Moura, A. A.; West, D. X.; *J. Mol. Struct.* **2000**, *553*, 41; Beraldo, H.; Teixeira, L. R.; Moura, A. A.; West, D. X.; *J. Mol. Struct.* **2001**, *559*, 99.
16. Chattopadhyay, S.; Ghosh, S.; *Inorg. Chim. Acta* **1989**, *163*, 245.
17. Fujikawa, F.; Hirai, K.; Naito, M.; Tsukuma, S.; *Yakugaku Zasshi* **1959**, *79*, 1231. (C.A 52:15741d).
18. Hagenbach, R. E.; Gysin, H. J. R.; Geigy, A. G.; Basel, S.; *Experientia* **1952**, *8*, 184.
19. Grammaticakis, P.; *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1956**, 109.
20. Anderson, F. E.; Duca, C. J.; Scud, J. V.; *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 4967.
21. Sarodnick, G.; Heydenreich, M.; Linker, T.; Kleinpeter, E.; *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6311.
22. Holla, B. S.; Malini, K. V.; Rao, B. S.; Sarojini, B. K.; Kumari, N. S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 313.
23. Ota, A. T.; Temperini, M. L. A.; Arêas, E. P. G.; Loos, M.; *J. Mol. Struct.: Theochem* **1998**, *451*, 269.
24. Temperini, M. L. A.; Santos, M. R.; Monteiro, V. R. P.; *Spectrochim. Acta, Part A* **1995**, *51*, 269.
25. Brown, F. C.; *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 463.
26. Singh, S. P.; Pamar, S. S.; Raman, K.; *Chem. Rev.* **1981**, *81*, 175.
27. Balasubramaniyan, V.; Balasubramaniyan, P.; Wani, M. J.; *Indian J. Chem., Sect B* **1990**, *29*, 1092.
28. Bharti, N.; Shailendra; Sharma, S.; Naqvi, F.; Azam, A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2923.
29. El-Gendy, Z.; Abdel-Rahman, R. M.; Fawzy, M. M.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 927.
30. Seebacher, W.; Brun, R.; Weis, R.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2004**, *21*, 225.
31. Küçükgülzel, G.; Kocatepe, A.; De Clercq, E.; Şahin, F.; Güllüce, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 353.