

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DOUTORADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**UNIVERSITÉ DE LA MEDITERRANÉE  
FACULTÉ DE PHARMACIE DE MARSEILLE, FRANCE**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS  
DERIVADOS ACRIDINO-TIAZOLIDÍNICOS E ACRIDINO-  
IMIDAZOLIDÍNICOS**

**TERESINHA GONÇALVES DA SILVA**

**RECIFE-BRASIL**

**2003**

**TERESINHA GONÇALVES DA SILVA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS  
ACRIDINO-TIAZOLIDÍNICOS E ACRIDINO-IMIDAZOLIDÍNICOS**

Tese de doutoramento apresentada ao Doutorado em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas, na área de concentração Farmacologia, Fisiologia e Química Medicinal. Trabalho desenvolvido em regime de co-tutela no Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco – Recife, Brasil e no GERCTOP, UMR-CNRS 6009, Faculté de Pharmacie - Marseille - França

**Orientadores**

Prof. Dra. Suely Lins Galdino

Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

## **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS ACRIDINO-TIAZOLIDÍNICOS E ACRIDINO-IMIDAZOLIDÍNICOS**

**TERESINHA GONÇALVES DA SILVA**

**Banca Examinadora:**

Prof. S.L. GALDINO  
Departamento de Antibióticos  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. J. BARBE  
Faculté de Phamacie  
Université de la Mediterranée de Marseille – França

Prof. Y. LETOURNEUX  
Facultés des Science et Techniques  
Université d'Aix-Marseille III – França

Prof. I.R. PITTA  
Departamento de Antibióticos  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. J.B.P. SILVA  
Departamento de Química Fundamental  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. G.I.B.P. DUARTE  
Departamento de Farmacologia e Fisiologia  
Universidade Federal de Pernambuco

**DEDICO ESTE TRABALHO**

*Aos meus pais*

*Raimundo Tomé da Silva*

*e Maria Gonçalves Silva*

*Aos meus irmãos, cunhados, cunhadas e  
sobrinhos.*

## AGRADECIMENTOS

A Professora Suely Lins Galdino, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE, pela orientação, incentivo, amizade, pela forma com que me acolheu em seu laboratório e pela credibilidade que me foi dada para a realização deste trabalho;

A Professora Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE pela orientação, amizade, incentivo e dedicação em todos os momentos;

Ao Professor Ivan da Rocha Pitta, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da UFPE, pelos ensinamentos, pela colaboração e pela atenção dispensada no decorrer do trabalho;

Au Professeur Jacques Barbe, de L'Université de la Méditerranée de Marseille, pour me recevoir dans son laboratoire où nous avons réalisé une partie de ce travail dans le programme de coopération internationale CAPES/COFECUB; Nous vous remercions pour vous avez toujours été attentif a nos problèmes offrant votre savoir et votre grande expérience avec amabilité e gentillesse;

Au Professeur Y. LETOURNEUX pour accepté de juger ce travail et de nous honorer de votre présence;

A Professora Glória Isolina B. P. Duarte, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia, por aceitar em fazer parte desta banca examinadora;

Ao Prof João Bosco Paraíso da Silva, do Departamento de Química Fundamental da UFPE pela colaboração na avaliação deste trabalho;

A Professora Ivone Antônia de Souza, do Departamento de Antibióticos da UFPE, pela cooperação na realização dos testes para avaliação da atividade antitumoral dos produtos sintetizados;

A professora Lúcia Fernanda Cavalcanti Costa Leite, do Departamento de Química da Universidade Católica de Pernambuco, pela contribuição na realização dos estudos de mecânica molecular:

Aos colegas do doutorado, Maria do Carmo, Sandra Botelho, Ana Karina, Sandra Rodrigues, Jorge, Paula, Giovanna, Marlon, Kenji e Karla pelo companheirismo e pelos agradáveis momentos passados juntos;

Aos amigos do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos Ana Maria A. de Souza, Silvânia Maria de Oliveira, Érika Souza Vieira, Flávia De Toni, Maria Teresa C. Lima, Emilany Borges, Andréa Lopes, Andréa Apolinário, Everaldo dos Santos, Manuela, Rosa H. V. Mourão, Daniel T. M. Pereira, Clécio, Ana Roberta Canãs, Débora Leite, Joyce Nunes Santos, Leila Cabral dos Santos, Laudelina Magalhães, Fabíola S. V. C. B. da Silva, Sarah Janine, Rizemberg B. de Freitas, Maria Galdino Pitta, Ildernando de Oliveira, Micheline Miranda da Silva, Diana Malta, Ricardo Olímpio Moura, Janaína Rodrigues da Silva, Simone Walfrido Paiva, Janaína Couto, Ângela M. C. Andrade, Emerson Peter S. Falcão, Eulália Pessoa de Azevedo Ximenes e Mônica C. P. A Azevedo , por toda colaboração e agradável convívio durante o período de desenvolvimento do trabalho;

Aos técnicos de laboratório, Ricardo, Juliana e Eliete, do Departamento de Química Fundamental, pela realização dos espectros de RMN<sup>1</sup>H e IV;

Aos funcionários do Curso de Doutorado em Ciências Biológicas, Adenilda, Jaciene e Liane pelo carinho e atenção;

Aos funcionários do Departamento de Antibióticos pela colaboração;

A tous les chercheurs, fonctionnaires, e étudiants rencontrés au GERCTOP, da Faculté de Pharmacie de Marseille, Houria, Sihan, Sandrine Gallo, Sandrine Albert,

Stephane, Djamila, Mme. Santelli, M. Reboul, M. Brouant, M. Mahamoud, Mme. Maillard, Mme Dani, Mme Giovannangeli e Mme Galante pour ce que nos avons partagé avec d'harmonie, bonheur d'être ensemble.

A minha família pelo apoio incondicional às minhas decisões, por suportar em silêncio a minha ausência em momentos importantes e por ter sempre acreditado na minha capacidade. Sem vocês eu não seria o que sou hoje;

Aos meus amigos, Silvana Teresa Lacerda Jales, Louisiane Guerra, Mariluze Oliveira, Isabel dos Santos, Ednalva Pereira Leite, Giovanni, Betânia e Joaci, pela valorização a minha pessoa;

A Universidade de Pernambuco, pela minha liberação durante o doutorado sanduíche, e em especial a todos do laboratório central, pelo incentivo e apoio;

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche, possibilitando a realização deste trabalho de pesquisa, que muito contribuiu na minha formação e para o fortalecimento das inter-relações entre o grupo de pesquisa do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos e da Faculte de Pharmacie de Marseille- Fr (GERCTOP)

## Resumo

Os compostos acridínicos possuem uma ampla variedade de efeitos biológicos que podem ser atribuídos, na sua grande maioria, a sua habilidade de ligar-se ao DNA, intercalando-se entre os pares de bases e bloqueando a ação das topoisomerasas I e II. Na literatura, compostos possuindo o núcleo acridínico destacam-se por apresentarem atividades antimalárica, antimicrobiana, antileishmanial, antitripanossomal e anticancerígena. Neste trabalho, foram sintetizados novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos e avaliados para a atividade antitumoral *in vivo*. Estes derivados foram obtidos sinteticamente em várias etapas: inicialmente, a tiazolidina-2,4-diona reagiu com cloretos ou brometos de benzila substituídos, obtendo-se a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída. Paralelamente, a 9-metil-acridina foi obtida através da reação da difenilamina com ácido acético glacial. A 9-metil-acridina foi oxidada a 9-acridinaldeído pelo clorocromato de piridinium, sob atmosfera inerte. Este, por sua vez, sofre uma condensação de Knoevenagel com o cianoacetato de etila conduzindo ao intermediário 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila. A etapa final consiste na reação de adição tipo Michael entre a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída e o 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila, obtendo-se os produtos finais. Na síntese dos derivados acridino-imidazolidínicos, o produto de partida é a imidazolidina-2,4-diona que reage com cloretos ou brometos de benzila substituídos, obtendo-se a 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona substituída que sofre uma reação de tionação com o pentassulfeto de fósforo dando origem a 4-tioxo-imidazolidin-2-ona substituída. Esta se condensa com o 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila obtendo-se os produtos acridino-imidazolidínicos. As estruturas químicas dos compostos obtidos foram determinadas por espectroscopia no infravermelho, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massas. Estes derivados foram submetidos a testes para avaliação da atividade antitumoral *in vivo*, utilizando-se o sarcoma 180. Os resultados obtidos indicaram uma importante atividade inibitória sobre o crescimento das células tumorais, onde os derivados com substituintes nitro e bromo na posição 4 foram os mais promissores, com um percentual de inibição de 71,48% e 72,24%, respectivamente, na dose de 50mg/kg de peso.



## Abstract

The acridines compounds present an ample variety of biological effect that can be attributed, in its great majority, its ability to bind the DNA, intercalating themselves it between the pairs of basis and blocking the action of topoisomerases I and II. In literature, compounds possessing the acridine ring are distinguished for presenting activities antimalarial, antibacterial, antileishmanial, antitripanossomal and anticancer. In this work, new derivatives acridine-thiazolines and acridine-imidazolidines had been synthecized and evaluated for the antitumoral activity *in vivo*. These derivatives had been obtained by means synthetic in some stages: initially, thiazolidine-2,4-dione reacted with benzyl chlorides or bromides, leading substituted 3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione. Parallel, the 9-methyl-acridine was obtained through the reaction of the acetic acid glacial with diphenylamine. The 9-methyl-acridine was oxidated to 9-acridinaldehyde by the piridinium chlorochromate, under inert atmosphere. This aldehyde, reacted with the ethyl-cyanacetate through Knoevenagel condensation leading the ethyl-2-cyan-acridine-9-yl-acrilate. The last stage consists of the reaction of addition type Michael between 3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione and ethyl-2-cyan-acridine-9-yl-acrilate. In the synthesis of acridine-imidazolidine derivatives, the initial product is imidazolidine-2,4-dione that reacts with benzyl chlorides or bromides leading 3-benzyl-imidazolidine-2,4-dione. The thionation with tetraphosphorous decasulfide leads to the 4-thio-imidazolidin-2-one compounds. The condensation with ethyl-2-cyan-acridine-9-yl-acrilate getting the acridine-imidazolidines products. The chemical structure of these compounds had been determined by infrared spectra, hydrogen nuclear magnetic resonance spectra and mass spectra. The acridine compounds had been submitted the tests for evaluation of antitumoral activity *in vivo*, using sarcoma 180. The results indicate an important inhibition of the growth of the tumorale cells, where the derivatives with nitro and bromine in position 4 of phenyl ring are most active presenting a percentage of inhibition of 71,48% and 72,24% respectively, in the dose of 50mg/kg of weight.

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	03
AGRADECIMENTOS	04
RESUMO	07
ABSTRACT	08
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	13
LISTA DE FIGURAS	16
LISTA DE TABELAS	19
LISTA DE ESQUEMAS	20
FIGURAS DO ANEXO	21
1. INTRODUÇÃO	26
2. OBJETIVOS	30
2.1. Geral	31
2.2. Específicos	31
3. REVISÃO DA LITERATURA	33
3.1. Câncer: considerações gerais	33
3.1.1. Epidemiologia	34
3.1.2. Tratamento quimioterápico do câncer	37
3.1.3. Resistência aos fármacos antineoplásicos	42
3.2. Mecanismo de ação dos compostos acridínicos	45
3.3. Acridinas biologicamente ativas	48
3.3.1. Monoacridinas	49
3.3.2. Poliacridinas	57
PARTE QUÍMICA	
4. Síntese de derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos	64
4.1. Material	64
4.1.1. Reagentes e solventes	64
4.1.2. Equipamentos	66
4.1.2.1. Espectroscopia	66
4.1.2.2. Ponto de fusão	66
4.1.2.3. Cromatografia	67

4.2. Métodos	68
4.2.1. Obtenção dos derivados acridínicos	69
4.2.1.1. Obtenção da 9-metil-acridina	69
4.2.1.2. Obtenção da 9-acridina-carboxaldeído	70
4.2.1.3. Obtenção do 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila	71
4.2.2. Obtenção dos derivados acridino-tiazolidínicos	72
4.2.2.1. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-metil-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	72
4.2.2.2. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	73
4.2.2.3. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	74
4.2.2.4. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]- tiazolidina-2,4-diona	75
4.2.2.5. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	76
4.2.2.6. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]- tiazolidina-2,4-diona	77
4.2.2.7. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-flúor-(2-fenil-2-oxo-etil)]- tiazolidina-2,4-diona	78
4.2.2.8. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo- etil)]-tiazolidina-2,4-diona	78
4.2.2.9. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	79
4.2.2.10. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil- tiazolidina-2,4-diona	80
4.2.2.11. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-cloro-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	80
4.2.2.12. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	81
4.2.2.13. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-cloro-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	82
4.2.2.14. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)- tiazolidina-2,4-diona	82

4.2.3. Obtenção dos derivados acridino-4-tioxo-imidazolidínicos	83
4.2.3.1. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo- imidazolidina-2-ona	84
4.2.3.2. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxo- imidazolidina-2-ona	84
4.3. Resultados e discussão	85
4.3.1. Derivados acridino-tiazolidínicos	85
4.3.1.1. Via sintética	86
4.3.1.2. Reação de ciclização para obtenção da tiazolidina-2,4-diona	86
4.3.1.3. N-Alquilação da tiazolidina-2,4-diona	88
4.3.1.4. Síntese da 9-metil-acridina	89
4.3.1.5. Síntese da acridina-9-carboxaldeído	91
4.3.1.6. Síntese do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila	92
4.3.1.7. Síntese dos derivados acridino-tiazolidínicos	96
4.3.1.8. Caracterização estrutural dos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos	98
4.3.1.8.1. Espectroscopia no infravermelho	98
4.3.1.8.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup> H)	103
4.3.1.8.3. Espectrometria de massas	108
4.3.1.9. Determinação da configuração	112
 <b>PARTE BIOLÓGICA</b>	
5. Avaliação da atividade biológica	115
5.1. Aspectos gerais da Oncologia Experimental	115
5.2. Substâncias	116
5.3. Animais	116
5.4. Métodos	116
5.4.1. Preparação das soluções	116
5.4.2. Determinação da atividade antitumoral	116
5.3. Resultados e discussão	118
 <b>MODELAGEM MOLECULAR</b>	
6. Modelagem molecular	123

6.1. Introdução	123
6.2. Estudo configuracional e conformacional	124
6.2.1. Material	124
6.2.2. Programas computacionais	124
6.2.3. Metodologia	124
6.3. Modelagem molecular da 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina- 2,4-diona	126
6.4. Barreira de energia	127
7. CAPÍTULO 1	
Synthesis and elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines	132
8. CAPÍTULO 2	
Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds	140
9. CAPÍTULO 3	
Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones	159
10. CONCLUSÕES	172
11. RESUMO EXTENDIDO	174
12. RESUME ETENDU	179
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	184
14. ANEXOS	192
ESPECTROS DE RMN <sup>1</sup> H	192
ESPECTROS DE INFRAVERMELHO	207
ESPECTROS DE MASSAS	223
CONVENÇÃO DE COTUTELA	227

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µg - Micrograma

AcOEt - Acetato de etila

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior

CDCl<sub>3</sub> - Clorofórmio deuterado

CHCl<sub>3</sub> - Clorofórmio

cm - Centímetro

COFECUB - Comité Français d'Evaluation de la Cooperation Universitaire avec le Brésil

δ - Deslocamento químico

d - Dublete

dd - Duplo dublete

dt - Duplo triplete

DACA - N-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4-carboxamida

DNA - Ácido desoxirribonucléico

DMSO – Dimetilsulfóxido

Et - Etil

EtOH – Etanol

F.M. - Fórmula molecular

5-FU – 5-fluouracil

g – Grama

°C - Grau Celsius

Hz - Hertz

IV - Infravermelho

J - Constante de acoplamento

MDR – Resistência a várias drogas (Multidrug Resistance)

MRP – Proteína associada à resistência a várias drogas (Multidrug resistance-associated protein)

*m*-AMSA – Ansacrina ou [4'-(9-acridilamino)metanosulfona]-*m*-anisidina

m - Multiplete

m/z - Massa/carga

MeOH – Metanol

Me - Metil

MHz - Megahertz

M.S. - Espectrometria de massas

MTX - Metotrexato

mL – Mililitro

6-MP – 6- mercaptopurina

NCI - National Cancer Institute (Instituto Nacional do Câncer)

nm – Nanômetro

PCC - clorocromato de piridínio

P.F. - Ponto de fusão

ppm - Partes por milhão

Rdt. - Rendimento

Rf - Razão de frente

RMN<sup>1</sup>H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RNA – Ácido ribonucleico

SAR – Relação estrutura atividade

s - Singlete

t – Triplete

6- TG – 6-tioguanina

U.V. - Ultravioleta

## LISTA DA FIGURAS

Figura 1 – Ansacrina	27
Figura 2 – Proflavina <u>a</u> e acriflavina <u>b</u>	27
Figura 3 – Mepacrina	28
Figura 4 – Agentes alquilantes: mecloretamina <u>a</u> , ciclofosfamida <u>b</u> , clorambucil <u>c</u> , carmustina <u>d</u> e lomustina <u>e</u>	39
Figura 5 – Antimetabólitos metotrexato <u>a</u> , 5-fluouracil <u>b</u> , citarabina <u>c</u> , 6-mercaptopurina <u>d</u> e 6-tioguanina <u>e</u>	40
Figura 6 - colchicina <u>a</u> , vincristina <u>b</u> , doxorubicina <u>c</u> , etoposide <u>d</u> e paclitaxel <u>e</u>	44
Figura 7 - Actinomicina D <u>a</u> e daunomicina <u>b</u> , quinacrina <u>c</u> , cloroquina <u>d</u>	46
Figura 8 - Modelo de intercalação de DNA derivado de estudos cristalo- gráficos de raios-X da N-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4- carboxamida (DACA)	48
Figura 9 - Estrutura geral dos derivados da 9-amino-nitro-acridina	49
Figura 10 – DACA <u>a</u> e derivado 7-cloro <u>b</u>	50
Figura 11 - Ansacrina <u>a</u> , asulacrina <u>b</u> e AHMA <u>c</u>	51
Figura 12 - Derivados do pirazol-acridina <u>a</u> , da acridina-4-carboxamida <u>b</u> e pirazol[3,4,5-kl]-acridina <u>c</u>	52
Figura 13 - Derivados 6 <i>H</i> -pirazol-[4,5,1-de]acridina-6-onas	53
Figura 14 – Acronicina <u>a</u> e S23906-1 <u>b</u>	53
Figura 15 - Cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5-kl]-acridinium <u>a</u> e sal acridínico pentacíclico <u>b</u>	54



Figura 16 - Derivados da 9-anilinoacridina <b>a</b> e 9-fenoxiacridina <b>b</b> e <b>c</b>	55
Figura 17 – Ascididemin e derivados	56
Figura 18 - Alcalóides acridônicos bioativos foram isolados da <i>Swinglea glutinosa</i> Merr	56
Figura 19 - Dímeros de acridina	57
Figura 20 - Estrutura geral de diacridinas	58
Figura 21 - Estrutura geral dos derivados da bis-(acridina-4-carboxamida)	60
Figura 22 - Derivados da bis(9-amino-6-cloro-2)-metoxiacridina	60
Figura 23 - Derivados bis-acridínicos <b>a</b> e derivados tetra-acridínicos <b>b</b>	61
Figura 24 - Estrutura geral de derivados da bis{[(9-oxo-,10-dihidro-acridina-4-carbonil)amino]alquil}alquilaminas	61
Figura 25 - Complexos bis(acridiniltiouréia)platina II	62
Figura 26 - Novos derivados acridino-tiazolidínicos	72
Figura 27 - Novos derivados acridino-4-tioxo-imidazolidínicos	83
Figura 28 - Tiazolidina-2,4-diona	85
Figura 29 - Diastereoisomeria <i>Z</i> e <i>E</i> da 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)- tiazolidina-2,4-diona ( <b>6a</b> )	112
Figura 30 - 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona (HyperChem / Geometry Optimization)	113
Figura 31 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <b>6c</b> )	120
Figura 32 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <b>6b</b> )	120

- Figura 33 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6l**) 121
- Figura 34 – Estrutura do composto 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona 124
- Figura 35 – Estruturas dos compostos (Z) 5-benzilideno-3-benzil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona **a** e (Z) 5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona **b**. 125
- Figura 36 – Estrutura do composto 3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-Diona 125
- Figura 37 – Representação do 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona otimizada na configuração **Z** e **E**. 126
- Figura 38 – Estrutura do composto 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona 127
- Figura 39 - Barreira de energia, pelo método AM1, confôrmeros gerados a partir da rotação em torno da ligação N29C30 para a (Z) 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona 128
- Figura 40 - Conformações do ângulo diedro da 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona otimizada na configuração Z. e com ângulo diedro formado por **C28N29C30C31** apresentando valores -90°, 0°, 90° 180° e 270° 129

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estimativas para o ano 2003 de número de casos novos e de óbitos por câncer, em homens e mulheres, segundo localização primária, Brasil	36
Tabela 2 - Freqüências de absorção no infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , dos derivados acridino-tiazolidínicos (6a-j) e acridino-imidazolidínicos (10a-b)	99
Tabela 3 - Deslocamento químico ( $\delta$ ), em ppm dos derivados acridino-tiazolidínico e acridino-imidazolidínicos ( <u>6a</u> , <u>6c</u> , <u>6b</u> )	104
Tabela 4 - Principais fragmentações apresentadas pelos derivados acridino-tiazolidínicos e suas intensidades relativas	109
Tabela 5 - Principais fragmentações apresentadas pelos derivados acridino-tiazolidínicos e suas intensidades relativas	111
Tabela 6 - Atividade antitumoral dos derivados Acridino-tiazolidínicos administrado por via intraperitoneal	119

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Diagrama de preparação dos novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino- imidazolidínicos	68
Esquema 2 - Reação de síntese da tiazolidina-2,4-diona	87
Esquema 3 - Mecanismo reacional da síntese da tiazolidina-2,4-diona	87
Esquema 4 - Reação de síntese da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída	88
Esquema 5 - Reação de síntese da 9-metil-acridina	89
Esquema 6 - Síntese da acridina-9-carboxaldeído	91
Esquema 7 - Mecanismo reacional da síntese da acridina-9-carboxaldeído	91
Esquema 8 - Reação de síntese do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila	92
Esquema 9 - Fragmentação proposta para o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila	95
Esquema 10 - Reação de síntese dos derivados acridino-tiazolidínicos	96
Esquema 11 - Fragmentações proposta para os novos derivados acridino-tiazolidínicos	108
Esquema 12 - Fragmentação proposta para os novos derivados acridino-tiazolidínicos	110

## FIGURAS DO ANEXO

- Figura 1 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6b) 192
- Figura 2 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona  
(6c) 193
- Figura 3 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-  
2,4-diona (6d) 194
- Figura 4 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona  
(6e) 195
- Figura 5 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-  
2,4-diona (6f) 196
- Figura 6 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fluor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-  
2,4-diona (6g) 197
- Figura 7 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da  
5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-  
2,4-diona (6h) 198
- Figura 8 - Espectro de ressonância magnética nuclear da 5-(acridina-9-il-  
metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6i) 199

- Figura 9 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (6j) 200
- Figura 10 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6k) 201
- Figura 11 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6l) 202
- Figura 12 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6m) 203
- Figura 13 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6n) 204
- Figura 14 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidina-2-ona (10a) 205
- Figura 15 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxo-imidazolidina-2-ona (10b) 206
- Figura 16 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6a) 207
- Figura 17 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6b) 208
- Figura 18 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6c) 209
- Figura 19 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-

3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6d</u> )	210
Figura 20 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6e</u> )	211
Figura 21 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6f</u> )	212
Figura 22 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-[4-fluor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6g</u> )	213
Figura 23 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6h</u> )	214
Figura 24 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6i</u> )	215
Figura 25: Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6j</u> )	216
Figura 26 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(2-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6k</u> )	217
Figura 27 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6l</u> )	218
Figura 28 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6m</u> )	219
Figura 29 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona ( <u>6n</u> )	220
Figura 30: Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imdazolidina-2-ona ( <u>10a</u> )	221
Figura 31 - Espectro de infravermelho, em $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)- 3-(4-nitro-benzil)-4-tioxo-imdazolidina-2-ona ( <u>10b</u> )	222

- Figura 32 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (6b) 223
- Figura 33 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-  
benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6c) 223
- Figura 34 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (6e) 224
- Figura 35 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fluor-(2-fenil-  
2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6g) 224
- Figura 36 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (6i) 225
- Figura 37 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-  
2,4-diona (6j) 225
- Figura 38 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-  
4-tioxo-imdazolidina-2-ona (10a) 226



# ***INTRODUÇÃO***

---

## 1. INTRODUÇÃO

---

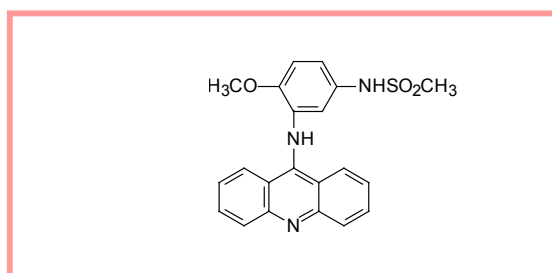
Dentre todas as patologias, o câncer é uma das mais devastadoras, pois mesmo com o avanço da medicina e a cura para determinados tipos de câncer detectados precocemente, outros tipos ainda não têm cura, ou ainda, as células tumorais se tornam resistentes aos fármacos disponíveis na clínica. Portanto, o tratamento para o câncer continua um desafio para gestores de saúde pública, médicos e pesquisadores no mundo inteiro.

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, no ano de 2000 foram diagnosticados 10 milhões de casos em todo o mundo, e seis milhões de pessoas morreram de câncer. A frequência de câncer poderá aumentar em 50% nos próximos 20 anos. A adoção de medidas de saúde pública pelo governo e profissionais de saúde poderá reverter estes números e evitar até um terço dos casos, curar o outro terço e assegurar condições paliativas de qualidade para os demais (OMS, 2000).

Em países desenvolvidos, a possibilidade de um diagnóstico precoce é bem maior do que nos países pobres, que devido a falta de acesso da população aos serviços de saúde, muitas vezes o diagnóstico é feito numa fase tardia da doença onde as possibilidades de cura são bem menores. Isto deixa claro a necessidade de melhores programas de prevenção e controle da doença.

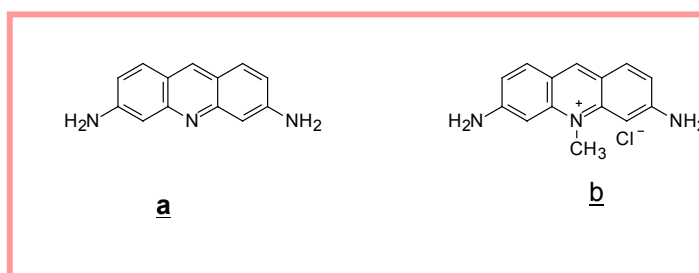
Enquanto não se descobre a cura definitiva para o câncer, vários esforços têm sido feitos para sua prevenção e controle. Pesquisas envolvendo a manipulação do sistema imunológico, terapia genética e avanço no descobrimento de novos fármacos são provas deste empenho.

Na tentativa de se desenvolver fármacos anticancerígenos mais potentes e com menos toxicidade, as acridinas têm despertado a atenção de vários pesquisadores, inclusive alguns fármacos dessa classe se encontram em uso clínico, como a ansacrina (Figura 1).



**Figura 1 – Ansacrina**

O interesse medicinal das acridinas data de 1888, mas apenas em 1913 estes compostos começaram a ser usados na prática médica quando Browning descobriu a ação bactericida da proflavina a e da acriflavina b (Figura 2) (ALBERT, 1966).



**Figura 2 – Estrutura química da proflavina a e da acriflavina b**

Em 1930 foi descoberta a mepacrina (Figura 3), o primeiro antimalárico sintético concorrente da quinina em atividade, fato que impulsionou o ritmo das investigações científicas (ACHESON, 1973).

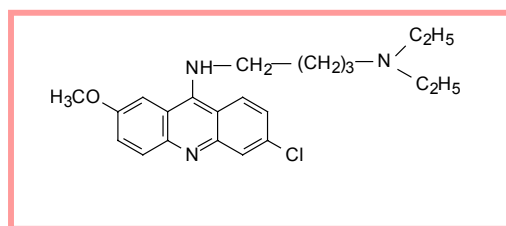


Figura 3 – Mepacrina

Recentemente, foram sintetizados agentes quimioterápicos baseados no núcleo acridínico, incluindo compostos com atividade antimalárica, antibacteriana e antitumoral. Alguns compostos acridínicos já estão em uso clínico e outros estão em intenso desenvolvimento por grupos de pesquisas no mundo inteiro (BRANÃ *et al.*, 2002).

Os compostos acridínicos são agentes terapêuticos bem conhecidos cujas propriedades mutagênicas dependem de sua habilidade para interagir com os ácidos nucléicos. Além disso, a atividade farmacológica dessas drogas intercalantes é devida ao seu poder de inibir a síntese de ácidos nucléicos pelo bloqueio da ação das enzimas que metabolizam o DNA. (SOURDON *et al.*, 2001)

Estudos com diferentes classes de agentes intercalantes de DNA comprovaram que a atividade antineoplásica está associada com a alta afinidade de ligação ao DNA, a baixa taxa de dissociação fármaco-DNA e também ao longo tempo de permanência da substância em um sítio de ligação individual do DNA (DENNY *et al.*, 1985). Na pesquisa de novos fármacos possuindo estas propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas desejáveis, nos empenhamos na preparação de derivados monoméricos da acridina condensados aos núcleos

tiazolidínicos e imidazolidínico, os quais estão presentes em várias substâncias com atividade biológica comprovada.

Neste trabalho, foram preparados derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos com o objetivo de se obter agentes antineoplásicos originais análogos da acridina contendo novos sítios de ligação com o DNA.

Serão abordados os seguintes capítulos: uma revisão da literatura, com as principais classes de acridinas que estão atualmente em fase de desenvolvimento; Parte química, com a descrição detalhada dos métodos de preparação dos derivados acridínicos, características físico-químicas e mecanismo de ação; A modelagem molecular e; Artigos publicados e submetidos à publicação.

## **OBJETIVOS**

---

## 2. OBJETIVOS

---

### 2.1. Geral

Contribuir no descobrimento de novos agentes acridínicos antitumorais mais eficazes e seletivos.

### 2.2. Específicos

Sintetizar novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos e comprovar as respectivas estruturas químicas através de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $H^1$ ), Infravermelho (IV) e Espectrometria de Massas (MS).

Avaliar a atividade antitumoral *in vivo* dos novos compostos sintetizados em tumor sólido Sarcoma 180.

## ***REVISÃO DA LITERATURA***

---



### 3. REVISÃO DA LITERATURA

---

#### 3.1. Câncer: considerações gerais

Conceitualmente, as neoplasias malignas caracterizam-se por uma proliferação anormal e desordenada de um determinado tecido, que passa a agir de forma autônoma e descontrolada. Esta autonomia celular se deve, basicamente, às alterações genéticas encontradas em tais células. O poder de invadir os tecidos vizinhos e migrar pelo organismo provocando metástases, são os grandes responsáveis por levar o paciente à morte.

As neoplasias malignas são formadas por células geneticamente alteradas e instáveis. Estas alterações, inicialmente restritas a uma única célula, na maioria das vezes, geram toda uma população de células com tempo de duplicação menor que o tempo de duplicação celular do tecido normal que as originou. O percentual de células em mitose é muito maior que o número de células perdidas normalmente, traduzindo o crescimento de lesão. Este aumento mitótico fica evidente através do número de mitoses atípicas. Células morfológicamente alteradas (anaplásicas) se avolumam e se comprimem. A capacidade de controle tecidual pelo contato célula-célula é perdida. A neoformação vascular muitas vezes não é suficiente para suprir de nutrientes e oxigênio a demanda do novo tecido, de forma que Infartos teciduais e necrose são freqüentes (BARACAT, FERNANDES JR., SILVA, 2000).

### 3.1.1. Epidemiologia

O câncer é um problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos como em subdesenvolvimento. Em 2000, 5,3 milhões de homens e 4,7 milhões de mulheres desenvolveram um tumor maligno e 6,2 milhões de pessoas morreram de câncer. Nos próximos 20 anos este número poderá aumentar em 50% (OMS, 2000).

No Brasil, as neoplasias malignas situam-se entre as principais causas de mortalidade, abaixo apenas das doenças cardiovasculares (28%) e de causas externas (13%). Portanto, se levarmos em conta apenas a mortalidade por doenças, encontraremos o câncer como detentor de cerca de 12%, ou seja, a segunda causa de morte natural (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) é o órgão do Ministério da Saúde responsável pela coordenação das ações nacionais orientadas para a prevenção e controle do câncer. Entre as atribuições do INCA estão as atividades relacionadas à vigilância do câncer que se baseiam em dados obtidos através dos Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP), supervisionados pelo INCA/MS e pelo Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM).

As estimativas dos casos de câncer no Brasil começou em 1995 e constituem importante aporte ao desenvolvimento de estratégias dirigidas à prevenção e ao controle do câncer.

Ao apresentar as estimativas de casos incidentes e mortes por câncer para diferentes localizações topográficas, o INCA/MS dá um passo a mais na

incorporação de informações epidemiológicas fundamentais para o planejamento de ações preventivas primárias (promoção à saúde) e secundárias (detecção precoce), e de atenção terciária à população brasileira. Esse esforço se junta a outras atividades do INCA/MS para a obtenção e divulgação de informações sobre o câncer, como o lançamento recente do Atlas de Mortalidade por Câncer no Brasil – 1979 a 1999, e que brevemente incluirão, também, os resultados de um inquérito de morbidade e fatores de risco, atualmente sendo conduzido em amostras representativas, em todo país.

O Ministério da Saúde estima que, para 2003, em todo o Brasil, ocorrerão 402.190 casos novos de câncer e 126.960 óbitos (Tabela 1). Para o sexo masculino, são esperados 186.155 casos novos e 68.350 óbitos, enquanto que, para o sexo feminino, são estimados 216.035 casos novos e 58.610 óbitos. Estima-se que o principal câncer que acometerá a população brasileira será o câncer de pele não melanoma (82.155 casos novos), seguido pelas neoplasias malignas da mama feminina (41.610 casos novos), próstata (35.240 casos novos), pulmão (22.085 casos novos) e estômago (20.640 casos novos) (Ministério da Saúde, 2003).

Tabela 1 - Estimativas para o ano 2003 de número de casos novos e de óbitos por câncer, em homens e mulheres, segundo localização primária, Brasil.

Localização Primária Neoplasia Maligna	Estimativa de casos novos			Estimativa de óbitos		
	Masculino	Feminino	Total	Masculino	Feminino	Total
Pele não Melanoma	39.000	43.155	82.155	510	365	875
Mama Feminina	-	41.610	41.610	-	9.335	9.335
Traquéia, Brônquio e Pulmão	15.165	6.920	22.085	11.315	4.915	16.230
Estômago	13.630	7.010	20.140	7.330	3.815	11.145
Colo do útero	-	16.480	16.480	-	4.110	4.110
Próstata	35.240	-	35.240	8.320	-	8.320
Cólon e Reto	9.530	10.545	20.075	3.700	4.270	7.970
Esôfago	6.775	2.120	8.895	4.320	1.275	5.595
Leucemias	4.065	3.315	7.380	2.510	2.095	4.605
Cavidade Oral	7.750	2.885	10.635	2.540	705	3.245
Pele Melanoma	2.185	2.185	4.370	645	480	1.125
Outras Localizações	52.815	79.810	132.625	27.250	27.245	54.495
<b>Total</b>	<b>186.155</b>	<b>216.035</b>	<b>402.190</b>	<b>68.350</b>	<b>58.610</b>	<b>126.960</b>

Fonte – Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer, 2003.

Os Registros de Câncer de Base Populacional representam as principais vias de dados sobre a prevalência e a mortalidade de câncer no Brasil e no mundo. Em nosso país, estes registros estão localizados em seis grandes centros: Belém, Fortaleza, Recife, Goiânia, Porto Alegre e São Paulo. Assim, há uma grande cobertura do território nacional, denotando dados próprios de cada região. Podemos citar, por exemplo, a alta prevalência de câncer do colo de útero em mulheres de

Recife, a alta prevalência de câncer de mama em mulheres de Porto Alegre e São Paulo, assim como muitos outros (BARACAT, FERNANDES JR., SILVA, 2000).

### 3.1.2. Tratamento quimioterápico do câncer

O tratamento clínico do câncer consiste no emprego de substâncias capazes de exterminar ou impedir o crescimento tumoral. A quimioterapia citotóxica consiste no emprego, local ou sistêmico, de fármacos potencialmente letais às células neoplásicas, seja em tumores sólidos ou hematológicos. A hormonioterapia consiste na manipulação do sistema endócrino em pacientes com tumores, logicamente, hormônio-sensíveis; esta manipulação pode ser feita por mecanismos cirúrgicos, radioterápicos e mais comumente através de substâncias bloqueadoras hormonais. O uso de agentes modificadores da resposta imunológica consiste no uso de drogas que agem diretamente na estimulação do sistema imune, principalmente no mecanismo de imunidade celular (BARACAT, FERNANDES JR., SILVA, 2000)

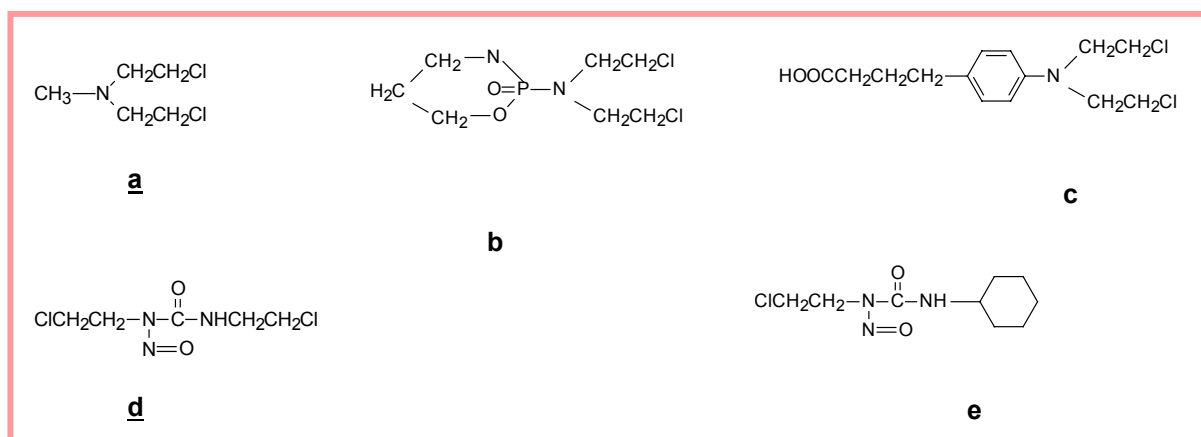
A eficácia dos fármacos antineoplásicos varia de acordo com o tipo de câncer, com as condições fisiológicas do paciente e do grau ou estágio em que se encontra o tumor. A eficácia dos fármacos antineoplásicos é maior nas células que estão em divisão celular em comparação com aquelas que estão na fase  $G_0$ . Portanto, os fármacos antineoplásicos interferem em algum ponto da divisão celular, ou seja, desde a síntese das bases purínicas e pirimidínicas até a síntese de proteínas. Assim, a 6-mercaptopurina inibe a biossíntese do anel purina impedindo a síntese dos ribonucleotídeos; a hidroxiuréia inibe a ribonucleotídeo redutase interferindo na

síntese do DNA; a citarabina inibe a síntese do DNA; bleomicina, etoposida e tenoposida danificam o DNA e impedem sua reparação; dactinomicina e daunorrubicina intercalam o DNA e inibem a síntese de RNA; a L-asparaginase inibe a síntese de proteínas (GOODMAN, GILMAN, 1996).

Segundo Brody *et al.*, 1994, podemos classificar os diversos agentes quimioterápicos nos seguintes grupos: a) Agentes alquilantes; b) Antimetabólitos; c) Alcalóides vegetais; d) Antibióticos; e) Agentes hormonais e f) Outros agentes

#### a) Agentes alquilantes

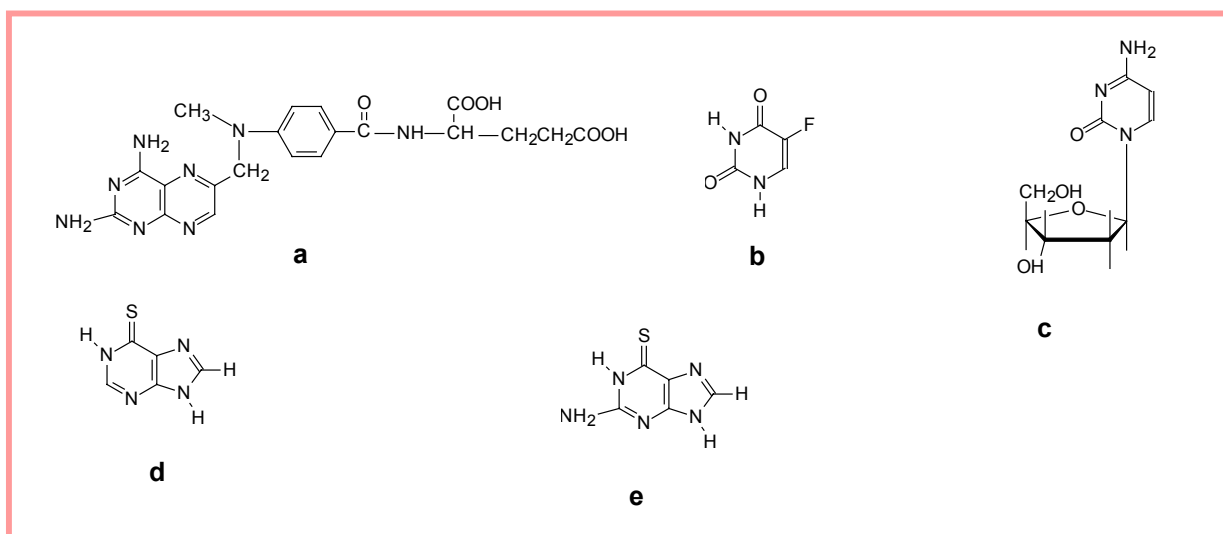
A utilização de agentes alquilantes na terapia do câncer surgiu como resultado de observações dos efeitos dos gases de mostarda empregadas na guerra sobre o crescimento celular. Embora os gases de mostarda sulfurados fossem muito tóxicos para uso clínico como agentes antineoplásicos, os agentes alquilantes correlacionados produziram os primeiros agentes antineoplásicos eficazes, incluindo a mecloretamina. O processo de alquilação ocorre pela formação de um íon carbônio com carga positiva. Este grupo reage subsequentemente com um local rico em elétrons, particularmente o RNA ou o DNA, para formar ácidos nucleicos modificados. Como agentes alquilantes, além das mostardas nitrogenadas (mecloretamina a, ciclofosfamida b, clorambucil c) temos ainda as nitrosouréias (carmustina d, lomustina e) e trizenos (dicarbazina) (Figura 4).



**Figura 4 – Agentes alquilantes: mecloretamina a, ciclofosfamida b, clorambucil c, carmustina d e lomustina e**

### b) Antimetabólitos

Os antimetabólitos são compostos que mimetizam as estruturas dos constituintes metabólicos normais, como o ácido fólico, pirimidinas e purinas, o suficiente para inibir as enzimas necessárias para a regeneração do ácido fólico ou para a ativação da pirimidina ou purina para a síntese da DNA ou RNA nas células neoplásicas. Os antimetabólitos freqüentemente matam as células na fase S do ciclo celular. O metotrexato (MTX) a, o 5-fluouracil (5-FU) b, a citarabina c, a 6-mercaptopurina (6-MP) d e a 6-tioguanina (6-TG) e são os antimetabólitos clínicos primários (Figura 5)



**Figura 5 – Antimetabólitos metotrexato a, 5-fluouracil b, citarabina c, 6-mercaptopurina d e 6-tioguanina e**

### c) Alcalóides

Os compostos primários deste grupo, a vincristina e a vimblastina, ligam-se a tubulina bloqueando a polimerização dos microtúbulos e portanto perturbam a formação do fuso mitótico durante a mitose e na fase de metáfase do ciclo celular. A morte celular resulta da incapacidade de separar corretamente os cromossomos.

### d) Antibióticos

Vários antibióticos são eficazes no tratamento de alguns tipos de tumores. Estes antibióticos incluem a doxorrubicina, daunorrubicina, bleomicina, actinomicina-D e mitomicina-C. A doxorrubicina e a daunomicina são antraciclinas que atuam por intercalação entre as bases na dupla hélice do **DNA, por inibição da** topoisomerase II, pela produção de radicais livres e possivelmente por uma ação na membrana citoplasmática.



#### e) Agentes hormonais

Compostos esteroidais agem atravessando a membrana citoplasmática e se ligando a receptores citoplasmáticos, que então entram no núcleo e interagem com a cromatina específica que responde a hormônios para induzir a síntese de mRNA especiais. A tradução dessas espécies de mRNA leva a novas proteínas que alteram as reações fisiológicas ou bioquímicas de modo benéfico.

As estratégias do tratamento hormonal do câncer de mama incluem tentativas de eliminar a produção de estrogênio pelas supra-renais e bloqueio dos receptores de estrogênio, usando drogas antiestrogênicas. O tamoxifeno é o principal antiestrogênico usado clinicamente e age ligando-se a receptores de estrogênios e bloqueando a transcrição dependente de estrogênio nas células em fase G<sub>1</sub>.

#### f) Outros agentes

A L-asparaginase é usada para hidrolisar a asparagina, necessária para o crescimento em células tumorais, uma vez que tais células exigem quantidades mais altas do que as células normais. A L-asparaginase depleta as concentrações de asparagina, bloqueando a síntese de proteínas e, eventualmente, de ácidos nucléicos. A hidroxiuréia atua inibindo a ribonucleotídeo-reductase, que reduz os ribonucleosídeos-difosfatos em desoxirribonucleotídeos necessários para a síntese de DNA. É um agente específico da fase S.

Atualmente, diversos estudos têm sido feitos no desenvolvimento de antineoplásicos com diferentes mecanismos de ação com objetivo de diminuir os efeitos colaterais, aumentar o efeito citotóxico e vencer a resistência desenvolvida

por células tumorais aos fármacos atualmente em uso clínico. Dentre estas drogas, podemos citar os inibidores de topoisomerases (I e II) e os inibidores de telomerases. Conforme detalhado a seguir, os compostos acridínicos são, na sua maioria, intercaladores do DNA, bloqueando a ação das topoisomerases.

### 3.1.3. Resistência aos fármacos antineoplásicos

O progresso no entendimento da base molecular que confere resistência aos fármacos no tratamento do câncer promete intervenções terapêuticas mais efetivas. A MDR (Multidrug Resistance, resistência simultânea a vários fármacos) é o principal mecanismo pelo qual muitos tipos de câncer desenvolvem resistência aos antitumorais, sendo também o maior responsável na falha de muitas formas da quimioterapia.

Os tumores consistem usualmente de uma mistura de populações de células malignas, das quais algumas são sensíveis e outras resistentes aos fármacos. A quimioterapia destrói as células sensíveis, mas deixa para trás uma alta proporção de células fármaco-resistentes. Quando o tumor começa a crescer novamente, a quimioterapia pode falhar porque as células tumorais remanescentes são agora resistentes (CHEN *et al.*, 1986).

A resistência à quimioterapia tem sido correlacionada com a presença de pelo menos duas bombas protéicas presentes na membrana das células tumorais que expulsam os quimioterápicos para o exterior. Isto faz com que a célula

tumoral evite os efeitos tóxicos dos fármacos e/ou processos moleculares com o núcleo ou o citoplasma. Estas bombas que comumente conferem quimiorresistência no câncer são a P-glicoproteína e a MRP (multidrug resistance-associated protein, proteína associada à resistência a várias drogas). Devido a sua função e importância, elas são alvos de vários esforços na terapia antineoplásica (RIORDAN *et al.*, 1985).

É conhecido há décadas que as células têm mecanismos para transportar uma variedade de moléculas para fora do citoplasma. Por exemplo, transportadores de cátions orgânicos foram um dos primeiros mecanismos identificados, e a capacidade secretora do rim a este respeito foi demonstrada por Rennick e colaboradores (1947). A primeira correlação específica entre transportadores da membrana celular e um fenótipo fármaco-resistente foi feita em células de ovário de hamster chinês, quando foi mostrado que uma glicoproteína de 170 kD, chamada P-glicoproteína, correlacionava-se com o grau de resistência ao fármaco em várias linhagens de células (JULIANO, LING, 1976). Várias células mostraram resistência a colchicina **a**, vincristina **b**, doxorubicina **c**, etoposide **d** e paclitaxel **e** (Figura 6), além de outras moléculas usadas no tratamento do câncer. A P-glicoproteína foi purificada por Riordan e Ling (1979) e forte evidência de seu papel no mecanismo da resistência aos fármacos veio em 1982, quando foi mostrado que DNA de linhagens de células resistentes que foram transferidos para células não resistentes eram capazes de adquirir resistência posterior a qual estava relacionado com a expressão da proteína (DEBERNHAM *et al.*, 1982). O gene para P-glicoproteína, chamado MDR-1, foi clonado por Riordan e colaboradores (1985), e a função da proteína como uma

bomba dependente de energia que expulsa pequenas moléculas para fora da célula foi postulada com base na seqüência homóloga com a proteína de transporte bacteriana, a hemolisina, em outros estudos (CHEN *et al.*, 1986).

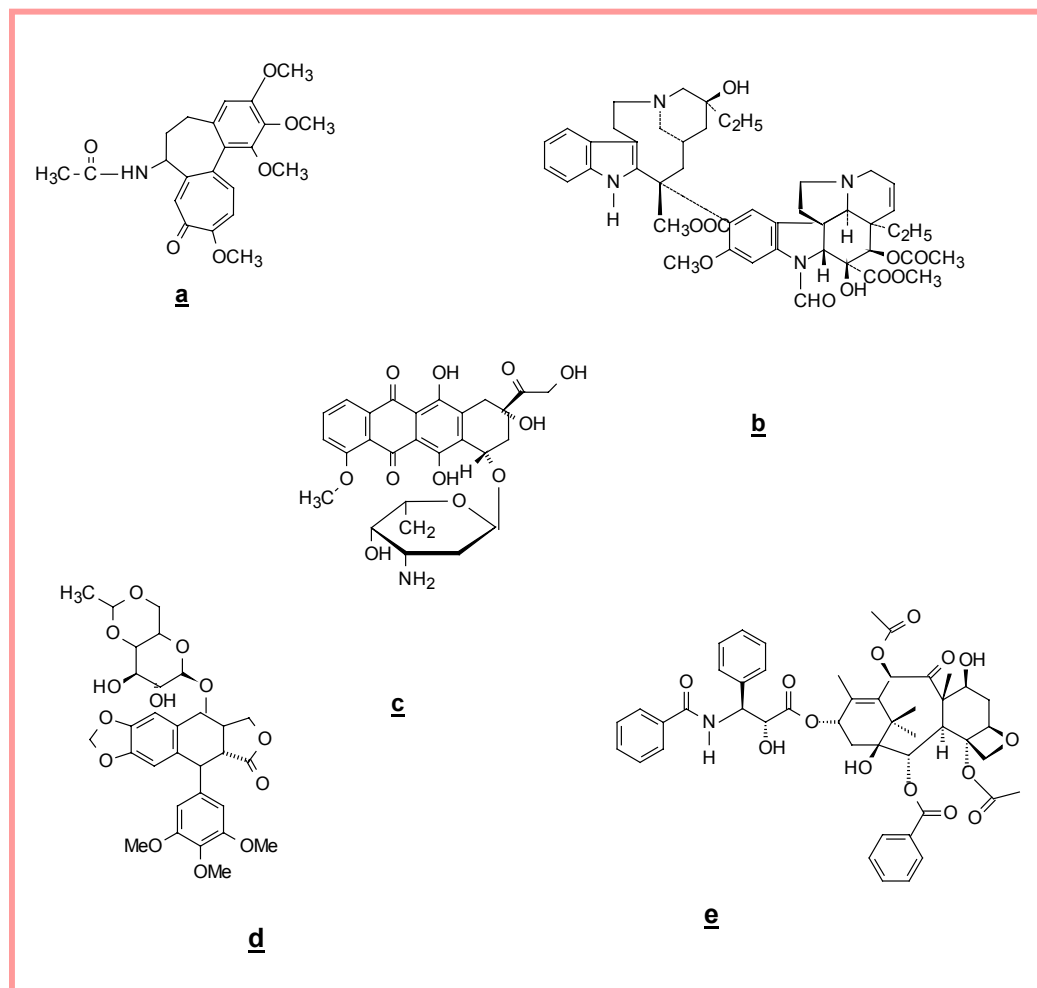


Figura 6 - colchicina **a**, vincristina **b**, doxorubicina **c**, etoposide **d** e paclitaxel **e**

Trabalhos com linhagens de células de câncer de pulmão que eram resistentes a doxorubicina e outros agentes quimioterápicos mostrou que estas linhagens não possuíam super-expressão da P-glicoproteína, mas que elas expressavam outra proteína, chamada MRP, clonada por Cole e colaboradores

(1992). Foi descoberto que a MRP era também uma bomba protéica, especialmente um membro de uma superfamília de transportadores transmembrana ATP-ligante, e tanto a MRP quanto a P-glicoproteína têm sido alvos significantes para compostos anticancerígenos (COLE *et al.*, 1992).

Na batalha contra o câncer, determinados alvos biológicos têm sido perseguidos. Devido à importância da MDR, muitos laboratórios farmacêuticos e grupos de pesquisa têm direcionado seus trabalhos visando a P-glicoproteína e/ou MRP como alvos. O câncer se defende ativamente pelo uso desses mecanismos, e por esta razão é preciso detê-lo através do descobrimento de novas substâncias para se ter benefícios terapêuticos significantes. O conhecimento nesta área está progredindo rapidamente para vencer a MDR (NAKAMURA *et al.*, 2000).

### **3.2. Mecanismo de ação dos compostos acridínicos**

Segundo Lê Pecq e colaboradores (1975), a maioria dos efeitos biológicos dos compostos acridínicos pode ser explicado por interação entre a acridina e o DNA. Várias substâncias de importância clínica como a actinomicina D **a** e a daunomicina **b**, bem como várias drogas usadas em doenças parasitárias, como a quinacrina **c** e a cloroquina **d** (Figura 7) agem como as acridinas, ou seja, se intercalando no DNA.

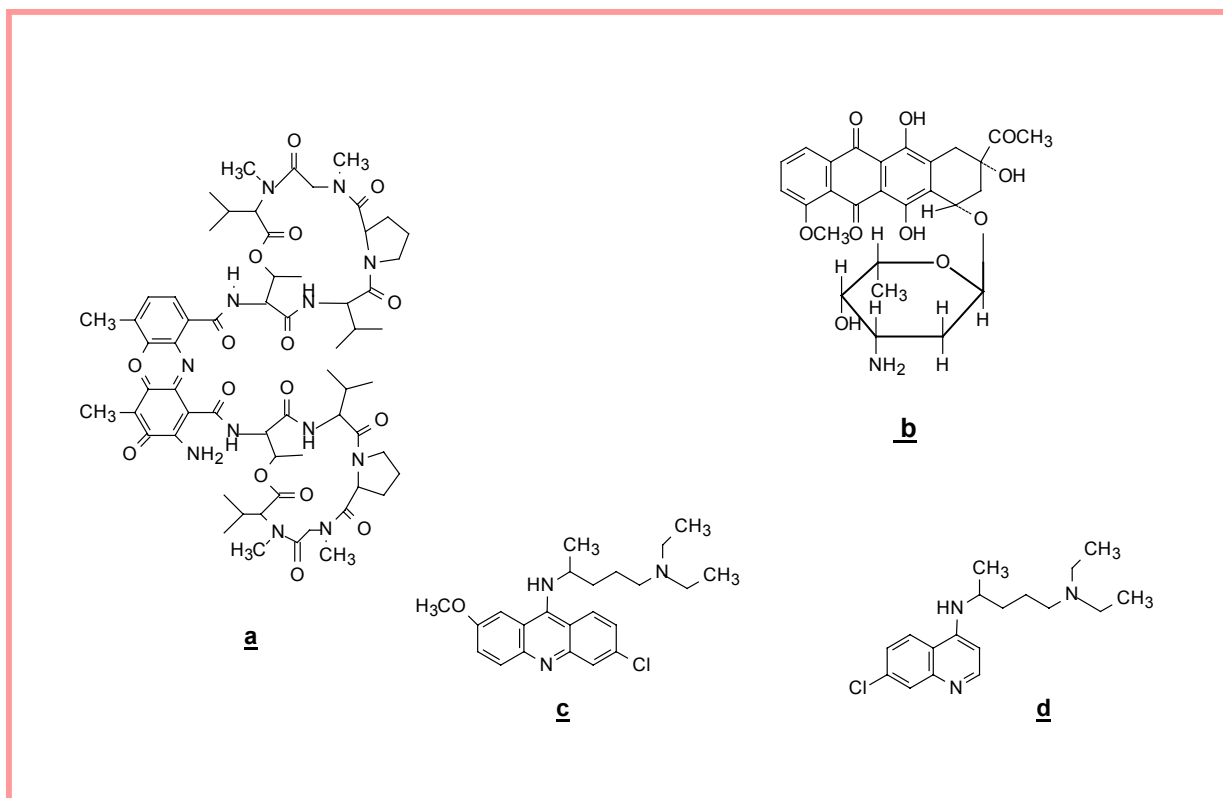


Figura 7 - Actinomicina D **a**, daunomicina **b**, quinacrina **c** e cloroquina **d**

Essas drogas exercem seus efeitos clínicos primários pela capacidade de interferir na função do DNA, seja bloqueando a transcrição do gene ou inibindo a replicação.

Lerman, em 1961, foi o primeiro pesquisador a propor um modelo de intercalação para drogas que se ligam ao DNA, examinando as interações acridina-DNA. No modelo proposto, moléculas aromáticas planares possuindo 2 ou 3 anéis de 6 membros são inseridas entre pares de bases adjacentes na hélice do DNA. O cromóforo aromático intercalado se orienta paralelamente aos pares de bases nucleotídicas e perpendicularmente ao eixo da dupla hélice. Este complexo formado é estabilizado por interações hidrofóbicas, ligações de Van der Waals e de ligações

de hidrogênio. Estas interações são consideradas as mais importantes na intercalação. A intercalação do DNA causa modificações nas características físico-químicas do ácido nucléico, a dupla hélice vai se tornar rígida e se esticar. A nível biológico, o metabolismo celular é fortemente perturbado. Ocorre um bloqueio do sistema enzimático (RNA polimerase e DNA polimerase) responsável pela replicação e transcrição do DNA (LERMAN, 1961, 1963).

Fármacos que interagem não covalentemente com o DNA usualmente ligam-se por um dos seguintes mecanismos: intercalação ou ligação na fenda menor do DNA . Modelo de um complexo fármaco-DNA derivado de estudos cristalográficos de raios-X é mostrado na Figura 8 (HAQ, LADBURY, 2000)

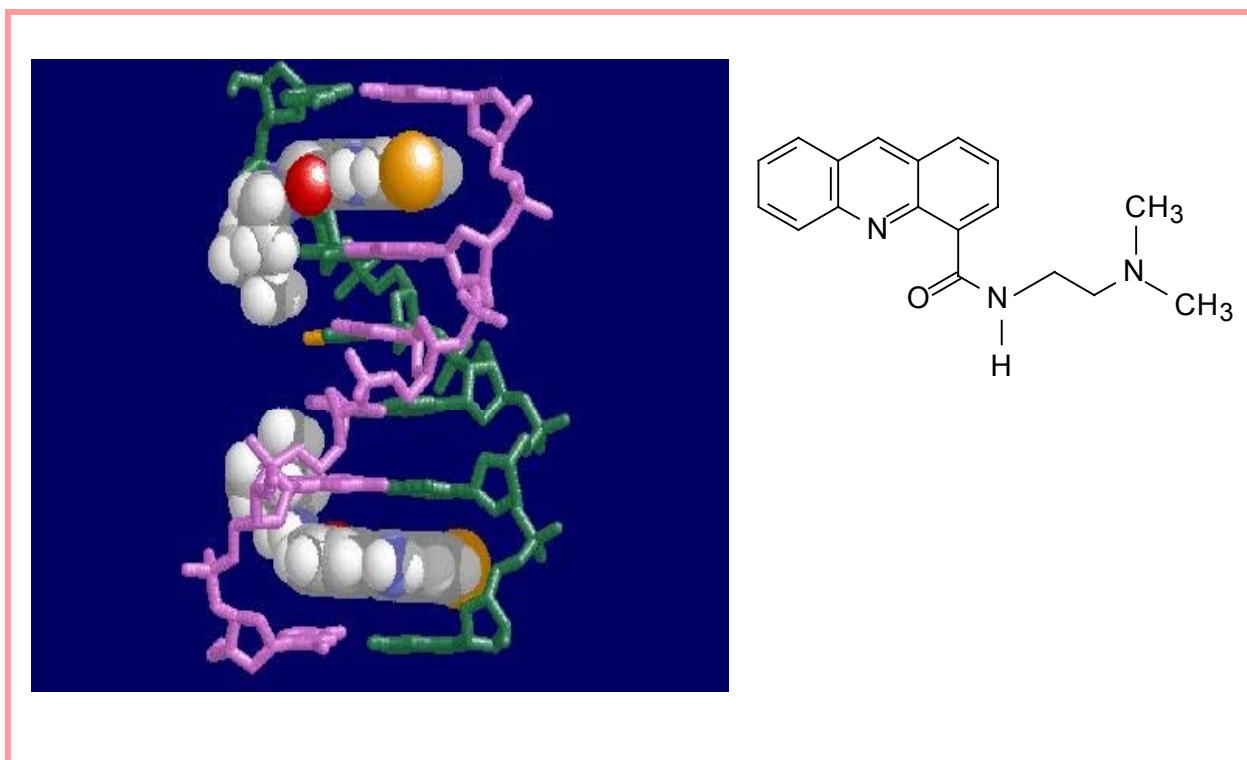


Figura 8 - Modelo de intercalação de DNA derivado de estudos cristalográficos de raios-X da N-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4-carboxamida (DACA)

### 3.3. Acridinas biologicamente ativas

Os derivados acridínicos são conhecidos por apresentarem um amplo espectro de atividades biológicas, como atividades antimicrobianas, antimalárica, antitripanossômica (BONSE *et al.*, 1999), leishmanicida e (GIRAULT *et al.*, 2000) e sobretudo por suas propriedades antineoplásica.



### 3.3.1. Monoacridinas

A atividade citotóxica *in vitro* de vários derivados da 9-amino-nitro-acridina (Figura 9) foi testada em cultura de células da linhagem KB e células do carcinoma de Ehrlich. Correlações distintas entre atividade biológica e estrutura química foram encontradas; verificou-se que a atividade biológica depende principalmente da posição do grupo nitro. Os derivados 1-nitro-acridina mostraram maior atividade. Uma condição adicional para a atividade biológica é a presença de uma cadeia dialquil-amino-alkilamino na posição 9 da acridina, não sendo influenciada pelo número de grupos metilênicos da mesma. A introdução de outros substituintes como metil, metoxi e bromo nas posições 4, 6 e 7 da 1-nitro-acridina têm pouca influência na atividade biológica (KONOPA, 1968).

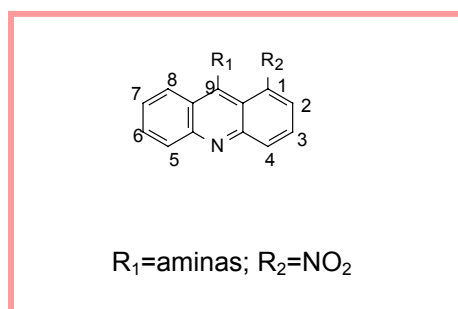


Figura 9 - Estrutura geral dos derivados da 9-amino-nitro-acridina

As acridinas 4-carboxamidas são interessantes como uma nova geração de intercaladores de DNA que são ativos contra tumores sólidos e leucemias. O derivado N-[2-(dimetil-amino)etil]-acridina-4-carboxamida (DACA) a (Figura 10) é um agente intercalante de DNA com atividade inibitória contra as enzimas topoisomerase I e II (PASTWA *et al.*, 1998; BRIDEWEL, FINLAY, BAGULEY, 2001).

DACA tem um amplo espectro de atividades contra tumores sólidos em animais, e não é relativamente afetada pela MDR mediada pela P-glicoproteína, provavelmente devido a sua alta lipofilicidade. Análogos da DACA com substituintes metil, metoxi e cloro em diferentes posições da acridina foram preparados, e muitos mostraram significativa atividade em modelo de tumor sólido de camundongo (Figura 10). O derivado 7-cloro (Figura 10 **b**) foi cerca de quatro vezes mais potente que a DACA na clivagem do DNA pela topoisomerase I (SPICER *et al.*, 1997).

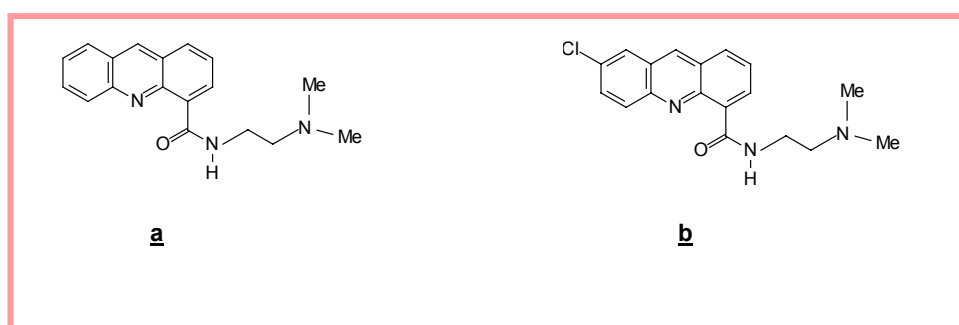


Figura 10 – DACA **a** e seu derivado 7-cloro **b**

A ansacrina [4'-(9-acridilamino)-metanosulfona]-*m*-anisidina; *m*-AMSA] **a** (Figura 11) é uma anilinoacridina dotada de propriedades anticancerígenas devido a sua interação com o DNA. Todos os fármacos que agem por intercalação no DNA necessitam de núcleos policíclicos planares. Estudos cristalográficos da ansacrina mostraram que o plano do anel fenil tem orientação ortogonal ( $\sim 70^\circ$ ) em relação ao plano do cromóforo. Nesta orientação, o cromóforo da acridina pode se acomodar na fenda do DNA se ligando paralelamente com os pares de bases axiais (FIGGITT *et al.*, 1994). Esta droga foi introduzida na terapêutica para o tratamento da leucemia mielóide aguda e leucemia linfóide aguda. A ansacrina e derivados estruturalmente relacionados induzem apoptose da célula tumoral via inibição da topoisomerase II. O análogo asulacrina (Figura 11 **b**), está em ensaios clínicos para o tratamento do

câncer de pulmão e de mama (FISCHER, PINDUR, 1999). Outros análogos da *m*-AMSA foram sintetizados como potenciais agentes anti-tumorais. Alguns apresentaram notável citotoxicidade frente ao crescimento em cultura de células humanas HL-60 e células HeLa. Os danos no DNA foram avaliados por meio de eluição de filtros de DNA e técnicas de precipitação de proteínas. Estudos catalíticos com topoisomerasas purificadas confirmaram que esses agentes inibem topoisomerasas. Camundongos portando tumor sólido foram tratados com estes compostos, e o análogo mostrado na figura 11 foi tão potente quanto *m*-AMSA, mas apresentando menos toxicidade para o hospedeiro (FERLIN *et al.*, 2000). Derivados estruturalmente relacionados da 9-anilinoacridina, 3-(9-acridinilamino)-5-hidroximetilamina (AHMA) **c** foram sintetizados e avaliados para atividade antitumoral. Alguns derivados apresentaram potente citotoxicidade na inibição do crescimento de células leucêmicas humanas HL-60 em cultura (SU *et al.*, 1999).

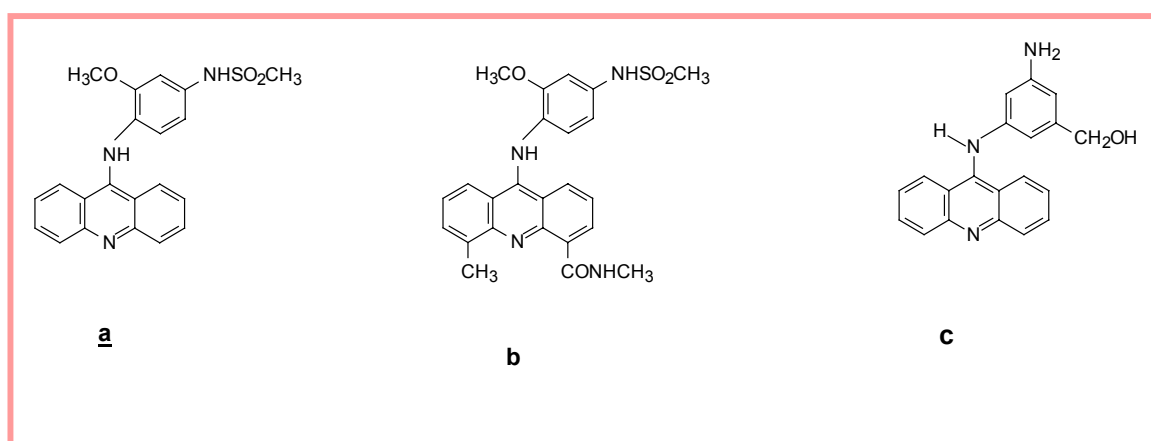
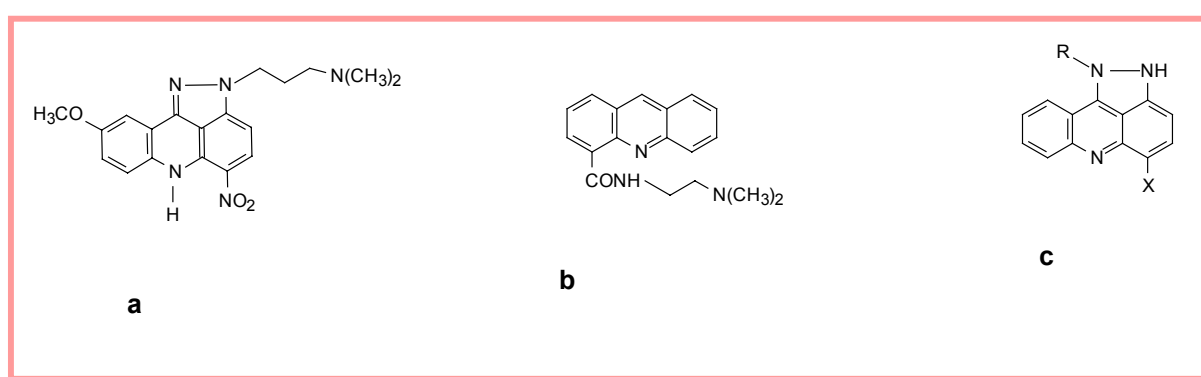


Figura 11 - Ansacrina **a**, asulacrina **b** e AHMA **c**

Partindo do conhecimento da atividade citotóxica de derivados pirazol[3,4,5-kl]-acridina, onde o composto **a** (Figura 12) encontra-se em ensaios clínicos, e também pelo fato de que as acridinas 4-carboxamidas são uma classe de acridinas anticancerígenas **b**, Bu e colaboradores (2001), prepararam derivados

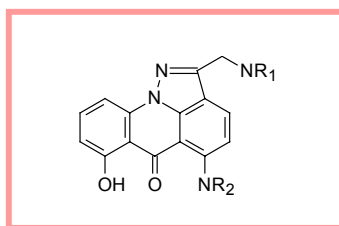
possuindo tanto o anel pirazol, como a cadeia 4-carboxamida, na tentativa de obter produtos mais potentes. Derivados do pirazol[3,4,5-kl]-acridina foram testados para inibição de crescimento tumoral em linhagens de células P388 e Jurkat, e apresentaram atividade citotóxica significativa. Análogos contendo apenas a carboxamida ou apenas a cadeia amina em N-1 tiveram citotoxicidade similar ao composto de referência (DACA), enquanto que o composto contendo as duas funções, apresentou um aumento da atividade.



R=Me; X=CO<sub>2</sub>Et

Figura 12 - Derivados do pirazol-acridina **a**, da acridina-4-carboxamida **b** e pirazol[3,4,5-kl]-acridina **c**

Sugaya e colaboradores (1994) prepararam derivados 6H-pirazol-[4,5,1-de]acridina-6-onas (Figura 13), genericamente denominados de pirazoloacridonas, uma nova classe de intercaladores de DNA. O estudo biológico feito com as pirazoloacridonas mostrou que elas intercalam o DNA e possuem atividade antiproliferativa *in vitro* contra células Hela S<sub>3</sub>, e significativa atividade antitumoral *in vivo* frente a células de leucemia P388 e sarcoma 180. Concernente a relação estrutura-atividade, cadeias 7-hidroxi, e aminoalquilamino e/ou hidroxialquilamino em C-2 e C-5 exercem um papel importante na atividade biológica.



R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>=aminas

Figura 13 - Derivados 6H-pirazol-[4,5,1-de]acridina-6-onas

A acronicina **a** (Figura 14) é um alcalóide citotóxico isolado originalmente do arbusto *Achronychia baueri* que apresentou citotoxicidade contra certas células tumorais *in vitro*, mas teve uma fraca atividade citotóxica *in vivo*. Estudos da relação estrutura atividade (SAR) tem conduzido recentemente ao desenvolvimento de derivados da acronicina com melhores propriedades farmacológicas. Um dos análogos, S-23906-1 **b** (Figura 14), apresentou atividade promissora *in vivo* frente ao adenocarcinoma 38 de cólon implantado em camundongos (COSTES *et al.*, 2000). O derivado da benzoacronicina S-23906-1 é um potente indutor da apoptose em células promielocítica HL-60 humanas e em menor extensão em células de melanoma B16 de murinos (KLUSA *et al.*, 2002).

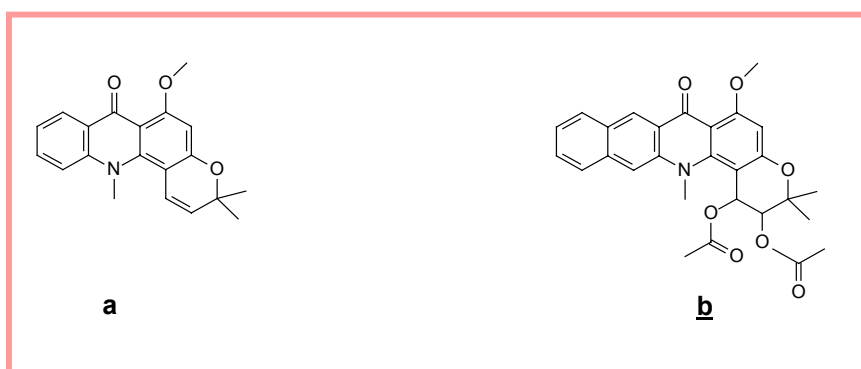


Figura 14 – Acronicina **a** e S23906-1 **b**

O cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5-kl]-acridinium **a** (Figura 15) mostrou atividade inibitória superior a *m*-AMSA em um painel de células tumorais do fígado.

A atividade do composto está ligada à desorganização da topoisomerase II. Ao contrário da *m*-AMSA, este composto não é susceptível ao efluxo da droga mediada pela P-glicoproteína e retém a atividade em células de câncer do pulmão resistentes ao etoposídeo, inibidor da topoisomerase II (STANSLAS *et al.*, 2000). Um sal acridínico pentacíclico **b** foi sintetizado e apresentou potente atividade inibitória sobre a telomerase. Esta enzima é ativada em células tumorais (mas não em células normais) e serve para manter as extremidades dos cromossomos que se desgastam durante replicações sucessivas do DNA. A ativação da telomerase é o evento genético chave que conduz à imortalidade das células tumorais, sendo que as substâncias que agem inibindo esta enzimas são promissoras drogas anticancerígenas (HARRISON *et al.*, 1999; ELLIS, STEVENS, 2001; NEDLE, PARKINSON, 2002).

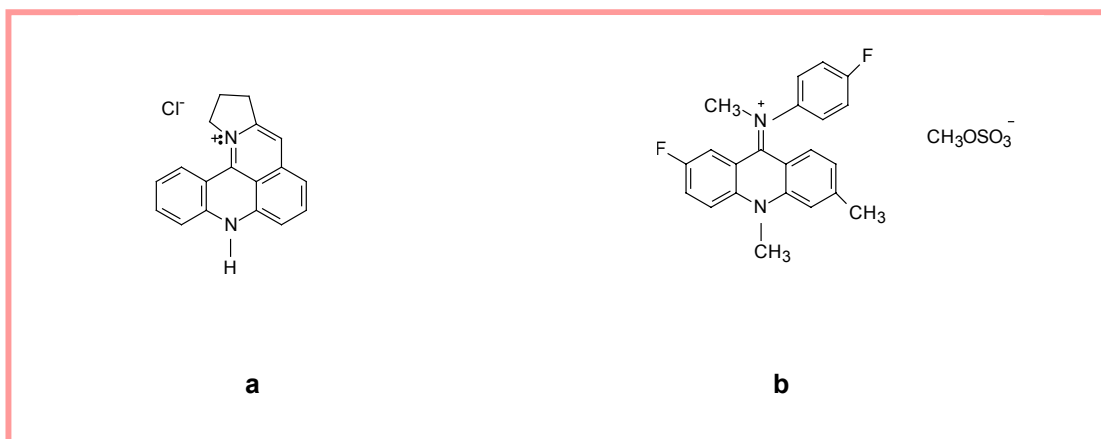


Figura 15 - Cloreto de di-hidroindolizino[7,6,5-k]-acridinium **a** e sal acridínico pentacíclico **b**

Chen e colaboradores (2002), na busca de novos agentes antiinflamatórios, sintetizaram dois tipos de acridinas, derivados da 9-anilinoacridina e da 9-fenoxiacridina. Os derivados **a**, **b** e **c** (Figura 16) foram mais potentes que o inibidor de referência, a mepacrina, para a inibição da desgranulação de mastócitos

peritoneal de ratos com valores de  $IC_{50}$  de 16-21 $\mu$ M. Os resultados indicaram que os efeitos antiinflamatórios dos derivados da acridina foram mediados, pelo menos em parte, através da supressão da liberação de mediadores químicos dos mastócitos, neutrófilos e macrófagos, e que estes compostos têm o potencial para ser novos agentes antiinflamatórios com citotoxicidade reduzida.

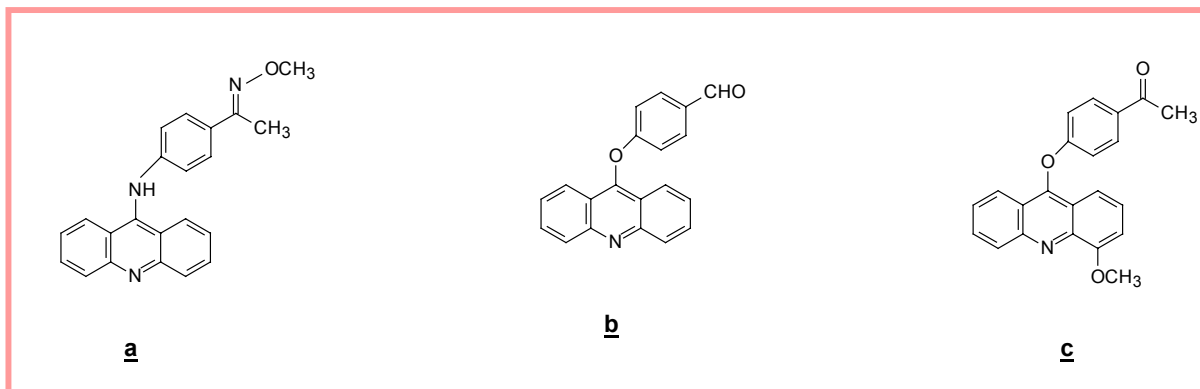


Figura 16 - Derivados da 9-anilinoacridina **a** e 9-fenoxiacridina **b** e **c**

Nas últimas décadas, organismos marinhos têm fornecido um grande número de compostos com diversas atividades farmacológicas, incluindo briostatina, dolastatina, criptoficina, apladina e ecteinascidina 743 (RINEHART, 1991). A maioria dos alcalóides marinhos caracterizados foi baseada no esqueleto pirido[2,3,4-kl]-acridina, sendo o ascididemin um dos primeiros exemplos desses compostos. Alguns derivados do ascididemin (Figura 17) como a bromoleptoclidona, 11-hidroxi-ascididemin e neocaliactina foram também isolados de fontes marinhas. O ascididemin e seus análogos naturais (bromoleptoclidona e 11-hidroxi-ascididemin) foram testados pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos, e todos exibiram citotoxicidade seletiva contra certos tipos de câncer *in vitro*. Análogos foram sintetizados por Alvarez e colaboradores (2000) e testados em células de linfoma P388D murinas, células de carcinoma de pulmão A549 humanas apresentando

atividade citotóxica. Delfourne e colaboradores (2002) prepararam ascididemins com modificações no anel D. Os resultados obtidos *in vitro* mostraram que os compostos tiveram boa atividade citotóxica, sendo que alguns deles apresentaram níveis de atividade antitumoral 100 vezes maior que o protótipo.

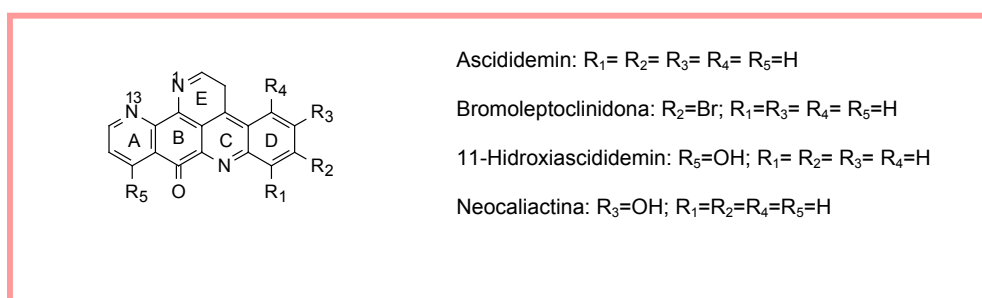


Figura 17 – Ascididemin e derivados

Alcalóides acridônicos bioativos **a** e **b** (Figura 18) foram isolados da *Swinglea glutinosa* Merr. (Rutaceae) e testados para atividade antiplasmodial, mostrando promissora atividade contra *Plasmodium falciparum*. Estes alcalóides foram testados em cepas de *Plasmodium falciparum* sensíveis e resistentes à cloroquina, e também para a citotoxicidade usando células HeLa. Todos os testes apresentaram boa atividade antiplasmodial (WENIGER *et al.*, 2001)

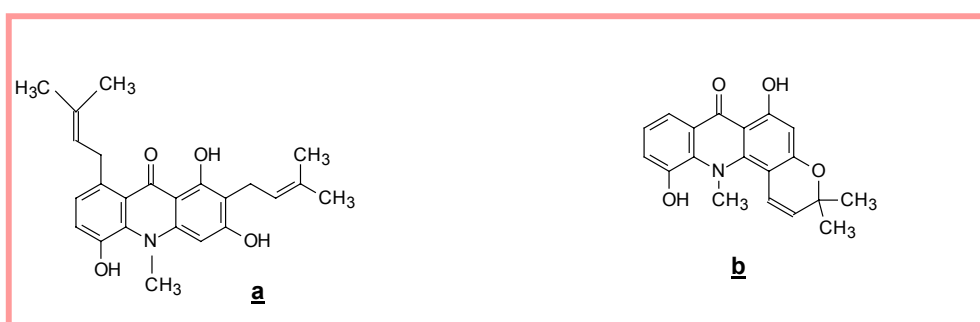


Figura 18 - Alcalóides acridônicos bioativos isolados da *Swinglea glutinosa* Merr



### 3.3.2. Poliacridinas

Na ausência de fatores estéricos ou entrópicos significantes, a constante de ligação de um bis-intercalador simétrico seria aproximadamente o quadrado do monômero. Uma vez que a dissociação do ligante-DNA envolve a saída de ambos os cromóforos do sítio de ligação, taxas menores de dissociação da droga foram observadas nos dímeros quando comparado aos monômeros correspondentes (DENNY *et al.*, 1985).

Foram preparados dímeros de acridina (Figura 19) utilizando cadeias aminoalquiladas como a espermina ou a espermidina para ligar os dois núcleos aromáticos. A afinidade desses compostos pelo DNA foi estudada, observando um aumento da constante de afinidade de ligação (BARBET, ROQUES, LE PECQ, 1975)

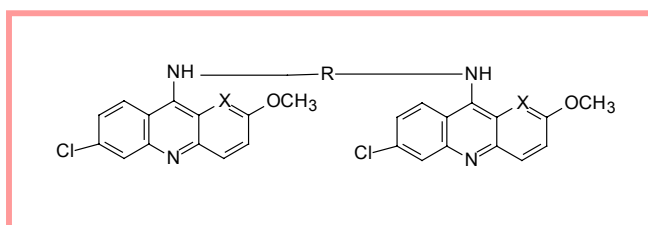


Figura 19 - Dímeros de acridina

O efeito das diacridinas, putrescina, espermidina e espermina no crescimento de células HeLa e células leucêmicas P-388 e L-1210 foram avaliadas e comparadas ao composto semelhante e estruturalmente relacionado, a 9-aminoacridina. As diacridinas (Figura 20) foram mais efetivas que a 9-aminoacridina na inibição do crescimento destes tumores (WAKELIN *et al.*, 1978; CHEN, FICO, CANELLAKIS, 1978).

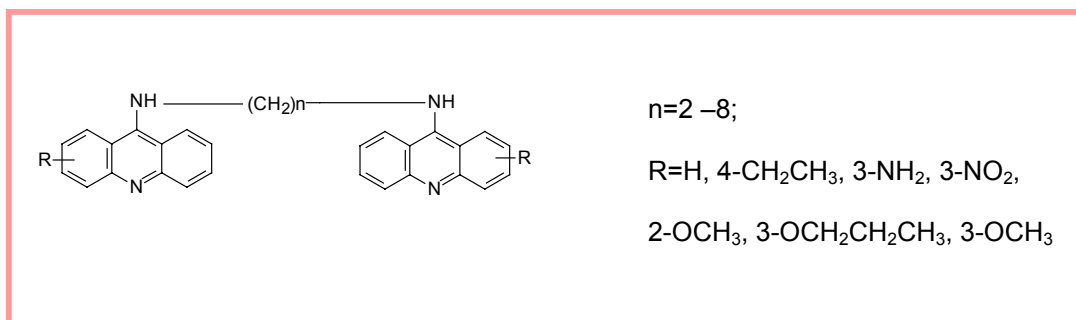
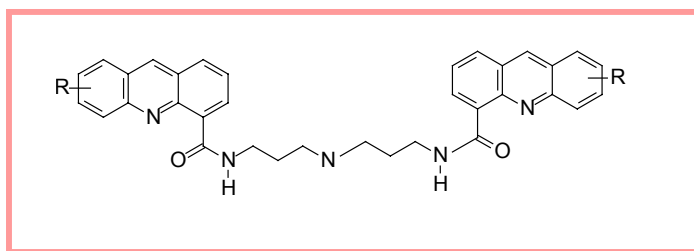


Figura 20 - Estrutura geral de diacridinas

Entretanto, compostos bis-intercalantes de DNA como uma classe particular de agentes antineoplásicos não produziu uma resposta biológica como esperado no seu estudo teórico, e a razão para esta falha ainda não foi elucidada. Nos últimos anos, o sucesso da combinação quimioterápica para minimizar o desenvolvimento da resistência do câncer durante o tratamento, depende da habilidade de novas drogas com novos mecanismos de ação. Quatro classes de diacridinas unidas na posição 9 por uma cadeia de comprimento, rigidez e polaridade variável, foram avaliadas para suas propriedades de ligação ao DNA e atividade antitumoral. Observou-se que diacridinas unidas por cadeia flexível de polaridade variável apresentaram trocas cinéticas entre os sítios de ligação do DNA, mas baixas taxas de dissociação. As trocas cinéticas podem ser diminuídas dramaticamente pela inclusão de cargas positivas na cadeia de ligação, mas drogas policatiônicas resultantes são inativas *in vivo*, possivelmente também devido a uma pobre distribuição. Diacridinas ligadas por cadeia pirazólica, com uma ligação suficientemente rígida e polar para conferir desejável cinética de ligação do DNA tem boa solubilidade em água, além de serem biologicamente ativas (DENNY *et al.*, 1985).

A síntese e o perfil citotóxico de um grande número de derivados acridínicos foram extensivamente estudados nos últimos anos por Gamage et al., (1997, 1999); Spicer *et al.*, (1997, 2002); Brindewel, Finlay, Baguley (2001) e Antonini *et al.*, (2003).

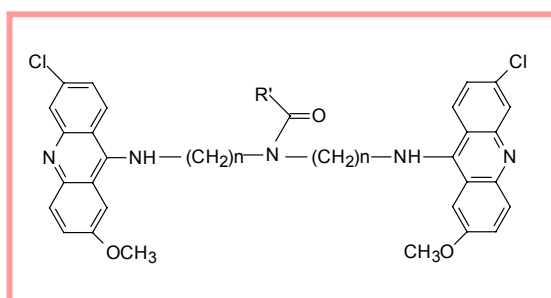
Foi preparada uma série de bis(acridina-4-carboxamida) (Figura 21) substituídas ligadas por uma cadeia  $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{NHCO}-$ . Esses análogos diméricos da N-[2-(dimetil-amino)etil]acridina-4-carboxamida (DACA) mostraram potência superior ao análogo DACA monomérico correspondente em um painel de células, incluindo o tipo selvagem ( $\text{JL}_c$ ) e o mutante ( $\text{JL}_A$  e  $\text{JL}_D$ ) de leucemia Jurkat humana. A última linhagem mutante ( $\text{JL}_D$ ) é resistente às drogas que agem sobre a topoisomerase II devido aos baixos níveis da enzima. Análogos com pequenos substituintes (metil e cloro) na posição 5 da acridina foram claramente superiores, com  $\text{IC}_{50}$  na ordem de 2 nM contra carcinoma de pulmão de Lewis e 11 nM contra  $\text{JL}_c$ . Substituintes volumosos em alguma posição causaram uma diminuição constante na potência, provavelmente devido uma baixa na afinidade de ligação pelo DNA. Os análogos mais potentes da bis-(5-metil-DACA), com segundos substituintes (metil e cloro) nas posições -1 e -8 tiveram potências similares ao composto 5-metil, indicando que os substituintes nas posições 1 e 8 pouco adiciona no efeito do 5-metil. Todos os compostos foram no mínimo equitóxicos contra a linhagem Jurkat mutante e o tipo selvagem, consistente com um efeito relativamente maior na topoisomerase I quando comparado com a topoisomerase II. O composto bis-(5-metil-DACA) inibiu a ação da topoisomerase I purificada em um ensaio de células (GAMAGE *et al.*, 1999).



R= Me, Cl, Et, F, OMe e outros

Figura 21 – Estrutura geral dos derivados da bis-(acridina-4-carboxamida)

Girault e colaboradores (2000) prepararam uma série de bis(9-amino-6-cloro-2-metoxiacridinas (Figura 22) no qual os núcleos acridínicos estão unidos por cadeias alcanodiaminas, poliaminas ou poliaminas substituídas. Estes compostos foram testados *in vitro* no estágio eritrocitário do *Plasmodium falciparum*, estágio tripomastigota do *Trypanossoma brucei*, e no estágio amastígota do *Trypanossoma cruzi* e *Leishmanis infantum*, bem como seus efeito citotóxicos sobre células MCR-5. Os resultados mostraram a importância da natureza da cadeia de ligação para as atividades antiparasitária e citotóxica.

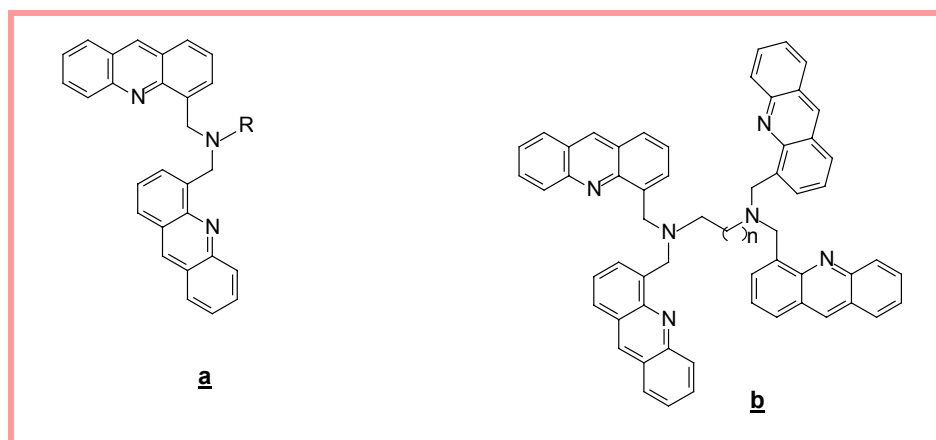


n=1,2,3 e 4; R'=alcanodiaminas, poliaminas, poliaminas substituídas

Figura 22 - Derivados da bis(9-amino-6-cloro-2)-metoxiacridina

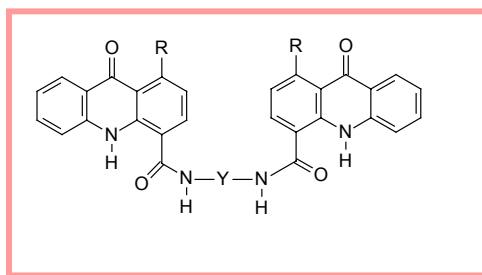
Uma série de bis- e tetra-acridinas foi preparada a partir da 4-(bromo- metil)-acridina. Alguns derivados exibiram boa atividade citotóxica *in vitro* contra linhagens de células murinas. Linhagens de células de leucemia L1212 e A549 foram usadas

para estudo das propriedades antiproliferativas. Os derivados **a** e **b** (Figura 23) apresentaram bons resultados (SOURDON *et al.*, 2001).



$n=1-7$ ;  $R=n$ -propil, fenil, *p*-clorofenil, *p*-metoxifenil  
Figura 23 – Derivados bis-acridínicos **a** e derivados tetra-acridínicos **b**

Uma série de bis{[(9-oxo-9,10-di-hidroacridina-4-carbonil)amino]alquil}alquilaminas (Figura 24) foram preparadas e testadas contra linhagens de células de câncer do cólon HT-29. Experimentos para avaliar a ligação com o DNA sugeriram que a alta atividade de alguns compostos pode está relacionada com a forte ligação de bis-intercalação com o DNA e simulações de dinâmica molecular demonstraram que este tipo de composto é capaz de formar complexos estáveis com um modelo hexâmero de DNA (BRANÃ *et al.*, 2002).



$R=H, Cl, NO_2, NH_2$

Figura 24 - Estrutura geral de derivados da bis{[(9-oxo-,10-dihidroacridina-4-carbonil)amino]alquil}alquilaminas

Augustus e colaboradores (2003) prepararam dois novos complexos bis(acridina)platina II (Figura 25). Conjugados com carga  $4^+$  associam-se fortemente com a dupla hélice de DNA, possivelmente por bis-intercalação. Os ensaios de viabilidade celular demonstraram que ambos os compostos são capazes de apresentar citotoxicidade em concentrações micromolares em células de tumor cerebral SNB19.

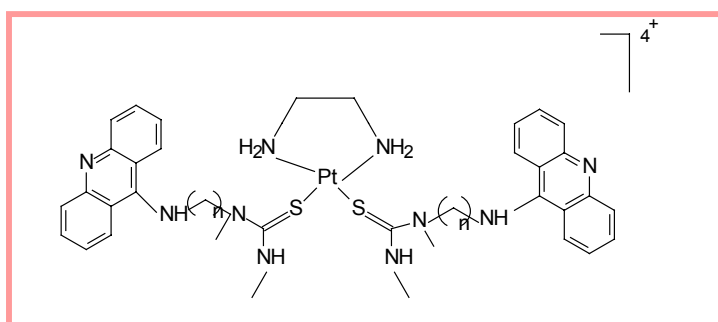


Figura 25 - Complexos bis(acridiniltiouréia)platina II

Novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos sintetizados no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da UFPE foram recentemente patenteados pelo CNPq, e vários derivados se encontram em fase de desenvolvimento (PITTA *et al.*, 2002)

Após o estudo dos dados da literatura, não resta dúvidas a respeito das propriedades terapêuticas das acridinas, principalmente no que concerne a atividade antineoplásica.

Neste trabalho, foram sintetizados novos compostos acridínicos condensados com um núcleo tiazolidínico e imidazolidínico, uma vez que estes últimos também são heterocíclicos bastante ativos, estando presentes em várias drogas em uso clínico. Os produtos obtidos foram submetidos a testes biológicos para avaliação de seus efeitos sobre o crescimento celular *in vivo*.

## ***PARTE QUÍMICA***

---

## PARTE QUÍMICA

---

### 4. Síntese de derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos

#### 4.1. Material

##### 4.1.1. Reagentes e Solventes

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

- ácido acético
- acetato de etila
- ácido cloroacético
- ácido sulfúrico
- argônio
- benzeno
- brometo de 4-bromo-benzil
- brometo de 4-fenil-benzil
- brometo de 4-flúor fenacil
- brometo de 4-bromo-fenacil
- brometo de 4-flúor-benzil
- brometo de 3-cloro-benzil
- cloreto de 2-cloro-benzil
- cloreto de 4-nitro-benzil
- cloreto de 4-nitro-fenacil



- cloreto de 4-fenil-benzil
- cloreto de zinco
- cianoacetato de etila
- cloreto de 4-cloro-benzil
- cloreto de 4-metil-benzil
- clorocromato de piridínio
- clorofórmio
- clorofórmio deuterado
- diclorometano
- difenilamina
- dimetilsulfóxido deuterado
- etanol
- éter etílico
- hidróxido de potássio
- hidróxido de sódio
- metanol
- *n*-hexano
- piperidina
- sulfato de magnésio
- tiouréia
- tolueno

## **4.1.2. Equipamentos**

### **4.1.2.1. Espectroscopia**

Os espectros dos produtos descritos foram realizados nos seguintes aparelhos:

#### **Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV)**

Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Perkin-Elmer 1310 ou espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, em pastilhas de KBr.

#### **Espectroscopia de ressonância nuclear de hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ )**

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foram efetuados em espectrofotômetro Bruker AC 200 ou em aparelho Varian Modelo Plus 300 MHz .

#### **Espectrometria de Massas (MS)**

Os espectros de massa foram registrados sobre impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C, acoplado a CPG HP 5987.

### **4.1.2.2. Ponto de fusão**

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Quimis Modelo 340.27.

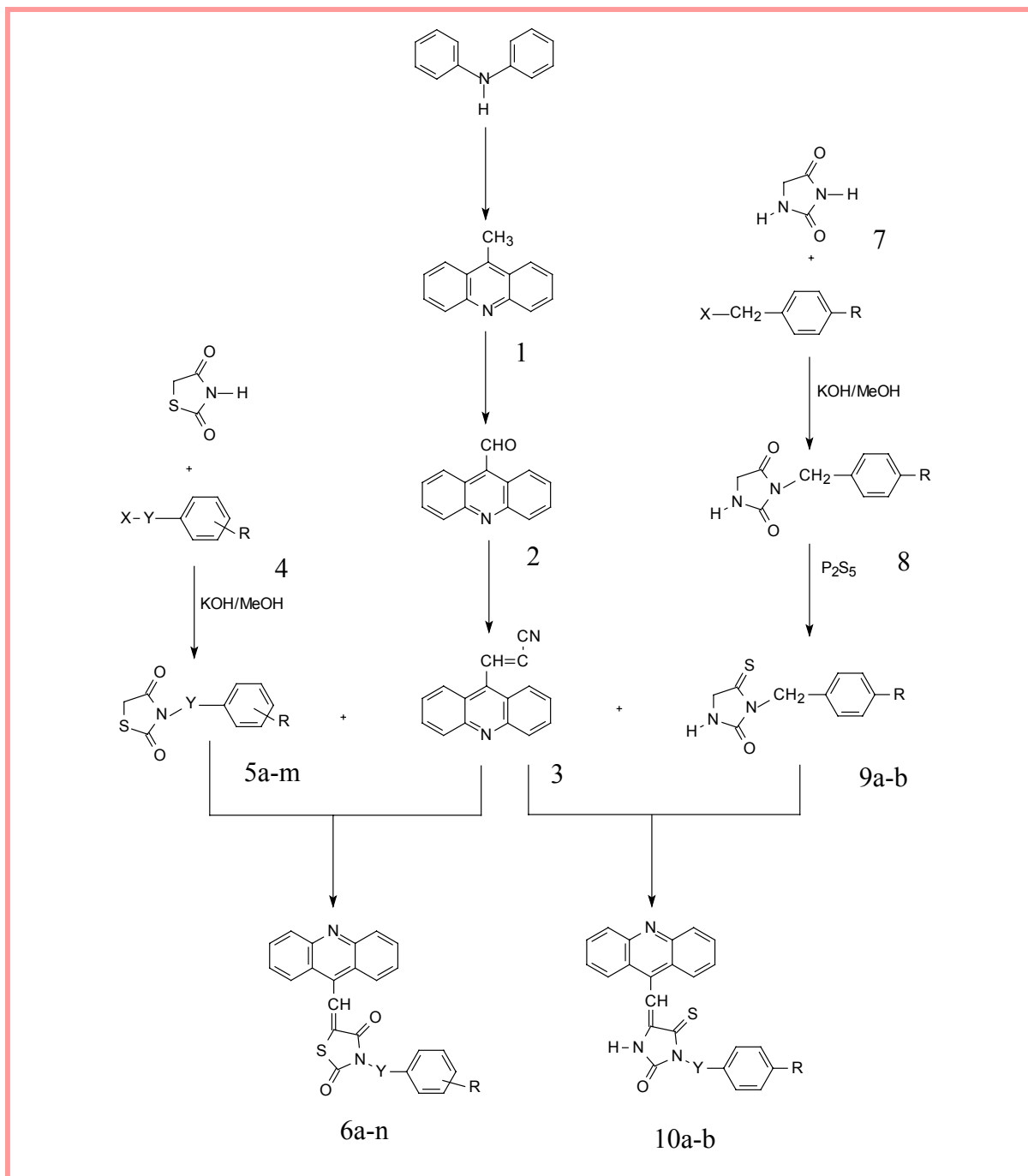
#### **4.1.2.3. Cromatografia**

As cromatografias analíticas em camada delgada foram efetuadas em placas Merck kieselgel 60 F<sub>254</sub>, de 0,25mm de espessura. As revelações foram feitas por luz ultravioleta (254 ou 366nm).

As cromatografias “flash” (sob pressão) foram realizadas em sílica gel 60 Merck (230-400 Mesh).

## 4.2. Métodos

O Esquema 1 representa o diagrama de síntese para a preparação dos novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino- imidazolidínicos sintetizados.



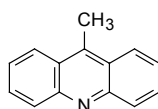
X=Cl ou Br; Y=CH<sub>2</sub>; CH<sub>2</sub>-CO R= CH<sub>3</sub>; NO<sub>2</sub>; Br; Cl; Fenil; F; H; Fenil benzil

Esquema 1 - Diagrama de preparação dos novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos sintetizados

## 4.2.1. Obtenção dos derivados acridínicos

### 4.2.1.1. Obtenção da 9-metil-acridina

A difenilamina (2,5g-0,0147mols), o ácido acético (2,5mL) e o cloreto de zinco (10g-0,0734mols) foram aquecidos a uma temperatura de 220°C, durante 6 horas. A mistura reacional foi dissolvida com uma solução recém preparada de ácido sulfúrico a 10% e, em seguida, alcalinizada através da adição de uma solução de amônia a 30%. A 9-metil-acridina **1** foi isolada através de uma extração com tolueno, e concentrada à secra em rotaevaporador a uma temperatura de 50°C. O produto obtido foi purificado através de cromatografia “flash” em sílica gel 60, utilizando como sistema de eluição *n*-hexano/AcOEt 7:3 (TSUGE *et al.*, 1963)



**1**

<b>F. M.</b>	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N
<b>M. M.</b>	193
<b>Rf</b>	0,59 em <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	115-117°C
<b>Rdt. (%)</b>	40%

Ponto de fusão: 118-118,5 °C (TSUGE *et al.*, 1963)

### RMN<sup>1</sup>H ( δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>)

CH<sub>3</sub>: 3,13 (s, 3H)

Hidrogênios aromáticos: 8,42 - 8,38 (m, 2H)

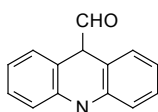
8,17 - 8,12 (m, 2H)

7,87 - 7,81 (m, 2H)

7,66 - 7,60 (m, 2H)

#### 4.2.1.2. Obtenção da 9-acridina-carboxaldeído

Adicionou-se o clorocromato de piridínio (2,0392g-0,0094mols) ao sulfato de magnésio (5,0980g-0,0423mols) em presença de diclorometano anidro (51mL). A mistura reacional foi agitada e logo em seguida a 9 metil-acridina (1,7264g-0,0089mols) foi adicionada. A agitação foi mantida à temperatura ambiente e sob uma atmosfera inerte durante 72 horas. O composto acridina-9-carboxaldeído **2** foi extraído do meio reacional com éter dietílico e evaporado à secura. O aldeído obtido foi purificado através de cromatografia “flash” em sílica gel 60, utilizando como sistema de eluição *n*-hexano/AcOEt 6:4 (MOSHER, NATALE, 1995)



**2**

<b>F. M.</b>	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> N
<b>M. M.</b>	207
<b>Rf</b>	0,35 em <i>n</i> -hexano/AcOEt (6:4)
<b>P.F. (°C)</b>	151-152°C
<b>Rdt. (%)</b>	55%

Rdt.: 62% (MOSHER, NATALE, 1995)

Ponto de Fusão: 147°C (TSUGE *et al.*, 1963)

### RMN<sup>1</sup>H ( δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>)

CHO: 11,67 (s, 1H)

Hidrogênios aromáticos: 8,25 - 8,22 (m, 2H)

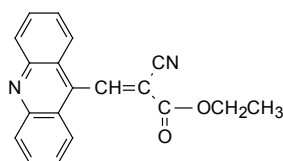
7,75 - 7,70 (m, 2H)

7,55 - 7,52 (m, 2H)

7,28 - 7,22 (m, 2H)

#### 4.2.1.3. Obtenção do 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila

Em um balão de fundo redondo foram colocados a acridina-9-carboxaldeído **2** (2,1821g-0,0105mols) e o cianacetato de etila (3mL) em presença de piperidina (250μL), como catalisador, e benzeno anidro (50mL), como solvente. A mistura reacional foi aquecida a refluxo a uma temperatura de 110°C, durante 8 horas. O 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila **3** foi evaporado a securo e purificado por cromatografia “flash” em sílica gel 60, *n*-hexano/AcOEt 6:4 (COPE *et al.*, 1941; SILVA, 2000).

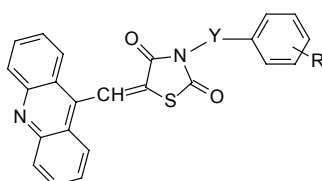


**3**

<b>F. M.</b>	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>M. M.</b>	302
<b>Rf</b>	0,44 em <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	170-171 °C
<b>Rdt (%)</b>	49 %

#### 4.2.2. Obtenção dos derivados acridino-tiazolidínicos

Pelo aquecimento da tiazolidina-2,4-diona substituída, dissolvida em etanol anidro (8mL), com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila a uma temperatura de 80°C por cerca de 4 horas, precipitaram-se produtos finais (Figura 26) que foram filtrados e purificados através de lavagens com água destilada (DABOUN *et al.*, 1982).



COMPOSTO	R	Y	COMPOSTO	R	Y
<b>6a</b>	4-CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub>	<b>6h</b>	4-Br	CH <sub>2</sub> CO
<b>6b</b>	4-NO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	<b>6i</b>	4-F	CH <sub>2</sub>
<b>6c</b>	4-Br	CH <sub>2</sub>	<b>6j</b>	4-H	CH <sub>2</sub>
<b>6d</b>	4-NO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CO	<b>6k</b>	2-Cl	CH <sub>2</sub>
<b>6e</b>	4-Cl	CH <sub>2</sub>	<b>6l</b>	4-fenil-benzil	CH <sub>2</sub>
<b>6f</b>	4-Fenil-benzil	CH <sub>2</sub> CO	<b>6m</b>	3-Cl	CH <sub>2</sub>
<b>6g</b>	4-F	CH <sub>2</sub> CO	<b>6n</b>	2-NO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>

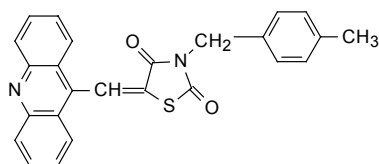
Figura 26 - Novos derivados acridino-tiazolidínicos

##### 4.2.2.1. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

A 3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (SILVA, 2000) (189,6mg-0,0009mols) foi dissolvida em etanol anidro (8mL), com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de



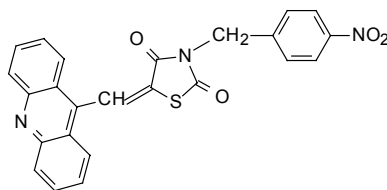
etila (0,27g-0,0009mols). Em seguida, adicionou-se 6 gotas de piperidina e a reação foi mantida à temperatura de 80°C por 4 horas. Observou-se a precipitação da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6a** que foi filtrada e purificada através de lavagens com água destilada.

**6a**

<b>F. M.</b>	C <sub>25</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S
<b>M. M.</b>	410
<b>Rf</b>	0,45; benzeno/AcOEt (9:1)
<b>P.F.(°C)</b>	198-199°C
<b>Rdt. (%)</b>	96%

#### 4.2.2.2. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

Aqueceu-se a 3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,0007936mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,24g-0,0007936mols) em 10mL de etanol anidro e 6 gotas de piperidina a 80°C durante 2 horas. Houve a formação de um precipitado amarelo correspondente a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6b** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.

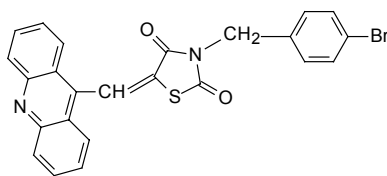


**6b**

<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> SO <sub>4</sub>
<b>M. M.</b>	441
<b>Rf</b>	0,57 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOEt (6:4)
<b>P.F.(°C)</b>	238-240°C
<b>Rdt. (%)</b>	60%

#### 4.2.2.3. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

A 3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,00069mols) foi dissolvida em etanol anidro (8mL), com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,21g-0,00069mols), juntamente com 6 gotas de piperidina e colocada sob refluxo a 80°C por 3 horas. O produto foi isolado como uma mistura de isômeros **Z** e **E** da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6c** que foi filtrado e purificado através de lavagens com água destilada.

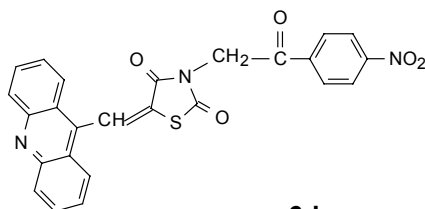


**6c**

<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> SNO <sub>2</sub> Br ( <b>6c Z</b> )
<b>M. M.</b>	475
<b>Rf</b>	0,53 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F (°C)</b>	258-260°C
<b>Rdt (%)</b>	27%

#### 4.2.2.4. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona

Aqueceu-se a 3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,0007142mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,21g-0,0007142mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 80°C durante duas horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona **6d** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.

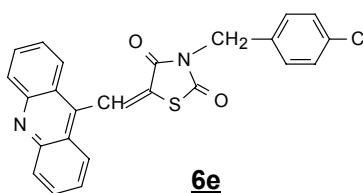


**6d**

<b>F. M.</b>	C <sub>25</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> SO <sub>5</sub>
<b>M. M.</b>	469
<b>Rf</b>	0,3 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	229-230°C
<b>Rdt. (%)</b>	69,68%

#### 4.2.2.5. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

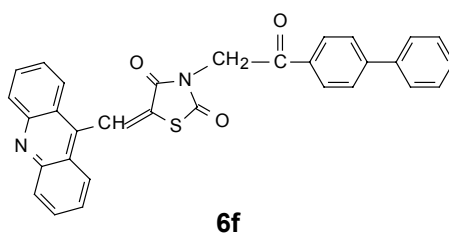
O 3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,29g-0,001155mols) , o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,35g-0,001155) e 6 gotas de piperidina foram dissolvidos em 10mL de etanol anidro e colocado para refluxar a 80°C durante 2 horas. O produto foi isolado como uma mistura de isômeros **Z** e **E** da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6e** que foi filtrado e purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Cl ( <b>6e Z</b> )
<b>M. M.</b>	430,5
<b>Rf</b>	0,73 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (6:4)
<b>P.F.(°C)</b>	206-208°C
<b>Rdt (%)</b>	46,8%

#### 4.2.2.6. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona

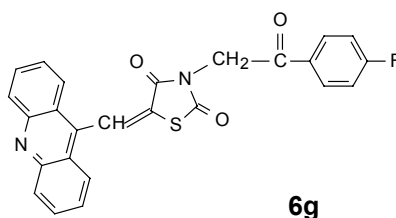
Aqueceu-se a 3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,00064mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,194g-0,00064mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 80°C durante 2 horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona **6f** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>31</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>
<b>M. M.</b>	500
<b>Rf</b>	0,6 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (6:4)
<b>P.F.(°C)</b>	172-174°C
<b>Rdt. (%)</b>	30%

#### 4.2.2.7. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-flúor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona

Aqueceu-se a 3-[4-flúor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,00079mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,24g-0,00079mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 50°C durante duas horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-flúor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona **6g** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.

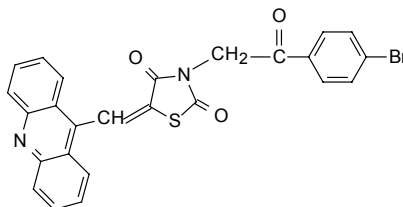


<b>F. M.</b>	C <sub>25</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> F
<b>M. M.</b>	442
<b>Rf</b>	0,41 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	213-214°C
<b>Rdt. (%)</b>	48%

#### 4.2.2.8. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona

O 3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,00064mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,19g-0,00064mols) e 6 gotas de piperidina foram dissolvidos em 10mL de etanol anidro e colocado para refluxar a 80°C durante 2 horas. O precipitado correspondente a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-

bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona **6h** foi filtrado e purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.

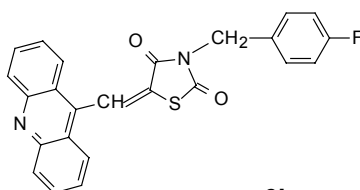


**6h**

<b>F. M.</b>	C <sub>25</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> Br
<b>M. M.</b>	503
<b>Rf</b>	0,5 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (6:4)
<b>P.F.(°C)</b>	238-240°C
<b>Rdt. (%)</b>	60%

#### 4.2.2.9. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

O 3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,1g-0,00044mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,13g-0,00044mols) e 6 gotas de piperidina foram dissolvidos em 10mL de etanol anidro e colocado para refluxar entre 45-50°C durante 2 horas. O precipitado correspondente a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6i**) foi filtrado e purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.

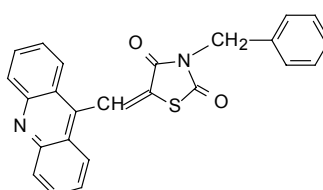


**6i**

<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> SN <sub>2</sub> F
<b>M. M.</b>	382
<b>Rf</b>	0,58 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	200-202°C
<b>Rdt. (%)</b>	56%

#### 4.2.2.10. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

Aqueceu-se a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (0,1g-0,00048mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,146g-0,00048mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 50°C durante 2 horas. O produto foi isolado como uma mistura de isômeros **Z** e **E** da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona **6i** que foi purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.



**6i**

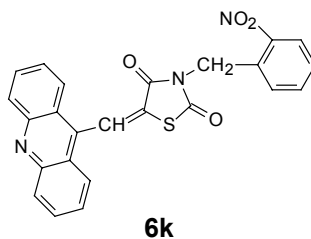
<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>2</sub> S ( <b>6i Z</b> )
<b>M. M.</b>	396
<b>Rf</b>	0,41 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOET (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	143-145
<b>Rdt (%)</b>	68%

#### 4.2.2.11. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

O 3-(2-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,0008281mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,25g-0,0008281mols) e 6 gotas de piperidina foram dissolvidos em 10mL de etanol anidro e colocado para refluxar a temperatura de



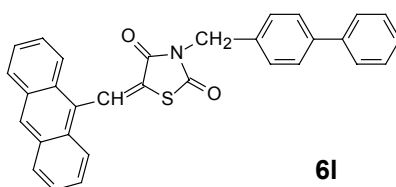
60°C durante 2 horas. O precipitado correspondente a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6k** foi filtrado e purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Cl
<b>M. M.</b>	430,5
<b>Rf</b>	0,48 em sistema eluente éter de petróleo/AcOET (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	146-147,5°C
<b>Rdt. (%)</b>	60%

#### 4.2.2.12. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

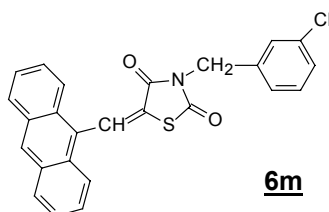
Aqueceu-se a 3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,0007067mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,213g-0,0007067mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 70°C durante 2 horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6l** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>30</sub> H <sub>20</sub> SN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>M. M.</b>	472
<b>Rf</b>	0,37 em sistema eluente tolueno/AcOET (6:4)
<b>P.F.(°C)</b>	188-190°C
<b>Rdt. (%)</b>	75%

#### 4.2.2.13. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

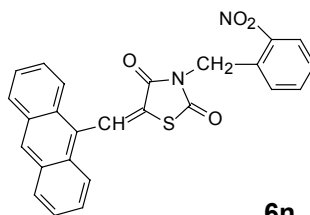
O 3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,2g-0,0008281mols), o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,250g-0,0008281mols) e 6 gotas de piperidina foram dissolvidos em 10mL de etanol anidro e colocado para refluxar a temperatura de 60°C durante 2 horas. O precipitado correspondente a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6m** foi filtrado e purificado através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> Cl
<b>M. M.</b>	430,5
<b>Rf</b>	0,34 em sistema tolueno/AcOET (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	220-222°C
<b>Rdt. (%)</b>	65%

#### 4.2.2.14. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona

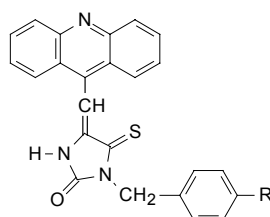
Aqueceu-se a 3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (0,208g-0,0008253mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,249g-0,0008253mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 70°C durante 2 horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona **6n** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>15</sub> SN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
<b>M. M.</b>	441
<b>Rf</b>	0,43 em sistema tolueno/AcOET (8:2)
<b>P.F.(°C)</b>	204-206°C
<b>Rdt. (%)</b>	40%

#### 4.2.3. Obtenção dos derivados acridino-4-tioxo-imidazolidínicos

Estes derivados acridino-4-tioxo-imidazolidínicos foram obtidos pelo aquecimento da 4-tioxo-imidazolidina substituída, dissolvida em etanol anidro, com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila a uma temperatura de 50°C por 2 horas. Precipitaram-se os produtos finais (Figura 27) que foram filtrados e purificados através de lavagens com água destilada.

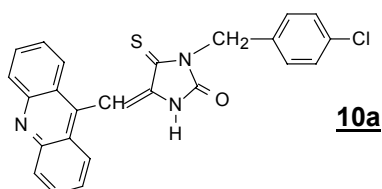


COMPOSTO	R
<u>10a</u>	4-Cl
<u>10b</u>	4-NO <sub>2</sub>

Figura 27 - Novos derivados acridino-4-tioxo-imidazolidínicos

#### 4.2.3.1. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona **10a**

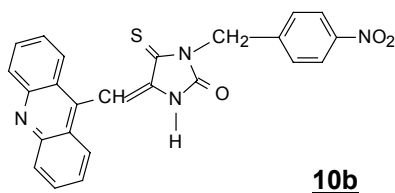
A 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona **10a** foi obtida pelo aquecimento da 3-(4-cloro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona (0,1g-0,00041mols) dissolvida em etanol anidro, com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,12g-0,00041mols) e 6 gotas de piperidina a uma temperatura de 45°C por 2 horas. O produto foi filtrado e purificado através de lavagens com água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> SN <sub>3</sub> OCl
<b>M. M.</b>	429,5
<b>Rf</b>	0,4 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	265°C com decomposição
<b>Rdt. (%)</b>	89%

#### 4.2.3.2. Obtenção da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona

Aqueceu-se a 3-(4-nitro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona (0,1g-0,00046mols) e o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila (0,14g-0,00046mols) em 10mL de etanol anidro, juntamente com 6 gotas de piperidina a 45°C durante 2 horas. Precipitou-se a 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxi-imdazolidina-2-ona **10b** que foi filtrada e purificada através de lavagens sucessivas em água destilada.



<b>F. M.</b>	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S
<b>M. M.</b>	440
<b>Rf</b>	0,52 em sistema eluente <i>n</i> -hexano/AcOEt (7:3)
<b>P.F.(°C)</b>	286-288°C
<b>Rdt (%)</b>	48%

### 4.3. Resultados e discussão

#### 4.3.1. Derivados acridino-tiazolidínicos

O heterociclo tiazolidínico, composto de partida do derivado acridino-tiazolidínico, possui os seguintes sítios ativos (Figura 28):

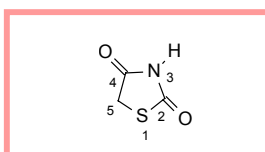


Figura 28 - Tiazolidina-2,4-diona

- em posição 3, um grupamento NH;
- em posição 5, um grupamento metilênico ativado pela presença da carbonila da posição 4;
- em posição 4, o átomo de oxigênio do grupamento carbonílico.

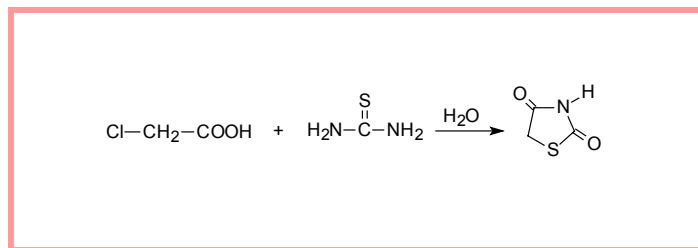
O estudo da reatividade destes diferentes sítios e dos possíveis compostos obtidos também constitui objeto de nosso estudo. A introdução na posição 5 do grupamento acridina-9-il-metileno conduziu aos compostos acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos (Figura 26 e 27).

#### **4.3.1.1. Via sintética**

Os compostos acridino-tiazolidínicos foram obtidos sinteticamente em várias etapas. Inicialmente, obteve-se a tiazolidina-2,4-diona por reação da tiouréia com o ácido cloroacético. Numa segunda etapa a tiazolidina-2,4-diona reagiu com o cloreto de benzila substituído, com a formação da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída. Paralelamente, obteve-se 9-metil-acridina através da reação da difenilamina com ácido acético glacial. A síntese da acridina-9-carboxaldeído foi realizada por uma reação de oxidação da 9-metil-acridina com o clorocromato de piridínio. Por sua vez, reagindo esse aldeído com o cianacetato de etila obteve-se o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila. Finalmente, a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída sofre uma reação de adição pelo éster cianocinâmico, conduzindo ao produto final desejado conforme demonstrado no Esquema 1.

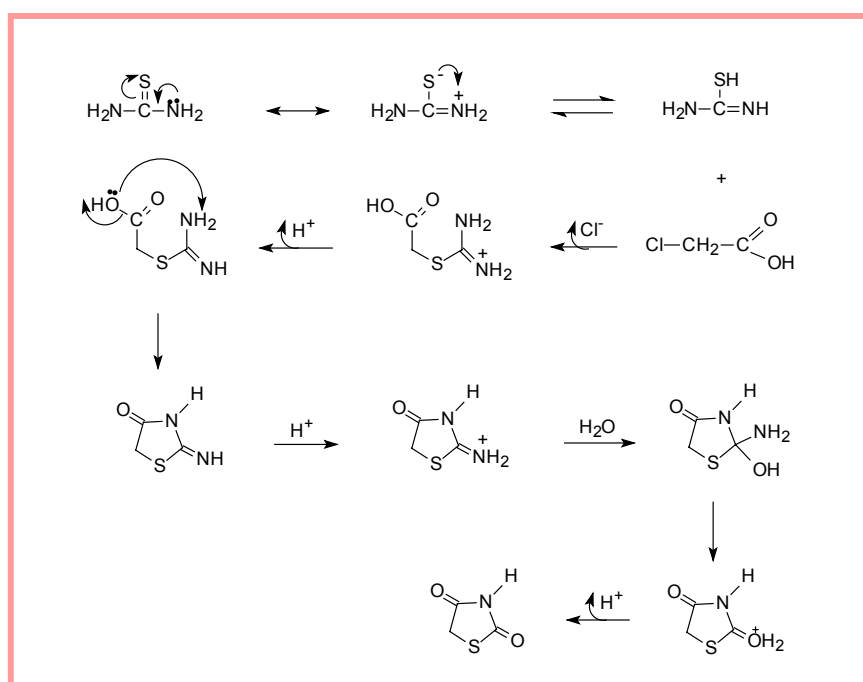
#### **4.3.1.2. Reação de ciclização para obtenção da tiazolidina-2,4-diona**

Através da reação da tiouréia com o ácido cloroacético, na presença de água destilada, obteve-se a tiazolidina-2,4-diona (LIBERMANN, HIMBERT, HENGL, 1948) (Esquema 2).



Esquema 2 - Reação de síntese da tiazolidina-2,4-diona

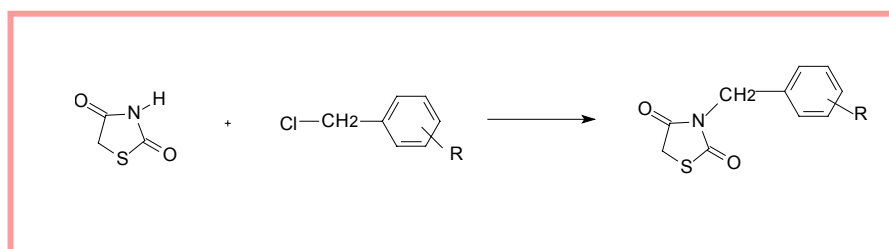
O mecanismo reacional para obtenção da tiazolidina-2,4-diona é explicado pelo ataque nucleofílico do par de elétrons livres do átomo de enxofre ao carbono 2 do ácido cloroacético, eliminando ácido clorídrico e levando à formação de um intermediário. Por ataque nucleofílico intramolecular do par de elétrons livres do nitrogênio do grupo amino ao carbono carbonílico, ocorre a ciclização, com eliminação de água. O grupo imino em posição 2 do ciclo sofre hidrólise, liberando amônia, conduzindo à tiazolidina-2,4-diona (Esquema 3).



Esquema 3 - Mecanismo reacional da síntese da tiazolidina-2,4-diona

### 4.3.1.3. N-Alquilação da tiazolidina-2,4-diona

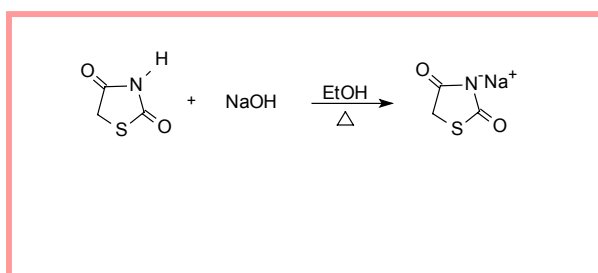
Pela reação da tiazolidina-2,4-diona com cloretos ou brometos de benzila substituídos, obteve-se a 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída (SHVAIKA *et al.*, 1983) (Esquema 4).



Esquema 4 - Reação de síntese da 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída

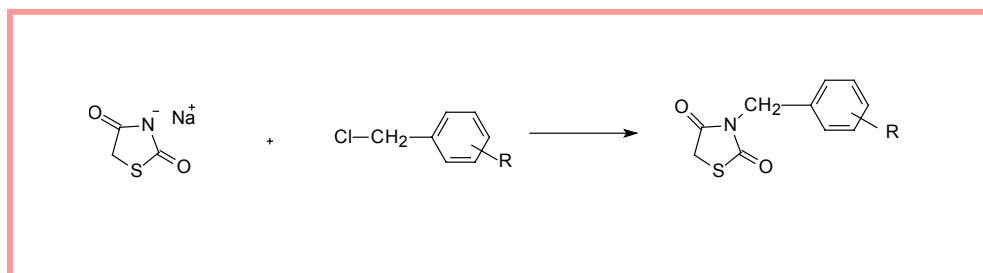
O mecanismo reacional é explicado de acordo com detalhamento dado a seguir. Em presença de hidróxido de sódio ocorre a formação do sal da tiazolidina-2,4-diona, devido à acidez do átomo de hidrogênio em posição 3 do anel. O sal formado promoveu, portanto, um ataque nucleofílico ao cloreto de benzila substituído.

➤ Formação do sal da tiazolidina-2,4-diona:



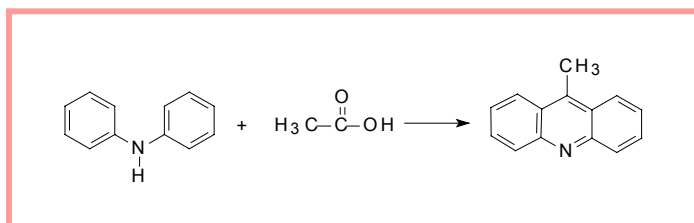


➤ Ataque nucleofílico do sal tiazolidínico:



#### 4.3.1.4. Síntese da 9-metil-acridina

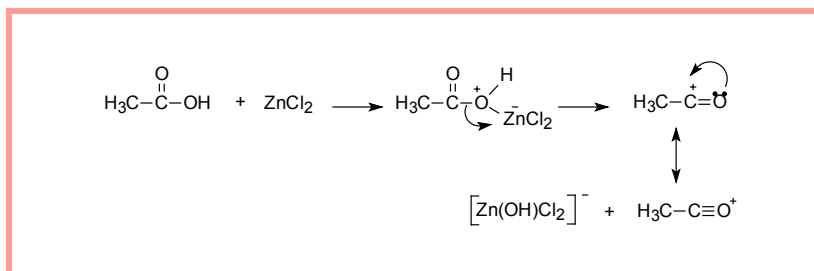
Segundo o método de Tsuge e colaboradores (1963), a reação da difenilamina com o ácido acético conduz à 9-metil-acridina (Esquema 5).



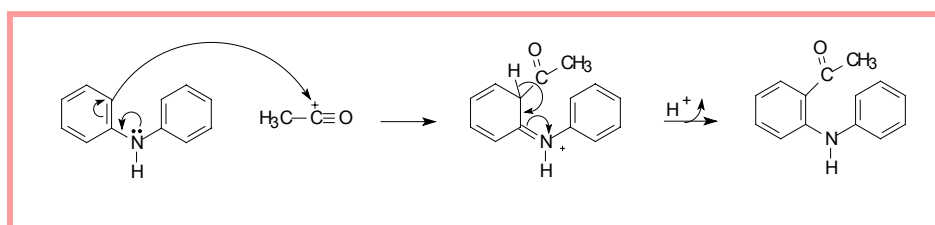
Esquema 5 - Reação de síntese da 9-metil-acridina

Inicialmente, o ácido acético, em presença do cloreto de zinco, conduziu a formação de um intermediário, o íon acílio, que levou a acilação de Friedel Crafts da difenilamina. O composto acilado sofreu ciclização por adição do ácido sulfúrico, eliminando água.

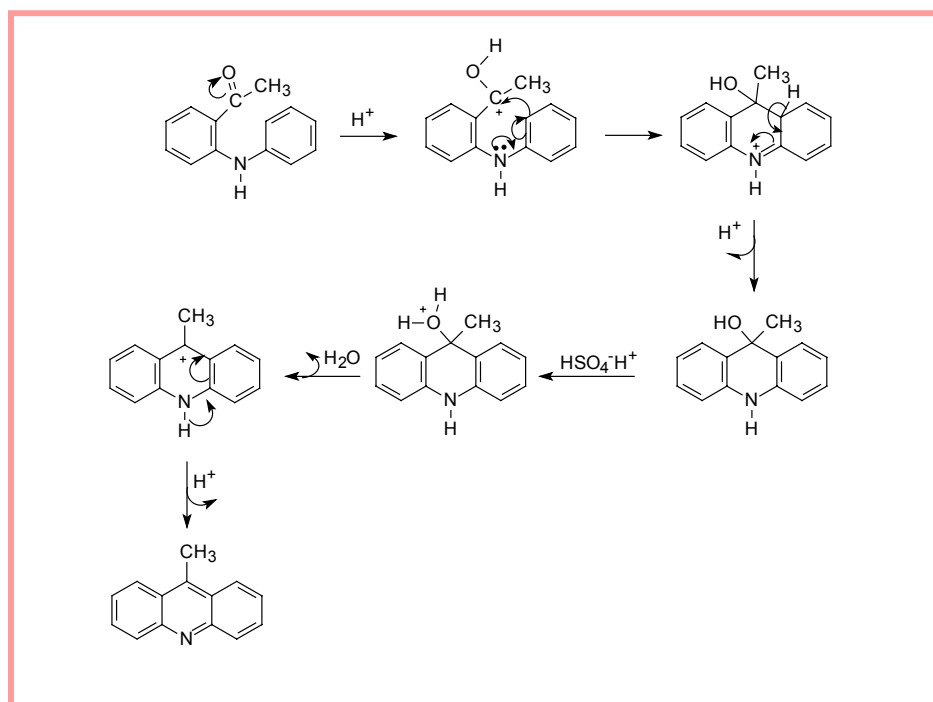
➤ Formação do íon acílio:



➤ Acilação da difenilamina:

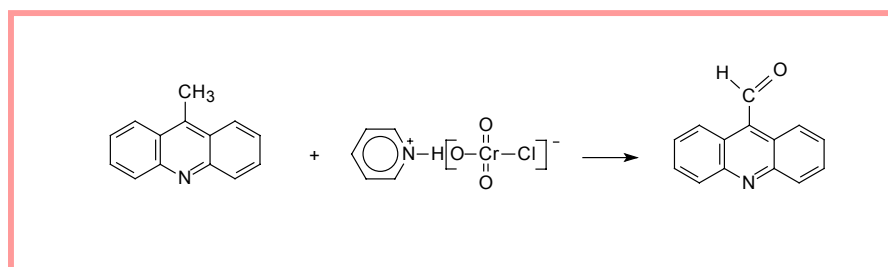


➤ Ciclização por adição de ácido sulfúrico:



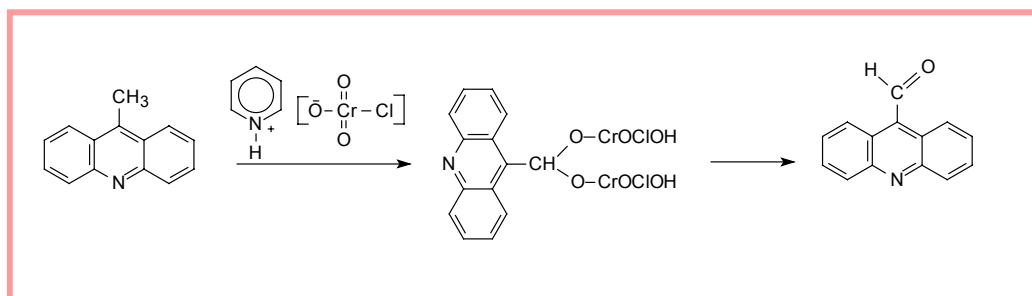
#### 4.3.1.5. Síntese da acridina-9-carboxaldeído

Segundo Mosher e Natale (1995), a 9-metil-acridina pode sofrer uma reação de oxidação através da utilização de um agente oxidante específico, o clorocromato de piridínio (PCC), em presença de sulfato de magnésio e de diclorometano (Esquema 6).



Esquema 6 - Síntese da acridina-9-carboxaldeído

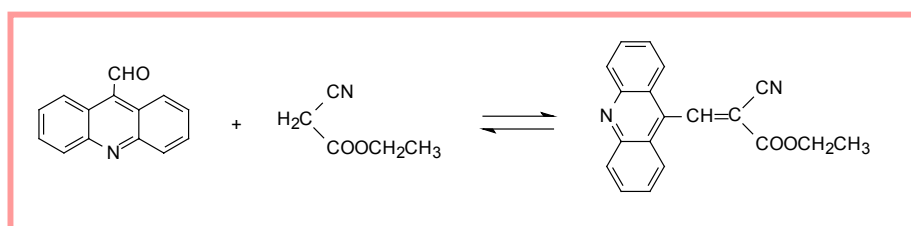
Com base nos trabalhos de Agarwal e colaboradores (1990), sugere-se o seguinte mecanismo (Esquema 7):



Esquema 7 - Mecanismo reacional da síntese da acridina-9-carboxaldeído

#### 4.3.1.6. Síntese do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila

O éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila foi sintetizado segundo o método de Cope e colaboradores (1941). Trata-se de uma condensação do tipo Knoevenagel entre a acridina-9-carboxaldeído e o cianoacetato de etila, em solução benzênica, catalisada pela piperidina (Esquema 8).

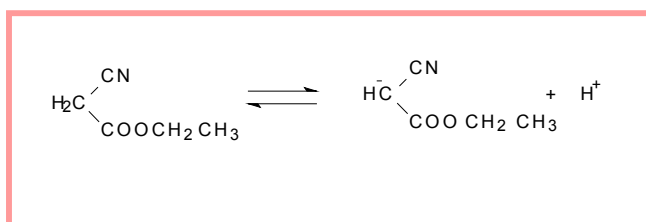


Esquema 8 - Reação de síntese do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila

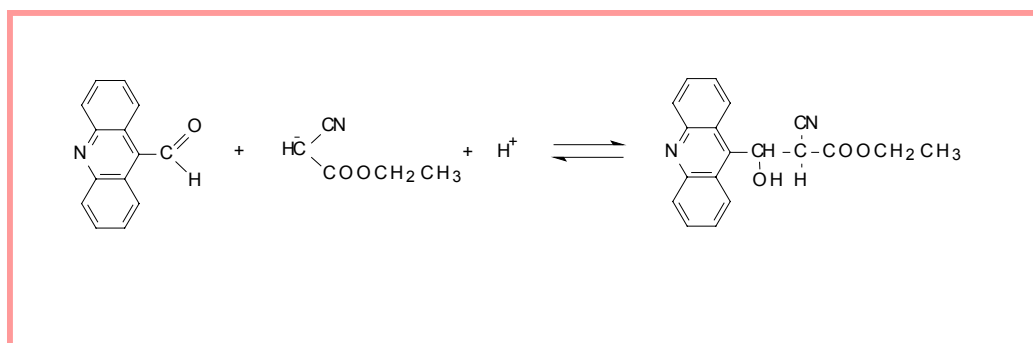
A reação é reversível e a formação do éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila é favorecida pela eliminação de água na forma de mistura azeotrópica.

O mecanismo reacional, descrito por Cope e colaboradores (1941), se desenvolve em três etapas:

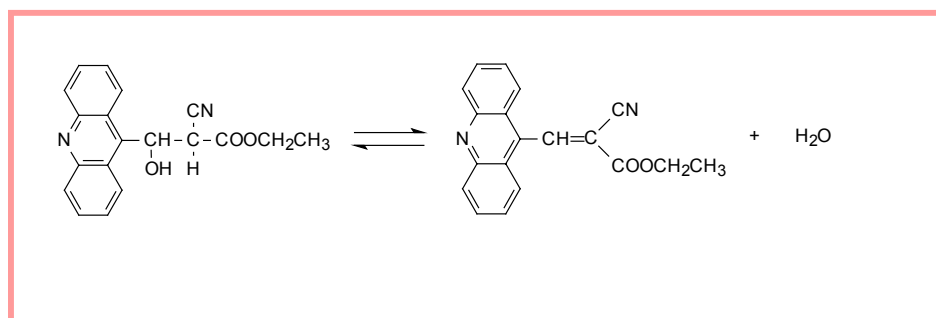
- Ionização do cianoacetato de etila:



➤ Condensação com o acridina-9-carboxaldeído:



➤ Desidratação do éster:



O éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila foi devidamente caracterizado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, infravermelho e espectrometria de massa (Esquema 9)

### Espectroscopia de $\text{IV cm}^{-1}$ (KBr 1%)

$\text{V}_{\text{C}=\text{C}}$  1619

$\text{V}_{\text{C}=\text{N}}$  2200

$\text{V}_{\text{C}=\text{O}}$  1727

### Espectroscopia de $\text{RMN}^1\text{H}$ ( $\delta$ , ppm/ $\text{DMSO-d}_6$ )

CH 9,35 (s, 1H)

$\text{CH}_2$  4,45 (q, 2H)  $J = 7,19$  Hz

$\text{CH}_3$  1,40 (t, 3H)  $J = 7,19$  Hz

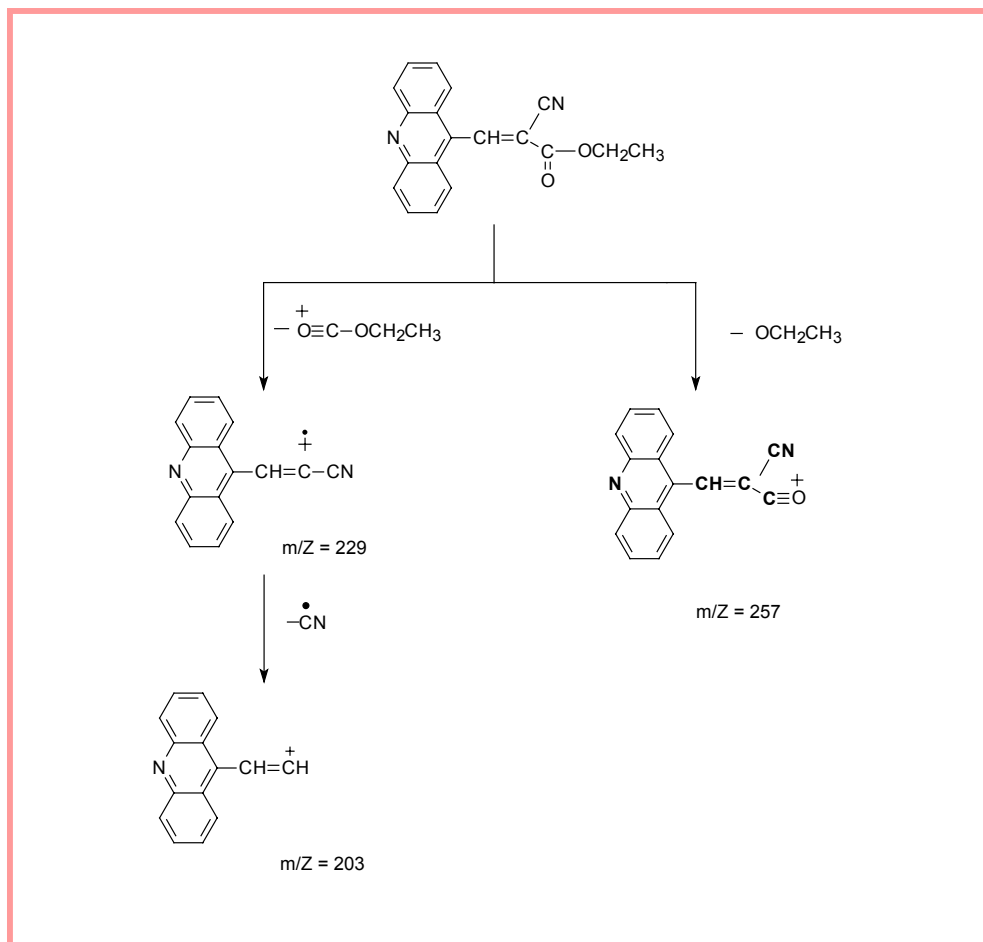
Hidrogênios aromáticos 8,26 (d, 2H)  $J = 8,39$  Hz

8,11 (d, 2H)  $J = 8,69$  Hz

7,97 - 7,91 (m, 2H)

7,75 - 7,69 (m, 2H)

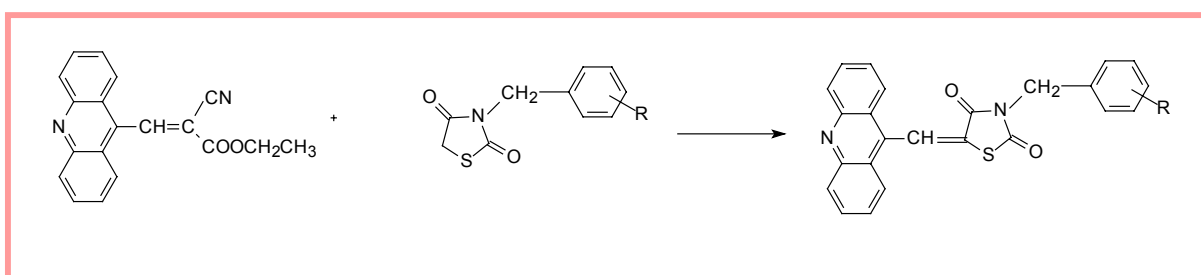
### Espectrometria de massas:



Esquema 9 - Fragmentação proposta para o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila

#### 4.3.1.7. Síntese dos derivados acridino-tiazolidínicos

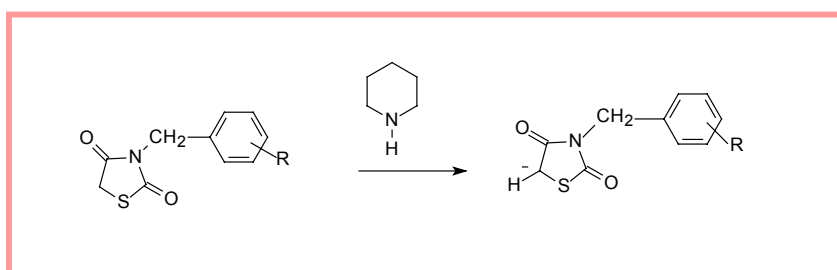
Os derivados acridino-tiazolidínicos foram obtidos por uma reação de adição do tipo Michael da tiazolidina-2,4-diona, substituída na posição 3 pelo grupamento 4-benzil, com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila em presença de piperidina, conduzindo aos novos derivados acridino-tiazolidínicos, conforme método descrito por Daboun e colaboradores (1982) (Esquema 10).



Esquema 10 - Reação de síntese do derivado acridino-tiazolidínico

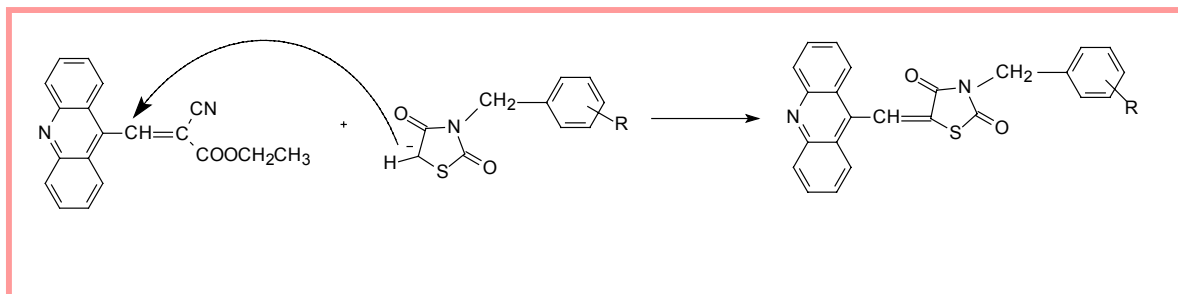
O mecanismo de reação para a síntese dos derivados acridino-tiazolidínicos ocorreu em duas etapas:

- Formação do carbânion em posição 5:





➤ Ataque do carbânion ao carbono  $\beta$  do 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila, formando um outro intermediário, que por eliminação de um éster, levou ao derivados acridino-tiazolidínicos:



#### **4.3.1.8. Caracterização estrutural dos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos**

A caracterização estrutural dos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos foi feita através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, infravermelho e espectrometria de massas (Esquemas 12 e 13).

##### **4.3.1.8.1. Espectroscopia no infravermelho**

Através da espectroscopia no infravermelho, foram observadas bandas de absorção características na região entre  $1740-1690\text{ cm}^{-1}$  da carbonila, e em  $1625-1420\text{ cm}^{-1}$  correspondente a ligação  $\text{C}=\text{C}$ . A tabela 23 mostra as principais bandas de absorção dos compostos sintetizados. As absorções para  $\text{C}=\text{O}$  são de deformação axial, para  $\text{C}=\text{C}$  são de deformação axial das ligações do anel, enquanto que as absorções para  $\text{C}-\text{N}$  e  $\text{C}-\text{S}$  são vibrações de Valença.

Tabela 2 - Frequências de absorção no infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos derivados acridino-tiazolidínicos (6a-n) e acridino-imidazolidínicos (10a-b).

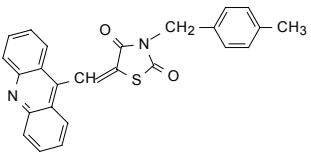
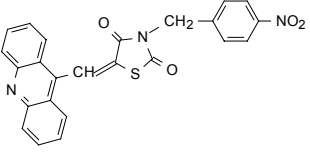
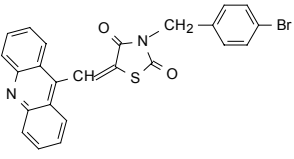
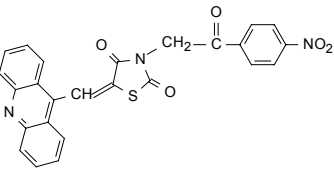
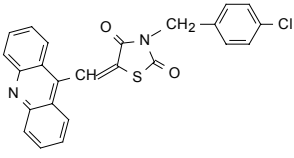
COMPOSTO	C=O	C=C	C-N	C-S
 <p><b>6a</b></p>	1746 e 1696	1630-1426	1339	758
 <p><b>6b</b></p>	1747 e 1694	1629-1417	1339	760
 <p><b>6c</b></p>	1744 e 1693	1624-1418	1333	760
 <p><b>6d</b></p>	1747 e 1699	1628-1408	1346	761
 <p><b>6e</b></p>	1747 e 1695	1624-1418	1334	760

Tabela 2 (continuação) - Frequências de absorção no infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos derivados acridino-tiazolidínicos (6a-n) e acridino-imidazolidínicos (10a-b).

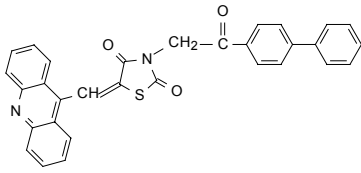
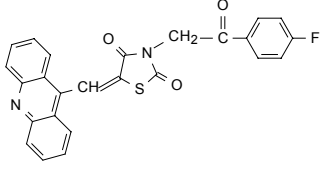
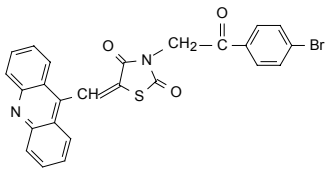
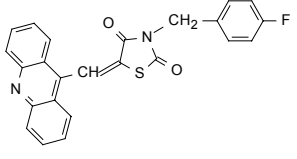
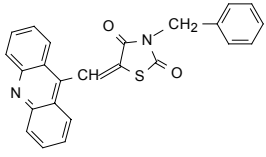
COMPOSTO	C=O	C=C	C-N	C-S
 <p><b>6f</b></p>	1756 e 1696	1627-1408	1325	760
 <p><b>6g</b></p>	1756 e 1702	1596-1410	1344	759
 <p><b>6h</b></p>	1752 e 1695	1630-1414	1336	760
 <p><b>6i</b></p>	1748 e 1692	1622-1430	1338	762
 <p><b>6j</b></p>	1750 e 1694	1623-1430	1339	761

Tabela 2: (continuação) - Frequências de absorção no infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos derivados acridino-tiazolidínicos (6a-n) e acridino-imidazolidínicos (10a-b).

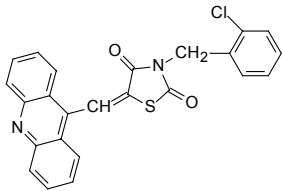
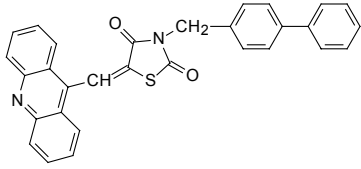
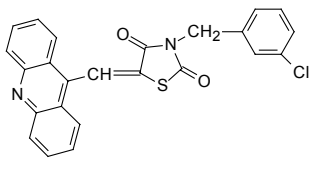
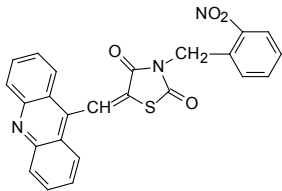
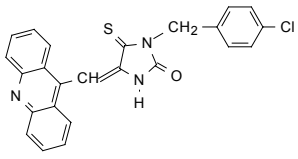
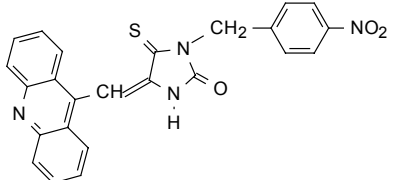
COMPOSTO	C=O	C=C	C-N	C-S
 <p><b>6k</b></p>	1746 e 1694	1516-1481	1330	754
 <p><b>6l</b></p>	1753 e 1691	1514-1488	1326	762
 <p><b>6m</b></p>	1747 e 1683	1572-1476	1328	756
 <p><b>6n</b></p>	1751 e 1629	1527-1438	1339	769

Tabela 2: (continuação) - Frequências de absorção no infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos derivados acridino-tiazolidínicos (6a-n) e acridino-imidazolidínicos (10a-b).

COMPOSTO	C=O	C=C	C-N	N-H
 <p><u>10a</u></p>	1754	1561-1436	1305	3033
 <p><u>10b</u></p>	1758	1521-1405	1302	3040

#### **4.3.1.8.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H)**

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) permitiu verificar os deslocamentos químicos característicos dos hidrogênios presentes na estrutura dos derivados.

Tabela 3 - Deslocamento químico ( $\delta$ ), em ppm dos derivados acridino-tiazolidínico e acridino-imidazolidínicos (**6a-n** e **10a-b**)

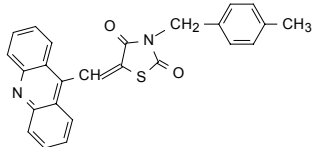
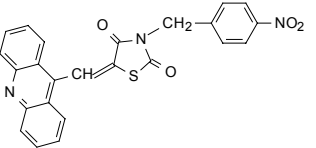
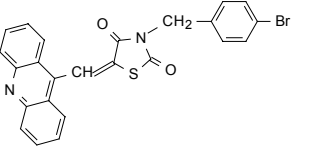
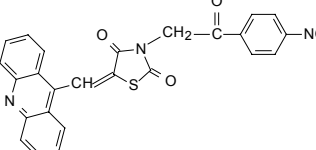
COMPOSTO	CH	CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	BENZÍLICO	ACRIDÍNICO
 <p><b>6a</b></p>	8,69 (s, 1H)	4,92 (s, 2H)	2,34 (s, 3H)	7,21 (d, 2H) J=7,8Hz 7,42 (d, 2H) J=8,1Hz	7,57-7,62 (m, 2H) 7,80-7,85 (m, 2H) 7,96 (d, 2H) J=7,8Hz 8,29 (d, 2H) J=8,7Hz
 <p><b>6b</b></p>	8,81 (s, 1H)	5,03 (s, 2H)		7,72 (d, 2H) J=8,7 Hz 8,27 (d,2H) J=8,4 Hz	8,25 (d,2H) J=8,7Hz 8,17 (d, 2H) J=8,7Hz 7,93 (m, 2H) 7,70 (m, 2H)
 <p><b>6c</b></p>	8,78/ 8,37 (Z/E) (s, 1H)	4,86/ 4,57 (Z/E) (s, 2H)		7,39/7,1 (Z/E,d,2H) J=8,7; J=8,4Hz 7,60/7,46 (Z/E,d,2H) J=8,7Hz)	7,66/7,72 (Z,m, 2H) 7,89/7,95 (Z,m, 2H) 8,14 (Z, d, 2H) j=8,1Hz 8,24 (Z, d, 2H) J=8,4Hz
 <p><b>6d</b></p>	8,88 Z (s, 1H)	5,49/ 5,17 (Z/E,s, 2H)		8,13/8,11 (Z/E, d, 2H) J=8,7 Hz 8,17/8,16 (Z/E. d, 2H) J=8,7 Hz	8,43/8,29 (Z/E, d, 2H) J= 9Hz 8,4/8,26 (Z, d, 2H) J= 9Hz 7,94/7,86 (Z/E, dt, 2H) J= 6,9Hz 7,74/7,62 (Z/E, dt, 2H) J=7,8Hz



Tabela 3 - (Continuação) - Deslocamento químico ( $\delta$ ), em ppm dos derivados acridino-tiazolidínico e acridino-imidazolidínicos (**6a-n** e **10a-b**)

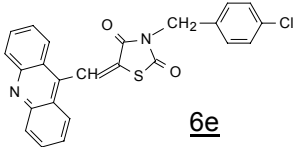
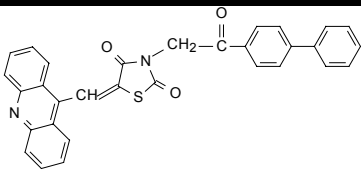
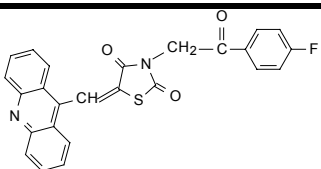
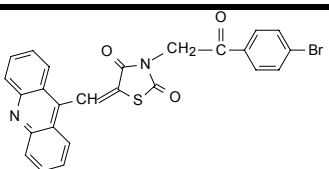
COMPOSTO	CH	CH <sub>2</sub>	BENZÍLICO	ACRIDÍNICO
 <p><b>6e</b></p>	8,79 (s, 1H)	4,88 (s, 2H)	7,47 (s, 4H)	8,25 (d, 2H) J=8,4Hz 8,16 (d, 2H) J=8,7Hz 7,92 (dt, 2H) J=7,8Hz 7,70 (dt, 2H)
 <p><b>6f</b></p>	8,89 (s, 1H)	5,44 (s, 2H)	8,7 (d, 2H) J= 8,7Hz 7,83 (d, 2H) J=9Hz 7,81(dd, 2H) J=8,7Hz 7,55 (t, 2H) 7,47 (m, 1H)	8,23 (d, 2H) J=8,7Hz 8,13 (d, 2H) J=8,7Hz 7,96 (d, 2H) J=9Hz 7,74 (dt, 2H) J=8,7Hz
 <p><b>6g</b></p>	8,87 (s, 1H)	5,39 (s, 2H)	8,24 (m, 4H)	8,13 (d, 2H) J=8,7Hz 7,94 (dt, 2H) 7,73 (dt, 2H) 7,46 (t, 2H)
 <p><b>6h</b></p>	8,88 (s, 1H)	5,4 (s, 2H)	8,08 (d, 2H) J=8,7Hz 7,85 (d, 2H) j=8,7Hz	8,26 (d, 2H) J= 8,7Hz 8,13 (d, 2H) j=8,7Hz 7,73 (m, 2H) 7,94 (m, 2H)

Tabela 3 - (Continuação) - Deslocamento químico ( $\delta$ ), em ppm dos derivados acridino-tiazolidínico e acridino-imidazolidínicos (**6a-n** e **10a-b**)

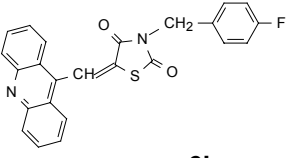
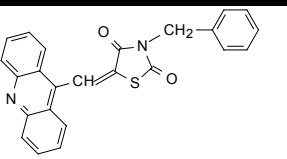
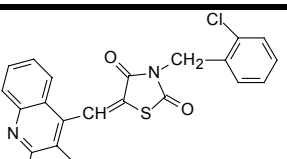
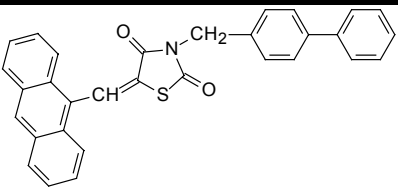
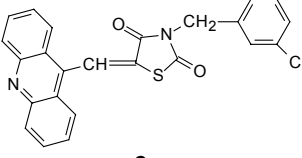
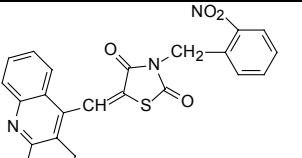
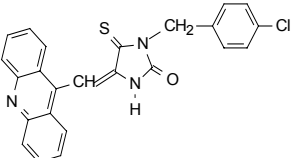
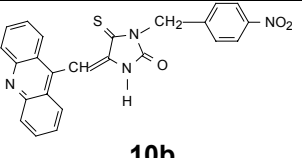
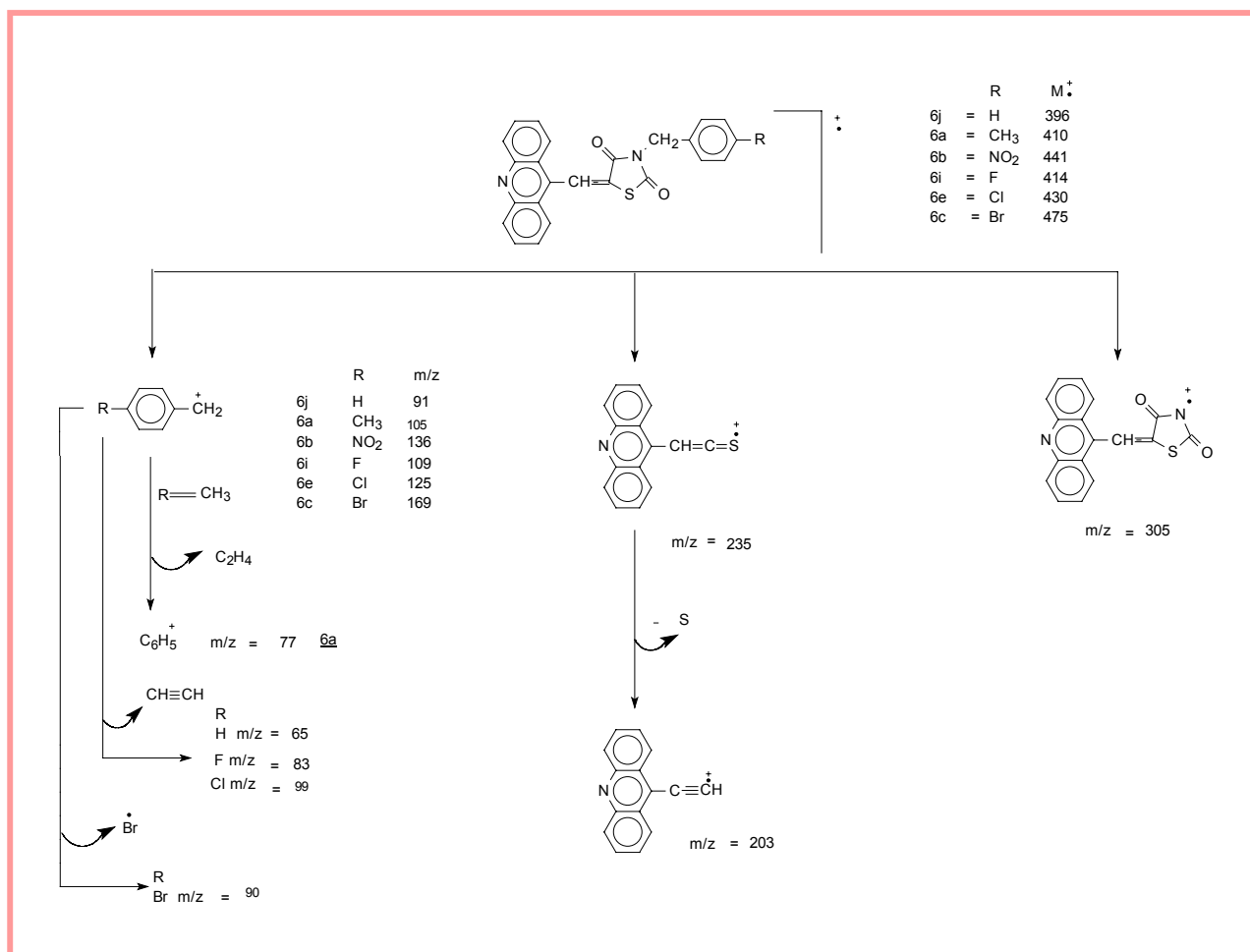
COMPOSTO	CH	CH <sub>2</sub>	BENZÍLICO	ACRIDÍNICO
 <p><b>6i</b></p>	8,78 (s,2H)	5,31 (s,2H)	7,48 (dd, 2H) J=8,7Hz  7,22 (t, 2H)	8,24 (d, 2H) J=8,7Hz  8,14 (d, 2H) J=8,7Hz  7,92 (dt, 2H) J=7,5Hz  7,69 (dt, 2H) J=7,5Hz
 <p><b>6j</b></p>	8,79 (s, 1H)	4,89 (s, 2H)	7,40 (m, 4H)	8,23 (d, 2H) J=8,4Hz  8,13 (d, 2H) J=7,5Hz  7,91 (dt, 2H)  7,68 (dt, 2H)
 <p><b>6k</b></p>	8,81 (s, 1H)	4,96 (s, 2H)	7,53 (m, 1H)  7,43 (m, 3H)	8,18 (d, 2H) J=9Hz  8,25 (d, 2H) J=8,4Hz  7,93 (dt, 2H) J=8,7Hz  7,71 (dt, 2H) J=8,4Hz
 <p><b>6l</b></p>	8,81 (s, 1H)	4,93 (s,2H)	7,51 (d, 2H) J=8,4Hz  7,69 (d, 2H) J=8,1Hz  7,47 (d, 2H) J= 7,5Hz  7,38 (m, 1H)  7,68 (dt, 2H) J=6,9Hz	8,16 (d, 2H) J=9Hz  8,24 (d, 2H) J=9Hz  7,92 (dt, 2H) J=7,8 Hz  7,68 (m, 2H)

Tabela 3 - (Continuação) - Deslocamento químico ( $\delta$ ), em ppm dos derivados acridino-tiazolidínico e acridino-imidazolidínicos (**6a-n** e **10a-b**)

COMPOSTO	CH	NH	CH <sub>2</sub>	BENZÍLICO	ACRIDÍNICO
 <p><b>6m</b></p>	8,79/8,39 (Z/E, s, 1H)		4,89/4,59 (Z/E, s, 2H)	7,51/7,4 (Z/E, s, 1H)  7,4 (Z, m, 3H)	8,24/8,18 (Z/E, d, 2H) J= 9Hz  8,16/8,13 (Z/E, d, 2H) J=8,7/8,4Hz  7,92/7,86 (Z/E, dt, 2H) J=7,8/7,2Hz  7,70/7,6 (Z/E, dt, 2H) J=7,8Hz
 <p><b>6n</b></p>	8,81 (s, 2H)		5,23 (s, 2H)	8,15 (dd, 1H) J=7,5 e 3Hz  7,68 (m, 3H)	8,25 (d, 2H) J=8,7Hz  8,19 (d, 2H) J=8,4Hz  7,94 (dt, 2H) J=7,8Hz  7,8 (m, 2H)
 <p><b>10a</b></p>	7,69 (s, 1H)		5,08 (s, 2H)	7,65 (s, 4H)	8,20 (d, 2H) J= 8,7Hz  8,05 (d, 2H) j=8,7Hz  7,87 (dt, 2H)  7,65 (dt, 2H)
 <p><b>10b</b></p>	8,26 (s, 1H)	10,89 (s, 1H)	5,22 (s, 2H)	8,24 (d, 2H) J=9Hz  7,67 (d, 2H) J=9Hz	8,21 (d, 2H) J=8,1Hz  8,08 (d, 2H) J=8,4Hz  7,88 (dt, 2H) J=7,6Hz  7,64 (m, 2H)

### 4.3.1.8.3. Espectrometria de massas:

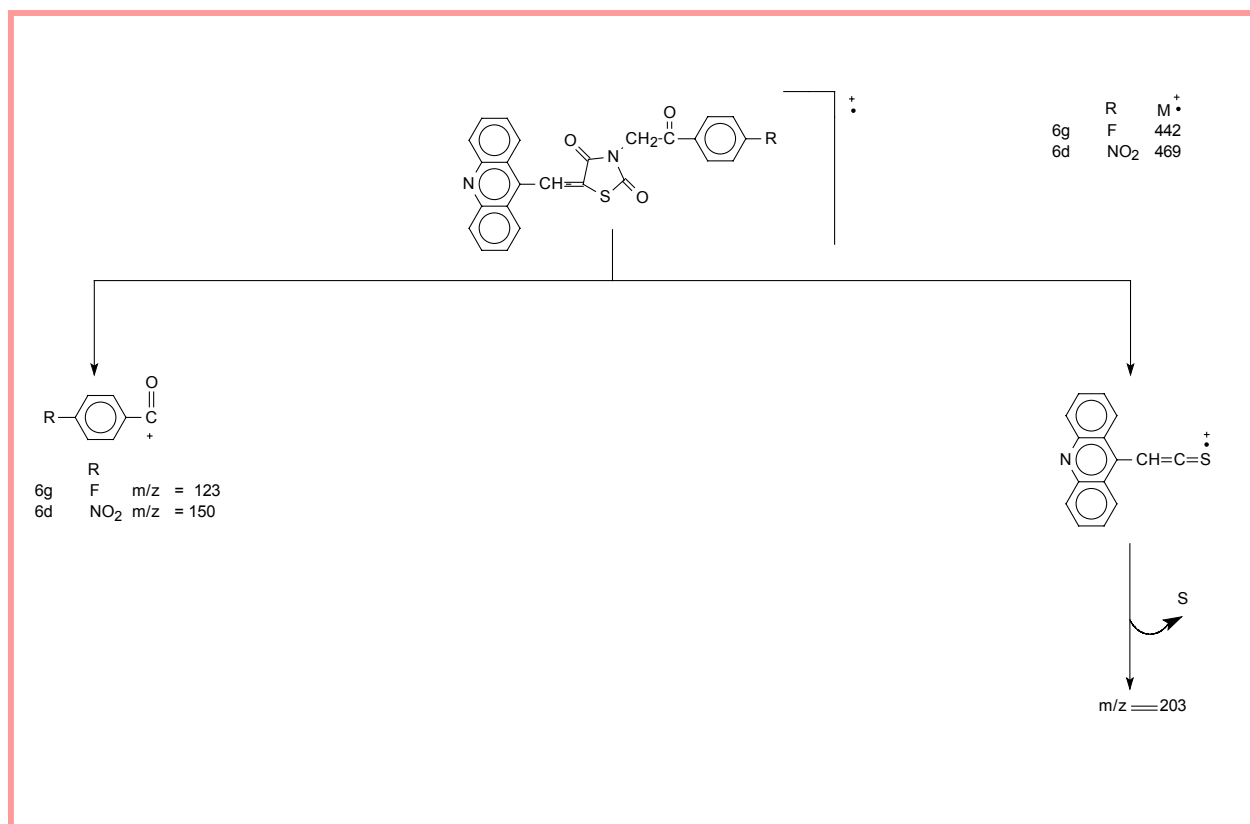
As principais fragmentações sofridas pelos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos encontram-se nos Esquemas 11 e 12 e suas respectivas intensidades nas Tabelas 4 e 5.



Esquema 11 - Fragmentações proposta para os novos derivados acridino-tiazolidínicos

Tabela 4 - Principais fragmentações apresentadas pelos derivados acridino-tiazolidínicos e suas intensidades relativas

FRAGMENTOS					
m/Z (%)					
6j R=H	6a R=CH <sub>3</sub>	6b R=NO <sub>2</sub>	6i R=F	6e R=Cl	6c R=Br
396 (M. <sup>+</sup> )	410 (M. <sup>+</sup> )	441 (M. <sup>+</sup> )	414(M. <sup>+</sup> )	430(M. <sup>+</sup> )	475(M. <sup>+</sup> )
305 (8,0)	305 (24,2)	305 (2,63)	305 (34,31)	305 (20,32)	305 (21,65)
235 (100)	235 (52,9)	235 (100)	235 (100)	235 (100)	235 (100)
203 (6,48)	-	203 (19,0)	203 (14,24)	203 (16,83)	203 (15,98)
91 (10,1)	105 (100)	136 (3,4)	109 (32,56)	125 (28,8)	169 (39,68)
77 (8,29)	-	-	-	-	-
65 (4,21)	-	-	83 (8,67)	99	-
-	-	-	-	-	90 (13,33)



Esquema 12 - Fragmentação proposta para os novos derivados acridino-tiazolidínicos

Tabela 5 - Principais fragmentações apresentadas pelos derivados acridino-tiazolidínicos e suas intensidades relativas

FRAGMENTOS	
m/Z (%)	
<b>6g</b> R=F	<b>6d</b> R=NO <sub>2</sub>
442 (M. <sup>+</sup> )	469 (M. <sup>+</sup> )
203 (6,71)	203 (18,22)
123 (100)	150 (100)

#### 4.3.1.9. Determinação da configuração

Estudos anteriores desenvolvidos por Silva (2001) no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF, mostraram que a 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona pode apresentar, teoricamente, isomeria geométrica nas configurações *Z* e *E*. Quando o grupo acridina e o enxofre estiverem do mesmo lado, tem-se a configuração *Z*, quando estiverem do lado oposto, a configuração *E* (Figura 29).

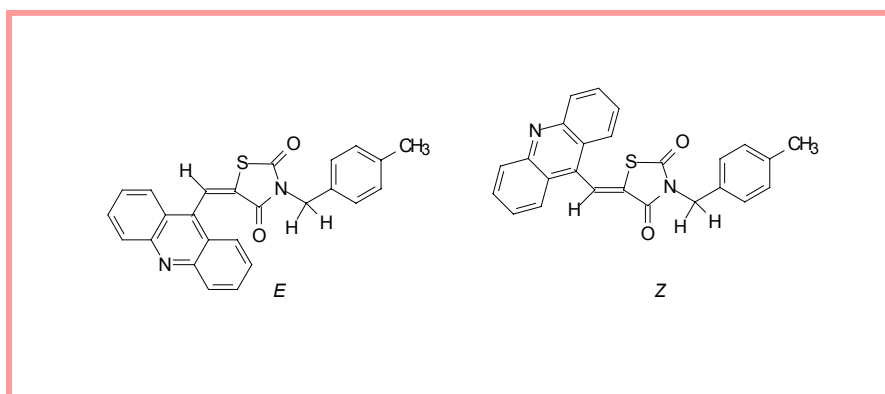


Figura 29 - Diastereoisomeria *Z* e *E* da 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona (**6a**)

O estudo da mecânica molecular da 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona foi realizado empregando o programa Hyperchem (Figura 30). Este programa normalmente é utilizado para estabilizar as estruturas e realizar a otimização preliminar dos diastereoisômeros *Z* e *E*. Em seguida empregou-se um tratamento das moléculas através do programa MOPAC versão 6, aplicando o método AM1. Observou-se no estudo que o isômero *Z* apresenta um calor de formação  $\Delta H$  de 66,83 Kcal/mol e um potencial de ionização PI na ordem de 8,77 EV, enquanto que o isômero *E* apresentou um  $\Delta H$  de 71,42 Kcal/mol e um PI de 8,67 EV. O calor de formação dos diastereoisômeros *Z* e *E* calculados revelou que o



isômero *Z*, do ponto de vista termodinâmico, é mais estável que o isômero *E*. Assim, como o potencial de ionização indicou que o isômero *Z* possui maior capacidade de doar os seus elétrons, apresenta, portanto, maior estabilidade (SILVA, 2000)

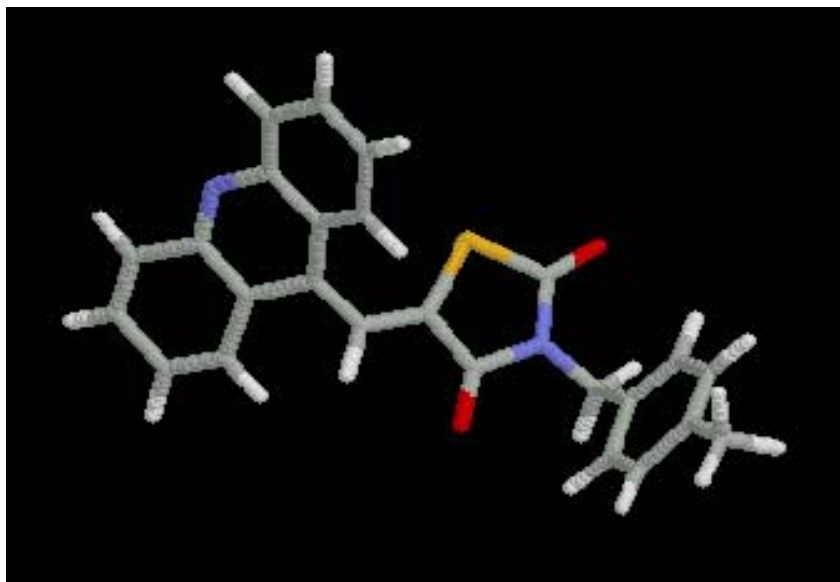


Figura 30 - 3-(4-metil-benzil)-5-(acridina-9-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona  
(HyperChem /otimização da geometria)

## ***PARTE BIOLÓGICA***

---

## 5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

---

### 5.1. Aspectos gerais da Oncologia Experimental

A pesquisa em busca da cura do câncer remonta desde os tempos do antigo Egito, conforme inscrições no papiro de Ebers (KARDINAL, 1979). Entretanto, somente após a evolução da Oncologia Experimental, com o desenvolvimento de técnicas de transplantabilidade de tumores experimentais de origem espontânea, teve início a busca científica de substâncias químicas no tratamento das neoplasias (CARTER, 1980).

No presente trabalho para identificarmos a eficácia do derivado acridino-tiazolidínico foi escolhido o tumor sarcoma 180 em camundongos.

O sarcoma 180, descoberto em 1914, no Crocker Laboratory (Columbia University, New York), é originalmente um tumor sólido surgido espontaneamente na região axilar de camundongo tendo sido inicialmente classificado como carcinoma mamário. Após vários transplantes cutâneos, assumiu a forma sarcomatosa e manteve-se sem alterações até os dias de hoje.

A forma sólida é pouco hemorrágica, e se caracteriza por um rápido crescimento: de cerca de 1 milhão de células tumorais inoculadas (fragmentos de cerca de 3mm de diâmetro), atinge-se, após 10 dias de transplante, 75 a 150 milhões de células com as mesmas características. Ocasionalmente causa metástase para o pulmão, fato que pode ocorrer quando os tumores estão com mais de quatro semanas de evolução. Muitos desenvolvem necrose a partir da terceira semana e a morte dos animais é geralmente ocasionada por toxemia, septicemia e desnutrição (SUGIURA, 1965).

## 5.2. Substâncias

-Derivados acridino-tiazolidínicos (LPSF): **6b**, **6c**, **6e**, **6l**, **6m** e **6n**.

-Solução salina a 0,9%

-Tween 80 (MERCK)

## 5.3. Animais

-Tumor sarcoma 180 proveniente do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

- Camundongos machos adultos (com cerca de 60 dias de nascidos) albinos swiss (*Mus musculus*) com peso entre 25 e 30g - provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

## 5.4. MÉTODOS

### 5.4.1. Preparação das soluções

Para a solubilidade dos derivados acridino-tiazolidínicos foram utilizados 2% de Tween 80 e solução salina a 0,9%.

### 5.4.2. Determinação da atividade antitumoral

Para avaliação da atividade antitumoral dos derivados acridino-tiazolidínicos, foram selecionados camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) procedentes do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE, com faixa etária de 60 dias e pesos entre 25-30g, separados em grupos de 10 animais por gaiola (um total de 80

animais). Os compostos em estudo foram calculados de acordo com o índice de massa corporal dos animais, solubilizados com tween 80 e solução fisiológica a 0,9%.

Para a avaliação da atividade antitumoral foram utilizados tumores malignos (sarcoma 180) de animais portadores do tumor com 8 dias de implantação. Os animais doadores foram tricotomizados em uma sala de cirurgia experimental, todos higienizados previamente e anestesiados para extirpação da massa tumoral. O tumor foi colocado em solução de ringer, e em seguida fragmentado e introduzido nos animais receptores. A técnica empregada foi da implantação de fragmentos tumorais com uma pequena incisão na região axilar e introduzido com o auxílio do trocáter por via subcutânea (STOCK, 1955). A terapêutica foi iniciada após 48 horas da intervenção cirúrgica, por um período de 8 dias. Paralelamente o grupo controle recebeu o veículo. No nono dias os animais foram sacrificados para a retirada e pesagem dos tumores. A dose estipulada foi de 50mg/kg (SILVA, 2001). A via de administração foi intraperitoneal e o percentual de inibição do peso dos tumores  $T_{WI}$  (%) foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$T_{WI} (\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

onde C corresponde a média do peso dos tumores do grupo controle e T corresponde à média do peso dos tumores do grupo tratado, conforme procedimento adotado para screening de drogas no protocolo de novas substâncias no Instituto Nacional do Câncer – NCI (GERAN *et al.*, 1972; GERAN *et al.*, 1975)

A utilização dos animais para os ensaios de atividade biológica foi aprovada pela comissão de ética da UFPE.

## 5.5. Resultados e discussão

Os tumores do grupo tratado apresentaram alterações macroscópicas quando comparado ao grupo controle. Nos grupos tratados a massa tumoral quando extirpada apresentou aspecto esbranquiçado com pobre vascularização, de caráter pouco invasivo e com desenvolvimento bem limitado. Os órgãos não apresentaram metástases. A massa tumoral desenvolveu para a camada superficial (intradérmica) com aderência na epiderme. Os tumores do grupo controle apresentaram caráter invasivo, expansivo e rica vascularização.

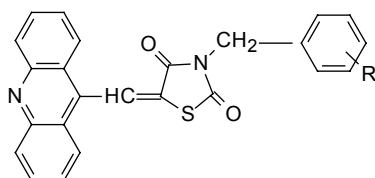
As Figuras 31, 32 e 33 mostram a redução das massas tumorais em relação ao grupo controle, após 8 dias de tratamento dos camundongos com os derivados acridino-tiazolidínicos 6c, 6b e 6l, respectivamente.

A Tabela apresenta os resultados observados da atividade antitumoral dos derivados acridino-tiazolidínico, administrados por via intraperitoneal.

De acordo com os resultados observados, os compostos mais ativos foram aqueles com substituintes nitro e bromo na posição 4. Os compostos com substituintes 3-cloro e 4-fenil também apresentaram boa atividade inibitória sobre o crescimento tumoral na dose de 50mg/kg de peso.

Comparações estatísticas entre os grupos foram feitas usando o teste T de Student. Os valores para  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

Tabela 6 – Atividade antitumoral dos derivados Acridino-tiazolidínicos administrados por via intraperitoneal



**6b** = 4-NO<sub>2</sub>  
**6c** = 4-Br  
**6e** = 4-Cl  
**6l** = 4-Fenil  
**6m** = 3-Cl  
**6n** = 2-NO<sub>2</sub>

EXPERIMENTO	6b	6c	6e	6l	6m	6n
Dose diária (mg/kg)	50	50	50	50	50	50
Média do peso dos tumores (controle)	1,6517	1,1339	1,1339	1,1339	1,6517	1,6517
Média do peso dos tumores (tratado)	0,4710	0,3251	0,6019	0,3611	0,5145	0,9244
T <sub>WI</sub> (%)	71,48	72,25	46,91	68,15	68,84	44,03
P	7,9x10 <sup>-7</sup>	2,2x10 <sup>-4</sup>	1,2x10 <sup>-2</sup>	3,5x10 <sup>-4</sup>	5,7x10 <sup>-7</sup>	1,6x10 <sup>-3</sup>

P<0,05



Figura 31 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob a ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6c**)

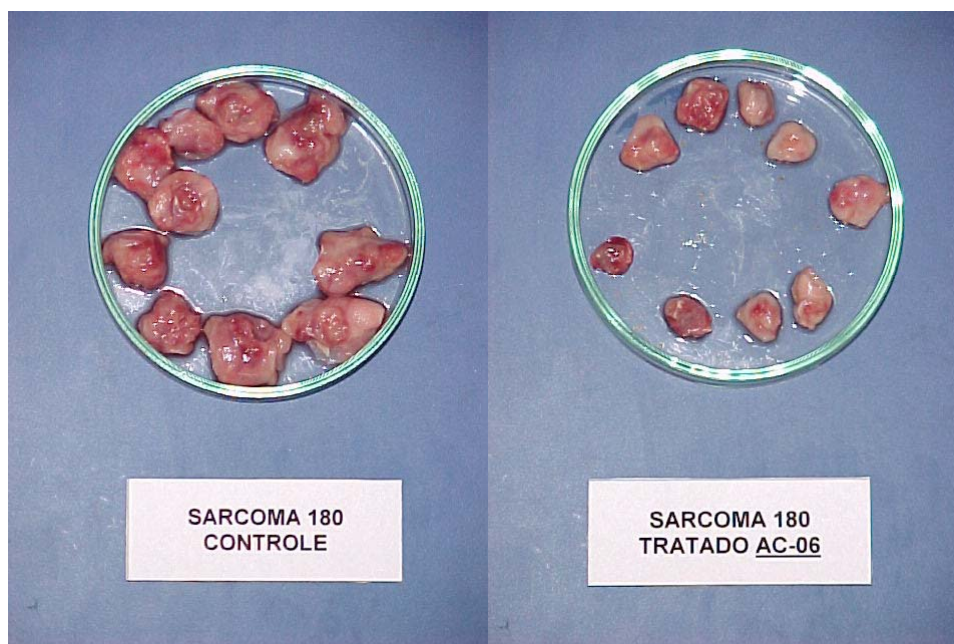


Figura 32 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob a ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6b**)



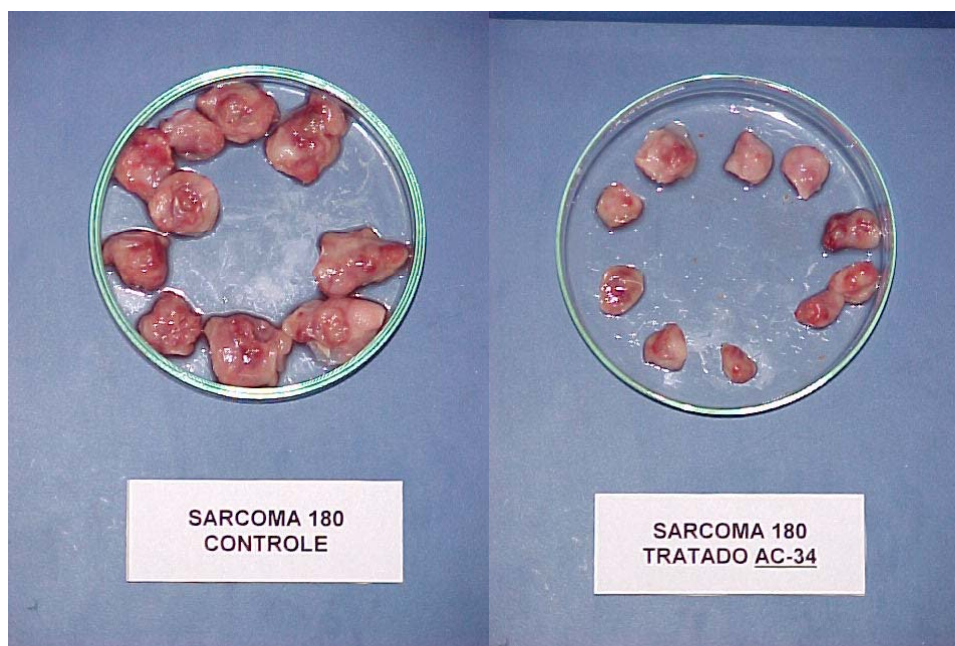


Figura 33 – Redução da massa tumoral (sarcoma 180) sob a ação do composto 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6l)

## ***MODELAGEM MOLECULAR***

---

## 6. MODELAGEM MOLECULAR

---

### 6.1. Introdução

A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e/ou visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos (STEVENS, 1991). Dentro deste contexto, a modelagem da estrutura molecular surgiu como uma alternativa, especialmente após o desenvolvimento de programas capazes de efetuar os cálculos da estrutura com um compromisso adequado entre velocidade e precisão, somado aos recursos da computação gráfica e a crescente diminuição dos custos de máquina de alto desempenho capazes de operar estes programas e recursos.

Existem muitas opções quanto ao método de cálculo a ser aplicado em uma determinada estratégia de modelagem molecular. Estes métodos basicamente diferem quanto à natureza do campo de força, ou seja, do conjunto de funções de energia analítica e seus parâmetros numéricos associados. Os campos variam desde totalmente empíricos, como os utilizados pela mecânica molecular, até os puramente teóricos (métodos *ab initio*), passando pelos chamados métodos semi-empíricos. A aplicação de um ou de outro método é determinada pelo compromisso tempo/precisão dos resultados e pela complexidade do sistema a ser analisado.

Neste trabalho foi utilizado o método semi-empírico AM1 (“Austin model 1”) (DEWAR *et al.*, 1985).

## 6.2. Estudos configuracional e conformacional

### 6.2.1. Material

Foi utilizado o programa computacional Gaussian 98 (FRISCH, 1998) em um computador Pentium-4 2 GHz – 256 MB de RAM

### 6.2.2. Programas Computacionais

Gaussian 98

HyperChem Professional™ 7.0

Microcal™ Origin™ 7.0

### 6.2.3. Metodologia

Em 2002, Oliveira desenvolveu o estudo teórico da molécula do 3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-diona (Figura 34), onde o isômero configuracional **Z** foi o que apresentou o menor valor de energia total em relação ao isômero **E**.

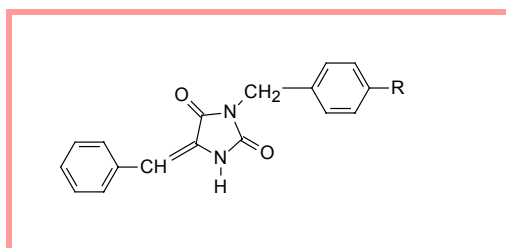


Figura 34 – Estrutura do composto 3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-diona

Em 2003, Lima estudou a modelagem molecular do 5-benzilideno-3-benzil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona e do 5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxi-imidazolidin-

4-ona confirmando o comportamento observado por Oliveira onde o isômero **Z** foi o mais estável (Figura 35).

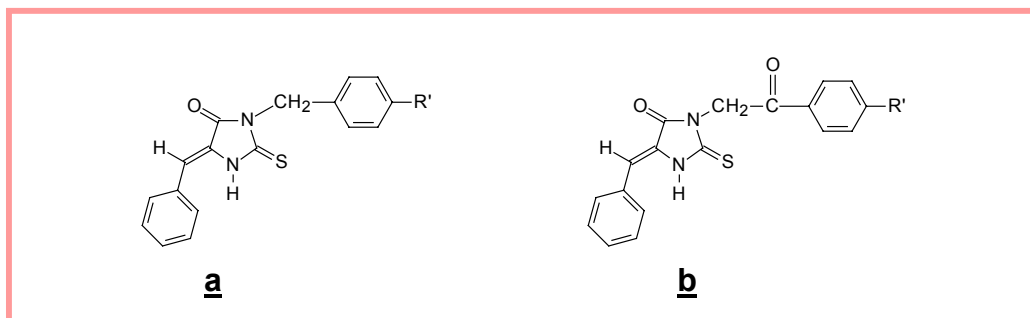


Figura 35 –Estruturas dos compostos (Z) 5-benzilideno-3-benzil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona **a** e (Z) 5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona **b**.

Foram desenvolvidos estudos sobre as configurações *Z* e *E* do composto 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (Figura 36) que consistiu na otimização da geometria molecular sem o congelamento de parâmetros geométricos (distâncias, ângulos planar e diédrico).

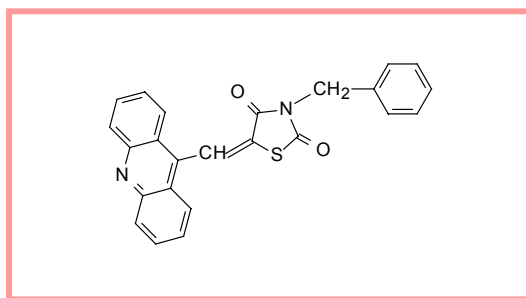


Figura 36 – Estrutura do composto 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

### 6.3. Modelagem Molecular do 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

A escolha do composto do 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona não substituído baseou-se na economia de tempo computacional, pois este é o sistema mais simples, com menor número de elétrons, e, portanto menor será o tempo utilizado para os cálculos, assim como os efeitos sistemáticos de substituição nos anéis fenilas não devem provocar alterações significativas nos resultados.

Após a análise dos resultados verificou-se uma maior estabilidade para a configuração **Z**, que após a otimização apresentou um valor 80,57 kcal/mol para o calor de formação, enquanto que o isômero **E** é menos estável com um calor de formação 83,02 kcal/mol.

A molécula 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona é mostrada na Figura 37 nas configurações **Z** e **E**.

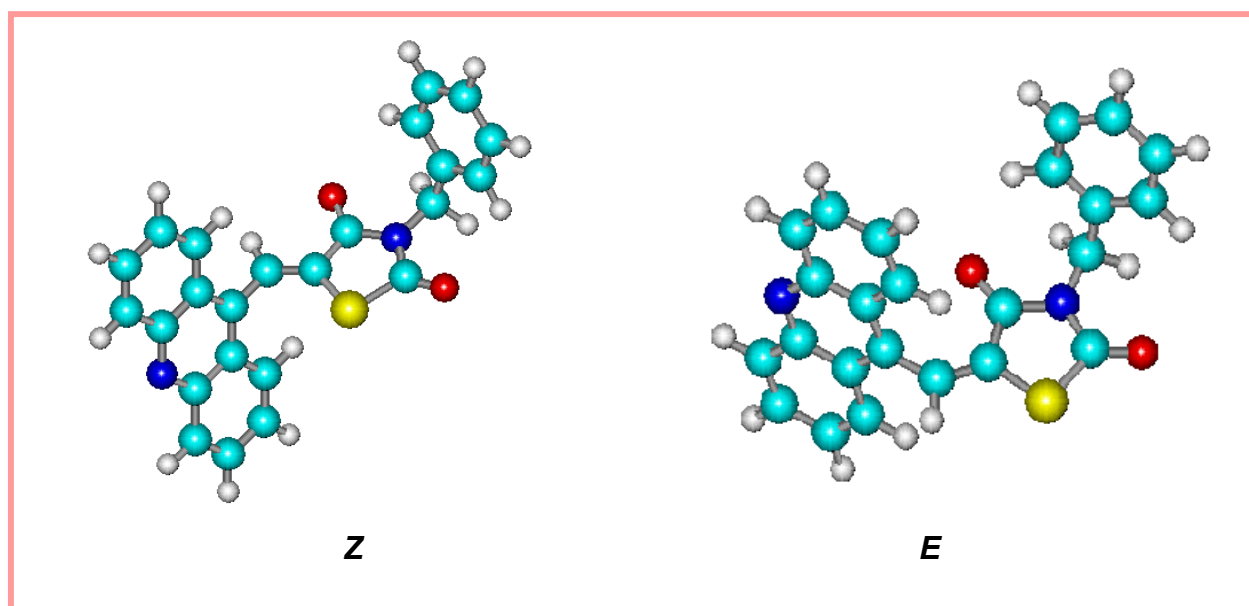


Figura 37 – Representação do 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona otimizada na configuração **Z** e **E**.

#### 6.4. Barreira de Energia

Em seguida, partindo do isômero configuracional de menor energia foi avaliado o comportamento dos diversos confôrmeros possíveis obtidos pela rotação progressiva em 30° de 0° a 360° dos ângulos diédricos formados pelos átomos **C28N29C30C31** (Figura 38).

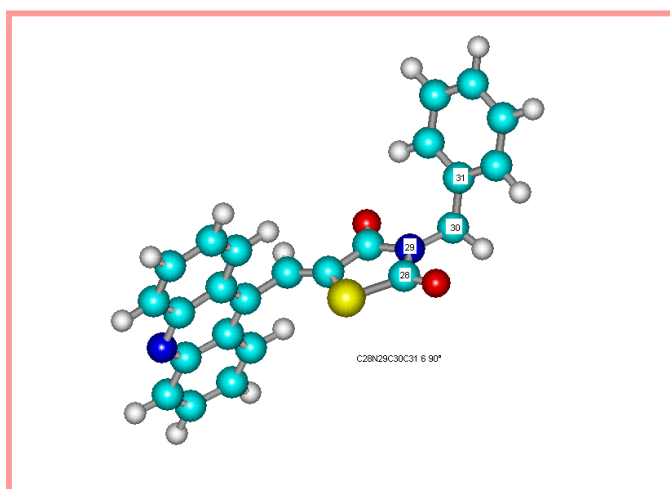
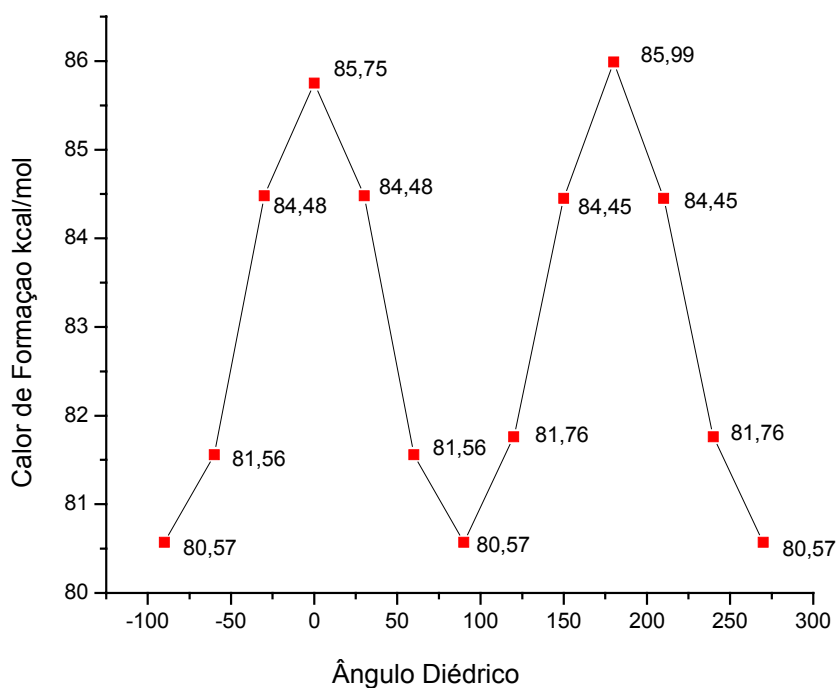


Figura 38 – Estrutura do composto 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona

Após a análise dos resultados, as conformações mais estáveis são aquelas que formam um ângulo diedro em -90°, 90°, apresentando um valor mais baixo para o calor de formação como no gráfico da Figura 39.



**Figura 39 - Barreira de energia, pelo método AM1, confôrmeros gerados a partir da rotação em torno da ligação N29C30 para a (Z) 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona**

Para efeito de visualização a Figura 40 mostra as conformações  $-90^\circ$ ,  $0,0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  e  $270^\circ$  do ângulo diedro **C28N29C30C31**.



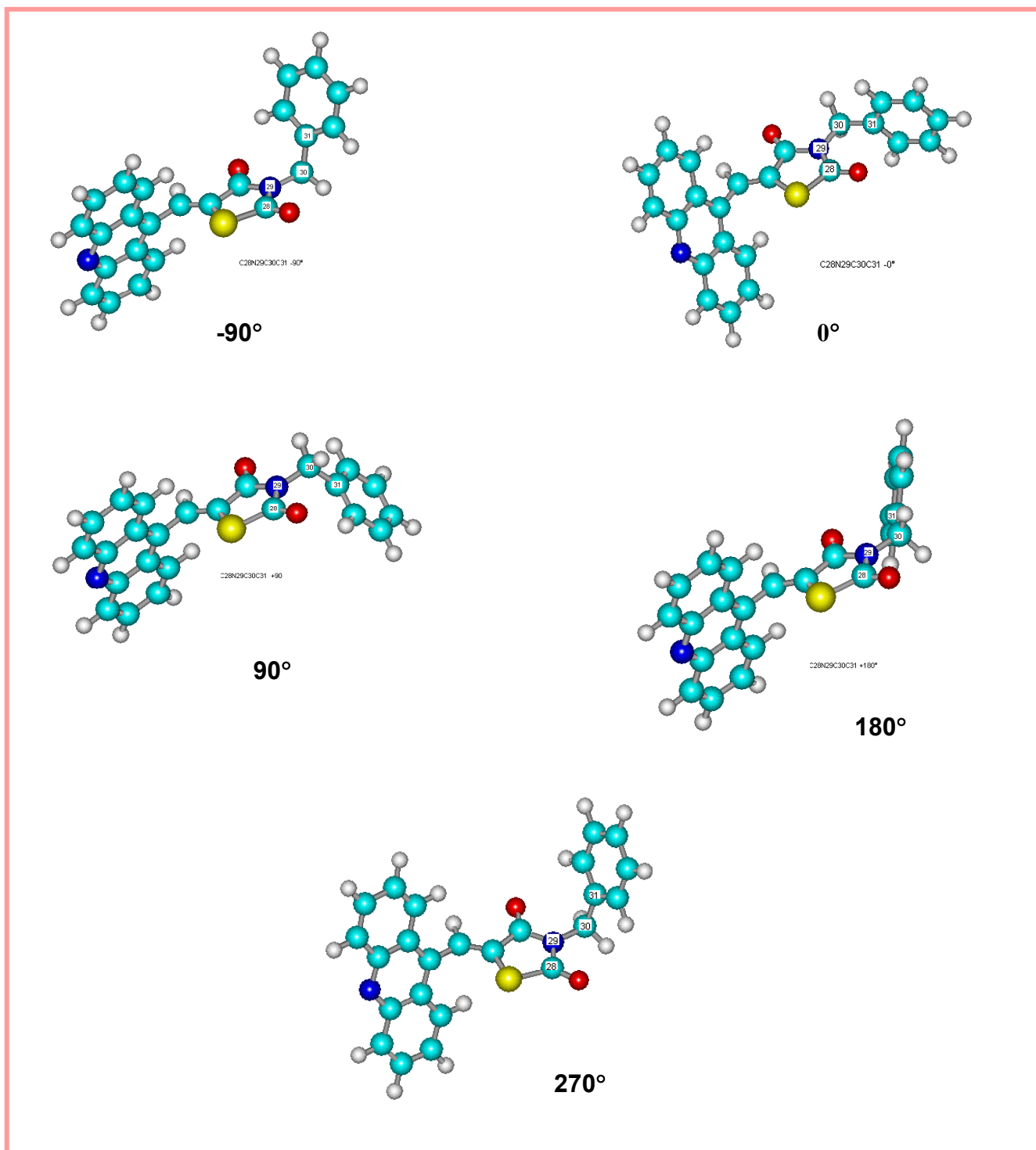


Figura 40 - Conformações do ângulo diedro da 5-acridina-9-il-metileno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona otimizada na configuração Z. e com ângulo diedro formado por C28N29C30C31 apresentando valores -90°, 0°, 90° 180° e 270°.

Podemos observar que o valor relativo ao máximo da barreira de energia para o ângulo diédrico C28N29C30C31 foi em 0 ou em 180 graus devido à proximidade entre o anel fenila e as carbonilas do heterocíclico tiazolidínico.

# ***CAPÍTULO 1***

---

## Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines

T.G. SILVA, F.S.V. BARBOSA\*, S.S.F. BRANDÃO\*, M.C.A. LIMA\*, L.F.C. LEITE\*,  
S.L. GALDINO\*, I.R. PITTA\* and J. BARBE\*\*†

\* Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos 50.670-901 Recife,  
Brasil

\*\* GERCTOP – UMR CNRS 6009, Université de la Méditerranée, Faculté de Pharmacie,  
13385 Marseille cedex 5, France.

**Abstract** : New benzylidene imidazolidine and acridinylidene thiazolidine derivatives were prepared from substituted imidazolidinones and substituted thio-imidazolidinones either by nucleophilic addition on cyanoacrylates or by condensation with arylaldehydes.

### Introduction

It has been shown since a long time that acridines and azolidines are efficient drugs in infectious diseases. Thus we intended to prepare some corresponding condensed derivatives with the aim to obtain new drugs with synergistic activities [1-5].

### Results and discussion

3-(4'-Bromo-benzyl)-4-thio-5-benzylidene-imidazolidin-2-ones, 4 and 5, 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-benzylidene-imidazolidin-2-ones, 8 and 9, and 1-methyl-2-thio-5-(4"-bromo-benzylidene) imidazolidin-4-one, 11, were prepared by two different general routes. The first process used was condensation between 3-(4'-bromo-benzyl)-4-thio-imidazolidin-2-one, 3, or 1-methyl-2-thio-imidazolidin-4-one, 10, with substituted benzaldehydes in acetic acid according to Johnson *et al.* [6] while the second one was the nucleophilic addition of 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-imidazolin-2,4-dione, 7, on selected aryl-substituted ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylates [7] according to Daboun *et al.* [8].

Imidazolidin-2,4-dione, 1, 1-methyl-imidazolidin-2,4-dione, 6, and 1-methyl-2-thio-5-(4"-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 11, were N(3)-alkylated in the presence of potassium hydroxide which leads to the imidazolidine potassium salt capable to react with benzyl halides in hot alcoholic medium according to Finkbeiner [9]. 3-(4'-Bromo-benzyl)-

imidazolidin-2,4-dione, 2, 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-imidazolidin-2,4-dione, 7, and 1-methyl-2-thio-3-benzyl-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-ones, 12 and 13, were obtained in this way.

3-(4'-Bromo-benzyl)-4-thio-imidazolidin-2-one, 3, was obtained from 3-(4'-bromo-benzyl)-imidazolidin-2,4-dione, 2, using tetraphosphorous decasulfide according to Grishchuk *et al.* [10].

Synthetic pathways are portrayed in figure 1.

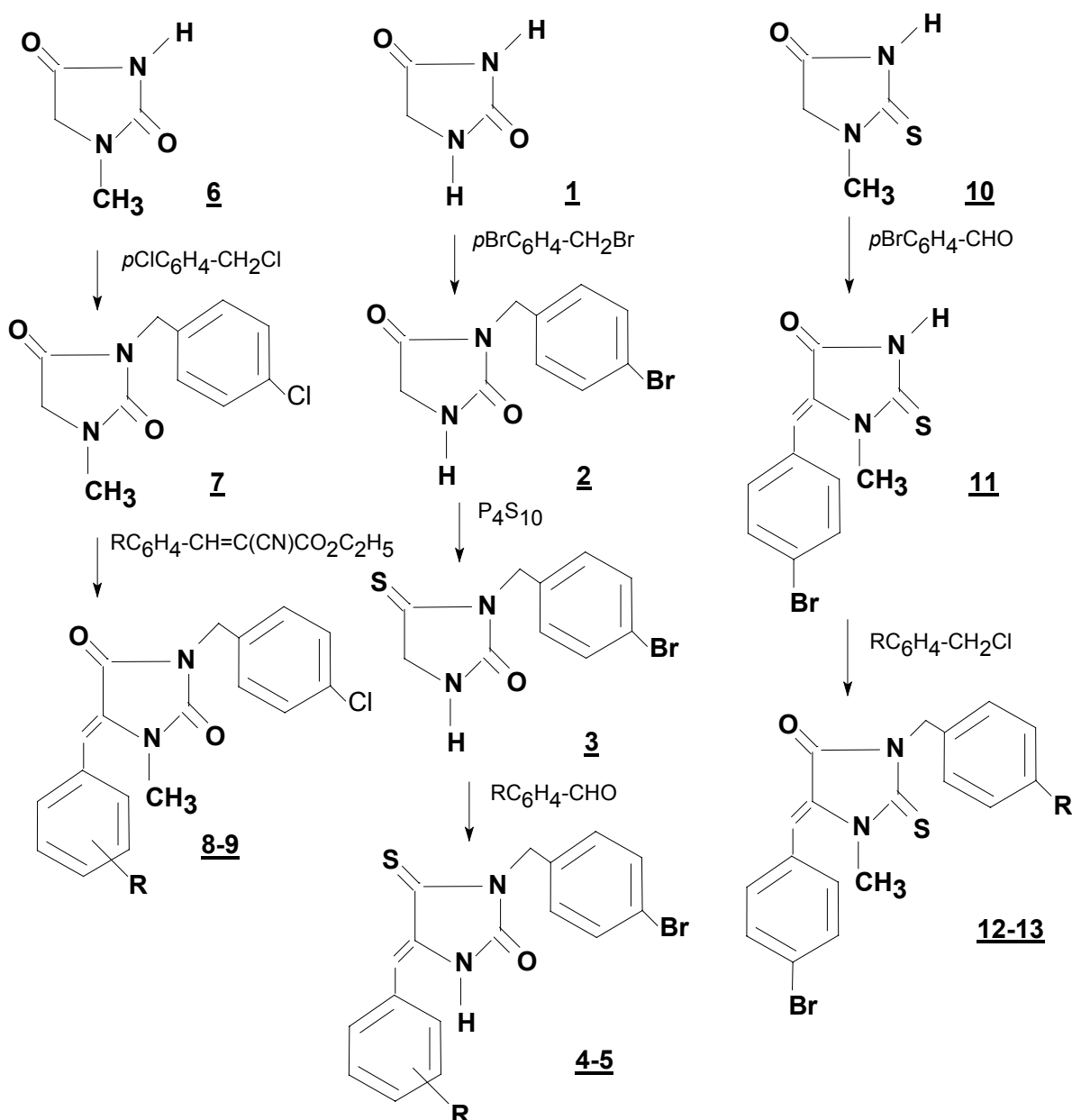


Figure 1.

The thiazolidine-dione derivatives 21-23, were only synthesized by nucleophilic addition of substituted thiazolidine-diones, 18-20, on 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 16. Indeed, direct condensation of 9-acridinaldehyde, 15, with the substituted thiazolidine-diones 18-20, did not led to the expected 3-benzyl-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-diones, 21-23, contrarily to that obtained with the imidazolidine reagents.

9-Methyl-acridine, 14, was prepared from diphenylamine with zinc dichloride in acetic acid medium according to Tsuge *et al.* [11]. Subsequently, oxidation of 14 with pyridinium chlorochromate according to Mosher *et al.* [12] gave the 9-acridinaldehyde, 15.

Synthetic pathways are portrayed in figure 2.

Benzylidene imidazolidinones were isolated in a single isomer form. X-ray crystallographic studies and  $^{13}\text{C}$  NMR have demonstrated the preferred *Z* configuration for 5-arylidene-thiazolidinones and 5-arylideneimidazolinones [13-15].  $^3J_{\text{CH}}$  coupling constant value between the ethylene proton and the carbon atom located at the  $\alpha$  position of exocyclic bond is of special interest in this demonstration. Thus, in case of 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-benzylidene-imidazolidin-2-one, 8, after the methylene protons of the side chain being irradiated at 4.72 ppm, value of  $^3J_{\text{CH}}$  is 7.26 Hz. This is in agreement with a *Z* configuration [16]. In contrast, 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-benzylidene-imidazolidin-2-one, 9, and 3-benzyl-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-dione, 22, were isolated as isomeric mixtures. Isomers were readily identified by  $^1\text{H}$  NMR. Actually, the ethylene proton is more deshielded in isomer *Z* than it is in isomer *E*, owing to the *cis*-position of exocyclic carbonyl function. Finally, MS data fully agree with the structure proposed.

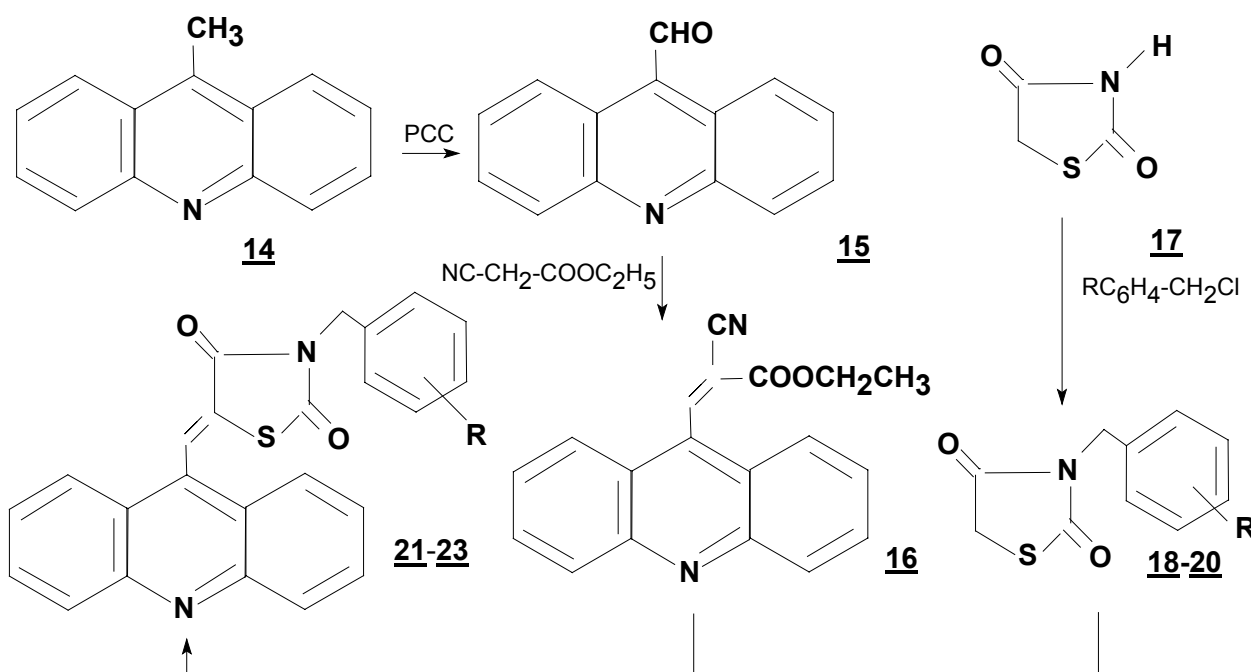


Figure 2

### Experimental

Melting points were measured in capillary tube on Buchi (or Quimis) apparatus. Thin Layer Chromatography was performed on silicagel plates Merck 60F<sub>254</sub>. Infrared spectra of 1% KBr pellets were recorded on a Bruker IFS66 spectrometer (or Perkin Elmer 1310 spectrometer for 2, 9, 11, 12 and 13).  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded on a Bruker AC 300 P spectrophotometer (or Bruker AC 200 spectrophotometer for 2, 8, 9, 12 and 13) in

DMSO- $d_6$  or  $CDCl_3$  as solvent, with tetramethylsilane as internal standard. Mass spectra were recorded on Delsi-Nermag R 1010 C spectrometer (or HP 5897 for 21).

The published chemical data on 2 [17], 6,7 [3], 10 [18], 19 [19] and 20 [2] have not been reported.

**3-(4'-Bromo-benzyl)-4-thio-imidazolidin-2-one, 3.**

3-(4'-Bromobenzyl)-imidazolidin-2,4-dione, 2, (6 g, 21 mmol) and tetraphosphorous decasulfide (2.5 g, 11 mmol) are refluxed in anhydrous dioxane (50 ml) for 40 min before zinc (0.1 g) and coal (0.1 g) be added. Heating is maintained 5 min more. The mixture is filtered and concentrated to the half. Crushed ice is added and the precipitate obtained is filtered. Crude is purified by column chromatography with benzene : methanol (9 : 1) as eluent.  $C_{10}H_9N_2OS$ . Yield : 88%. Mp : 188-9°C. TLC, benzene : methanol (9:1),  $R_f$  : 0.57. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3240, 1755, 1490, 1450, 1350, 1230, 880, 780.  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ): 4.35 (d,  $CH_2$ -5 J = 1Hz); 4.99 (s,  $CH_2$ -Ph); 6.05 (s, NH); 7.36 (d, 2H benzyl, J = 8.6Hz); 7.45 (d, 2H benzyl, J = 8.5Hz).

**3-(4'-Bromo-benzyl)-4-thio-5-benzylidene-imidazolidin-2-ones, 4, 5 : general procedure.**

A mixture of benzaldehyde (1.2 mmol), 3-(4'-bromo-benzyl)-4-thio-imidazolidin-2-one, 3, (1.5 mmol) and melt sodium acetate (0.45 g) is heated at 120-140°C in acetic acid (10 ml) for 5-6 h. After cooling, precipitate is washed with water and recrystallized in acetic acid.

**3-(4'-Bromo-benzyl)-4-thio-5-(2''-chloro-benzylidène)-imidazolidin-4-one, 4**

$C_{17}H_{12}BrClN_2OS$ . Yield : 48%. Mp : 218-9°C. TLC, methylene chloride,  $R_f$  : 0.58. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3224, 1736, 1639, 1487, 1305, 1197, 764.  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm, DMSO- $d_6$ ): 5.04 (s,  $CH_2$ -Ph); 7.19 (s, CH); 7.31 (d, 2H benzyl, J = 8.7Hz); 7.55 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz); 7.41-7.45 (m, 2H benzylidene) ; 7.56-7.59 (m, 1H benzylidene); 7.74-7.77 (m, 1H benzylidene); 11.5 (NH). Ms, m/z (%) : 371 ( $M^+$  -Cl 71.4), 373(81.5), 169(100), 171(95.2), 90(14.7), 89(14.6).

**3-(4'-Bromo-benzyl)- 4-thio-5-(4''-méthoxy-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 5**

$C_{18}H_{15}BrN_2O_2S$ . Yield : 48%. Mp : 225-6°C. TLC, methylene chloride,  $R_f$  : 0.50. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3237, 1733, 1646, 1597, 1347, 1259, 760.  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm, DMSO- $d_6$ ): 3.82 (s,  $OCH_3$ ); 5.04 (s,  $CH_2$ -Ph); 7.04 (s, CH); 7.29 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz); 7.55 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz); 7.02 (d, 2H benzylidene, J = 8.7Hz); 7.7 (d, 2H benzylidene, J = 8.7Hz). Ms, m/z (%) : 402( $M^+$  100), 403(79.3), 404(93.8), 290(21.7), 233(15.7), 206(13), 169(38.5), 171(37.3), 89(6.5).

**1-Methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-benzylidene-imidazolidin-2,4-ones, 8, 9 : general procedure.**

A mixture of 1-methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-imidazolidin-2,4-dione, 7, (0.59 g, 2.5 mmol) and ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylate (2.7 mmol) is refluxed for 2-6 h in absolute ethanol (20 ml) added with piperidine (0.25 ml). After cooling, precipitates are purified by column chromatography and recrystallized in suitable solvents.

**1-Methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-(4''-chloro-benzylidene)-imidazolidin-2,4-one, 8.**

$C_{18}H_{14}Cl_2N_2O_2$  (purification by column chromatography with chloroform as eluent; recrystallisation in absolute ethanol). Yield : 18%. Mp : 187-8°C. TLC, chloroform : *n*-hexane (1:1),  $R_f$  : 0.54. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  1754, 1709, 1629, 1403, 1086, 803.  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ): 3.21 (s,  $NCH_3$ ); 4.71 (s,  $CH_2$ -Ph); 6.18 (s, CH); 7.28 (d, 2H benzyl, J = 8.2Hz); 7.38 (d, 2H benzyl, J = 8.3Hz); 7.34 (d, 2H benzylidene, J = 8.5Hz); 7.92 (d, 2H benzylidene, J = 8.5Hz). Ms, m/z (%) : 360( $M^+$  58), 361(11.3), 362(38.8), 166(17.1), 165(21), 150(34.1), 127(32.7), 125(100), 89(15.3).

***1-Methyl-3-(4'-chloro-benzyl)-5-(2''-chloro-benzylidene)-imidazolidin-2,4-one, 9.***

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (purification by column chromatography with chloroform / n-hexane (8 : 2) as eluent; recrystallization in absolute ethanol). Yield : 15%. Mp : 164-5°C. TLC, chloroform : n-hexane (1:1), R<sub>f</sub> : 0.47. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1765, 1715, 1650, 1440, 1405, 1100, 850. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>) Z/E 56/44% : 3.16/2.77 (s, NCH<sub>3</sub>); 4.68/4.60 (s, CH<sub>2</sub>-Ph); 6.67/6.50 (s, CH); 7.32-7.44 (m, arom.) 7.81-7.86 (m, benzylidene). Ms, m/z (%): 360(M<sup>+</sup> 1.8), 361(1), 362(1.1), 325(54), 150(16.9), 127(47.4), 125(100), 99(9.2), 89(27.1). <sup>13</sup>C NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, DEPT) Z/E: 26.4/26.6 (NCH<sub>3</sub>), 40.9/41.3 (CH<sub>2</sub>), 107.1/111.1 (CH étylénique), 126.3/126.7 (CH), 128.4/128.5 (2CH), 128.8/129.1 (CH), 129.5/129.6 (2CH), 129.9/130.1 (CH), 130.6/130.9 (C), 131/131.1 (C), 131.7/131.9 (CH), 132.1/132.2 (C), 132.8/133.2 (C), 135.1/135.2 (C), 152.9/154.7 (CO), 160.8/162.6 (CO). Ms, m/z (%) : 360(M<sup>+</sup> 1.8), 361(1), 362(1.1), 325(54), 327(16.4), 150(16.9), 125(100), 127(47.4), 89(27.1).

***1-Methyl-2-thio-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 11.***

A mixture of 1-methyl-2-thio-imidazolidin-4-one, 10, (1.3 g, 0.01 mmol), 4-bromo-benzaldehyde (2.78 g, 0.015 mmol) and melt sodium acetate (2.5 g) is heated at 140 °C in glacial acetic acid for 3 h. After cooling, the precipitate obtained is washed with water then with chloroform.

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>BrN<sub>2</sub>OS. Yield : 60%. Mp : 212°C. TLC, chloroform : methanol (94:6), R<sub>f</sub> 0.83. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  3130, 1735, 1620, 1580, 1485, 1370, 1160, 1105, 770. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.44 (s, NCH<sub>3</sub>); 6.66 (s, CH); 7.56 (d, 2H benzylidene, J = 8.2Hz); 7.96 (d, 2H benzylidene, J = 8.2Hz); 13.42 (s, NH). <sup>13</sup>C NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>, DEPT): 29.7(NCH<sub>3</sub>), 118.4, 122.6, 130.4, 131, 131.7, 132.5, 162.6(CO), 176.1(CS).

***1-Methyl-2-thio-3-benzyl-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-ones, 12, 13 : general procedure.***

1-Methyl-2-thio-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 11, (0.59 g, 2 mmol) is dissolved in methanol (2 ml) before potassium hydroxide (0.12 g) dissolved in methanol (3 ml) be added with stirring. A few time (10 min) later, benzyl halide (2.5 mmol) is added dropwise. The mixture is left at room temperature for 24 h. The precipitate obtained is filtered, before to be washed with water then with ethyl ether. Compounds isolated are of acceptable purity and were analysed without further recrystallization.

***1-Methyl-2-thio-3-benzyl-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 12.***

C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>2</sub>OS. Yield : 80%. Mp : 209-211°C. TLC, chloroform : methanol (96:4), R<sub>f</sub> : 0,9. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1680, 1620, 1590, 1455, 1435, 1390, 1170, 1020, 720. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.29 (s, NCH<sub>3</sub>); 4.57 (s, CH<sub>2</sub>); 6.79 (s, CH); 7.31-7.48 (m, 5H benzyl); 7.61 (d, 2H benzylidene, J = 8.4Hz); 8.17 (d, 2H benzylidene, J = 8.4Hz). Ms, m/z (%) : 386(M<sup>+</sup> 18), 388(20), 353(5.2), 274(8.7), 226(7.6), 209(17.9), 194(46.2), 196(51.5), 115(18.7), 91(100), 65(33.8).

***1-Methyl-2-thio-3-(4'-bromo-benzyl)-5-(4''-bromo-benzylidene)-imidazolidin-4-one, 13.***

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>OS. Yield : 85%. Mp : 223-224°C. TLC, chloroform : methanol (96:4), R<sub>f</sub> : 0,9. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1690, 1610, 1580, 1485, 1450, 1435, 1320, 1160, 1010, 890. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.29 (s, NCH<sub>3</sub>); 4.55 (s, CH<sub>2</sub>); 6.79 (s, CH); 7.43 (d, 2H benzyl, J = 8.5Hz); 7.54 (d, 2H benzyl, J = 8.5Hz); 7.61 (d, 2H benzylidene, J = 8.6Hz); 8.17 (d, 2H benzylidene, J = 8.6Hz). Ms, m/z (%) : 464(M<sup>+</sup> 0.51), 466(0.7), 468(0.65), 352(7.3), 295(6.6), 226(12.9), 209(22.4), 194(39.7), 169(49), 115(26.7), 90(60.6), 89(93.7), 63(100).

***9-Methyl-acridine, 14.***

A mixture of diphenylamine (2.5 g, 14.7 mmol), zinc dichloride (10 g) and acetic acid (2.5 ml) is heated at 220°C for 6 h. The mixture is acidified with 10% sulfuric acid before to be made alkaline with 30% ammonia. The crude is extracted with toluene and purified by flash chromatography on silica with n-hexane : ethyl acetate (7 : 3) as eluent. C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N. Yield : 40%. Mp : 115-7°C / 118°C [13]. TLC, n-hexan : ethyl acetate (7:3), R<sub>f</sub> : 0.59. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 3.13 (s, CH<sub>3</sub>); 7.60-7.66 (m, 2H<sub>arom</sub>); 7.81-7.87 (m, 2H<sub>arom</sub>); 8.12-8.17 (m, 2H<sub>arom</sub>); 8.38-8.42 (m, 2H<sub>arom</sub>).



**9-Acrinaldehyde, 15.**

A mixture of 9-methyl-acridine, 14, (1.7 g, 8.9 mmol), magnesium sulfate (5.1 g), pyridinium chlorochromate (PCC) (2.04 g, 9.4 mmol) and anhydrous methylene chloride (51 ml) is stirred under nitrogen pressure at room temperature for 18 h. The crude is extracted with ethyl ether. After solvent evaporation, compound is purified by flash chromatography on silica with n-hexane : ethyl acetate (6 : 4) as eluent. C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO. Yield : 55%. Mp : 151-152°C / 147°C [14]. TLC, n-hexane : ethyl acetate (6:4), R<sub>f</sub> : 0.35. <sup>1</sup>H NMR (δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.67 (s, CHO); 7.22-7.28 (m, 2H<sub>arom</sub>); 7.52-7.55 (m, 2H<sub>arom</sub>); 7.70-7.75 (m, 2H<sub>arom</sub>); 8.22-8.25 (m, 2H<sub>arom</sub>).

**9-[Ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 16.**

A mixture of 9-acridinaldehyde, 15, (2.2 g, 10.5 mmol), ethyl cyanoacetate (3 ml), piperidine (250 μl) and anhydrous benzene (50 ml) is refluxed at 110 °C for 8 h. After cooling, the precipitate obtained is purified by flash chromatography on silica with n-hexane : ethyl acetate (6 : 4) as eluent. C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Yield : 49%. Mp : 170-171°C. TLC, n-hexane : ethyl acetate (7:3), R<sub>f</sub> : 0.44. IR cm<sup>-1</sup> (KBr): ν 3431, 2200, 1727, 1619, 1270, 763. <sup>1</sup>H NMR (δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 1.40 (t, CH<sub>3</sub>, J = 7.2Hz); 4.45 (q, CH<sub>2</sub>, J = 7.2Hz); 7.69-7.75 (m, 2H); 7.91-7.97 (m, 2H); 8.11 (d, 2H, J = 8.7Hz); 8.26 (d, 2H, J = 8.4Hz); 9.35 (s, CH). Ms, m/z (%) : 302(M<sup>+</sup> 25.1), 303(5.4), 229(100), 203(19.7), 175(5.3), 101(4.5), 75(5.9), 63(5.1).

**3-(4'-Methyl-benzyl)-thiazolidin-2,4-dione, 18.**

*A solution of sodium hydroxide (1.9 g) in 10 ml of ethanol : water mixture (6 : 4) is added dropwise under stirring to a suspension of thiazolidine-2,4-dione, 17, in 10 ml of the same ethanol : water mixture. A few time later (10 min), the substituted benzyl chloride (7 ml) is added and the mixture is stirred for 5 min before to be refluxed for 24 h. After cooling at room temperature, the expected compound is precipitated by addition of crushed ice before to be purified by flash chromatography on silica with chloroform : methanol (92 : 8) as eluent. C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S. Yield : 21%. Mp : 70-72°C. TLC chloroform : methanol (92:8) R<sub>f</sub> : 0.68. IR cm<sup>-1</sup> (KBr): ν 2996, 1756, 1730, 1676, 1514, 1428, 1378, 1337, 1058, 751. <sup>1</sup>H NMR (δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>); 4.26 (s, CH<sub>2</sub>); 4.62 (s, CH<sub>2</sub> phenacyl), 7.14 (s, 4H, arom.).*

**3-Benzyl-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-diones, 21-23 : general procedure.**

Benzylthiazolidine, 18-20 (0.9 mmol) and 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 16, (0.9 mmol) are dissolved in absolute ethanol (8 ml). The solution is refluxed for 4 h in the presence of small amount of piperidine as catalyst. The precipitate obtained is filtered and washed with water. Compounds isolated are of acceptable purity and were analysed without further recrystallization.

**3-(4'-Methyl-benzyl)-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-dione, 21.**

C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S. Yield : 96%. Mp : 198-199°C. TLC benzene : ethyl acetate (9:1) R<sub>f</sub> : 0.45. IR cm<sup>-1</sup> (KBr): ν 1746, 1697, 1630, 1378, 1339, 1149, 758. <sup>1</sup>H NMR (δ ppm, CDCl<sub>3</sub>): 2.37 (s, CH<sub>3</sub>); 4.92 (s, CH<sub>2</sub>); 7.21 (d, 2H benzyl, J = 7.8Hz), 7.42 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.57-7.62 (m, 2H acridin), 7.8-7.85 (m, 2H acridin), 7.96 (d, 2H acridin, J = 7.8Hz), 8.29 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.69 (s, 1H, CH). Ms, m/z (%) : 410(M<sup>+</sup> 98.1), 411(29.3), 305(24.2), 235(52.9), 190(9), 105(100), 77(8.3).

**3-(4'-Bromo-benzyl)-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-dione, 22.**

C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S. Yield : 48%. Mp : 258-260°C. TLC ethyl acetate : n-hexane (7:3), R<sub>f</sub> : 0.53. IR cm<sup>-1</sup> (KBr): ν 3419, 1745, 1694, 1625, 1378, 1334, 1149, 760. <sup>1</sup>H NMR (δ ppm, DMSO-d<sub>6</sub>) Z/E 78/22% : 4.86/4.57 (s, CH<sub>2</sub>);

7.39/7.10 (d, 2H benzyl, J = 8.7/8.4Hz); 7.60/7.46 (d, 2H benzyl, J = 8.7Hz); 7.66-7.72 (Z, m, 2H acridin), 7.89-7.95 (Z, m, 2H acridin), 8.14 (Z, d, 2H acridin, J = 8.1Hz), 8.24 (Z, d, 2H acridin, J = 8.4Hz), 8.78/8.37 (s, CH).

**3-(4'-Nitro-benzyl)-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-dione, 23.**

C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Yield : 60%. Mp : 238-240°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (6:4) R<sub>f</sub> : 0.57. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  3422, 1747, 1694, 1629, 1606, 1530, 1379, 1340, 1149, 760. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO-d<sub>6</sub>) 5.03 (s, CH<sub>2</sub>); 7.72 (d, 2H benzyl, J = 8.7Hz); 8.27 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz); 7.68-7.73 (m, 2H acridin), 7.90-7.96 (m, 2H acridin), 8.17 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.25 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.81 (s, 1H, CH).

**Acknowledgments**

The CAPES/COFECUB (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior/COMITÉ Français d'Evaluation et de Coopération Universitaire avec le Brésil) are gratefully acknowledged for their support to the joint research programme.

**References**

- [1] H.M. SALAMA, I.M. LABOUTA and M. MAA, Alexandria J. Pharm. Sc., 4, 44-46 (1990).
- [2] S.S.F. BRANDÃO, J.A. ROCHA FILHO, J. CHANTEGREL, J.F.C. ALBUQUERQUE, E.A. XIMENES, S.L. GALDINO, I.R. PITTA, M. PERRISSIN and C. LUU-DUC, Ann. Pharm. Fr., 55, 206-211 (1997).
- [3] J.F.C. ALBUQUERQUE, A.J. ROCHA FILHO, S.S.F. BRANDÃO, M.C.A. LIMA, E.A. XIMENES, S.L. GALDINO, I.R. PITTA, J. CHANTEGREL, M. PERRISSIN and C. LUU-DUC, Il Farmaco, 54, 77-82 (1999).
- [4] A. ALBERT and R. GOLDACRE, Nature, 162, 95 (1948)
- [5] A. ALBERT, S.D. RUBBO, R.J. GOLDACRE, M.E. DAVEY and J.D. STONE, Brit. J. exptl Pathol., 26, 160 (1945)
- [6] T.B. JOHNSON and W.M. SCOTT, J. amer. chem. Soc., 37, 1846-1856 (1915).
- [7] W.M. PHILLIPS and D.J. CURRIE, Can. J. Chem., 47, 3137-3146 (1969).
- [8] H.A.F. DABOUN, S.E. ABDU, M.M. HUSSEIN and M.H. ENALGDI, Synthesis, 502-504 (1982).
- [9] H. FINKBEINER, J. Org. Chem., 30, 3414-3419 (1965).
- [10] A.P. GRISHCHUK, S.N. BARANOV, T.E. GORIZDRA and I.D. KOMARITSA, Zh. Prikl. Khim., 40, 1389-1390 (1967) in Chem. Abstr. 67, 116869<sup>c</sup> (1967).
- [11] O. TSUGE, M. NISHINOHARA and M. TASHIRO, Bull. Chem. Soc. Japan, 36, 1477-1485 (1963).
- [12] M.D. MOSHER and N.R. NATALE, J. Heterocycl. Chem., 32, 779-781 (1995).
- [13] S.F. TAN, K.P. ANG and Y.F. FONG, J. Chem. Soc., Perkin Trans. II, 1941-1944 (1986).
- [14] J.F.C. ALBUQUERQUE, S.L. GALDINO, J. CHANTEGREL, F. THOMASSON, I.R. PITTA and C. LUU-DUC, Ann. Pharm. Fr., *in press*
- [15] C.A. DE SIMONE, J. ZUKERMAN-SCHPECTOR, M.A. PEREIRA, C. LUU-DUC, I.R. PITTA, S.L. GALDINO and E.L.C. AMORIM, Acta Cryst., C51, 2620-2621 (1995).
- [16] G.J. KARABATSOS and C.E. ORZECH, J. amer. chem. Soc., 87, 560-562 (1965).
- [17] E.L. AMORIM, S.S.F. BRANDÃO, C.O.M. CAVALCANTI, S.L. GALDINO, I.R. PITTA and C. LUU-DUC, Ann. Pharm. Fr., 50, 103-111 (1992).
- [18] S.S.F. BRANDÃO, V.L.M. GUARDA, I.R. PITTA, J. CHANTEGREL, M. PERRISSIN, V.M. SOUZA, S.L. GALDINO, F. THOMASSON, M.C.A. LIMA, L.F.C.C. LEITE and C. LUU-DUC, Boll. Chim. Farm., 139, 54-58 (2000).
- [19] D.L.B. COSTA, J. CHANTEGREL, M.C.A. LIMA, J.F.C. ALBUQUERQUE, R.M.O.C. LIMA, S.L. GALDINO, I.R. PITTA and C. LUU-DUC, J. Pharm. Belg., 50, 5-10 (1995).

## ***CAPÍTULO 2***

---

Prof. Ivan Pitta  
Universidade Federal de Pernambuco  
Departamento de Antibióticos

50670-901 Recife  
Brasil

Hel/ue

16. junho 2003

Dear Prof. Pitta,

We have received your research paper

**Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxoimidazolidine compounds (Reference-No. P 3686).**

Thank you for considering publication in DIE PHARMAZIE.

Sincerely yours,

Dr. A. Helmstädter  
(Editor DIE PHARMAZIE)

## Universidade Federal de Pernambuco

### Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds

M.C.P.A. Albuquerque<sup>1,2</sup>, T.G.Silva<sup>3</sup>, M.G.R.Pitta<sup>1</sup>, A.C.A. Silva<sup>3</sup>, P.G.Silva<sup>1</sup>,  
E.Malagueño<sup>1</sup>, J.V.Santana<sup>1</sup>, J.I.Irmão<sup>2</sup>, M.C.A.Lima<sup>3</sup>, S.L.Galdino<sup>3</sup>, J.Barbe<sup>4</sup>  
I.R.Pitta<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Immunopatologia Keizo Asami – LIKA

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Tropical – Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

<sup>3</sup>Departamento de Antibióticos – Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

50670-901- Recife - PE – Brasil E-mail <irpitta@aol.com>

<sup>4</sup>GERCTOP – UMR CNRS 6009, Université de la Méditerranée

Faculté de Pharmacie, 13385 Marseille cedex 5, FRANCE

#### Abstract

Synthesis and physico-chemical properties of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones, 5-benzylidene-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones and 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-ones compounds are described. These thioxo-imidazolidine derivatives were prepared by alkylation and condensation with 4-fluoro-benzaldehyde or nucleophilic Michael addition with cyanoacrylates. The schistosomicidal activity of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one compounds was evaluated.

**Keywords:** Imidazolidines, antischistosomal activity

## 1. Introduction

Imidazolidine compounds are used for the treatment of schistosomiasis infections. Their efficacy is good but has serious drawbacks (Robinson *et al.* 1970; Waruiru 1992). This work describes the synthesis and the physicochemical properties of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones, 5-benzykidene-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones and 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-one compounds. These derivatives were synthesised using two different general routes. The first process used was condensation with various benzaldehydes while the second was nucleophilic addition with cyanoacrylates. The synthesis of some 5-arylydene-3-benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-ones and 5-arylydene-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones has been reported in previous papers (Albuquerque *et al.* 1999; Brandão *et al.* 2000; Silva *et al.* 2001; Andrade *et al.* 2002).

## 2. Synthesis of compounds

The 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones were synthesized in three stages. Initially 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one **1** was prepared using 1-methyl-glycine and thiocyanate of ammonium (Romley *et al.* 1971). Then, the 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one reacts with 4-fluoro-benzaldehyde in the DMF in the presence of sodium methoxyde (Krapcho 1973) to form 5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one **2**. The alkylation of this compound was carried out in the presence of potassium hydroxide and benzyl halides in an alcohol medium (Finkbeiner 1965). 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo- -imidazolidin-4-ones **3-6** were thus obtained. In addition, some other new 5-arylydene or 5-(3-indol) 3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones **20-25** were obtained by nucleophilic Michael addition of 2-thioxo-imidazolidin-4-one **7** to aryl-substituted ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylates **8-12** or ethyl-[2-cyano-3-(3-indol)]-acrylate **13**. The 5-arylydene or 5-(3-indol) 2-thioxo-imidazolidin-4-ones **14-19** obtained were alkylated using 4-nitro-benzyl-chloride in the presence of potassium hydroxide. The 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-one derivatives **32-33**, were only synthesized by nucleophilic addition of substituted 3-benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-one **29-30**, to 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine **31**. In fact, direct condensation of 9-acridinaldehyde with the substituted imidazolidine-

diones **29-30**, did not lead to the expected 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioimidazolidin-2-ones **32-33**, but to that obtained using 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one. After alkylation of imidazolidin-2-4-dione **26** with benzyl halides, the oxo group in position 4 of substituted 3-benzyl-imidazolidine-2,4-dione **27-28** was replaced by thioxo with tetraphosphorous decasulfide. The 9-methyl-acridine starting product for the preparation of 9-acridinaldehyde, was obtained from diphenylamine with zinc dichloride in an acetic acid medium Silva *et al.* 2001; Tsuge *et al.* 1963). Subsequently, oxidation of 9-methyl-acridine with pyridinium chlorochromate gave 9-acridinaldehyde (Silva *et al.* 2001; Mosher & Natale 1995). The condensation with ethyl cyanoacetate in the presence of piperidine in hot anh. benzene leads to the 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine **31** compound. Synthetic pathways are portrayed in fig. 1.

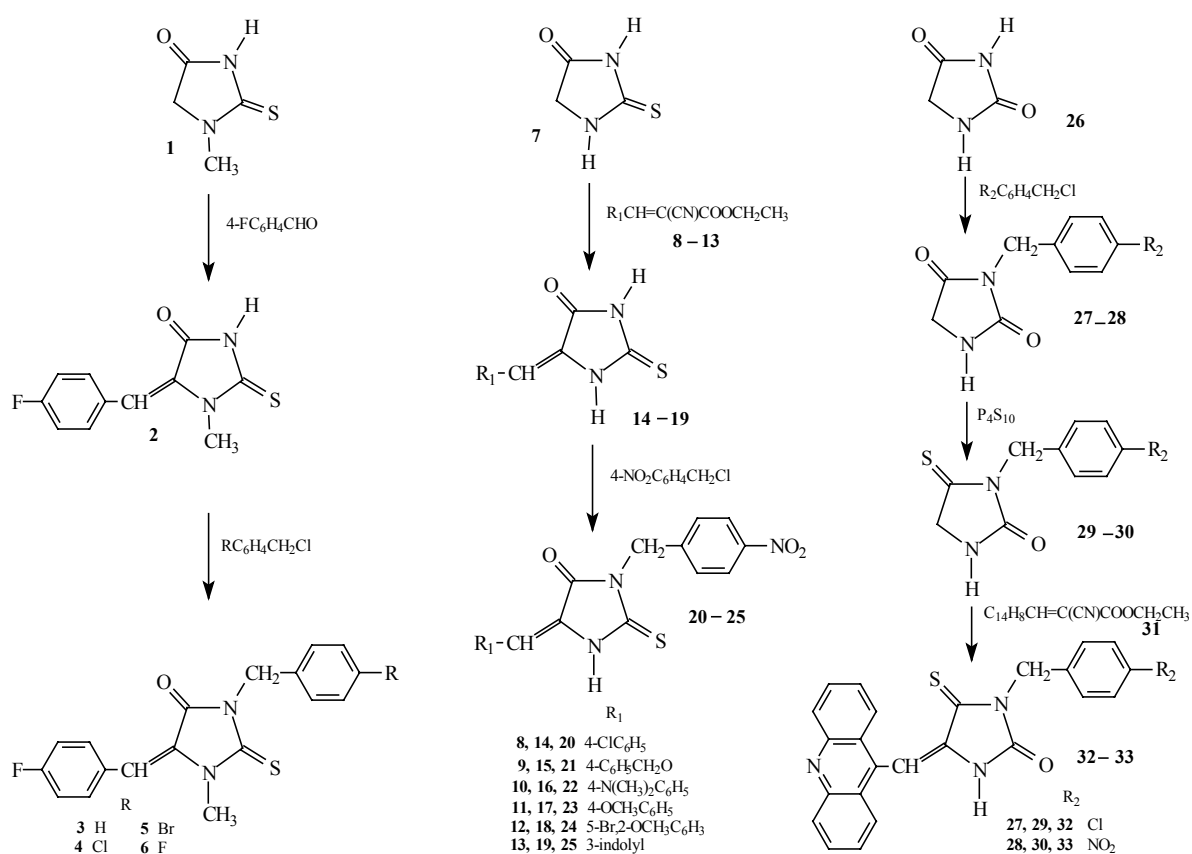


Fig. 1- Thioxo-imidazolidine derivatives: synthetic pathways

The thioxoimidazolidines were isolated in single isomer form. X-ray crystallographic studies have demonstrated the preferred *Z* configuration for 5-arylideneimidazolinone (De Simone *et al.* 1996). The study using coupled spectrometry of NMR  $^{13}\text{C}$ -H, determining the  $^3J_{\text{CH}}$  coupling constant value between the ethylene proton and the carbon atom located at the  $\alpha$  position of exocyclic bond for 1-methyl-3-(4-chloro-benzyl)-5-(4-chloro-benzylidene)-imidazolidin-2,4-dione is also suggests a *Z* configuration (Silva *et al.* 2001). The molecular mechanics study using the Hyperchem and Mopac programs for 3-benzyl-5-benzylidene-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones compounds confirmed likewise that the *Z* isomer is also, from the thermodynamic point of view, the most stable (Brandão *et al.* 2000).

### 3. Experimental

Melting points were measured in a capillary tube on Buchi (or Quimis) apparatus. TLC was performed on silicagel plates Merck 60 F<sub>254</sub>. IR of 1% KBr pellets were recorded on a Bruker IFS66 spectrometer or Perkin Elmer 1310 for **2-6,17**.  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded on a Bruker AC 300 P spectrophotometer or Bruker AC 200 FT for **2-6** in DMSO- $d_6$  MS, by electronic impact 70eV, were recorded on Delsi-Nermag R 1010 C spectrometer or HP G1019A for **3-6,32,33**. The intensity of the molecular peaks is given compared to the most intense peak  $M^+$ (%). The fragmentations observed were in accordance with the structures suggested.

The published chemical data on **1** (Brandão *et al.* 2000), **8** (Le Moal *et al.* 1966), **9,12-15,18,19** (Brandão *et al.* in presse), **27** (Lima *et al.* 1992), **28** (Finkbeiner 1965), **29** (Albuquerque *et al.* 1995), **30** (Valls *et al.* 1985) and **31** (Silva *et al.* 2001) were not reported.

#### *5-(4-Fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one 2*

A mixture of 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one **1** (1.3g 10mmol), 4-fluoro-benzaldehyde (1.86g, 15mmol) and sodium acetate (2,5g) in 10mL of acetic acid was refluxed for 3h. After cooling, the precipitated product was washed with water and acetic acid. C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>FN<sub>2</sub>OS. Yield 57%. M.p. 222-224°C. R<sub>f</sub>(CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH 96:4) 0.7. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  3100, 1730, 1630, 1490, 1160, 840 cm<sup>-1</sup>. RMN<sup>1</sup>H ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 3.45 (s, 3H NCH<sub>3</sub>), 6.74 (s, CH ethylenic), 7.56 (t, 2H benzylidene, J=8,9Hz), 8.13 (dd, 2H benzylidene, J=5.7Hz); 12.37 (s, 1H NH).



**3-Benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones:** general procedure.

A solution of sodium hydroxide (0.12 g, 2.2mmol) in methanol (3mL) was added dropwise to a stirred suspension of 5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (0.47g, 2mmol) in methanol (2mL). After 10 min of contact, the benzyl halide (2.5mmol) was added and left at room temperature for 24h. After cooling, the precipitate was filtered and washed with water and diethyl ether. The benzylidene imidazolidines resulting from this reaction showed a degree of purity sufficient for the analyses and antishistosomal assays.

**3-Benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one 3**

C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>OS. Yield 50%. M.p. 220-222°C. TLC, (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH 99:1) R<sub>f</sub> 0,91. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1674, 1610, 1595, 1458, 1389, 1153, 831 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 3.3 (s, 3H NCH<sub>3</sub>), 4.57 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.83 (s, CH ethylenic), 7.31-7.49 (m, 5H benzyl), 7.25 (t, 2H benzylidene, J=8.8Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z(%): 326(M<sup>+</sup> 19.5), 293(100), 235(6.2), 148(6.5), 134(9.1).

**3-(4-Chloro-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one 4**

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>ClFN<sub>2</sub>OS. Yield 33%. M.p. 218-220°C. TLC, (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH 98:2) R<sub>f</sub> 0,91. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1684, 1594, 1453, 1373, 1152, 826 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 3.29 (s, 3H NCH<sub>3</sub>), 4.57 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.84 (s, CH ethylenic), 7.25 (t, 2H benzylidene, J=8.9Hz), 7.4 (d, 2H benzyl, J=8.4Hz), 7.5 (d, 2H benzyl, J=8.4Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z(%): 360(M<sup>+</sup> 100), 327(92.7), 292(41.8), 235(64), 148(40.5), 134(50.2).

**3-(4-Bromo-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one 5**

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>BrFN<sub>2</sub>OS. Yield 69%. M.p. 215-217°C. TLC, (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH 98:2) R<sub>f</sub> 0,76. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1689, 1612, 1595, 1453, 1374, 1158, 837 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 3.29 (s, 3H NCH<sub>3</sub>), 4.55 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.83 (s, CH ethylenic), 7.25 (t, 2H benzylidene, J=8.8Hz), 7.43 (d, 2H benzyl, J=8.3Hz), 7.54 (d, 2H benzyl, J=8.2Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z(%): 404(M<sup>+</sup> 100), 406(100), 373(65.7), 371(59), 292(74.3), 235(58.5), 148(36.3), 134(35.1).

**3-(4-Fluoro-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one 6**  
C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>OS. Yield 54%. M.p. 220-222°C. TLC, (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH 98:2) R<sub>f</sub> 0,85. IR  
cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1674, 1616, 1600, 1510, 1463, 1242, 1160, 837 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm  
DMSO d<sub>6</sub>): 3.29 (s, 3H NCH<sub>3</sub>), 4.57 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.84 (s, CH ethylenic), 7.17 (t, 2H  
benzyl, *J*=8.8Hz), 7.25 (t, 2H benzylidene, *J*=8.8Hz), 7.54 (dd, 2H benzyl), 8.33 (dd,  
2H benzylidene). MS m/z(%): 344(M<sup>+</sup> 100), 311(66.5), 235(25.1), 148(25.8),  
134(26.2).

**3-Aryl-2-cyano-ethyl acrylate: general procedure.**

An equimolar (23mMol) mixture of aldehyde and ethyl cyanoacetate dissolved in benzene (20mL) with piperidine (3 drops) was heated at 110-120°C for 4-7h. Upon cooling the precipitated product was recrystallized from ethanol.

**2-cyano-3-(4-dimethylamino-phenyl)-ethyl acrylate, 10**

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Yield, 50%. R<sub>f</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt (95:5), 0.61. F, 122-3°C. IR (cm<sup>-1</sup>): 3775, 2993, 2209, 1705, 1612, 1569, 1527, 1383. 1274, 1184, 1086, 838. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 1.28 (t, 3H CH<sub>3</sub>, *J*=6.9Hz), 3.83 (s, 6H NCH<sub>3</sub>), 4.26 (q, CH<sub>2</sub>, *J*=6.9Hz), 6.84 (d, 2H Ar, *J*=9Hz), 7.96 (d, 2H Ar, *J*=9.3Hz), 8.11 (s, CH ethylenic).

**2-cyano-3-(4-methoxy-phenyl)-ethyl acrylate, 11**

C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>. Yield, 36%. R<sub>f</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt (95:5), 0.75. F, 81-3°C. IR (cm<sup>-1</sup>): 2993, 2216, 1717, 1586, 1561, 1261, 1185, 1019, 838. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 1.29 (t, 3H CH<sub>3</sub>, *J*=7.2Hz), 3.83 (s, 3H OCH<sub>3</sub>), 4.29 (q, CH<sub>2</sub>, *J*=6.9Hz), 7.14 (d, 2H Ar, *J*=9Hz), 8.07 (d, 2H Ar, *J*=9Hz), 8.29 (s, CH ethylenic).

**5-Arylidene-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: general procedure.**

An equimolar (4.3mMol) mixture of 2-thioxoimidazolidin-4-one, **7** (0.5g,) and 3-aryl-2-cyanoethyl acrylate **10,11** dissolved in ethanol (10mL) with piperidine (250 $\mu$ L) was heated at 80-90°C for 6-8h. After cooling, the precipitated product was recrystallized from ethanol **16** or acetic acid **17**.

**5-(4-dimethylamino-benzylidene)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 16**

C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>OS. Yield 50%. M.p. 251-253°C. TLC, (n-hex.:AcOEt 60:40) R<sub>f</sub> 0,61. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  3811, 3087, 1732, 1713, 1640, 1589, 1482, 1374, 1320, 1185, 1164, 809 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 3 (s, 6H NCH<sub>3</sub>), 6.43 (s, CH ethylenic), 6.72 (d, 2H benzylidene, *J*=9Hz), 7.64 (d, 2H benzylidene, *J*=8.7Hz), 12.02 (s, 2H NH). MS m/z(%): 247(M<sup>+</sup> 100), 159(5.1), 89(9.5).

**5-(4-methoxy-benzylidene)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 17**

C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S. Yield 72%. M.p. 260-262°C. TLC, (n-hex.:AcOEt 70:30) R<sub>f</sub> 0,57. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  3140, 1715, 1640, 1590, 1510, 1475, 1365, 1255, 1170, 820 cm<sup>-1</sup>. H<sup>1</sup> NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 3.81 (s, 3H OCH<sub>3</sub>), 6.47 (s, CH ethylenic), 6.99 (d, 2H benzylidene, *J*=8.7Hz), 7.75 (d, 2H benzylidene, *J*=8.7Hz), 12.25 (s, 2H NH). MS m/z(%): 234(M<sup>+</sup> 100), 147(33.4), 132(23.2), 117(6.4), 103(7.4).

**5-Arylidene or 5-(1H-Indol-3-ylmethylene) -3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: general procedure.**

A solution of 5-substituted 2-thioxo-imidazolidin-4-one **14-19**, (0.4mMol), potassium carbonate (0.48mMol) in ethanol (2mL) was stirred at room temperature for 1h. Then 4-nitro-benzyl chloride (0.4mMol) was added and the mixture was agitated for 18-24h. Upon cooling in an ice bath, the product precipitated and was collected and washed with n-hexane, methanol and water.

**5-(4-Chloro-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 20**

$C_{17}H_{12}ClN_3O_3S$ . Yield 68%. M.p. 219-220°C. TLC, (n-hex:AcOEt 60:40)  $R_f$  0,52. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3081, 2809, 1717, 1683, 1633, 1518, 1349, 1184, 712  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 4.69 (s, 2H  $NCH_2$ ), 6.75 (s, CH ethylenic), 7.52 (d, 2H benzyl,  $J=8.4Hz$ ), 8.15 (d, 2H benzyl,  $J=8.4Hz$ ), 7.8 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 8.23 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 11.89 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 373( $M^+$  58), 294(12.3), 106(22.1), 89(100), 77(22.8).

**5-(4-Benzyloxi-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 21**

$C_{24}H_{19}N_3O_4S$ . Yield 71%. M.p. 209-211°C. TLC, (n-hex:AcOEt 50:50)  $R_f$  0,6. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3071, 2833, 1711, 1634, 1599, 1511, 1344, 1253, 1167, 734  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 4.67 (s, 2H  $NCH_2$ ), 5.19 (s, 2H  $OCH_2$ ), 6.72 (s, CH ethylenic), 7.1 (d, 2H benzyl,  $J=9Hz$ ), 7.8 (d, 2H benzyl,  $J=9Hz$ ), 8.1 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 8.21 (dd, 2H benzylidene,  $J=6.9, 2,1Hz$ ), 11.73 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 445( $M^+$  7.3), 106(12.1), 91(100), 77(21.7).

**5-(4-Dimethylamino-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 22**

$C_{19}H_{18}N_4O_3S$ . Yield 87%. M.p. 215-216°C. TLC, (n-hex:AcOEt 50:50)  $R_f$  0,75. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3067, 2807, 1695, 1586, 1530, 1372, 1345, 1167, 944, 819  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 3.02 (s, 6H  $N(CH_3)_2$ ), 4.66 (s, 2H  $NCH_2$ ), 6.67 (s, CH ethylenic), 6.76 (d, 2H benzyl,  $J=9.3Hz$ ), 7.8 (d, 2H benzyl,  $J=9Hz$ ), 7.98 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 8.23 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 11.63 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 382( $M^+$  5.4), 246(16.9), 169(15.7), 106(9.1), 89(51.6), 78(100), 63(68.4).

**5-(4-Methoxy-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 23**

$C_{18}H_{15}N_3O_4S$ . Yield 79%. M.p. 186-187°C. TLC, (n-hex:AcOEt 50:50)  $R_f$  0,48. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  2992, 2832, 1701, 1634, 1597, 1510, 1345, 1255, 1172, 889  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 3.83 (s, 3H OCH<sub>3</sub>), 4.68 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.74 (s, CH ethylenic), 7.04 (d, 2H benzyl,  $J=8.7Hz$ ), 7.81 (d, 2H benzyl,  $J=8.7Hz$ ), 8.12 (d, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 8.23 (dd, 2H benzylidene,  $J=8.7Hz$ ), 11.77 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 369( $M^+$  100), 233(15.8), 174(22.3), 146(18.8), 106(12.2), 89(37.1), 77(20.8).

**5-(5-Bromo-2-methoxy-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 24**

$C_{18}H_{14}BrN_3O_4S$ . Yield 76%. M.p. 236-237°C. TLC, (n-hex:AcOEt 50:50)  $R_f$  0,74. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3070, 2832, 1717, 1633, 1520, 1508, 1350, 1254, 1188, 1027, 807  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 3.87 (s, 3H OCH<sub>3</sub>), 4.66 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 6.98 (s, CH ethylenic), 7.06 (d, 1H benzylidene,  $J=9Hz$ ), 7.56 (dd, 1H benzylidene,  $J=8.7, 2.4Hz$ ), 7.84 (d, 2H benzyl,  $J=8.4Hz$ ), 8.21 (d, 2H benzylidene,  $J=8.4Hz$ ), 8.85 (d, 1H benzylidene,  $J=2.1Hz$ ), 12 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 447( $M^+$  20), 449(30.3), 312(7.7), 254(9), 102(14.2), 89(52.2), 78(100), 63(44.5).

**5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one 25**

$C_{19}H_{14}N_4O_3S$ . Yield 68%. M.p. 228-230°C. TLC, (n-hex:AcOEt 50:50)  $R_f$  0,85. IR  $cm^{-1}$  (KBr):  $\nu$  3393, 3061, 1697, 1621, 1512, 1346, 1232, 949, 742  $cm^{-1}$ .  $^1H$  NMR ( $\delta$  ppm DMSO  $d_6$ ): 4.73 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 7.13 (s, CH ethylenic), 7.12 (dt, 1H indolyl,  $J=7.8, 1.5Hz$ ), 7.2 (dt, 1H indolyl,  $J=7.8, 1.5Hz$ ), 7.47 (d, 1H indolyl,  $J=8.1Hz$ ), 7.83 (d, 2H benzyl,  $J=9Hz$ ), 8.08 (d, 1H indolyl,  $J=7.8Hz$ ), 8.24 (d, 2H benzyl,  $J=8.7Hz$ ), 8.37 (s, 1H indolyl), 11.88 (s, 1H NH). MS  $m/z(\%)$ : 378( $M^+$  16.8), 242(12.9), 169(30.3), 155(30.3), 136(16.1), 106(32.9), 90(39), 89(63.9), 78(100), 63(57.4).

*4-Acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-ones: general procedure.*

3-Benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-one 29-30 (0.5 mmol) and 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 31, (0.5 mmol) were dissolved in abs. ethanol (12 ml). The solution was refluxed for 2h in the presence of a small amount of piperidine as a catalyst. The precipitate obtained was filtered and washed with water. The compounds isolated were of acceptable purity and were analysed without further recrystallization.

*4-Acridin-9-ylmethylene-1-(4-chloro-benzyl)-5-thioxo-imidazolidin-2-one 32*

C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>OS. Yield 89%. M.p. 265 dec.°C. TLC, (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt 70:30) R<sub>f</sub> 0,62. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  2939, 2706, 1754, 1651, 1437, 1340, 1222, 1149, 737 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 5.08 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 7.44 (s, 4H benzyl), 7.69 (s, CH ethylenic), 7.65 (dt, 2H acridinyl, *J*=7.2Hz), 7.88 (dt, 2H acridinyl, *J*=7.5Hz), 8.05 (d, 2H acridinyl, *J*=8.7Hz), 8.21 (d, 2H acridinyl, *J*=8.7Hz), 10.84 (s, 1H NH). MS m/z(%): 429(M<sup>+</sup> 47.4), 428(100), 397(19.1), 304(58.4), 229(22.8), 218(21.3), 125(23.9).

*4-Acridin-9-ylmethylene-1-(4-nitro-benzyl)-5-thioxo-imidazolidin-2-one 33*

C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S. Yield 75%. M.p. 286-288°C. TLC, (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt 70:30) R<sub>f</sub> 0,52. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  2938, 2711, 1758, 1656, 1605, 1521, 1342, 1225, 1152, 757 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm DMSO d<sub>6</sub>): 5.23 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 7.67 (d, 2H benzyl, *J*=9Hz), 8.24 (d, 2H benzyl, *J*=9Hz), 7.71 (s, CH ethylenic), 7.66 (dt, 2H acridinyl), 7.88 (dt, 2H acridinyl, *J*=7.5, 1,2Hz), 8.08 (d, 2H acridinyl, *J*=8.4Hz), 8.21 (d, 2H acridinyl, *J*=8.1Hz), 10.9 (s, 1H NH). MS m/z(%): 440(M<sup>+</sup> 1.3), 353(9.25), 301(27.8), 229(100), 203(20.6), 192(16.9).

#### 4. Biological activity

The BH (BH - Belo Horizonte, MG, Brazil) strain of *Schistosoma mansoni* is routinely maintained at LIKA (Keizo Asami Immunopathology Laboratory) by standard passage through *Biomphalaria glabrata* snails provided by the Department of Tropical Medicine (University Federal of Pernambuco). Adult schistosomes, obtained by perfusion using dissecting needles, were recovered from the mesenteric and portal veins of untreated Swiss albino mice, weighing 18-22g, infected 8-12 weeks earlier (Duvall & Dewitt 1967). There are models available which can be used to study the susceptibility of *S. mansoni* adult worms to drugs *in vitro* (Mercer & Chapell 1985). Both males and females were examined in the experiments. The worms were maintained in a RPMI-1640 medium (Sigma) buffered to pH 7.5, supplemented with HEPES (20mM), 10% foetal bovine serum (Cultilab), penicillin (100U/mL), and streptomycin (100mg/mL). Incubation was carried out at 37°C in a humid atmosphere containing 5% CO<sub>2</sub>. The effect of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones compounds **3-6** on the viability of the *S. mansoni* was examined by incorporating the drugs into the medium employed for parasite culture. The drugs, at appropriate concentrations, were dissolved in DMSO (1.5% v/v). This solvent concentration did not affect the worms' mortality, pairing, or motility. In all experiments two adult worms, unpaired were placed in multi-well plastic tissue culture dishes containing 3mL of medium. A minimum of 30 worms was used in each treatment and control group. The worms viability was observed using an inverted microscope (60X) for 15 days after addition of the drugs. The worms already treated with DMSO were included as a control in every experiment. Praziquantel was chosen as the standard control. Parasites were considered dead when no movement could

be detected over a 3-min period. Strict aseptic techniques were used throughout the experiments.

#### **4.1 Results and discussion**

The viability *in vitro* of adult worms was observed during incubation with 120 or 180 $\mu$ g/mL of thioxoimidazolidines derivatives **3-6**. Fig. 2 shows that up to the 7<sup>th</sup> day no mortality was observed in the worms, either male or female, at 120 $\mu$ g/mL of **3**. On the 11<sup>th</sup> day of the assay all the worms, in the case of both doses, had shown sensitivity to this compound. After 15 days a maximum response had been obtained for the female worms. A relationship was also observed between time- and dose-dependent response.

The compound *para*-chloro-benzyl **4** was the most active of the series (Fig. 3). From the 3<sup>rd</sup> day of contact with this compound onwards the female worms, in the dose of 180 $\mu$ g/mL, showed sensitivity, and by the end of the period of the assay no parasites had survived. The maximum response was reached on the 7<sup>th</sup> day with the female worms incubated with 180 $\mu$ g/mL. This compound also showed a relation between time- and dose-dependent response. The results obtained with the *para*-bromine-benzyl compound **5** are atypical in terms of the dose-response relation. However, by the end of 15<sup>th</sup> day, the females had proved to be more sensitive than the males, in the case of both doses. With the compound **6** where the fluorine atom is present in the *para* position of two aromatic rings from the 8<sup>th</sup> day onwards the male worms showed sensitivity to the dose of 180 $\mu$ g/mL, and the female worms to both doses. With this compound the maximum response was not achieved, but the females showed greater sensitivity than the males. The action of praziquantel, 2-cyclohexylcarbonyl-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4*H*-pyrazino[2,1-*a*]-isoquinolin-4-one, at



a dose of 60µg/mL showed that females and males began to show signs of sensitivity from the first day and by the end of 15<sup>th</sup> day, no parasite survived.

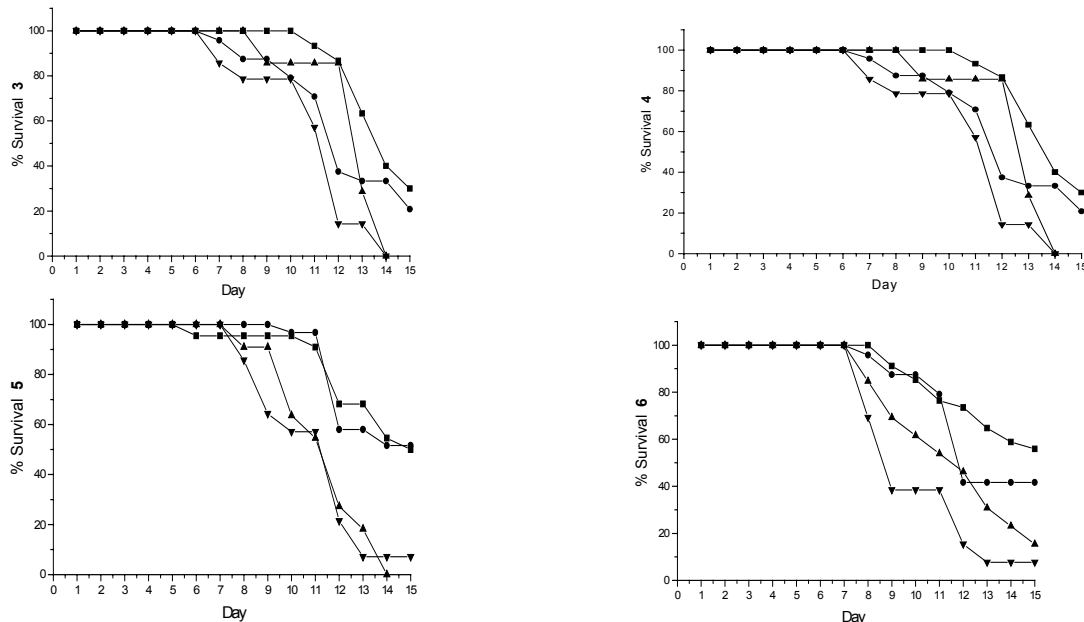


Fig. 2- Survival of schistosomes maintained *in vitro* for 15 days in the presence of thioxoimidazolidine compounds 3-6 at 120 and 180µg/mL. ■ Male 120 µg/mL, ● male 180 µg/mL, ▲ female 120 µg/m, ▼ female 180 µg/m

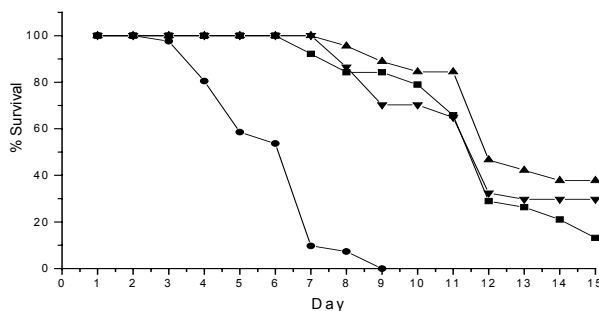


Fig. 3- Survival of male and female schistosomes maintained *in vitro* for 15 days in the presence of thioxoimidazolidine compounds 3-6 at 180µg/mL. Compounds: ■ 3, ● 4, ▲ 5, ▼ 6

The motility of the worms was considerably reduced after 24 hours of contact with the drugs. By way of microscopic observation, alterations in the worms' tegument were observed. With 3, at a dose of 120µg/mL, the male worms showed

bending and shortening of the body, suggesting a contraction of the longitudinal muscles. With the 4 compound, the females showed many bubbles when the 180 $\mu$ g/mL dose was used. 6 caused degeneration in the internal structure of the worms, leading to loss of transparency. It should be pointed out that the surviving worms, at the end of the period of assay, showed irreparable alterations to the tegument and discrete movements. Control groups were not affected for up to 15 days of observation and all these worms remained paired throughout the observation period and exhibited vigorous activity.

The results presented demonstrate that 4, at a dose of 180 $\mu$ g/mL, is the most active of the series, achieving maximum response by the 9<sup>th</sup> day of contact with the worms.

Except in the case of 5, the effectiveness of the derivatives studied was observed to be dose-dependent. At the end of the experiment the worms in the control groups remained viable. A great difference in the biological response was observed between the four composites of the series due to the different substitutes in the benzyl ring. The impossibility of determining a dose-response relation in the case of 5 is, perhaps, due to the presence of the voluminous bromine atom. The mechanism through which the antiparasitic effect is mediated still remains unknown. The potency of these derivatives might be taken as a basis for the development of new antischistosomal compounds.

### **Acknowledgments**

The authors thank the CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) and the CAPES/COFECUB (Fundação Coordenação de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior / Comité Français d'Évaluation de la Coopération Universitaire avec le Brésil) for their support.

## References

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. (1999) Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones. *II Farmaco* 54: 77-82.

Albuquerque J.F.C., Albuquerque Ó A., Azevedo C.C., Thomasson F., Galdino S.L., Chantegrel J., Catanho M.T.J., Pitta I.R., Luu-Duc C. (1995) Substituted thiazolidinediones and thio-imidazolidinones: synthesis, structural study and pharmacological activity. *Pharmazie* 50: 387-389.

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. (2002) Synthesis and structural study of substituted thioxo thiazolidinones and thioxo imidazolidinones. *Boll. Chim. Farm.* 141: 428-433.

Brandão S.S.F., Guarda V.L., Pitta I.R., Chantegrel J., Perrissin M., Souza V.M., Galdino S. L., Thomasson F., Lima M.C.A., Leite L.F.C.C., Luu-Duc C. (2000) Synthèse et étude structurale des arylidèneimidazolidines et arylidènebenzothiazines. *Boll. Chim. Farm.* 139: 54-58.

Brandao S.S.F., Andrade A.M.C., Pereira D.T.M., Barbosa Filho J.M., Lima M.C.A., Galdino S.L., Pitta I.R., Barbe J. (in presse). A novel way of synthesis of 1,3,5-trisubstituted-2-thioxoimidazolidinones. *Org. Prep. Proced. Int.*

De Simone C.A., Pereira M.A., Luu-Duc C., Pitta I.R., Galdino S.L., Menezes E.H.C., Zukerman-Schpector J. (1996) 3-Benzyl-5-(2-fluorobenzylidene)-imidazolidine-2,4-dione. *Acta Cryst.*, C52: 2771-2772.

Duvall R.H., Dewitt W.B. (1967) An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 16: 483-486.

Finkbeiner H. (1965) The carboxylation of hydantoins. J. Org. Chem. 30: 3414- 3419.

Krapcho J., Turk C.F. (1973) 4-[3-(Dimethylamino)propyl]-3,4-dihydro-2-(hydroxyethyl)-3-phenyl-2H-1,4-benzothiazine and related compounds. A new class of antiinflammatory agents. J. Med. Chem. 16: 776-779.

Le Moal H., Carrie R., Foucaud A., Bargain M., Sevellec C. (1966) Recherches sur la structures et les propriétés physicochimiques de composés à liaison éthyléniques activées. I-Synthèse et structure des esters  $\alpha$ -cyano acryliques  $\beta,\beta$  disubstitués. Bull. Soc. Chim. France 1033-1040.

Lima M.C.A., Costa D.L.B., Goes A.J.S., Galdino S.L., Pitta I.R., Luu-Duc C. (1992) Synthèse et activité antimicrobienne de dérivés chlorobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées. Pharmazie 47: 182-184.

Mercer J.G., Chapell L.M. (1985) *Schistosoma mansoni*: effect of maintenance in vitro on the physiology and biochemistry of adult worms. Parasitology 90: 339-349.

Mosher M.D., Natale N.R. (1995) The preparation of intercalating isoxazoles via a nitrile oxide cycloaddition. J. Heterocycl. Chem. 32: 779-781.

Robinson C.H., Bueding E., Fisher J. (1970) Relationship between structure, conformation, and antischistosomal activity of nitroheterocyclic compounds. Mol. Pharmacol. 6: 604-616.

Romley G.L., Greenleaf A.L., Kenyon G.L. (1971) On the specificity of creatinine kinase. New glycosiamines and glycosiamine analogs related to creatine. J. Amer. Chem. Soc. 20: 5542-5551.

T.G. Silva, Barbosa F.S.V., Brandão S.S.F., Lima M.C.A., Leite L.F.C.C.,Galdino S.L., Pitta I.R., Barbe J. (2001) Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines. Heterocyclic Communications 7: 523-528.

Tsuge O., Nishinohara M., Tashiro M. (1963) Compounds related to acridine I-Condensation of acridine derivatives having active methyl group and aromatic nitroso compounds. Bull. Chem. Soc. Japan 44: 1477-1485.

Valls N., Segarra V.M., Alcalde E., Marin A., Elguero J. (1985) Synthesis, spectroscopy and tautomeric study of thiazoles substituted in position 2 and 4 by hidroxy, marcapto and amino groups. J. Prakt. Chem. 327: 251-260.

Waruiru R.M. (1992) Autoradiographic quantification of the efficacy of niridazole in mice infected with <sup>75</sup>Se-labelled cercariae of *Schistosoma mansoni*. Veterinary Parasitology 43: 75-83.

## ***CAPÍTULO 3***

---

## Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidène thiazolidinediones

R.H. Mourão<sup>a</sup>, T.G. Silva<sup>a</sup>, A.L.M. Soares<sup>a</sup>, E.S.Vieira<sup>a</sup>, J.N. Santos<sup>a</sup>, M.C.A. Lima<sup>a</sup>, V.L.M. Lima<sup>a</sup>, S.L. Galdino<sup>a</sup>, J. Barbe<sup>b</sup> and I.R. Pitta<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas  
50.670-901 Recife, Brasil

<sup>b</sup> GERCTOP – UMR CNRS 6009, Université de la Méditerranée  
Faculté de Pharmacie, 13385 Marseille cedex 5, France.

**Abstract :** Novel compounds acridinylidene thiazolidinedione and benzylidene thiazolidinedione were synthesised by nucleophilic addition on cyanoacrylates. Some benzylidene thiazolidinediones were evaluated for their insulin sensitiser in hyperglycemic mice induit by alloxan.

### Introduction

The thiazolidinadionas (TZDs) or glitazonas constitute a new group of oral hipoglicemiantes, whose mechanism of main action is the increase of the sensibility the insulin [1-2]. Studies have been telling the effect of TZDs in the metabolism of lipids, in the cellular differentiation and in some factors of cardiovascular risk [3-4]. The first of them to be described her it was the ciclitazone, which demonstrated a decrease of the glicemia in animal models, however with few clinical effects.

In 1997 it was introduced at the market the troglitazone, being removed in March of 2000 by causing hepatic toxicity. Since 1999 the rosiglitazone and pioglitazone are available in Europe as drugs of second line, restricted the combined therapy; in the United States she have been allowing your use as agents of first line in monoterapie or in combination with other drugs [5]. All the TZDs present the ring heterocyclic of the thiazolidine-2-4-dione, in that she have been accomplishing chemical modifications.

Today it is known that molecular objective of TZDs a denominated nuclear receiver is associated PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator- Activated Receptor gamma) which

controls several genes involved in the adipocytes differentiation, metabolism of acids grass and in the regulation of the insulin [6].

This work describes the synthesis and the structural characterization of several derived of the series 5-benzilidene-3-(4-metilbenzil)-thiazolidine-2,4-diones substituted in the aromatic ring of the radical benzilidene and 3-benzyl-5-acridinylidene-thiazolidine-2,4-diones presenting different constituents in the ring benzilic. Some benzylidene thiazolidinediones were evaluated for their insulin sensitiser in hyperglycemic mice induit by alloxan.

## Chemistry

5-Benzylidene 3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-diones, 3 were prepared by nucleophilic addition of 3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione 2, on selected aryl-substituted ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylates [7] according to Daboun *et al.* [8]. Synthetic pathways are portrayed in fig. 1. Thiazolidine-2,4-dione, 1 was *N*-(3)-alkylated in the presence of potassium hydroxide which leads to the thiazolidine potassium salt capable to react with benzyl or phenacyl halides in hot alcoholic medium [9]. 3-benzyl or phenacyl-thiazolidine-2,4-diones, 2, 7 were obtained in this way.

The acridinylidene thiazolidinedione derivatives 8a-d, were synthesized by nucleophilic addition of substituted thiazolidinediones, 7, on 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 6. Indeed, direct condensation of 9-acridinaldehyde, 5, with the substituted thiazolidinediones 7, did not led to the expected 3-benzyl-5-acridinylidene-thiazolidin-2,4-diones, 8a-d. 9-Methyl-acridine, 4, was prepared from diphenylamine with zinc dichloride in acetic acid medium according to Tsuge *et al.* [10]. Subsequently, oxidation of 4 with pyridinium chlorochromate according to Mosher *et al.* [11] gave the 9-acridinaldehyde, 5.

The condensation with ethyl cyanoacetate in the presence of piperidine in hot anh. benzene leads to the 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine 6 compound. Synthetic pathways are portrayed in fig. 2.

Benzylidene thiazolidinediones were isolated in a single isomer form. X-ray crystallographic studies and  $^{13}\text{C}$  NMR have demonstrated the preferred *Z* configuration for 5-arylidene-thiazolidinones [12]. In contrast, acridinylidene thiazolidinedione derivatives 8a-d, were isolated as isomeric mixtures. Isomers were readily identified by  $^1\text{H}$  NMR. Actually, the ethylene proton is more deshielded in isomer *Z* than it is in isomer *E*, owing to the cis-position of exocyclic carbonyl function. The chemical displacements in the  $^1\text{H}$  NMR,



indicated in the experimental part, belong to the Z isomer, main configuration formed in the reaction.. Finally, MS data fully agree with the structure proposed.

## Results and Discussion

The effect hipoglicemic and hipolipidemic, of the oral administration of the similar new tiazolidinics 3a-f, in diabetic mice induced by aloxane, they are summarized in the table 1. All the tested compositions of the series, 5-benzilidene-3-(4-metilbenzil)-tiazolidine-2,4-diones, they presented in mice with diabetes induced by aloxane an activity hipoglicemic it doses dependent, particularly for 15 days of treatment. The reduction of the levels of glucose plasmatic (PG) demonstrated by those compositions they were progressive during the treatment, mainly with the dose of 30mg/kg/dia.

After 15 days of oral treatment with the dose of 30mg/kg/dia, the composition 3c demonstrated a better biological activity in relation to the other compositions in both analyzed parameters GP (50,8%) and (TG) (58,8%). however, that composed, he/she came more toxicant, mortality rate during the treatment with both doses of 50%. The other compositions, although they have presented a smaller reduction in the levels of GP and TG, the mortality rate with the dose of 30mg/kg/dia was null or very low, tables 1 and 2. The percentile of mortality observed with the dose of 10mg/gk/dia in treated diabetic mice with 3a,b,d-f it was also low or null. The mortality observed with the dose of 10mg/kg/dia with the similar tiazolidinics the hiperglicemie it can be attributed caused by the aloxane, once the mortality rate of the treated diabetic animals with the vehicle (CMC 0,5%) they were not statistic different from these. The presence of two groups metoxi in the positions 2 and 4 of the ring benzilidene **3d** reduces the activities hipoglicemic (34,6%) and hipolipidemic (46,5%) however, the composition doesn't present toxicity or be death in the concentration (30mg/kg/dia) as observed with the composition **3c** substituted for just a radical metoxi. The change of position of the atom of chlorine in the ring phenyl causes an activity significant hipoglicemic ( $P < 0,05$ ) among those composed in the dose of 30mg/kg/dia (3a 4-chlorine GP =22,8%; TG = 48%) (3b 2-chlorine GP = 43,3%; TG = 26%). However, the activity hipolipidemic, was better with the composition **3a** presenting the atom of chlorine in the position 4 of the ring. The found results demonstrate an important relationship between the substituents of the aromatic ring and the biological activity.

Rosiglitazone, drugs pattern of the rehearsal, in the dose of 10mg/kg/dia it presented an activity hipoglicemic and hipolipidemic respectively after 15 days of treatment of 36,7% and 43,3%.

The effect reducer of the glicemie of the tiazolidinediones is due your capacity to increase the action of the insulin [13,14], of improving the outlying sensibility the insulin, especially in the muscle and to reduce the hepatic production of glucose, above all the gliconeogenese [1,15].

Studies of molecular biology have been revealing that the derived antidiabetics of the tiazolidine-2,4-dione calls the isoforme PPAR (Peroxisome Proliferator - Activated Receptor), the principal regulator of the adipocytes differentiation [13].

The results obtained in that study they revealed a potent and significant effect hipoglicemic and hipolipidemic of the new ones derived of the series 5-benzilidene-3-(4-metilbenzil)-tiazolidine-2,4-diones. The results are important for investigation of the effect agonist of the series 5-benzilidene-3-(4-metilbenzil)-tiazolidina-2,4-dionas under PPAR and PPARa, as well as to analyse other biochemical parameters and to test new hiperglicemie models in animals.

## **Conclusion**

The obtained results revealed a potent and significant effect hipoglicemic and hipolipidemic of those derived of the series 5-benzilidene-3-(4-methyl-benzil)-tiazolidine-2,4-diones. The results show the importance of the investigation of the effect agonist of these flowed under PPAR and PPARa, as well as the analysis of other biochemical parameters and the use of new hiperglicemic models in animals.

## **Experimental**

### **Animals and treatment**

Albino " mice were used Swiss " among 8 to 9 weeks of age, weight varying from 22 to 30g of both sexes. The animals were coming of Animalerie of the Department of Antibiotics of the Federal University of Pernambuco (UFPE), maintained in small colony in the Laboratory of animal experimentation to the temperature  $25 \pm 30C$ , with cycles clearing / darkness of 12 in 12 hours, receiving ration pattern (purine) and water " ad libitum ". The experimental protocol was approved by the local Committee of Animal Ethics. (CCB -UFPE).

All the new ones derived of the series 5-benzilidene-3-(4-methyl-benzil)-tiazolidine-2,4-diones, **3a-f**, in the concentration of 10 and 30mg/kg/dia, they were suspended in a solution of carboximetilcelulose 0,5% (CMC) and administered orally for 15 days in groups of mice " Swiss " hiperglicemics (N = 6, being three males and three females) induced by

aloxane monohydrate (80mg/kg i.v.). Samples of blood were collected of the fed animals, always in the morning between 8:00 and 10:00, in the retro-orbital plexo under light anaesthesia 1 hour after the administration of the compositions in different days of treatment (1, 3, 10 and 15 days). The glucose levels (PG) and triglyceride (TG) plasmatic were analysed using kits commercial (LABTEST - Brazil), based on enzymatic methods [16]. Groups of animals controls diabetics and normoglycemics were treated with the solution I transmit (CMC 0,5% 10mL/kg). the rosiglitazone 10mg/kg/dia was used as pattern. The effect on the glucose rate and triglyceride of the new ones composed, controls and rosiglitazone was calculated in reduction percentage, in agreement with the formula:  $[(TT/OT)/(TC/OC)] \times 100$ , where TT = test agreement of the day; OT = test agreement in the day zero; TC = test control of the day; OC = it controls of the day zero [17]. The animals treated diabetics with CMC 0,5% were used above as controls in the mentioned equation

### Synthesis

Melting points were measured in capillary tube on Buchi (or Quimis) apparatus. Thin Layer Chromatography was performed on silicagel plates Merck 60F<sub>254</sub>. Infrared spectra of 1% KBr pellets were recorded on a Bruker IFS66 spectrometer (or Perkin Elmer 1310 spectrometer for 3a-d). <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded on a Bruker AC 300 P spectrophotometer in DMSO-d<sub>6</sub> as solvent, with tetramethylsilane as internal standard. Mass spectra were recorded on Delsi-Nermag R 1010 C spectrometer (or HP 5897 for 8a-d). The published chemical data on 2,4,5,6 [18], have not been reported.

#### ***5-Benzylidene-3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-diones, 3a-h: general procedure.***

A mixture of 3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione, 2, (0.59 g, 2.5 mmol) and ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylate (2.7 mmol) is refluxed for 2-6 h in absolute ethanol (20 ml) added with piperidine (0.25 ml). After cooling, precipitates are purified by column chromatography or recrystallized in suitable solvents.

#### ***5-(4-Chloro-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3a.***

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>2</sub>S, yield: 89%. Mp: 184°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.8. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1730, 1670, 1600, 1374, 1335, 1138, 820. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>), 4.79 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.97 (s, CH), 7.17 (m, 4H benzyl), 7.63 (m, 4H benzylidene). Ms, m/z (%): 343(M<sup>+</sup> 100), 344(22.2), 345(24.6), 105(96.9), 103(6).

**5-(2-Chloro-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3b.**

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>2</sub>S, yield: 30%. Mp: 116°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.74. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1738, 1682, 1598, 1370, 1310, 755. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.28 (s, CH<sub>3</sub>), 4.8 (s, NCH<sub>2</sub>), 8.06 (s, CH), 7.16 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.23 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.51-7.54 (m, 2H benzylidene), 7.59-7.62 (m, 1H benzylidene), 7.64-7.67 (m, 1H benzylidene). Ms, m/z (%): 343(M<sup>+</sup> 45.1), 344(5.7), 345(8), 308(52.8), 280(5.2), 105(100), 94(7.8).

**5-(4-Methoxy-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3c.**

C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>S, yield : 77%. Mp: 135°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.83. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1738, 1672, 1588, 1503, 1365, 1260, 820. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.28 (s, CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, OCH<sub>3</sub>), 4.79 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.93 (s, CH), 7.16 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz), 7.21 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.12 (d, 2H benzylidene, J = 9Hz), 7.61 (d, 2H benzylidene, J = 9Hz). Ms, m/z (%): 339(M<sup>+</sup> 58.3), 340(15), 341(4), 105(100).

**5-(2,4-Dimethoxy-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3d.**

C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S, yield: 77%. Mp: 161°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.76. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1720, 1675, 1575, 1367, 1267, 1147, 830. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>), 3.85 (s, OCH<sub>3</sub>), 3.9 (s, OCH<sub>3</sub>), 4.77 (s, NCH<sub>2</sub>), 8.06 (s, CH), 6.7 (s, 1H benzylidene), 6.71 (d, 1H benzylidene, J = 8.4Hz), 7.39 (d, 1H benzylidene, J = 8.4Hz), 7.15 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.19 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz). Ms, m/z (%): 369(M<sup>+</sup> 100), 370(12.7), 371(14.1), 264(29.2), 105(14.5).

**5-(4-Dimethyl-amino-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3e.**

C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, yield: 47%. Mp: 180°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.75. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1726, 1673, 1593, 1380, 811. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>), 3.02 (s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.77 (s, NCH<sub>2</sub>), 8.06 (s, CH), 6.82 (d, 2H benzylidene, J = 9Hz), 7.46 (d, 2H benzylidene, J = 9Hz), 7.14 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.19 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz). Ms, m/z (%): 352(M<sup>+</sup> 41.7), 353(2.1), 177(46.6), 176(34.6), 161(12), 105(100), 89(23.3), 77(37.2).

**5-(4-Benzoyloxi-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3f.**

C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S, yield: 58%. Mp: 157°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.86. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1736, 1677, 1593, 1263, 826. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.28 (s, CH<sub>3</sub>), 4.79 (s,

NCH<sub>2</sub>), 5.21 (s, OCH<sub>2</sub>), 7.93 (s, CH), 7.15-7.21 (m, 4H benzyl, 2H benzylidene), 7.35-7.46 (m, 5H benzyloxi), 7.61 (d, 2H benzylidene, J = 9Hz). Ms, m/z (%): 415(M<sup>+</sup> 17.3), 416(2.5), 91(100), 77(6.9).

**5-(4-Fluoro-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl) thiazolidine-2,4-dione, 3g.**

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>FNO<sub>2</sub>S, yield: 87%. Mp: 124°C. TLC benzene : ethyl acetate (95:5) R<sub>f</sub>: 0.81. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1736, 1685, 1613, 1376, 1291, 680. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>), 4.8 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.96 (s, CH), 7.15 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.21 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz), 7.33-7.38 (m, 1H benzylidene), 7.45-7.5 (m, 2H benzylidene), 7.56-7.64 (m, 1H benzylidene). Ms, m/z (%): 327(M<sup>+</sup> 100), 328(16.4), 329(6.6), 105(91.8), 91(4.2).

**5-(5-Bromo-2-methoxy-benzylidene)-3-(4-methyl-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione, 3h.**

C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>BrNO<sub>3</sub>S, yield: 62%. Mp: 147°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (70:30) R<sub>f</sub>: 0.78. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1733, 1684, 1604, 1339, 1283, 808. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 2.27 (s, CH<sub>3</sub>), 3.89 (s, OCH<sub>3</sub>), 4.78 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.96 (s, CH), 7.15 (d, 2H benzyl, J = 8.1Hz), 7.2 (d, 2H benzyl, J = 8.4Hz), 7.14 (d, 1H benzylidene, J = 9.3Hz), 7.53 (d, 1H benzylidene, J = 2.4Hz), 7.65 (dd 1H benzylidene, J = 9, 2.4Hz). Ms, m/z (%): 417(M<sup>+</sup> 60), 386(7.1), 227(13), 199(11), 105(100), 91(31), 77(23.5).

*3-Benzyl or phenacyl-5-acridinylidene-thiazolidine-2,4-diones, 8a-d* : general procedure.

Benzyl or phenacyl thiazolidine, 7 (0.9 mmol) and 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, 6, (0.9 mmol) are dissolved in absolute ethanol (8 ml). The solution is refluxed for 4 h in the presence of small amount of piperidine as catalyst. The precipitate obtained is filtered and washed with water. Compounds isolated are of acceptable purity and were analysed without further recrystallization.

**5-Acridin-9-ylmethylene-3-benzyl-thiazolidine-2,4-dione, 8a**

C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, yield: 88%. Mp: 150-152°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (7:3) R<sub>f</sub>: 0.41. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1750, 1694, 1623, 1381, 1339, 1149, 761. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 4.89 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.41-7.4 (m, 4H benzyl), 7.39-7.34 (m, 1H benzyl), 7.72-7.66 (m, 2H acridin), 7.94-7.89 (2H acridin), 8.14 (d, 2H acridin, J = 8.4Hz), 8.24 (d, 2H acridin, J = 8.4Hz), 8.79 (s, 1H, CH). Ms, m/z (%): 396(M<sup>+</sup> 4.2), 397(1.9), 305(8), 235(100), 232(26.6), 231(20.4), 91(10.1).

**5-Acridin-9-ylmethylene-3-(4-fluoro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione, 8b**

C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S, yield: 56%. Mp: 200-202°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (7:3) R<sub>f</sub>: 0.58. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1749, 1693, 1604, 1382, 1337, 1152, 763. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 4.88 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.23 (t, 2H benzyl, J = 9Hz), 7.45-7.5 (m, 2H benzyl), 7.71-7.66 (m, 2H acridin), 7.94-7.89 (m, 2H acridin), 8.14 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.24 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.78 (s, 1H, CH). Ms, m/z (%): 414(M<sup>+</sup> 12.9), 415(4), 305(34.3), 261(19.9), 235(100), 234(44.1), 231(68.8), 191(16.9), 109(32.6).

**5-Acridin-9-ylmetilene-3[2-(4-nitro-phenyl)-2-oxo-ethyl]-thiazolidine-2,4-dione, 8c**

C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S yield: 70%. Mp: 229-230°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (7:3) R<sub>f</sub>: 0.3. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1747, 1699, 1629, 1603, 1530, 1346, 1222, 855, 761. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 5.49 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.77-7.71 (m, 2H acridin), 7.97-7.92 (m, 2H acridin), 8.13 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.26 (d, 2H acridin, J = 9Hz), 8.88 (s, 1H, CH). Ms, m/z (%): 469(M<sup>+</sup> 50), 470(16.2), 235(93.1), 234(30.8), 230(79.2), 150(100), 120(35.5), 104(40).

**5-Acridin-9-ylmetilene-3[2-(4-fluoro-phenyl)-2-oxo-ethyl]-thiazolidine-2,4-dione, 8d**

C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S, yield: 48%. Mp: 213-214°C. TLC *n*-hexane : ethyl acetate (7:3) R<sub>f</sub>: 0.41. IR cm<sup>-1</sup> (KBr):  $\nu$  1754, 1701, 1596, 1411, 1381, 1229, 1154, 759. <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, DMSO d<sub>6</sub>): 5.39 (s, NCH<sub>2</sub>), 7.46 (t, 2H benzyl, J = 8.7Hz), 7.76-7.71 (m, 2H acridin), 7.97-7.91 (m, 2H acridin), 8.12 (d, 2H acridin, J = 8.7Hz), 8.26 (d, 2H acridin, J = 8.4Hz), 8.26-8.21 (m, 2H benzyl), 8.87 (s, 1H, CH). Ms, m/z (%): 442(M<sup>+</sup> 20.2), 443(5.8), 235(31.5), 234(14.1), 230(40.5), 191(9.5), 123(100), 113(12.2).

**Acknowledgments**

The CAPES/COFECUB (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior/Comité Français d'Evaluation et de Coopération Universitaire avec le Brésil) and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) are gratefully acknowledged for their support to the join research programme.

**References and Notes**

1. Saltiel, A.R.; Olefsky, J.M., *Diabetes* 1996, **45**, 1661.
2. Jha, R.J. *Cin. Exp. Hypertens* 1999, **21**, 157.

3. Law, R.E.; Meehan, W.P.; Graf, K.; Wuthric, D.A.; Coats, W. *J. Clin. Invest.* **1996**, *98*, 1897.
4. Collions, AR.; Meehan, W.P.; Kintscher, U.; Jackson, S.; Wakino, S., Noh, G. et al., *Arterioscler thromb Vasc Biol.* **2001**, *21*, 365.
5. Peters A L. *Am. J. Monag. Care.* **2001**, *7*, 587.
6. Li, AC.; Brown, K.K.; Silvestre, M.J.; Wilson, T.M.; Palinski, W.; Glass, C.K. *J. Clin. Invest.* **2000**, *106*, 523.
7. Phillips W.M.; Currie D.J., *Can. J. Chem.*, **1969**, *47*, 3137.
8. Daboun, H.A.F.; Abdou, S.E.; Hussein M.M.; Enalgdi M.H. *Synthesis* **1982**, 502.
9. Shvaika, O.P.; Korotkikh, N.I.; Chervinskii, A.Y.; Artemovl, N. *Zn. Org. Khim.* **1983**, *39*, 1533.
10. O. Tsuge O.; Nishinohara M.; Tashiro M. *Bull. Chem. Soc. Japan* **1963**, *36*, 1477.
11. M.D. Mosherm.D.; Natale N.R. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, *32*, 779.
12. V.L. de M.Guarda V.L.M.; Pereira M.A.; De Simone C.A.; Albuquerque J.C.; Galdino S.L.; Chantegrel J.; Perrissin M.; Beney C.; Thomasson F.; Pitta I.R.; Luu-Duc C. *Sulfur Letters* **2003**, *26*, 17.
13. Lehmann, J.M.; Moore, L.B.; Smith-Oliver, T.A.; Wilkison, W.O; Wilson, T.M.; Kliewer, S.A. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12953.
14. Peters A L. *Am. J. Monag. Care.* **2001**, *7*, 587.
15. Ciaraldi, T.P.; Gilmore, A.; Olefsky, J.M.; Goldberg, M.; Heidenreich, K.A. *Metabolism* **1990**, *39*, 1056.
16. Braham, D.; Trinder, P. *Analyst* **1972**, *97*, 142.
17. Gurram R. M., et al., *Bioorganic & medicinal Chemistry* (2002). Synthesis and Biological Activity of Novel Pyrimidinone Containing thiazolidinedione Derivatives.. 10: 2671-2680
18. Silva, T.G.; Barbosa, F.S.V.; Brandão, S.S.F.; Lima, M.C.A.; Galdino, S.L.; Pitta, I.R.; Barbe, J. *Heterocyclic Communications* **2001**, *7*, 523.

Table 1 - Effect of the oral administration for 15 days in the levels and glucose and triglyceride of the new ones derived of the series 5-benzylidene-3-(4-metilbenzil)-tiazolidine-2,4-diones (doses of 10 and 30mg/kg/dia) and rosiglitazone (10mg/kg/dia) in mice hiperglicemics induced by aloxane.

Compound	Dose (mg/kg/day)	% of reduction of GP in different days of treatment				% of TG	
		1st day (1h)	3rd day (1h)	10th day (1h)	15th day (1h)	15th day	
<b>3a</b>	10	4,1	11,7	17,3	18,7	21,8	
	30	1,5	7	18,5	22,8	48	
<b>3b</b>	10	0,5	10	10,3	19,2	14,8	
	30	8,7	12,5	24,5	43,3	26,1	
<b>3c</b>	10	3,8	0,93	24,3	20,6	37,6	
	30	16,5	21,3	28,6	50,8	58,8	
<b>3d</b>	10	NE	NE	17	21,8	39,7	
	30	9,1	16,6	30,2	34,6	46,5	
<b>3e</b>	10	3,4	NE	23,2	14,9	7,8	
	30	10,4	12,4	23,4	40,8	44,1	
<b>3f</b>	10	NE	6,7	11,4	9,3	21,8	
	30	8,3	NE	14,3	20,2	32,9	
Rosiglitazone	10	22,6	24,5	22,5	36,7	43,3	

The values represent the averages  $\pm$  S.E. for groups of 6 animals each, being 3 males and 3 females.

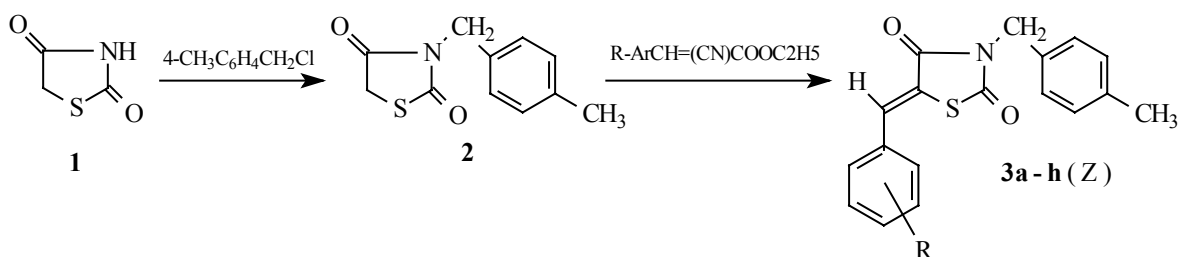
PG = glucose plasmatic; TG = TRIGLICERIDE PLASMATIC; NE = he/she doesn't have effect; 1:00. = one hour after the administration of the composition. Reduction percentage was calculated in agreement with the formula:  $1 - [(TT/OT)/(TC/OC)] \times 100$ , where: TT = agreement of the day; OT = agreement of the day zero; TC = test control of the day; OC = it controls of the day zero. Group control animals with diabetes induced by aloxane and agreements with vehicle (CMC 0,5%).



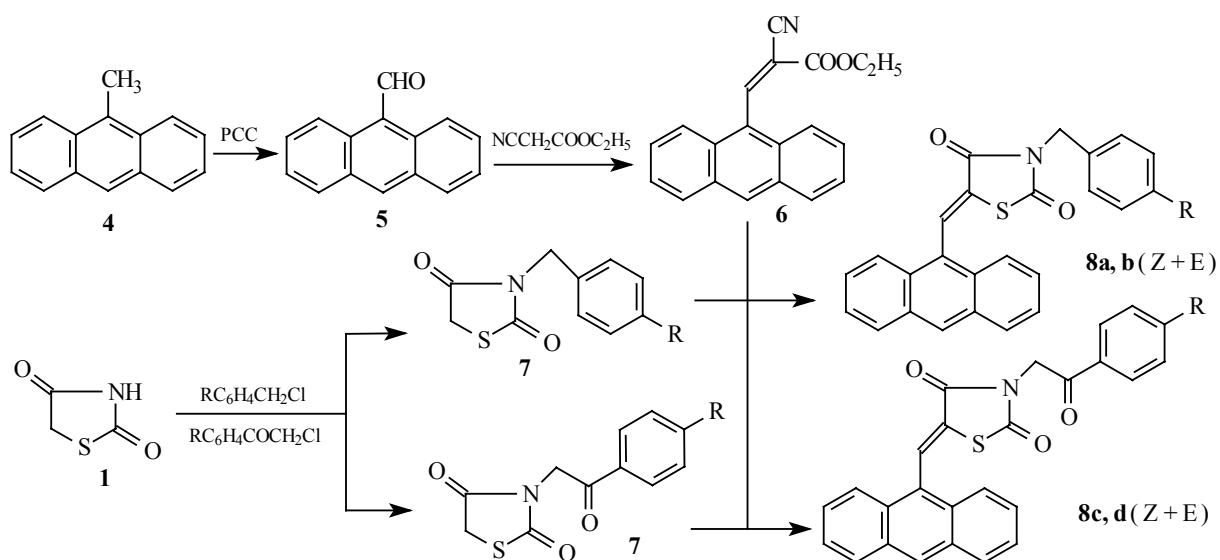
Table 2 - Effect of the oral administration of the derived new tiazolitinediones (10 and 30mg/kg/day) and rosiglitazone (10mg/kg/day), under the corporal weight and mortality in diabetic mice induced by aloxane.

Group	Dose (mg/Kg)	Weight corporal		% of mortality	
		Initial	Final	% of corporal loss	
Normoglicêmic	-	27,0±1,0	28,5±1,7	-	0
Diabetic	CMC 0,5% - 10ml/Kg	25,2±0,8	22,4±2,6	11,1	20
<b>3a</b>	10	25,3±0,6	23,3±1,4	7,9	0
	30	28,0±0,8	24,9±1,1	11	16,6
<b>3b</b>	10	26,4±0,4	26,2±0,8	0,75	20
	30	25,0±0,9	21,1±0,6	15,6	14,2
<b>3c</b>	10	21,3±0,7	21,7±1,6	-	50
	30	26,4±1,2	22,7±2,0	14	50
<b>3d</b>	10	27,9±2,8	23,3±2,7	16,4	16,6
	30	24,0±0,8	21,3±1,5	11,2	0
<b>3e</b>	10	22,7±1,5	20,2±0,9	11	16,6
	30	24,4±0,7	21,9±0,7	10,2	0
<b>3f</b>	10	29,1±3,4	27,2±3,0	6,5	0
	30	25,3±0,4	24,0±0,9	5,1	0
Rosiglitazone	10	26,5±0,4	27,4±1,3	-	16,6

The values represent the averages ± S.E. for groups of 6 animals each, being 3 males and 3 females.



**Fig. 1** Synthetic pathways of benzylidene thiazolidinediones



**Fig. 2** Synthetic pathways of acridinylidene thiazolidinediones

## **CONCLUSÕES**

---

## 10. CONCLUSÕES

---

Obtivemos-se, neste trabalho, 16 novos compostos, dos quais 14 são derivados acridino-tiazolidínicos e dois são derivados acridino-imidazolidínicos. Os derivados acridino-tiazolidínicos foram preparados por uma reação de adição do tipo Michael da tiazolidina-2,4-diona substituída com o éster 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila em presença de piperidina. Os compostos acridino-imidazolidínicos foram preparados de forma similar, produzindo compostos finais.

As estruturas químicas dos compostos sintetizados foram determinadas por espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear protônica, além de espectrometria de massa.

Os compostos sintetizados foram submetidos a testes de atividade antitumoral, utilizando o sarcoma 180. Os resultados obtidos indicaram boa atividade inibitória sobre o crescimento das células tumorais *in vivo*, onde os compostos com substituintes nitro e bromo foram os mais promissores.

Os compostos acridino-tiazolidínicos e acridino imidazolidínicos foram patenteados, tendo como depositante o CNPq, e atualmente está na fase de reconhecimento internacional.

No estudo da modelagem molecular, foi observado que o isômero *Z* é o mais estável, apresentando o menor calor de formação quando comparado ao isômero *E*, que é menos estável. No estudo conformacional verificou-se um valor relativo ao

mínimo da barreira de energia para o ângulo diédrico C28N29C30C31 em 90 e em – 90 graus. Por outro lado, a altura da barreira de energia para os valores dos ângulos diédricos em 0 ou 180 graus aumentou devido à proximidade entre o anel fenila e as carbonilas do heterocíclico tiazolidínico Oliveira (2002) e Lima (2003) também observaram comportamento similar nos seus estudos.

## RESUMO EXTENDIDO

Resumo extendido em cumprimento às normas de convenção de co-tutela de tese

Entre todas as patologias, o câncer é uma das mais devastadoras. Mesmo com a cura para determinados tipos de câncer que são detectados precocemente, outros tipos ainda não têm cura. No ano 2000, foram diagnosticados cerca de 10 milhões de casos de câncer em todo o mundo, e seis milhões de pessoas morreram. Este número poderá aumentar em 50% nos próximos vinte anos.

Enquanto não se descobre a cura definitiva para o câncer, vários esforços têm sido feitos para a sua prevenção e controle. Pesquisas envolvendo principalmente a manipulação do sistema imunológico, a terapia gênica e o descobrimento de novos fármacos mais eficazes são provas deste empenho.

Com o objetivo de se introduzir, na terapêutica, fármacos anticancerígenos mais potentes e com menor toxicidade, as acridinas têm despertado a atenção de muitos pesquisadores, uma vez que vários fármacos contendo o núcleo acridínico se encontram em uso clínico e outros estão em fase de desenvolvimento.

Os compostos acridínicos possuem uma ampla variedade de efeitos biológicos, atuando como antibacteriano, antimalárico, antileishmanial, antitripanossomal e anticancerígeno. A maioria desses efeitos pode ser explicada pela interação do cromóforo acridina com os pares de bases da dupla hélice do DNA.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo sintetizar novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos e avaliar sua atividade antineoplásica frente ao tumor sólido sarcoma 180.

O tratamento quimioterapêutico do câncer consiste no emprego de fármacos capazes de exterminar ou impedir o crescimento das células neoplásicas. A ação dos fármacos antineoplásicos é maior nas células que estão em processo de divisão celular, quando em comparação com as células que estão na fase G<sub>0</sub>.

Os agentes anticancerígenos são classificados como agentes alquilantes, antimetabólitos, alcalóides, antibióticos e agentes hormonais, entre outros. Os compostos acridínicos possuem mecanismo de ação semelhante aos antibióticos antitumorais, como a daunomicina e actinomicina D, cujos mecanismos de ação consistem na intercalação entre os pares de bases do DNA.

O insucesso no tratamento quimioterápico do câncer é atribuído à resistência múltipla aos fármacos (MDR), fenômeno que envolve a P-glicoproteína e a MRP (proteína associada a multirresistência), que são bombas protéicas que expulsam os fármacos do interior das células antineoplásicas. Atualmente estas proteínas também têm sido extensivamente estudadas como alvo no desenvolvimento de novos agentes antitumorais.

As acridinas 4-carboxamidas representam uma interessante classe de agentes intercaladores de DNA ativas contra tumores sólidos e leucemias. O derivado N-[2-(dimetil-amino)-etil]-acridina-4-carboxamida (DACA) é um agente intercalante de DNA com atividade inibitória sobre as enzimas topoisomerases I e II, não sendo relativamente afetada pela MDR.

A ansacrina [4'-acridinilamino)-metanosulfona]-*m*-anisidina; *m*-AMSA] é uma anilinoacridina que possui propriedades anticancerígenas devido a sua interação com o DNA. Ela é usada no tratamento da leucemia mielóide aguda e da leucemia linfóide aguda. A ansacrina induz apoptose da célula tumoral por inibição da topoisomerase II.

As pirazoloacridonas possuem atividade antiproliferativa *in vitro* e significativa atividade antitumoral *in vivo* em leucemia P388 e sarcoma 180. Por sua vez, alcalóides acridônicos isolados da *Swinglea glutinosa* Merr (Rutaceae) mostraram-se ativos contra *Plasmodium falciparum*.

As informações disponíveis na literatura comprovam as propriedades terapêuticas das acridinas e seus derivados, principalmente no que concerne à atividade antineoplásica pela capacidade de interagirem com o DNA. Diante destas informações, foram sintetizados neste trabalho novos derivados acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos, os quais foram submetidos a testes para avaliação dos seus efeitos sobre o crescimento celular *in vivo* utilizando o tumor sólido sarcoma 180.

A síntese dos novos compostos acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos foi desenvolvida em várias etapas. Para preparação da 3-benzil (ou fenacil)-tiazolidina-2,4-diona substituída, a tiazolidina-2,4-diona sofre uma N-alquilação com cloretos ou brometos de benzila substituídos em presença de hidróxido de potássio a 10% em etanol anidro. Os derivados 3-benzil-4-tioxoimidazolidina-2,4-diona substituídos foram obtidos inicialmente a partir da imidazolidina-2,4-diona que reage com cloretos ou brometos de benzila substituídos, em presença de hidróxido de potássio a 10% e metanol, obtendo-se a 3-benzilimidazolidina-2,4-diona. Em seguida, a 3-benzilimidazolidina-2,4-diona sofre uma tionação na posição 4 com o pentassulfeto de fósforo obtendo-se a 3-benzil-4-tioxoimidazolidina-2,4-diona.

Para preparação do núcleo acridínico, o produto de partida foi a difenilamina, a qual reage com ácido acético em presença de cloreto de zinco para formar a 9-metilacridina. Esta, por sua vez, sofre oxidação com um agente oxidante específico,



o piridinium clorocromato, obtendo-se a 9-acridino-carboxaldeído. O acridino-carboxaldeído reage através de uma condensação do tipo Knoevenagel com o cianoacetato de etila, tendo como catalisador a piperidina, para formar o intermediário 2-ciano-9-il-acrilato de etila.

Os derivados acridino-tiazolidínicos foram obtidos, finalmente, por uma reação de adição do tipo Michael da tiazolidina-2,4-diona, substituída na posição 4 pelo grupamento benzil ou fenacil, com o 2-ciano-acridina-9-il-acrilato de etila, em presença de piperidina, conduzindo aos novos derivados acridino-tiazolidínicos. Os derivados acridino-imidazolidínicos foram sintetizados de forma similar.

A caracterização estrutural dos compostos acridino-tiazolidínicos e acridino-imidazolidínicos foi efetuada através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, espectroscopia no infravermelho e espectrometria de massas.

Alguns derivados foram submetidos a avaliação da atividade antitumoral *in vivo* em sarcoma 180. Foram utilizados camundongos machos albinos swiss provenientes do biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, em Recife, Brasil. Os fragmentos tumorais foram implantados na região axilar dos animais receptores por via subcutânea. Após 48 horas da implantação do tumor, foi iniciada a terapia com os compostos acridino-imidazolidínicos na dose de 50mg/kg de peso, durante oito dias. O grupo controle recebeu o veículo. No nono dia, os animais foram sacrificados para a retirada e pesagem dos tumores. O percentual de inibição foi calculado a partir da seguinte fórmula:  $Twi = C - T / C \times 100$ , onde C corresponde a média do peso dos tumores do grupo controle e T corresponde a média de peso dos tumores do grupo tratado.

Os compostos que apresentaram uma maior atividade frente ao sarcoma 180 foram os derivados da série acridino-tiazolidina, a saber: 5-(acridina-9-il-metileno)-3-

(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona e 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona, com percentuais de inibição de 72,25% et 71.48%, respectivamente.

## RESUME ETENDU

Parmi toutes les maladies, le cancer est une des plus répandues et le traitement en reste aléatoire. Les guérisons ne sont observées que pour certains types de tumeurs qui plus est à la condition d'avoir été diagnostiquées précocement. Dans l'année 2000, environ 10 millions des cas ont été reconnus dans le monde et six millions de personnes sont décédées. Ce nombre pourrait encore augmenter de 50% dans les vingt prochaines années.

La nécessaire recherche de traitements efficaces accompagne alors les nombreux efforts à faire en matière de prévention. Les travaux en cours dans le domaine de l'immunologie, de la thérapie génétique et de la chimiothérapie sont la preuve de l'engagement des chercheurs.

Il est à noter que l'échec dans le traitement chimiothérapeutique du cancer peut provenir d'une résistance multiple aux médicaments (MDR ou multi drug resistance), un phénomène dépendant de protéines d'efflux, Pgp et MRP. Ce sont des protéines membranaires qui expulsent les cytotoxiques hors des cellules. Aussi, actuellement, ces protéines sont-elles étudiées comme cibles potentielles dans le développement de nouvelles thérapeutiques.

Le traitement chimiothérapeutique du cancer consiste à utiliser des médicaments qui sont capables de détruire les cellules malignes ou d'en empêcher la croissance. L'action de l'agent antitumoral est plus importante sur les cellules qui se divisent que sur celles en phase  $G_0$ .

Parmi ces agents, on distingue, entre autres, les alkylants, les antimétabolites, les alcaloïdes, les antibiotiques, les agents hormonaux et les antihormones.

Dans le but de mettre sur le marché pharmaceutique des médicaments anticancéreux plus puissants et moins toxiques que ceux disponibles, les acridines ont éveillé l'intérêt de différents groupes de recherche au point que plusieurs molécules de cette famille sont actuellement en cours de développement.

Les dérivés acridiniques présentent une grande variété d'effets biologiques. Ils sont utilisés comme antibactériens, antimalariques, antileishmaniens, antitrypanosomes ou encore comme anticancéreux. Les composés acridiniques possèdent un mécanisme d'action semblable à celui des antibiotiques anticancéreux, comme la daunomycine ou l'actinomycine D et la plupart de leurs effets peuvent donc être expliqués par l'aptitude de ces hétérocycles à s'insérer entre les paires de bases de la double hélice de l'ADN.

Parmi les composés commercialisés, les 4-carboxamido-acridines représentent un groupe de substances actives contre les tumeurs solides et les leucémies. En particulier, la N-[2-(diméthylamino)-éthyl]-4-carboxamido-acridine (DACA) est un intercalant capable d'inhiber les topoisomérases I et II, sans donner lieu au phénomène MDR.

L'amsacrine ou [4'-acridinylamine)-méthanesulfonate] ou *m*-anisidine ou *m*-AMSA est une anilinoacridine préconisée dans le traitement des leucémies myéloïdes et lymphoïdes. Elle induit l'apoptose par inhibition de la topoisomérase II. Enfin, il faut signaler que les pyrazoloacridinones ont une activité antiproliférative *in vitro* et, *in vivo*, une activité antitumorale significative sur la leucémie P388 et le sarcome 180. Par ailleurs, les alcaloïdes acridinoniques isolés de *Swinglea glutinosa* Merr (Rutacée) ont montré une action antimalarique sur *Plasmodium falciparum*.

Dans ce contexte, notre travail a eu comme objectif la synthèse de nouveaux dérivés thiazolidino-acridiniques et imidazolino-acridiniques et l'évaluation de leur activité anticancéreuse sur une tumeur solide, le sarcome 180.

La synthèse des ces composés a été réalisée en plusieurs étapes.

On a préparé les 3-benzyl (ou 3-phénacyl)-thiazolidine-2,4-diones par une *N*-alkylation en présence d'hydroxyde de potassium à 10% dans l'éthanol anhydre de la thiazolidine-2,4-dione avec des chlorures ou des bromures de benzyle substitués sur le noyau aromatique.

Les 3-benzyl-4-thioxo-imidazolidine-2,4-diones ont été obtenues par alkylation de l'imidazolidine-2,4-dione en présence d'hydroxyde de potassium dans du méthanol, avec des chlorures ou des bromures de benzyle substitués sur le noyau aromatique. Les 3-benzyl-imidazolidine-2,4-diones obtenues comme intermédiaires ont subi une thiation en position 4 au moyen du pentasulfure de phosphore. On a préparé ainsi différentes 3-benzyl-4-thioxo-imidazolidine-2,4-diones.

Pour la préparation du noyau acridinique, le produit de départ est la diphenylamine, qui réagit avec l'acide acétique en présence du chlorure de zinc pour former la 9-methylacridine. Celle-ci, par oxydation à l'aide du chlorochromate de pyridinium, conduit à la 9-acridino-carboxaldehyde. Cette dernière réagit avec le cyanoacétate d'éthyle par une condensation du type Knoevenagel, en présence de pipéridine comme catalyseur, pour former un intermédiaire, le 2-cyan-acridine-9-yl-acrylate d'éthyle.

Enfin, les thiazolidino-acridiniques ont été obtenus par une réaction d'addition de type Michael entre les 3-benzyl (ou 3-phénacyl)-thiazolidine-2,4-diones et le 2-

cyan-acridine-9-yl-acrylate d'éthyle, en présence de pipéridine. Les imidazolidino-acridiniques ont été synthétisés par le même procédé.

La caractérisation structurale des thiazolidino-acridiniques et des imidazolidino-acridiniques synthétisées a été effectuée par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton, par spectroscopie infrarouge et par spectrométrie des masse.

Quelques dérivés-témoins ont été sélectionnés pour mesurer une éventuelle activité antitumorale *in vivo* sur le sarcome 180. A cette fin, on a utilisé des souris swiss mâles provenant de l'animalerie du Département des Antibiotiques de l'Université Fédérale de Pernambuco.

Les fragments tumoraux ont été implantés dans la région axillaire des animaux par voie sous-cutanée. 48 heures après l'implantation de la tumeur, on a commencé le traitement par les composés choisis, à la dose de 50mg/Kg de poids et on l'a poursuivi pendant huit jours. Le groupe des animaux-contrôles n'a reçu que le véhicule. Au neuvième jour, les animaux ont été sacrifiés et on a retiré les tumeurs. On les a pesées. Le pourcentage d'inhibition a été calculé à partir de la formule :  $Twi = C - T/C \times 100$ , où C correspond à la moyenne du poids des tumeurs du groupe contrôle et T correspond à la moyenne du poids des tumeurs du groupe testé.

Les composés qui ont présenté la meilleure activité sur le sarcome 180 ont été des thiazolidino-acridiniques, à savoir la 5-(acridine-9-yl-méthylène)-3-(4-bromo-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione et la 5-(acridine-9-yl-méthylène)-3-(4-nitro-benzyl)-thiazolidine-2,4-dione, qui ont donné des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 70%.

## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ACHESON, R.M. **Acridines**. Interscience Publ., John Wiley and sons, NEW York, 1973.

ALBERT, A. **The Acridines**. 2nd Ed., Arnold Publ., London, 1966.

AGARWAL, S., TIWARI, H.P., SHARMA, J.P. Pirimidinium chlorocromate: an improved method for its synthesis and use of anhydrous acetic acid as catalyst for oxidation reactions. **Tetrahedron.**, v. 46, n. 12, p. 4417-4420, 1990.

ÁLVAREZ, M., FELIU, L., AJANA, W., JOULE, J. A., FERNÁNDEZ-PUENTES, J.L. Synthesis of ascididemine and an isomer. **Eur. J. Org. Chem.**, p. 849-855, 2000.

ANTONINI, I., POLUCCI, P., MAGNANO, A., CACCIAMANI, D., KONIECZNY, M.T., PARADZIEJ-LUKOWICZ, J., MARTELLI, S. Rational design, synthesis and biological evaluation of thiadiazinoacridines: a new class of antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** ., v. 11, p. 399-405, 2003.

AUGUSTUS, T.M., ANDERSON, J., HESS, S.M., BIERBACH, U. Bis(acridinylthiourea)platinum(II) complexes: synthesis, DNA affinity, and biological activity in glioblastoma cells. . **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.**, v. 13, p. 855-858, 2003.

BARBET, J., ROQUES, P. B., LE PECQ, J-B. composé de poly-intercalation de l' ADN. Synthèse de dimères d'acridine. **C. R. Acad. Sc. Paris.**, p. 851-853, 1975.

BARACAT, F.F., FERNANDES JR, H.J., SILVA, M.J. **Cancerologia atual: um enfoque multidisciplinar**. São Paulo. Editora Roca, 2002.

BONSE, S., SANTELLI-ROUVIER, C., BARBE, J., KRAUTH-SIEGEL, R.L. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase by acridines: kinetic studies and structure-activity relationships. **J. Med Chem.**, v. 42, p. 5448-5454, 1999.

BRANÃ, M.F., CASARRUBIOS, L., DOMÍNGUEZ, G., FERNANDÉZ, C., PÉRES, J.M., QUIROGA, A.G., NAVARRO-RANNINGER, C., PASCUAL-TERESA, B. Synthesis, cytotoxic activities and proposed mode of binding of a series of bis{[(9-oxo-9,10-dihydroacridine-4-carbonyl)amino]alkyl}alkylamines. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 37, p. 301-313, 2002.



BRIDEWELL, D.J.A., FINLAY, G.J., BAGULEY, B.C. Topoisomerase I/II selectivity among derivatives of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA). **Anti-cancer Drug Design.**, v. 16, p. 317-324, 2001.

BRODY, T.M., LARNER, J., MINNERMAN, K.P., NEU, H.C. **Farmacologia Humana.** 2ª Edição. Editora Guanabara. Rio de Janeiro, 1997.

BU, X., CHEM, J., DEADY, L.W., DENNY, W.A. Synthesis e cytotoxicity of potential anticancer derivatives of pyrazolo[3,4,5-*k*]acridine and indolo[2,3-*a*]acridine. **Tetrahedron.**, p. 123-127, 2001.

CHEN, C.J. *et al.*,. **Cell.**, v. 47, 381-389, 1986.

CHEN, Y-L., LU, C-M., CHEM, L-I., TSAO, L-T., WANG, J-P. Synthesis and anti-inflammatory evaluation of 9-anilinoacridine and 9-phenoxyacridine derivatives. **J. Med. Chem.**, v. 45, p. 4689-4694, 2002.

CHEN, K.T., FICO, R., CANELLAKIS, E.S. Diacridines, bifunctional intercalators. Chemistry and antitumor activity. **J. Med. Chem.**, v. 21, n. 9, p. 868-874, 1978.

COLE, S.P. *et al.*, **Science.**, v. 258, p. 1650-1654, 1992.

CARTER, S.K. **Design and Evaluation of Clinical Trials of Anticancer drugs.** Cancer and Chem. Ed. Academic Press, INC, 1980.

COPE, A.C., HOFMANN, C.M., WYCKOFF, C., HARDENBERGH, E. Condensation reactions. II. Alkylidene cyanoacetic and malonic esters. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 63, p. 3452-3456, 1941.

COSTES, N., *et al.*, Synthesis and cytotoxic and antitumor activity of benzo[*b*]pyrano[3,2-*h*]acridin-7-one analogues of acronycine. **J. Med. Chem.**, v. 43, p. 2395-2402, 2000.

DABOUN, H.A.F., Abdou, S.E., Hussein, M.M., Elnagdi, M.H. Activated nitriles in heterocyclic synthesis: Novel syntheses of pyrrolo[1,2-*c*]imidazole and pyrano[2,3-*d*]imidazole derivatives. **Synthesis**, p. 502-504, 1982.

DEBENHAM, P.G. *et al.*, **Mol. Cell Biol.**, v. 2, p. 881-889, 1982.

DENNY, W.A., ATWELL, G.J., BAGULEY, B.C., WAKELIN, L.P.G. Potential antitumor agents: 44. Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: Importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. **J. Med. Chem.**, v. 28, p. 1568-1574, 1985.

DELFOURNE, E., DARRO, F., PORTEFAIX, P., GALAUP, C., BAYSSADE, S., BOUTEÍLLÉ, A., LE CORRE, L., BASTIDE, J., COLLIGNON, F., LESUR, B., FRYDMAN, A., KISS, R. Synthesis and in vitro antitumor activity of novel ring D analogues of the marine pyridiacridine ascididemin: structure-activity relationship. **J. Med. Chem.**, v. 45, p. 3765-3771, 2002.

DEWAR, M.J.S, ZOEBISCH, E.G., HEALY, E.F., & STEWART, J.J.P., **J. Am. Chem. Soc.**, 107(13), 3902(1985).

ELLIS, M.J., STEVENS, M.F. G. Antitumor polycyclic acridines. Part 9. Synthesis of 7H-pyrido[4,3,2,*k*]acridines with basic side chains. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.**, p. 3174-3179, 2001.

FERLIN, M.Z., MARZANO, C., CHIARELOTTO, G., BACCICHETTI, F., BORDIN, F. Synthesis and antiproliferative activity of some variously substituted acridine and azacridine derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 35, p. 827-837, 2000.

FISCHER, G., PINDUR, U. A molecular modeling study of B-DNA-intercalatio complexes with amsacrine and related 9-anilino-acridines. **Phamazie.**, v.2, p. 83-93, 1999.

FIGGITT, D.P., DENNY, W.A., GAMAGE, S.A., RALPH, R.K. Structure-activity relationships of 9-anilinoacridines as inhibitors of human DNA topoisomerase II. **Anti-cancer Drug Design.**, v. 9, p. 199-208, 1994.

GAMAGE, S.A., SPICER, J.A., ATTWELL, G.J., FINLAY, G.J., BAGULEY, B.C., DENNY, W.A. Structure-activity relationships for substituted bis(acridine-4-carboxamides): a new class of anticancer agents. **J. Med Chem.**, v. 42, p. 2382-2393, 1999.

GAMAGE, S.A., SPICER, J.A., REWCASTLE, G.W., DENNY, W.A. A new synthesis of substituted acridine-4-carboxylic acids and anticancer drugs *N*-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA). **Tetrahedron Letters.**, v. 38, n. 4, p. 699-702, 1997.

GERAN, R.I., SCHUMACH, A.M., ABBOTT, B.J., GREENBER, N.H., MACDONAL, M.M. Protocols for screening chemical agents and natura-products against tumors and other biological systems. **Cancer Chemotherapy Reports** Part 3, n. 3, v.2, 1972.

GERAN, R.I., GREENBERG, N.H., MACDONALD, M.M., ABBOTT, B.J. Modified protocols for testing of new synthetics in L1210 lynphoid leukemia murine modelin dr+d program, dct, nci. **Cancer Chemotherapy Reports** Part 2 Suplement, n. 1, p. 15-19, 1975.

GOODMAN, L., GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9<sup>a</sup> Edição. Editora McGraw-Hill Interamericana Editores. Rio de Janeiro, 1996.

GIRAULT, S., GRELLIER, P., BERECIBAR, A., MAES,L., MOURAY, E., LEMIÈRE, P., DEBREU, M-A, DAVIOUD-CHEVET, E., SERGHERAERT, C. Antimalarial, antitrypanosomal, and antileishmanial activities and cytotoxicity of Bis-(9-amino-6-chloro-2-methoxyacridines): influence of the linker. **J. Med Chem.**, v. 43, p. 2646-2654, 2000.

HARRISON, R.J., GOWAN, S.M., KELLAND, L.R., NEIDLE, S. Human telomerase inhibition by substituted acridine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.**, v. 9, p. 2463-2468, 1999.

HAQ, I., LADBURY,J. Drugs-DNA recognition: energetics and implications for design. **Journal Of Molecular Recognition.**, v. 13, p. 188-197, 2000.

JULIANO, R.L., LING, V. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 455, p. 152-162, 1976.

KARDINAL, C.G., YARBO, J.W. A Conceptual History of Cancer. **Seminars in Oncol.**, 1979

KLUSA, J., LANSIAUX, A., WATTEZ, N., HILDEBRAND, M-P.,LÉONCE, S., PIERRÉ, A., HICKMAN, J.A., BAILLY, C. Induction of apoptosis in HL-60 leukemia and B16 melenoma cells by the acronycine derivative S23906-1. **Biochemical Pharmacology.**, v. 63, p. 1443-1452, 2002.

KONOPA, J.,LEDÓCHOWSKI, A .,MATUSZKIEWICZ, E., JRECZEK-MORAWSKA, E. Cytotoxic properties of 9-amino-nitroacridine derivatives. **Neoplasma.**, V. 16, p. 171-178, 1968.

LE PECQ, J-B., LE BRET, M., BARBET, J., ROQUES, B. DNA polyintercalating drugs: DNA binding of diacridine derivatives. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 72, p. 2915-2919. 1975.

LERMAN, L.S. Structural considerations of the interaction of DNA and acridines. **J. Mol. Biol.**, v. 3, p. 18-30, 1961.

LERMAN, L.S. The structure of the DNA – acridine complex. **Proc Natl. Acad. Sci. USA**, v. 49, p. 94-102, 1963.

LIBERMANN, D., HIMBERT, J., HENGL, L. La thiazolidione, point de départ d'une synthèse de acides thiopyruviques et thioglyoxyliques substitués. **Bull. Soc. Chim. Fr.**, p. 1120-1124, 1948.

LIMA, M.T.C., Síntese, avaliação biológica e modelagem molecular de 5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxoimidazolidin-4-onas. Dissertação de mestrado apresentada a Pós-graduação de Biotecnologia em Produtos Bioativos, Depto. de Antibióticos, UFPE. Recife., 2003.

MOSHER, M.D., NATALE, N.R. The preparation of intercalating isoxazoles via a nitrile oxide cycloaddition. **J. Het. Chem.**, v. 32, p.779-781, 1995.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Atlas da mortalidade por câncer no Brasil 1979-1999**. Rio de Janeiro, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional do Câncer-INCA. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2003.

NAKAMURA, M. et al. **Anticancer Res.**, v. 20, p. 1921-1925, 2000

NEIDLE, S., PARKINSON, G. Telomerase maintenance as a target for anticancer drug discovery. **Nature.**, v. 1, p. 383-393, 2002.

OLIVEIRA, S.M., Síntese, avaliação biológica e modelagem molecular de imidazolidinas bioisósteras. Dissertação de mestrado apresentada a Pós-graduação de Biotecnologia em Produtos Bioativos, Depto. de Antibióticos, UFPE. Recife, 2002.

PASTWA, E., CIESIELSKA, E., PIESTRZENIEWICZ, M.K., DENNY, W.A., GNIAZDOWSKI, M., SZMIGIERO, L. Cytotoxic and DNA-damaging properties of *N*-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide (DACA) and its analogues. **Biochemical Pharmacology.**, v. 56, p. 351-359, 1998.

PITTA I.R., BARBE, J., LIMA, M.C.A., GADINO, S.L. Moléculas com atividade antitumoral e processo para sua obtenção., Patente: Privilégio de Inovação n. PI 0203747-5, Moléculas com atividade antitumoral e pr. 10 de setembro de 2002 (Depósito).

RENNICK, B.R., *et al.*, **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 91, p. 210-217, 1947

RINEHART, K.L., HOLT, T.G., FREJEAU, N.L., STROH, J.G., KEIFER, P.A., SUN, F., LI, L.H., MERTIN, D.G. Ecteinascidin 729, 743, 745, 759A e 770: potent antitumor from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. **J. Org. Chem.**, v. 55, p. 4512-4515, 1990.

RIORDAN, J.R., *et al.*, **Nature.**, v. 316, p. 817-819, 1985.

RIORDAN, J.R., LING, V. **J. Biol. Chem.**, V. 254, P. 12701-12705, 1979.

SILVA, F.S.V.C.B. Síntese e avaliação biológica de novos derivados acridino-tiazolidínicos e benzilideno-imidazolidínicos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos – Departamento de Antibióticos) – Universidade Federal de Pernambuco – Recife, 2001.

SOURDON, V., MAZOYER S., PIQUE, V., GALY, J-P. Synthesis of new Bis-and Tetra-acridines. **Molecules.**, v. 6, p. 673-682, 2001.

SPICER, J.A., GAMAGE, S.A., ATWELL, G.J., FINLAY, G.J., BAGULEY, B.C., DENNY, W.A. Structure-activity relationships for acridine-substituted analogues of the mixed topoisomerase I/II inhibitor *N*-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide. **J. Med. Chem.**, v. 40, p. 1919-1929, 1997.

SPICER, J.A., GAMAGE, A.S., FINLAY, G.J., DENNY, W.A. Synthesis and evaluation of unsymmetrical bis-(arylcarboxamides) designed as topoisomerase-targeted anticancer drugs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry.**, v. 10, p. 19-29, 2002.

STEVENS, G., **J. Med. Chem.**, 34(9), 2665, 1991.

STANSLAS, J., HAGAN, D.J., ELLIS, M.J., TURNER, C., CARMICHAEL, J., WARD, W., HAMMONDS, T.R., STEVENS, M.F. G. Antitumor polycyclic acridines. 7. Synthesis and biological properties of DNA affinic tetra- and pentacyclic acridines. **J. Med. Chem.**, v.43, 1563-1572, 2000.

STOCK, C.C., CLARKE, D.A., PHILIPS, F.S. Sarcoma 180- Inhibition Screening Data. **Cancer Research**, 1955.

SU, T-L., CHEN, C-H., HUANG, L-F., CHEM, C-H., , BASU, M.K., ZHANG, X-G., CHOU, T-C. Synthesis and structure-activity relationships of potential anticancer agents: alkylcarbamates of 3-(9-acridynilamino)-5-hydroxymethylaniline. **J. Med. Chem.**, v. 42, p. 4741-4748, 1999.

SUGAYA, T., MIRUMA, Y., SHIDA, Y., OSAWA, Y., MATSUKUMA, I., IKEDA, S., ET ALL. 6-*H*-pyrazolo[4,5,1-*de*]acridin-6-ones as a novel class of antitumor agents. Synthesis and biological activity. **J. Med. Chem.**, v. 37, p. 1028-1032, 1994.

SUGIURA, K. **Tumour Transplantation. In: Methods of Animal Experimentation.**, v. II, ed. Gay, W.I. Academic Press Inc., 1965.

SHVAIKA, O.P., KOROTKIKH, N.I., CHERVINSKIT, A.Y., ARTEMOVL, N. Recyclization reactions. XXV. Recrystalizations of 3-acylmethyl-2,4-thiazolidinones by the action of nucleophiles. **Zn. Org. Khim**, v. 39, p. 1533-1542, 1983.

TSUGE, O., NISHINOHARA, M., TASHIRO, M. Compounds related to acridine. I. Condensation of acridine derivatives having active methyl group and aromatic nitroso compounds. **Bull. Chem. Soc. Japan**, v. 44, n. 11, p. 1477-1485, 1963.

WENIGER, B., UM, B-H., VALENTIN., ESTRADA, A., LOBSTEIN, A., ANTON, R., MAILLÉ, M., SAUVAIN, M. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 1221-1223, 2001.

WAKELIN, L.P.G., CHE, T.K., GLAUBIGER, D., CANELLAKIS, E.S., WARING, M.J. Structural Limitations of the bifunctional intercalation of diacridines into DNA. **Am. Chem. Soc.**, v. 17, n. 23, p. 5057-5063, 1978.

WILLIAM, R.W., ANDERSON, R.F., DENNY, W.A. Hypoxia–selective antitumor agents. 1. Relationships between structure, redox properties and hypoxia-selective cytotoxicity for 4-substituted derivatives of nitracrine. **J. Med.Chem.**, v. 32, n. 1, p. 23-30, 1989.

o

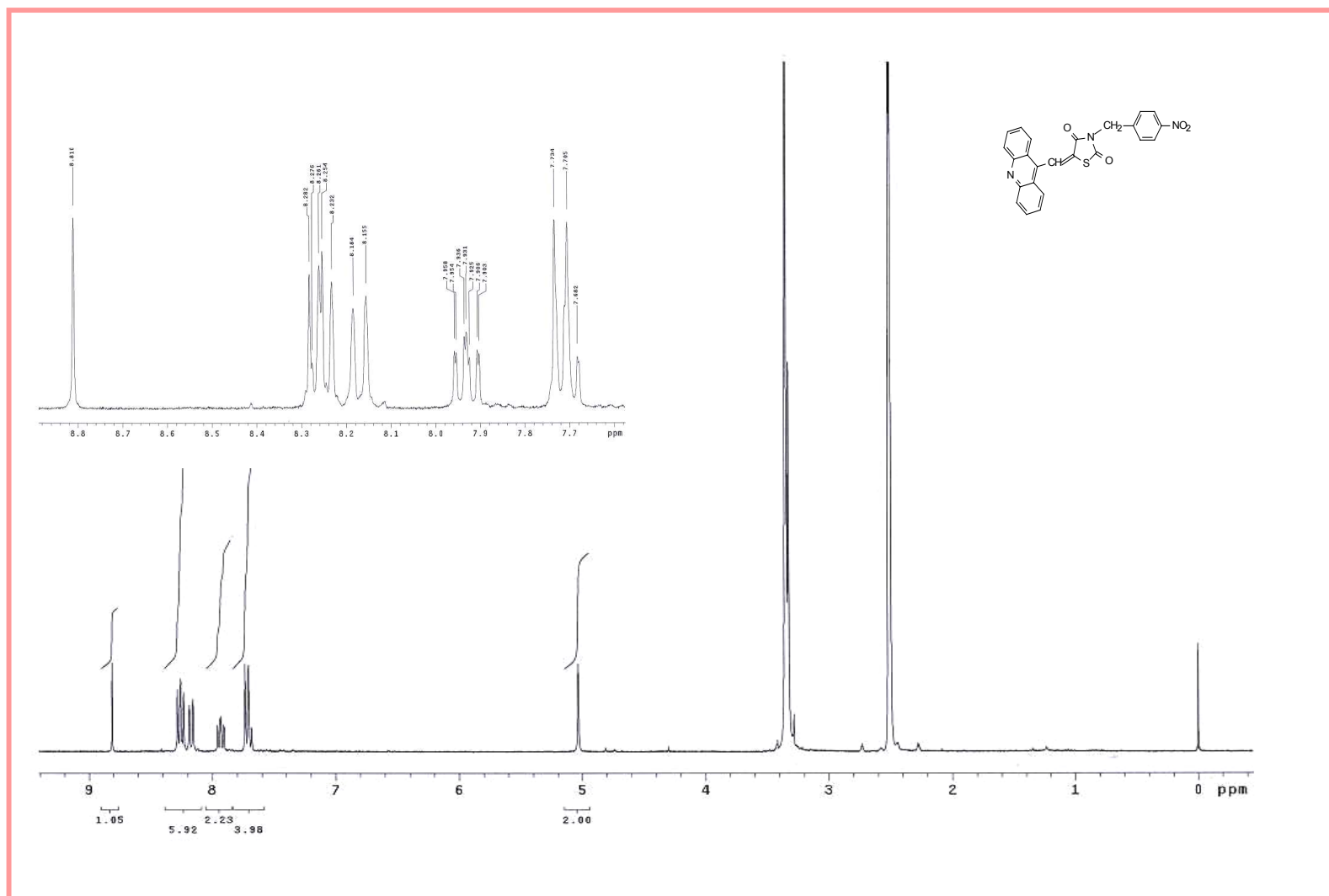


Figura 1 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6b**)



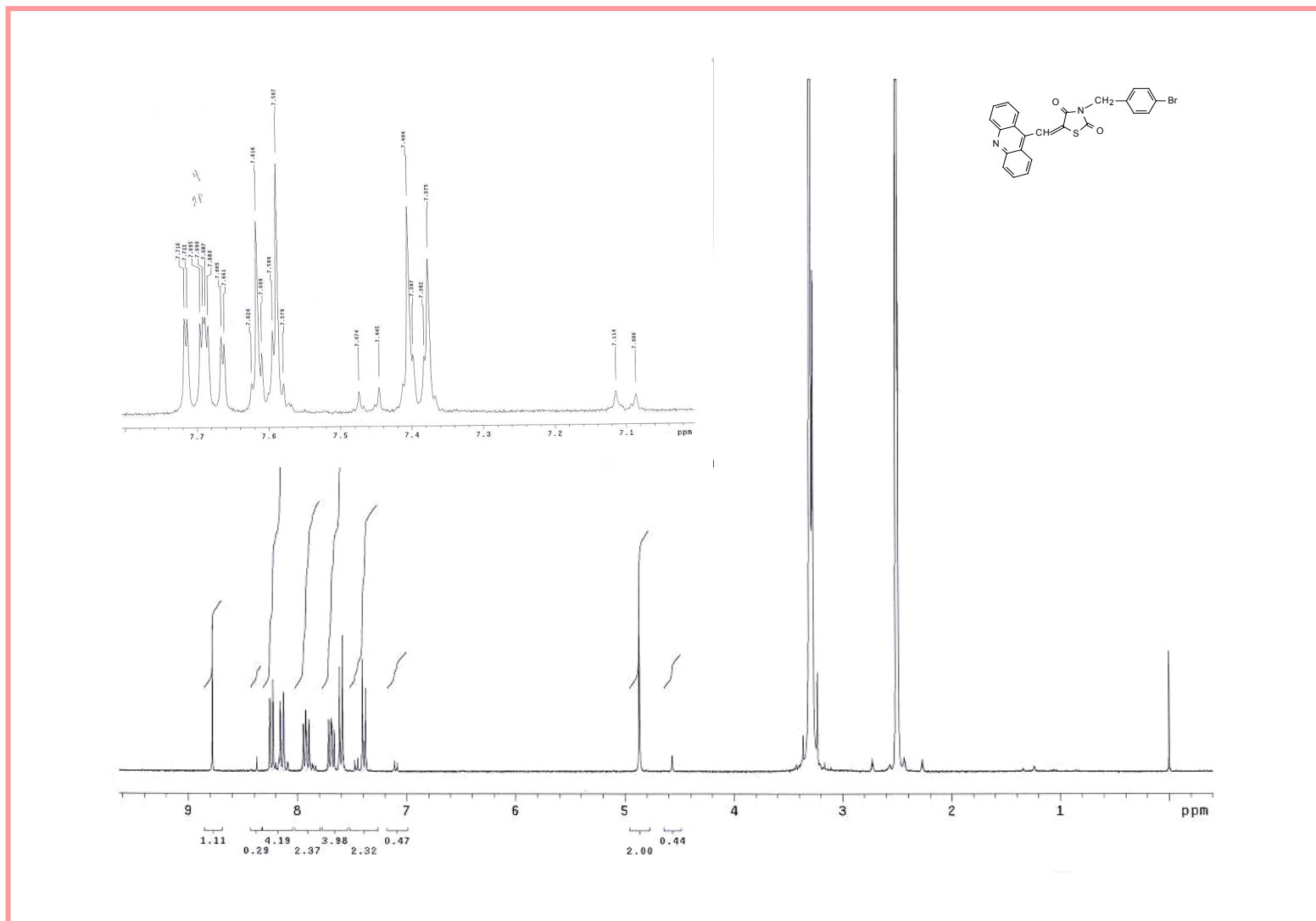


Figura 2 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6c**)

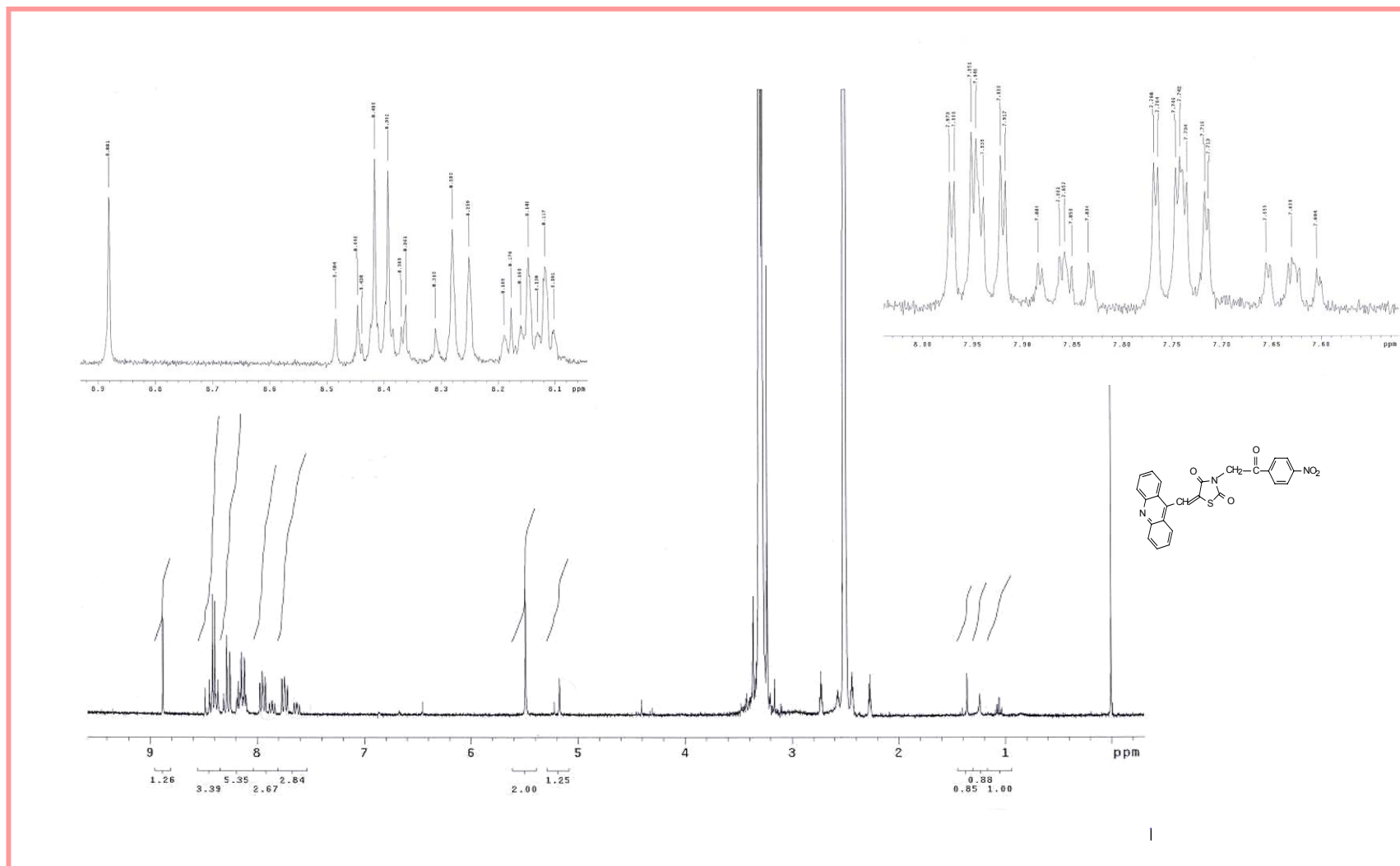


Figura 3: Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (**6d**)

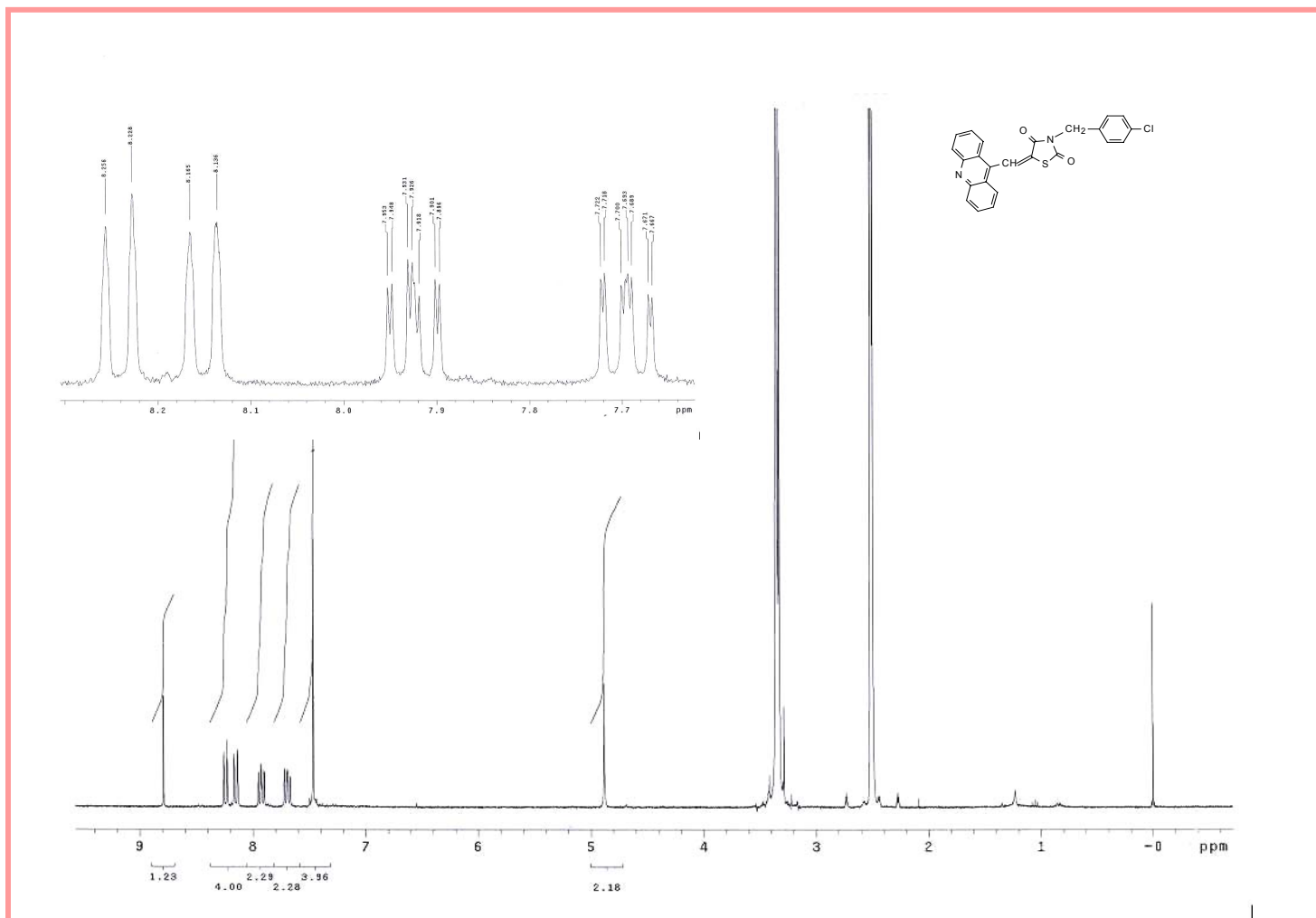


Figura 4 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6e).

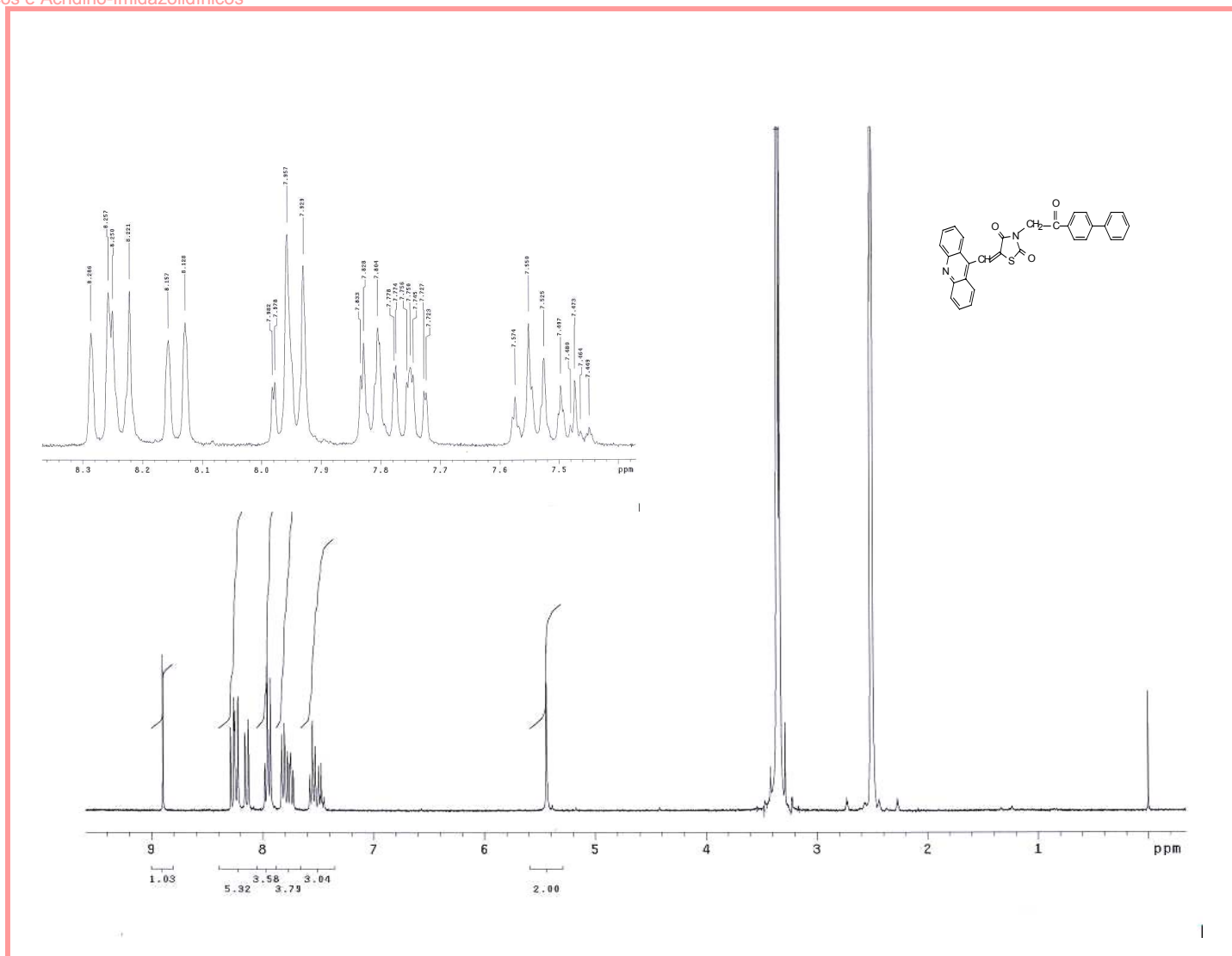


Figura 5 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6f)

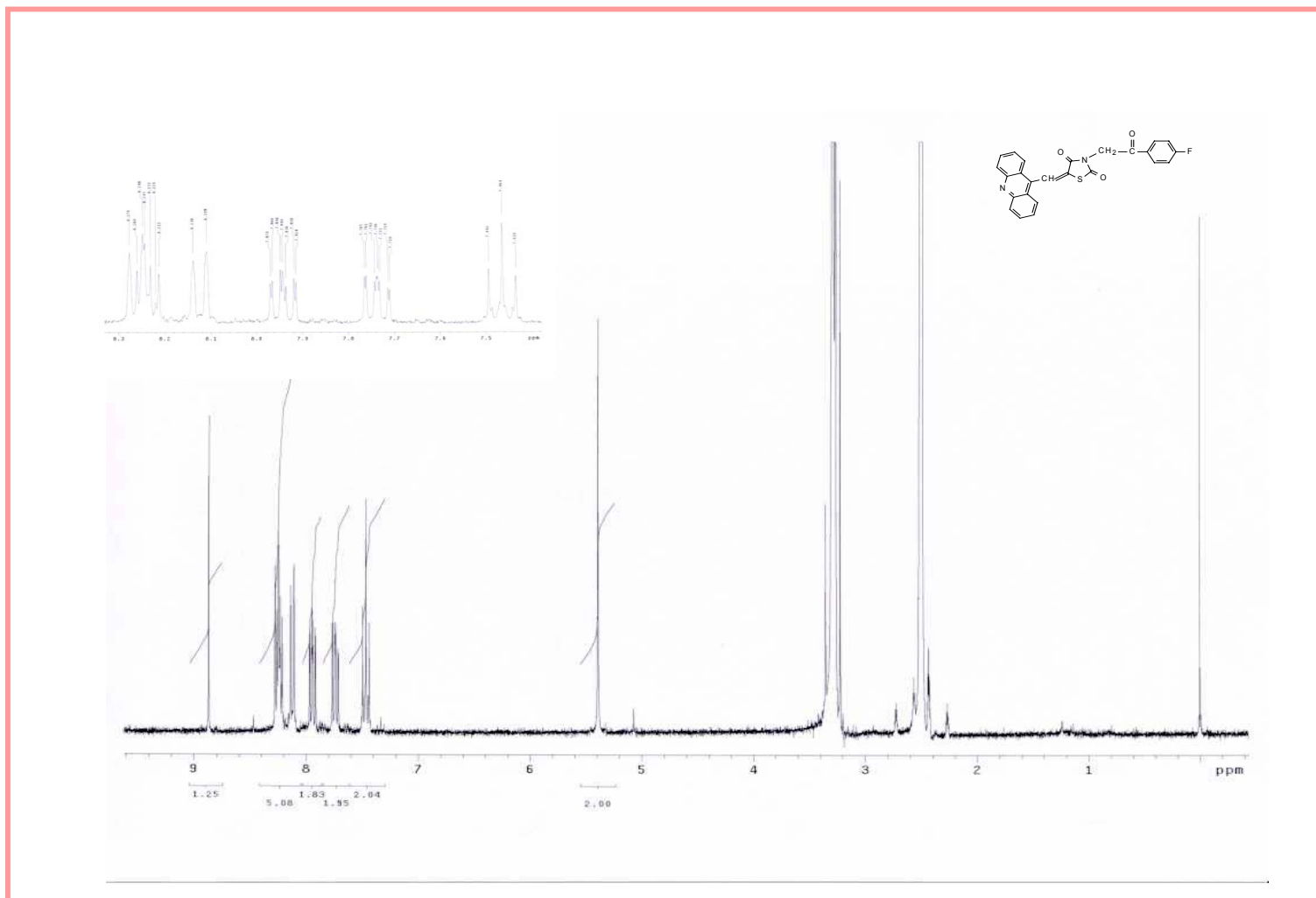


Figura 6 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fluor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6g)

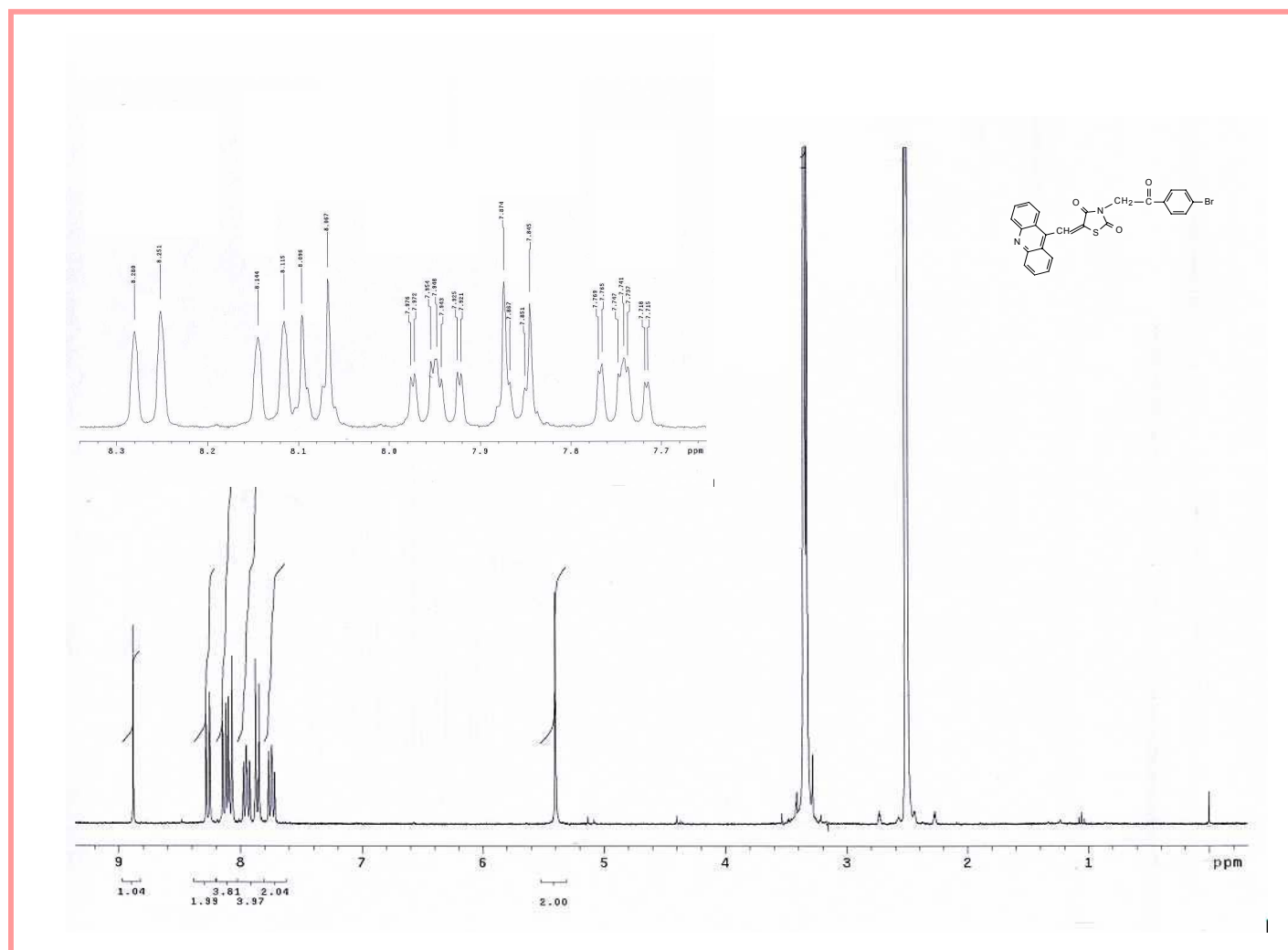


Figura 7 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (**6h**).

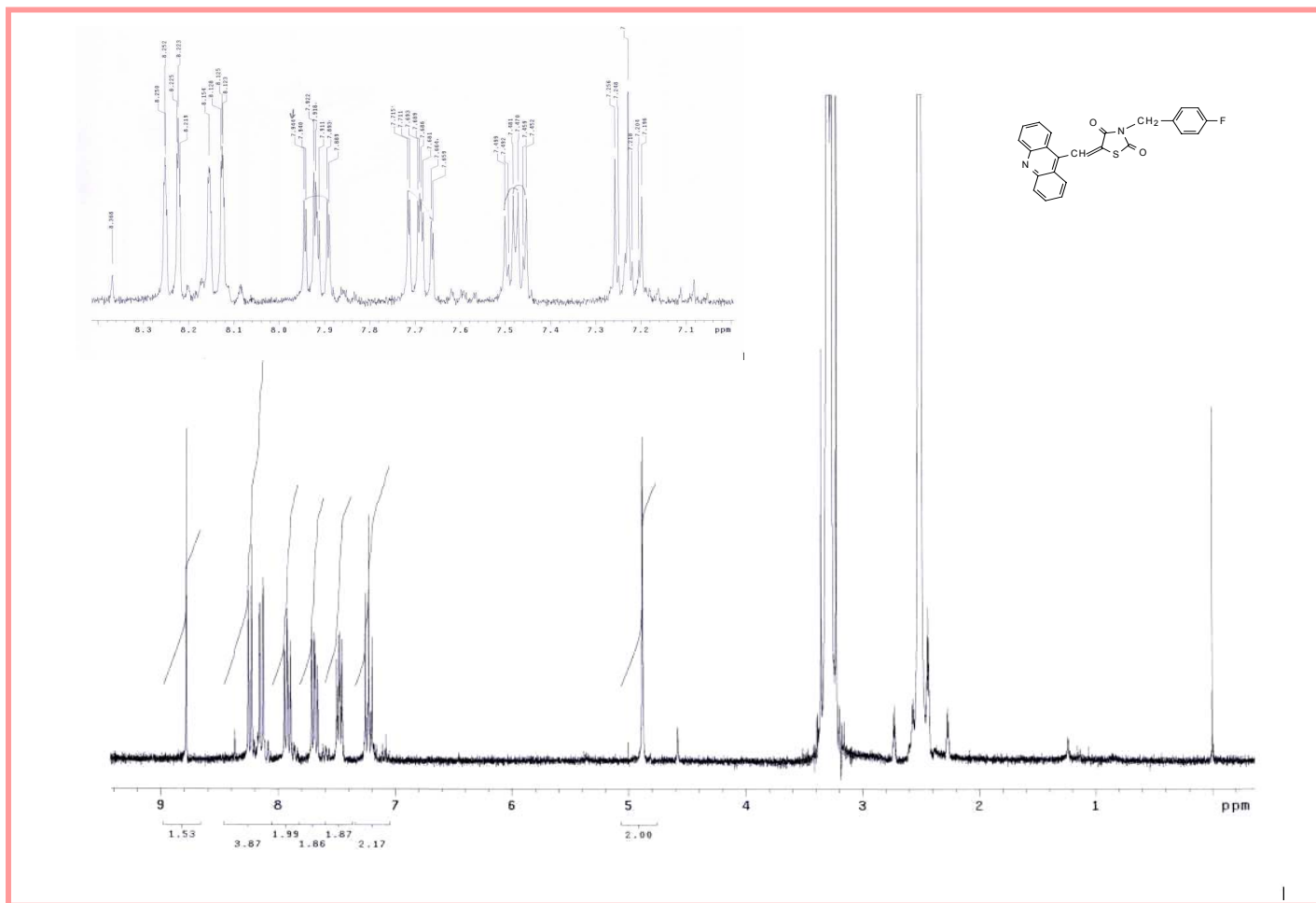


Figura 8 - Espectro de ressonância magnética nuclear da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6i)

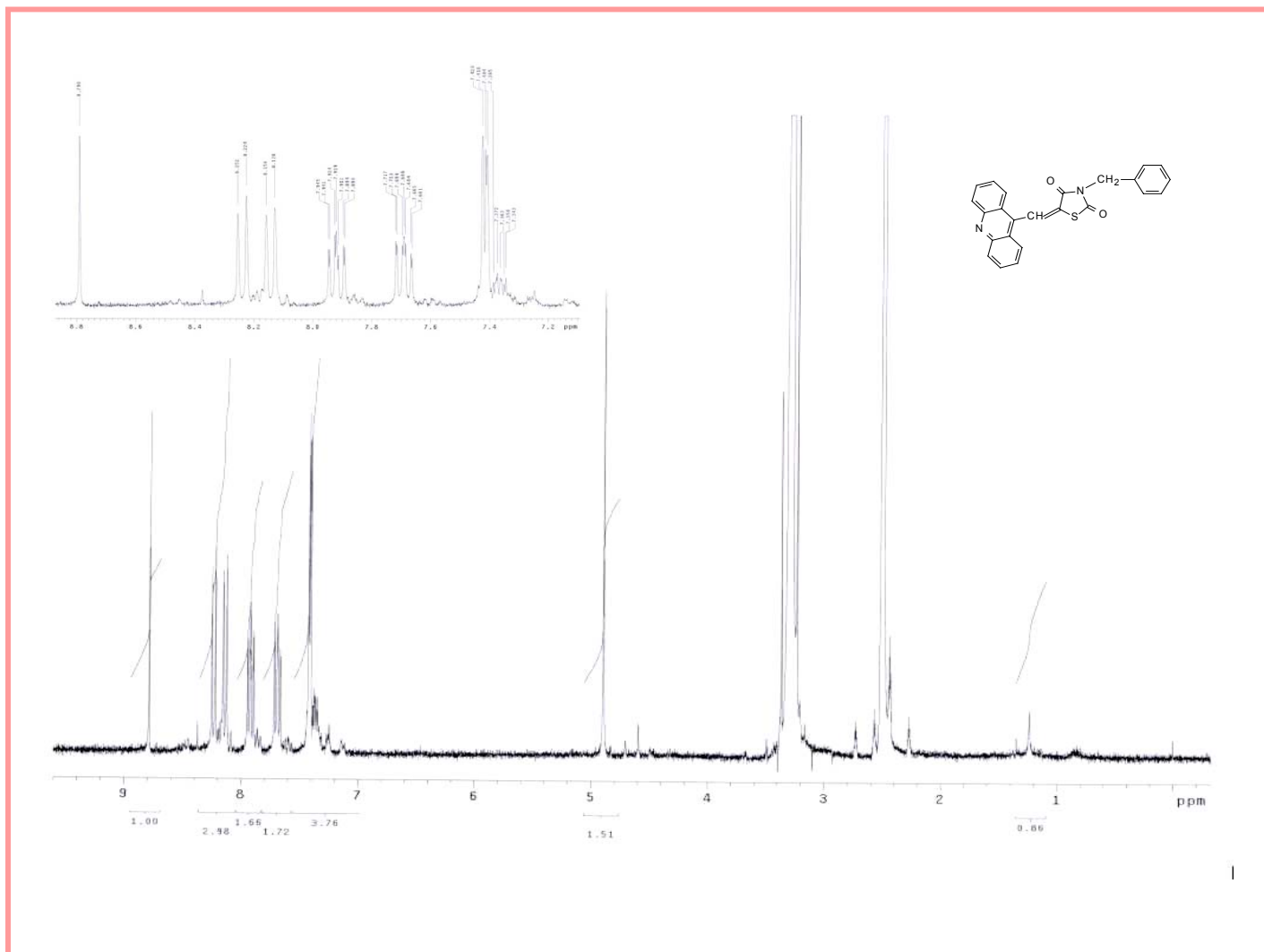


Figura 9 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (6j)



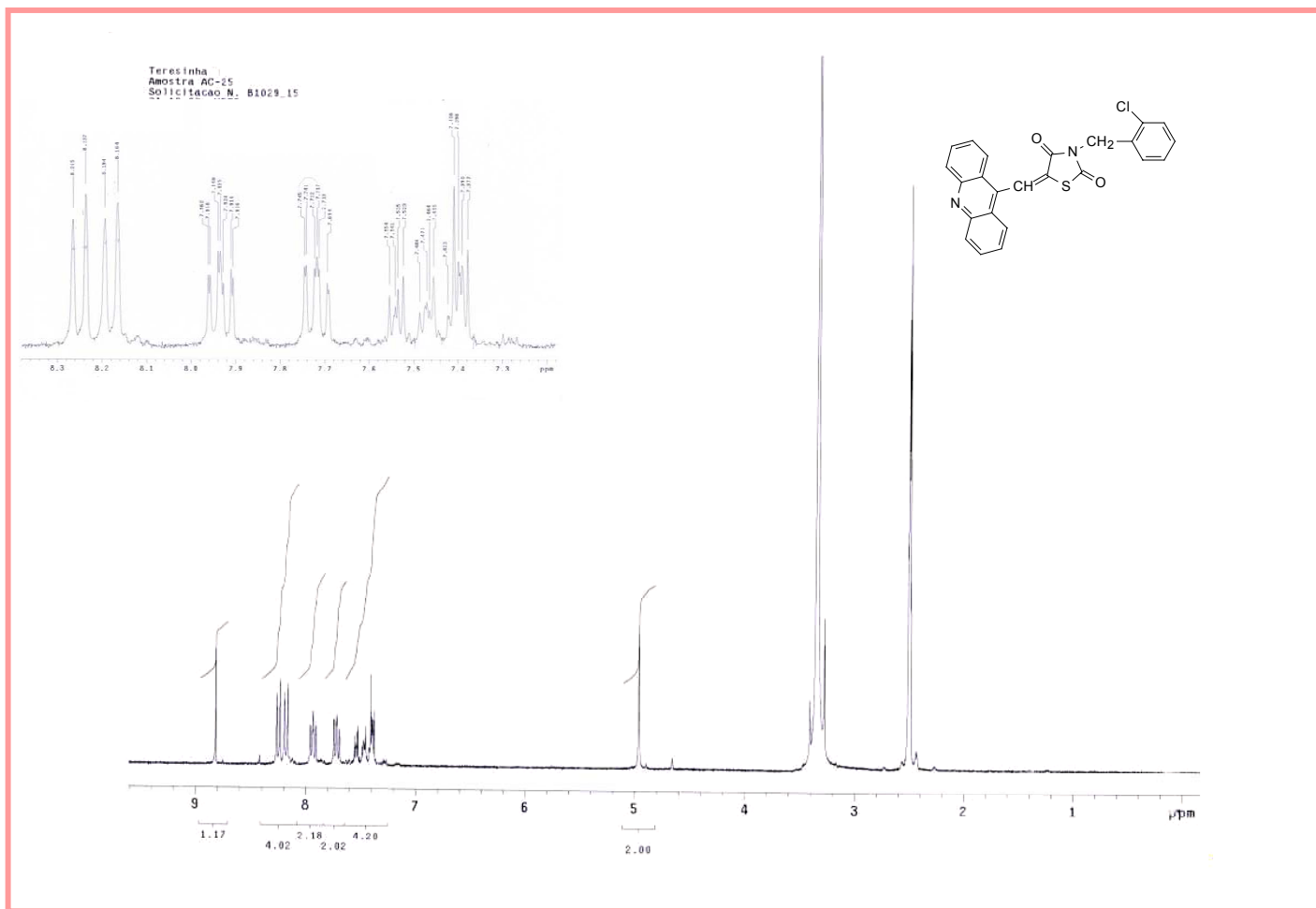


Figura 10 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6k)

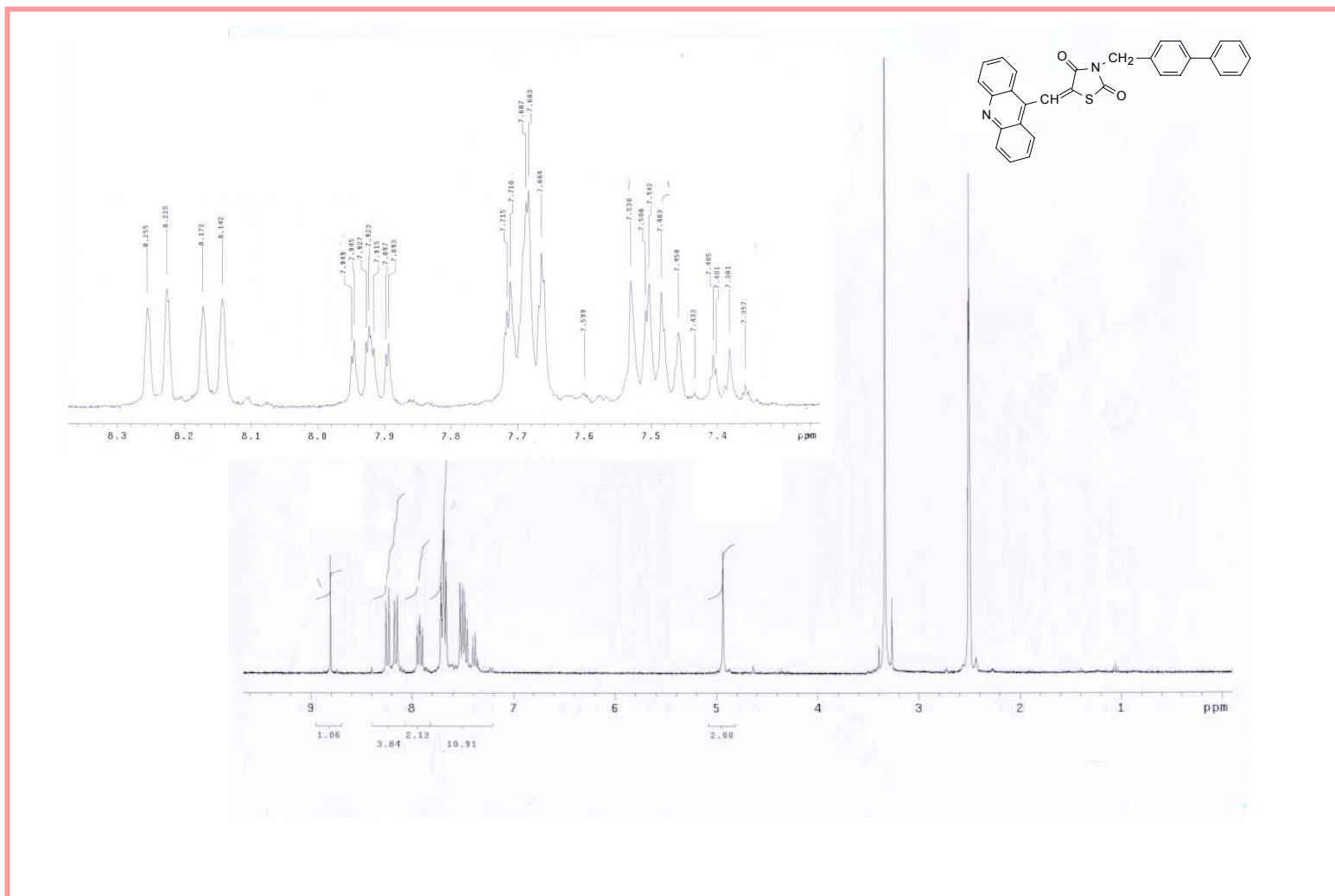


Figura 11 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6I)

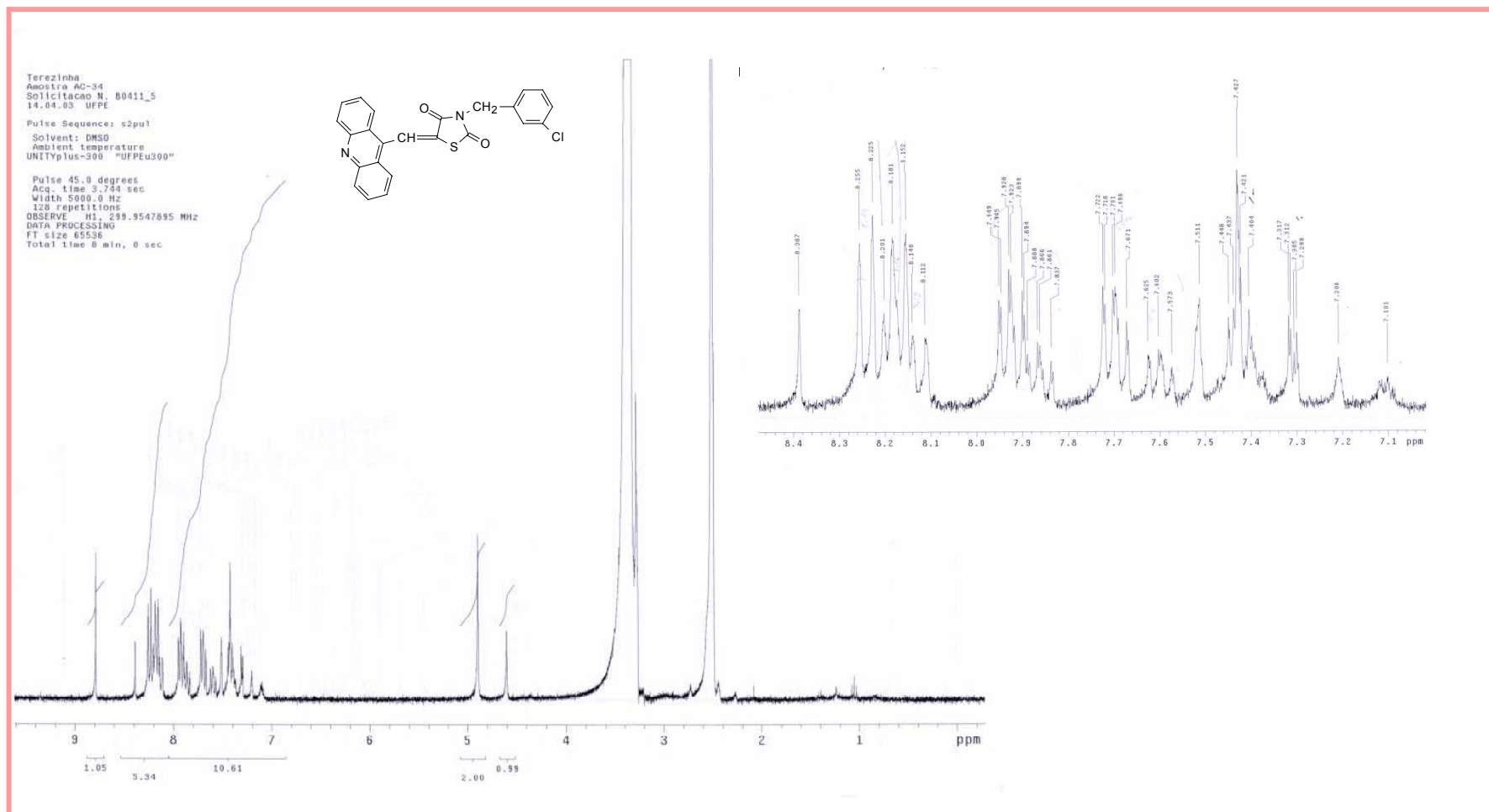


Figura 12 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6m)

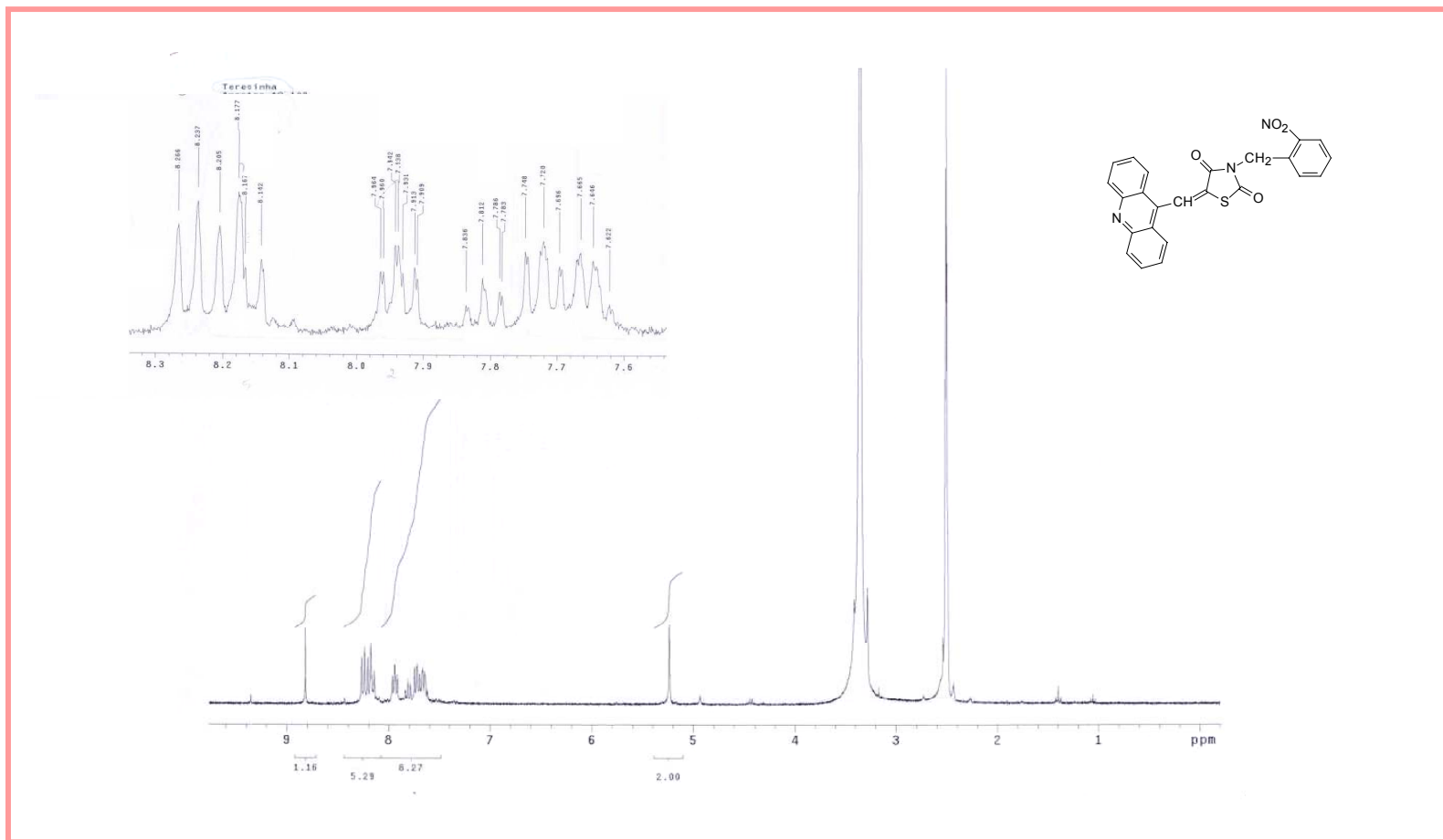


Figura 13 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6n)

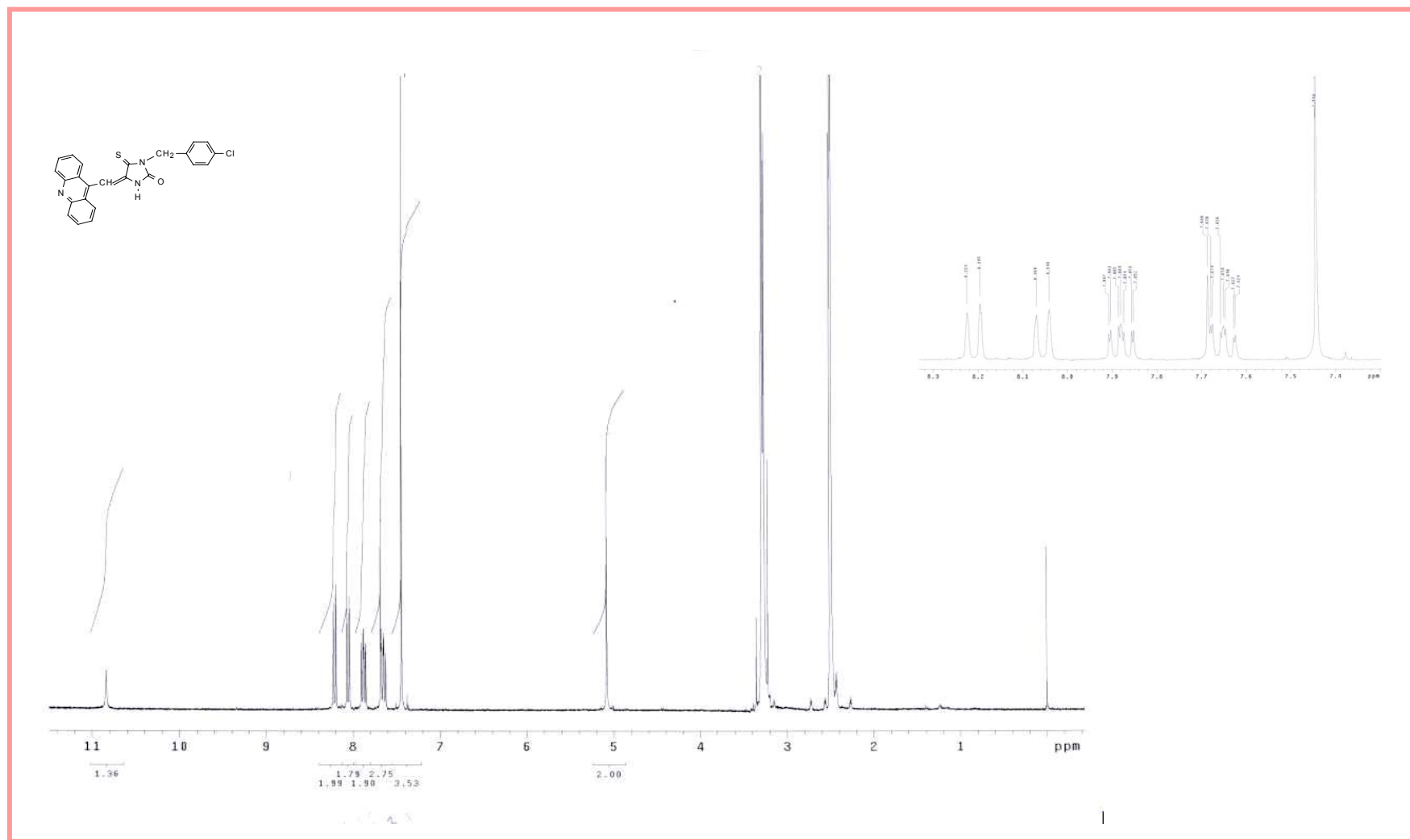


Figura 14 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidina-2-ona (10a)

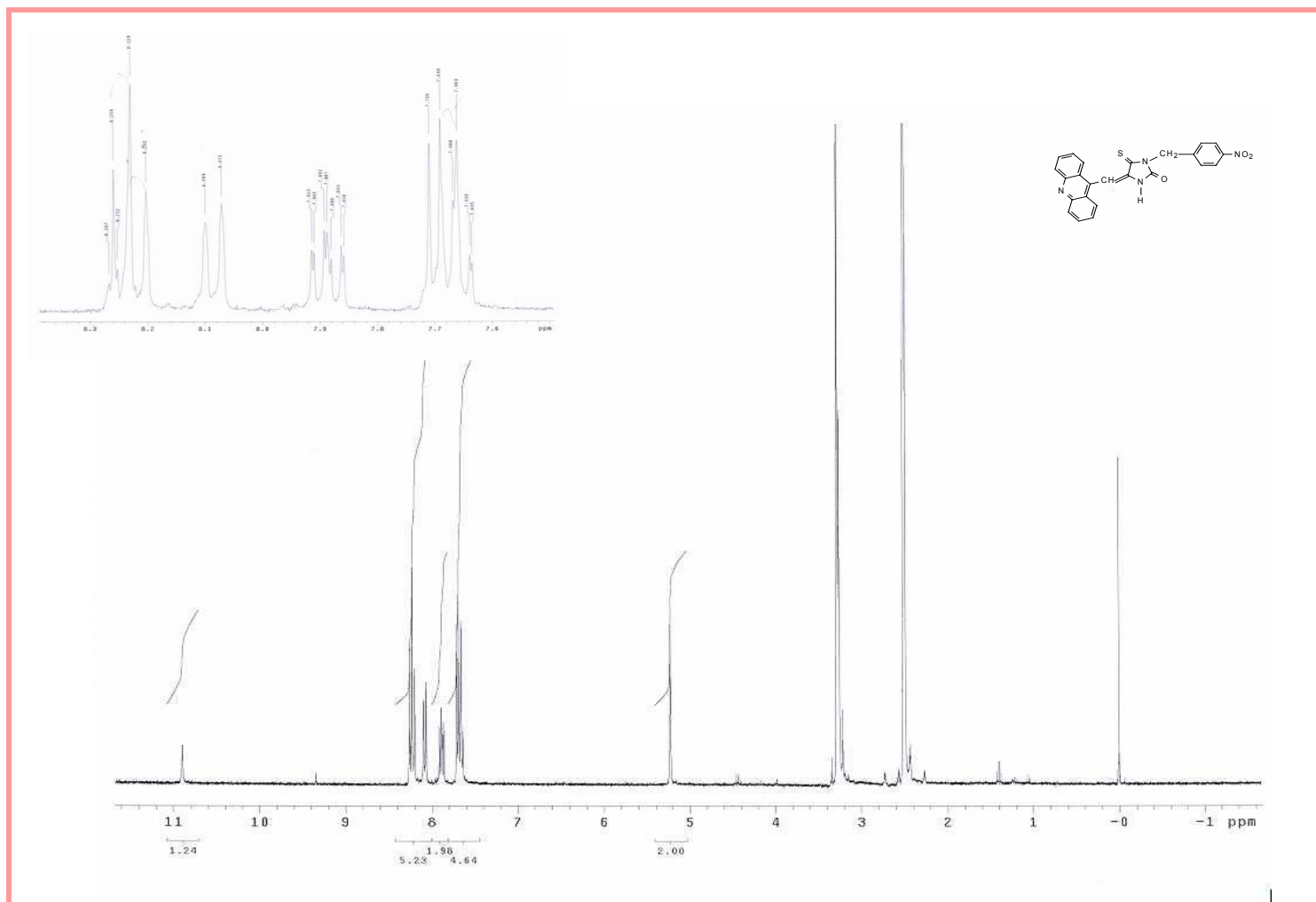


Figura 15 - Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxi-imidazolidina-2-ona (10b)

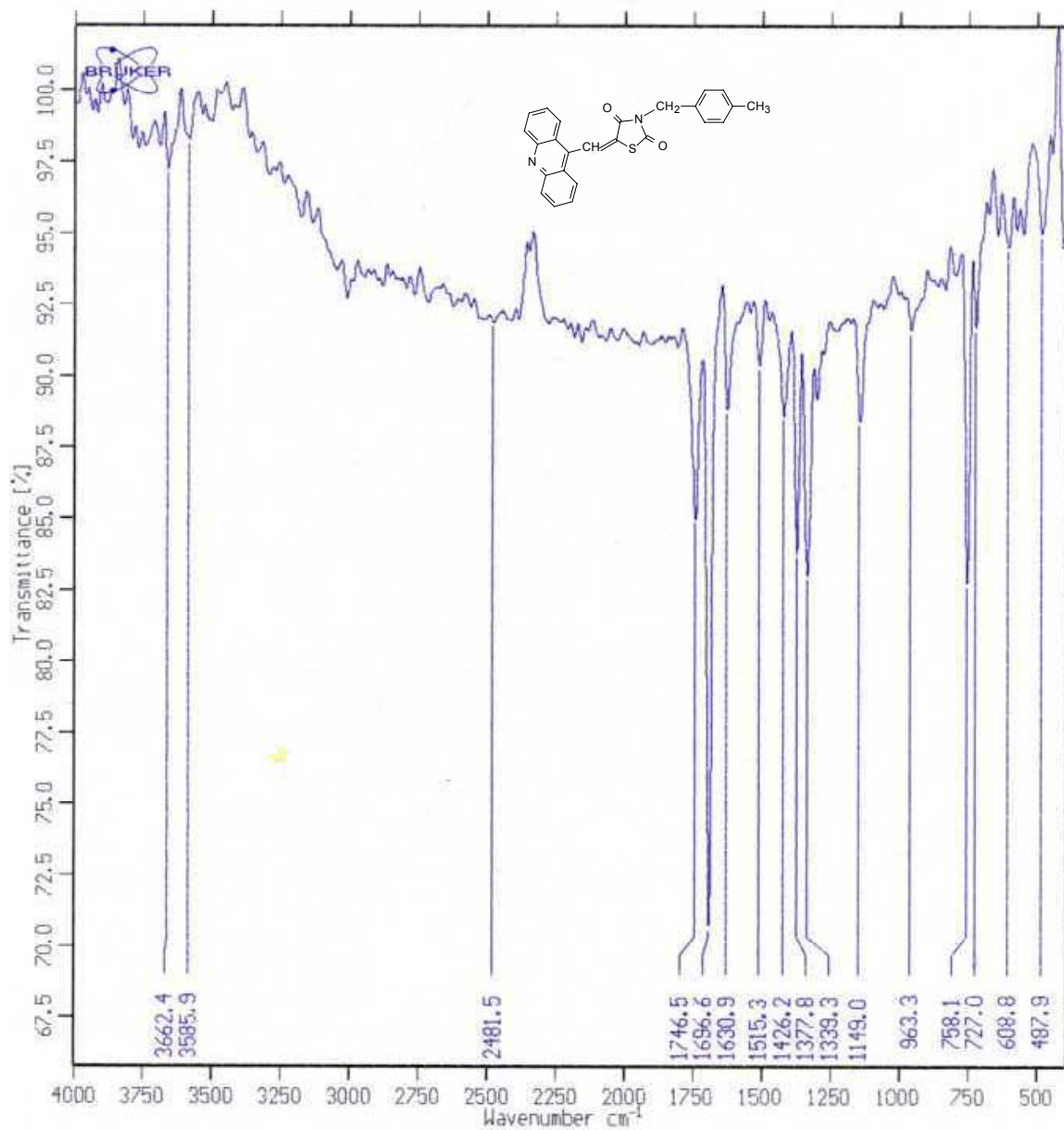


Figura 16 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-metil-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (**6a**)

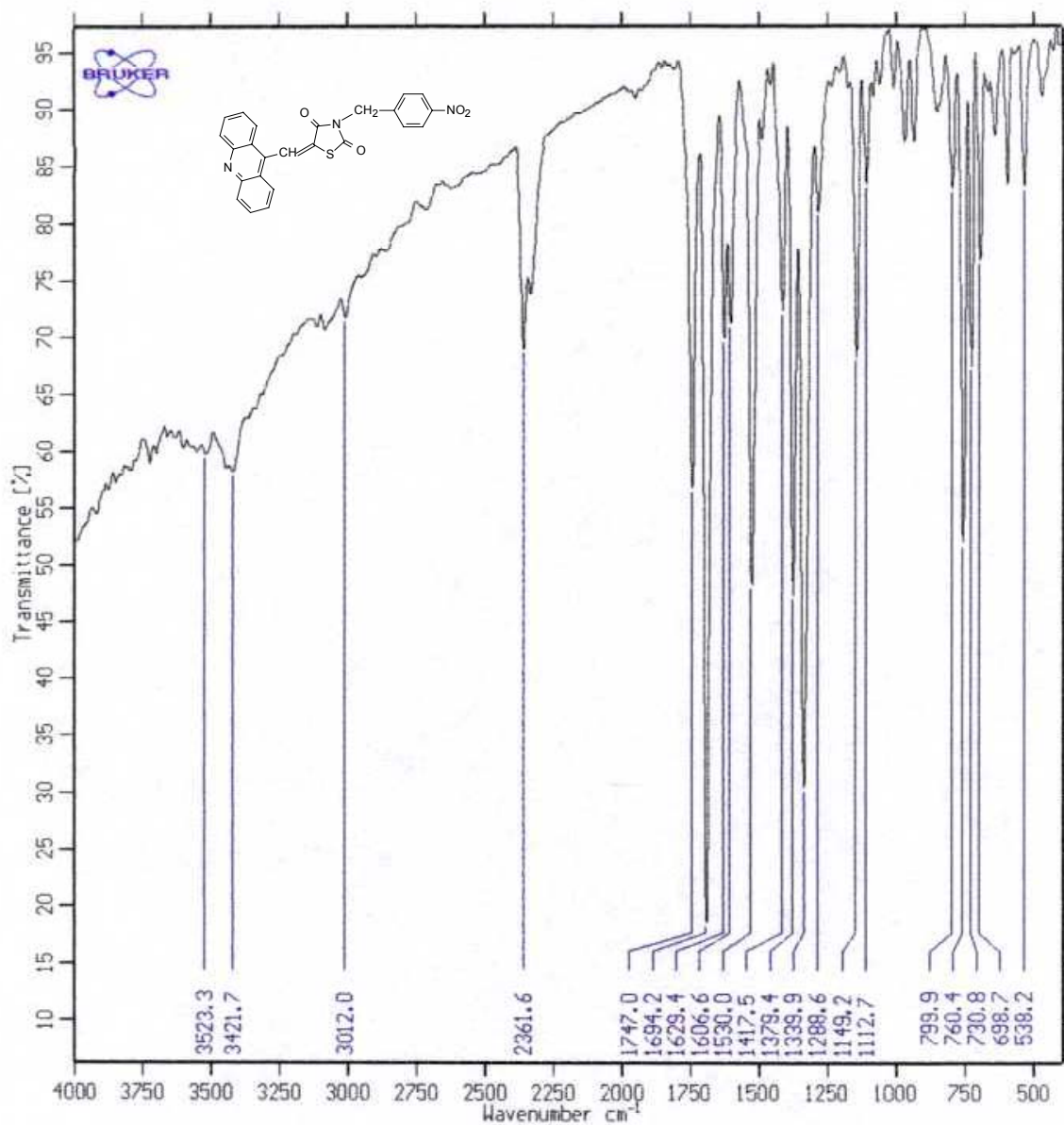


Figura 17 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6b**)



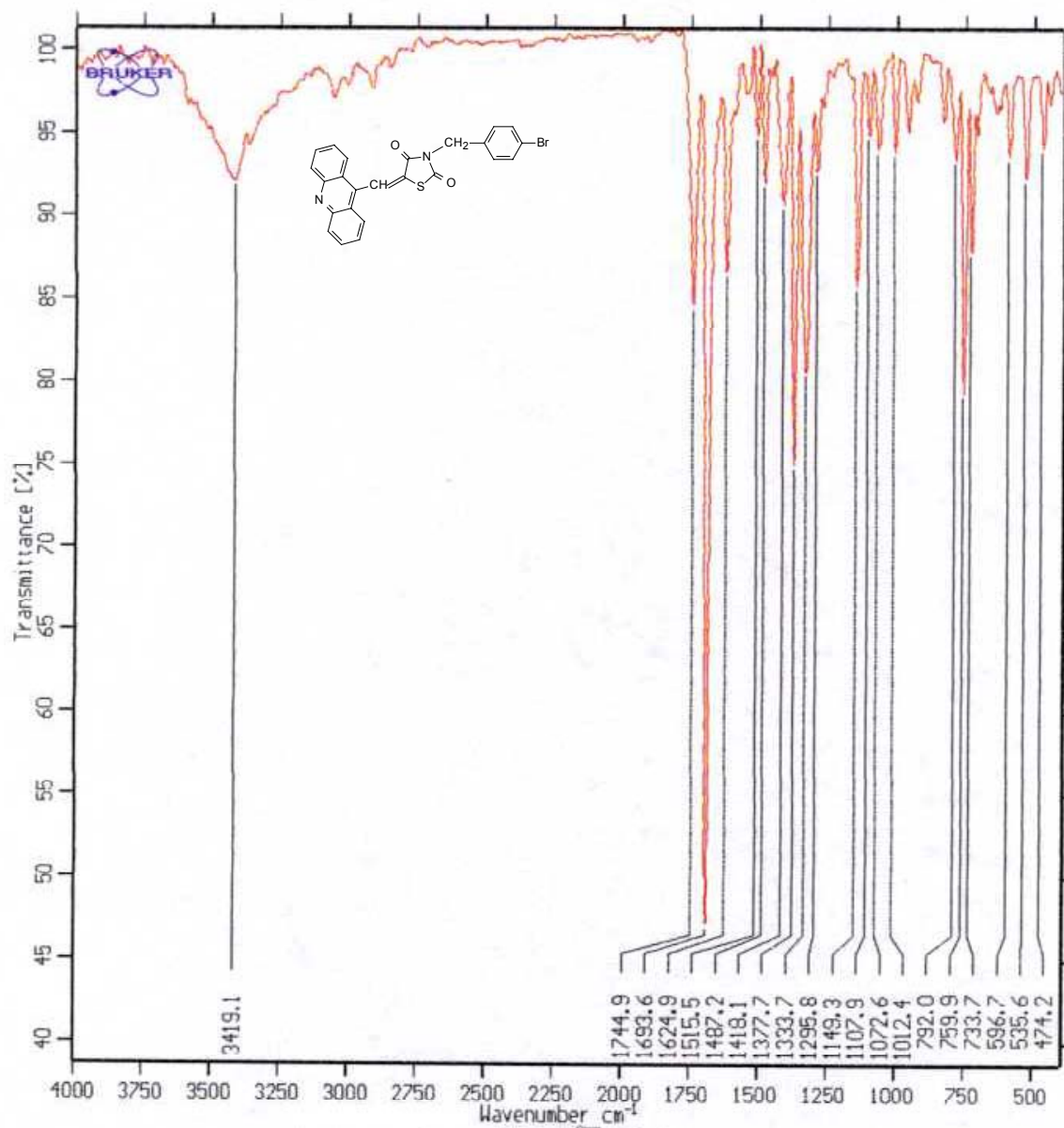


Figura 18 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (**6c**)

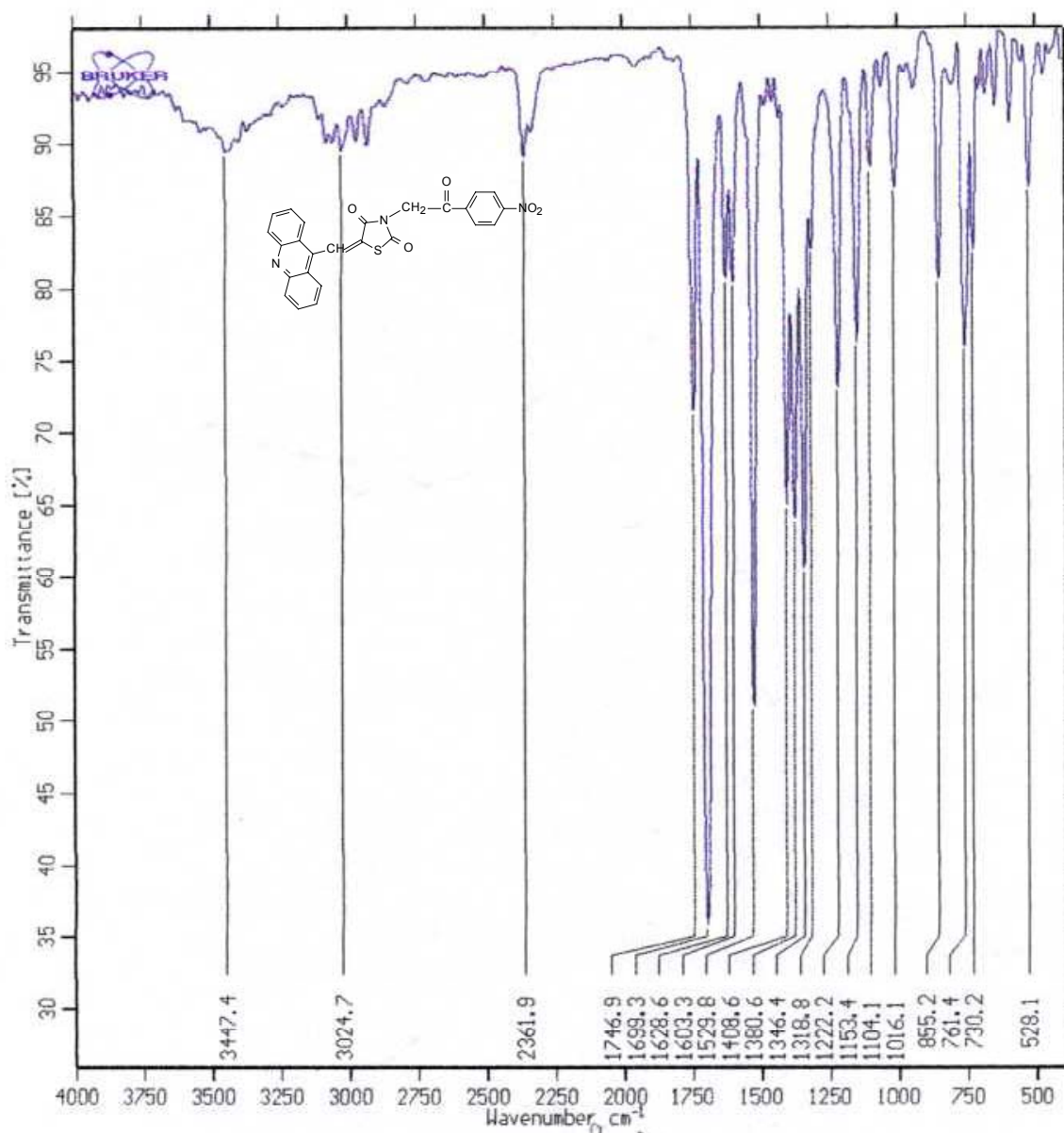


Figura 19 - Espectro de infravermelho, em cm<sup>-1</sup>, da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-nitro-(2-fenil-2-oxo-  
etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6d)

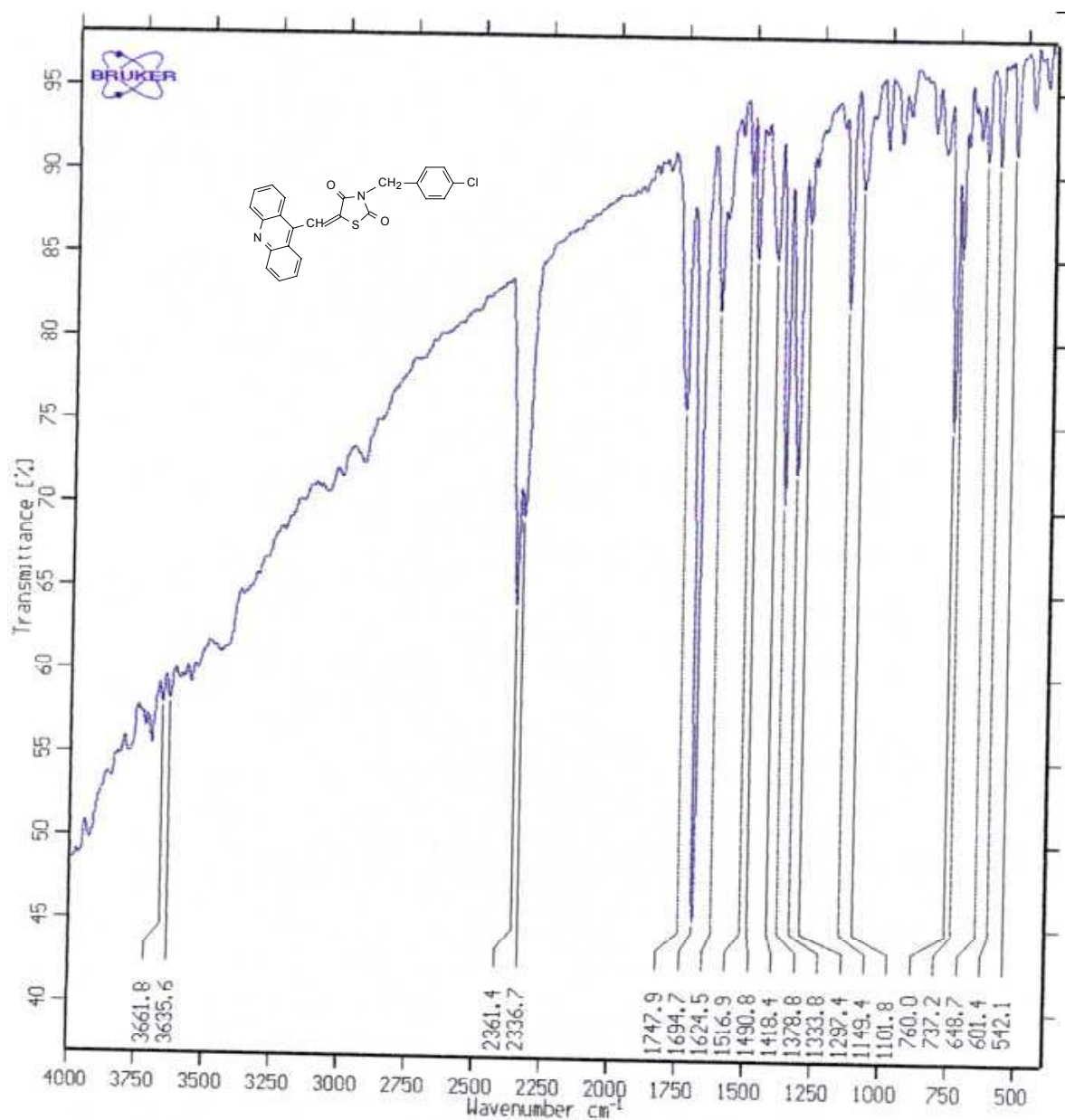


Figura 20 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6e**)

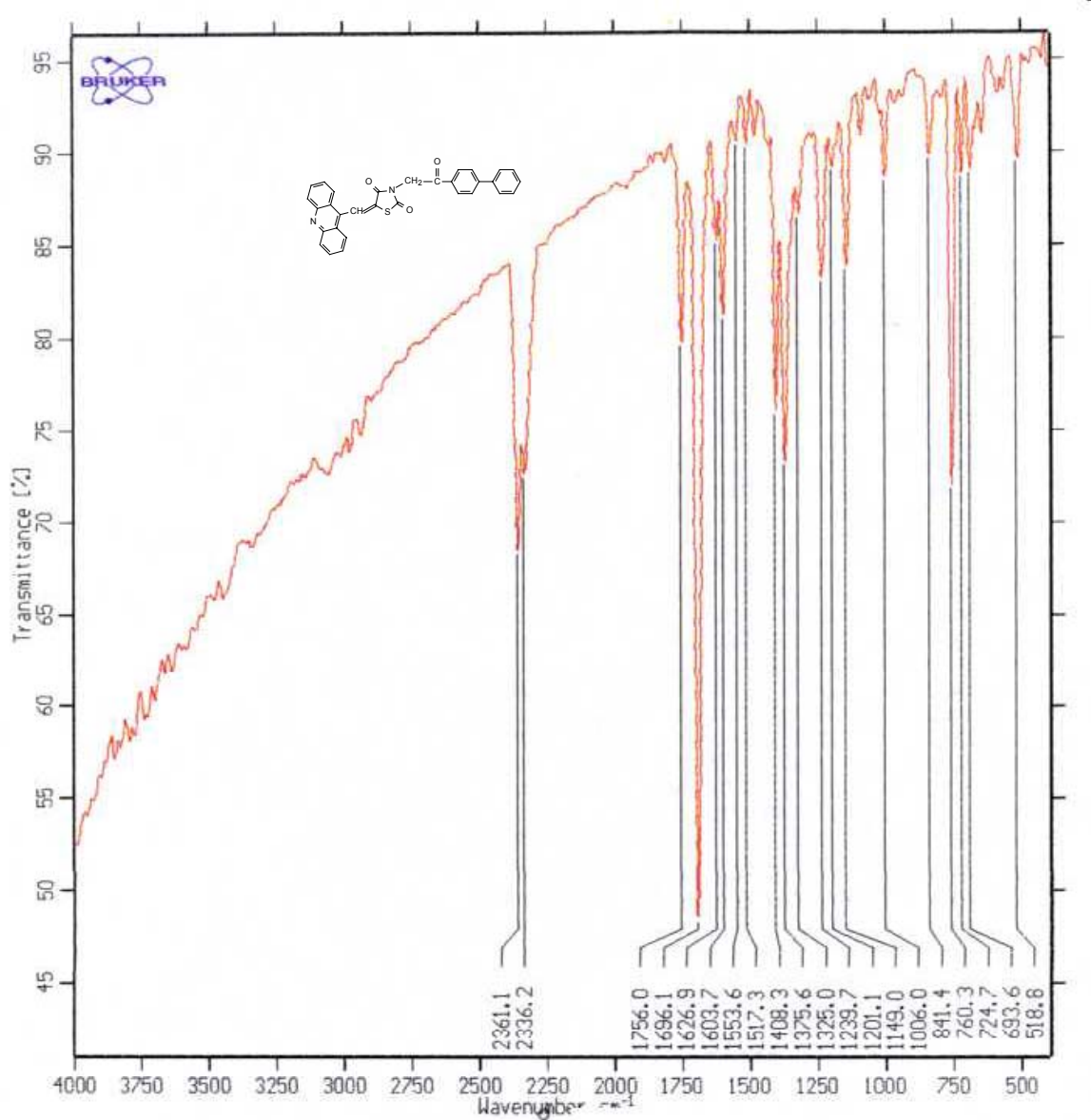


Figura 21 - Espectro de infravermelho, em cm<sup>-1</sup>, da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fenil-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6f)

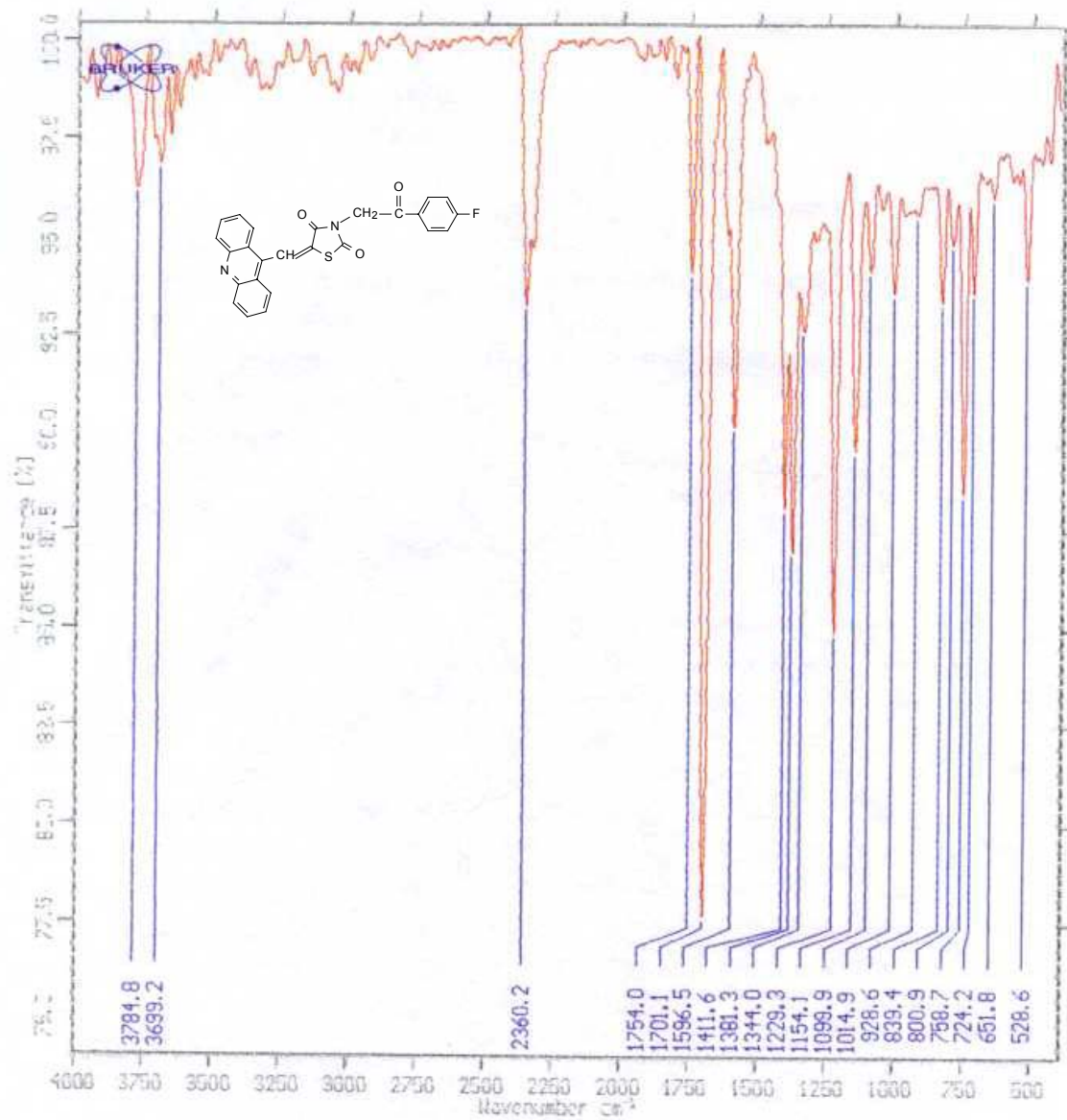


Figura 22 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fluor-(2-fenil-2-oxo-  
etil)]-tiazolidina-2,4-diona (**6g**)

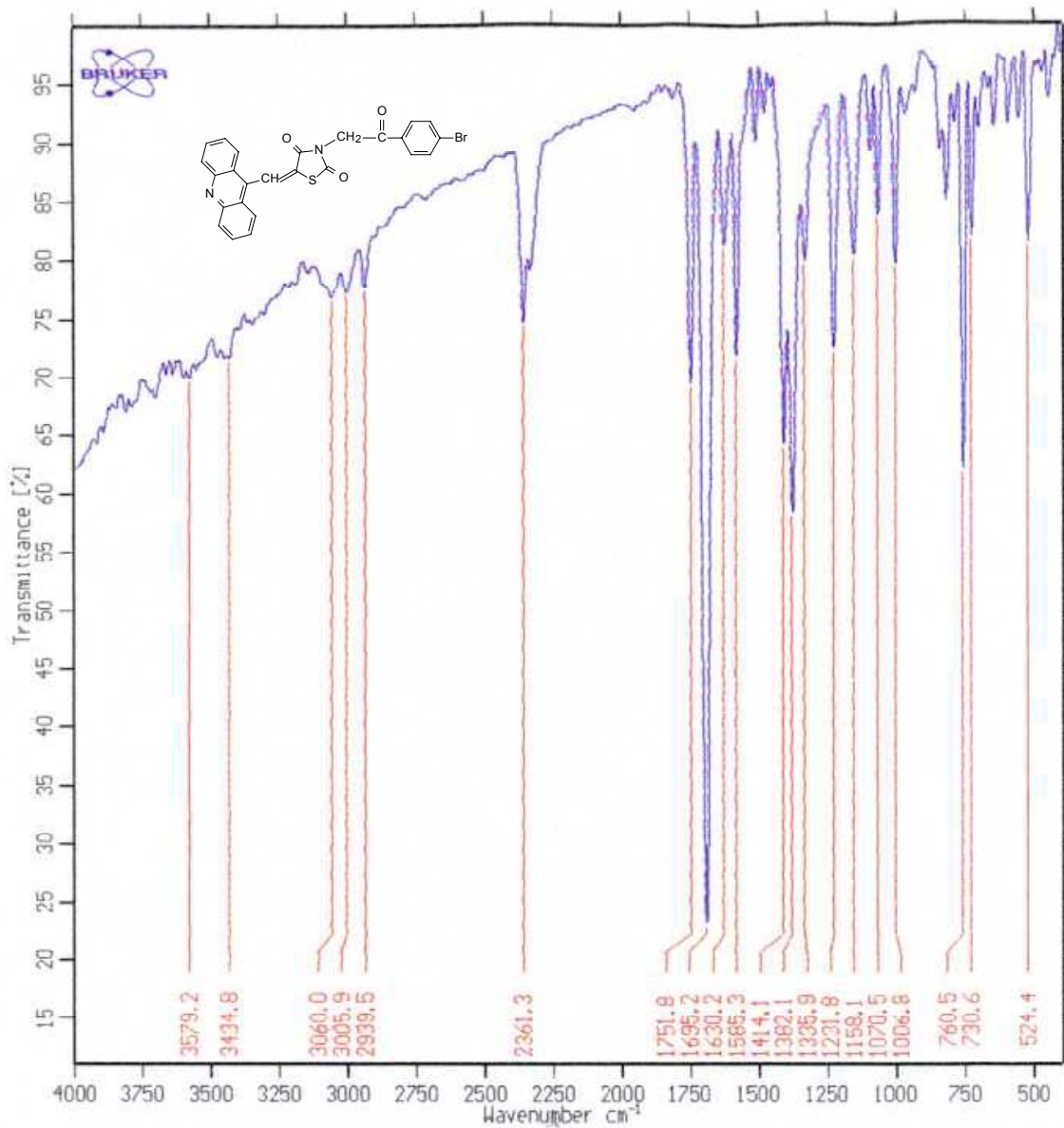


Figura 23 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-bromo-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6h)

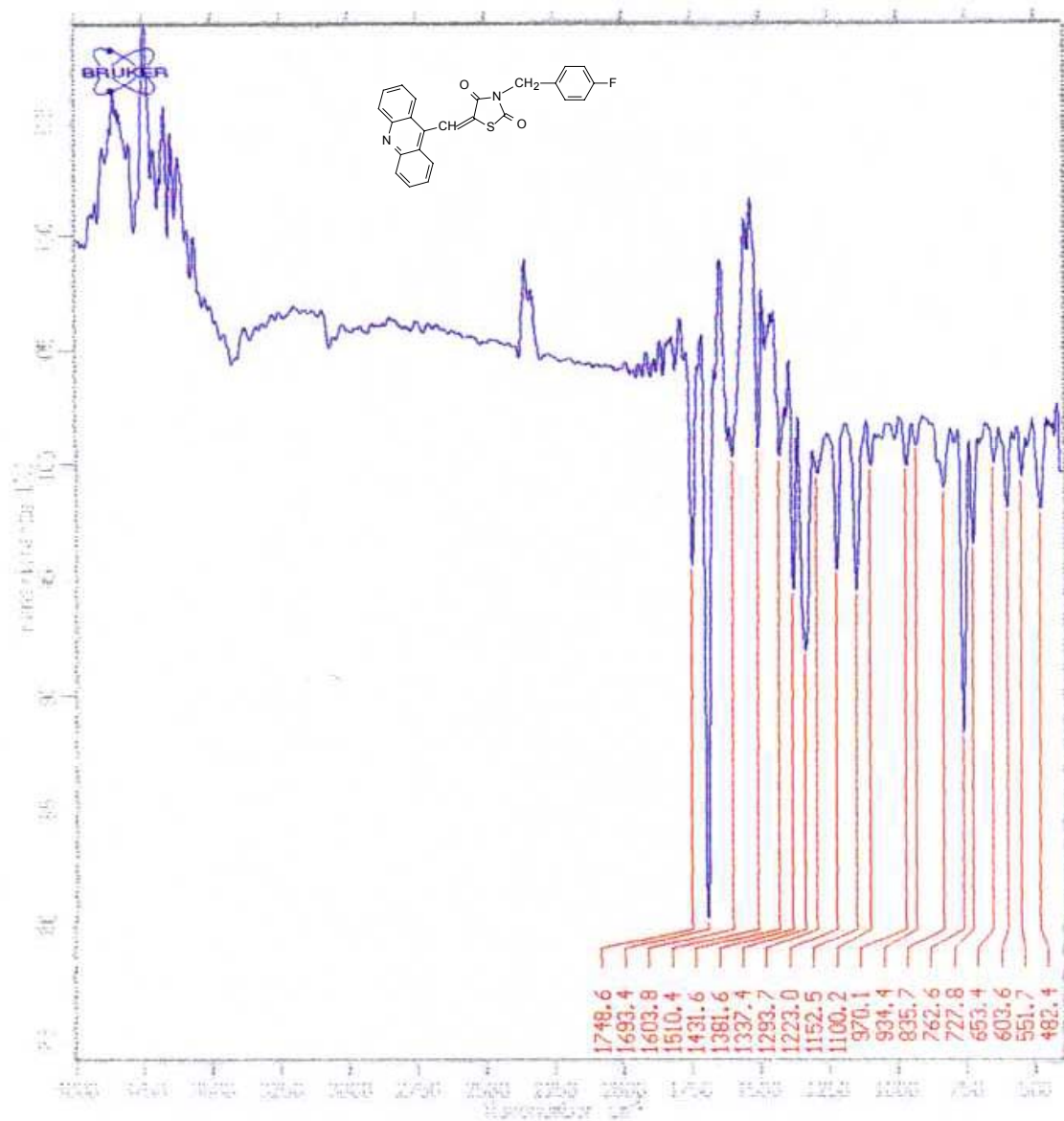


Figura 24 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6i**)

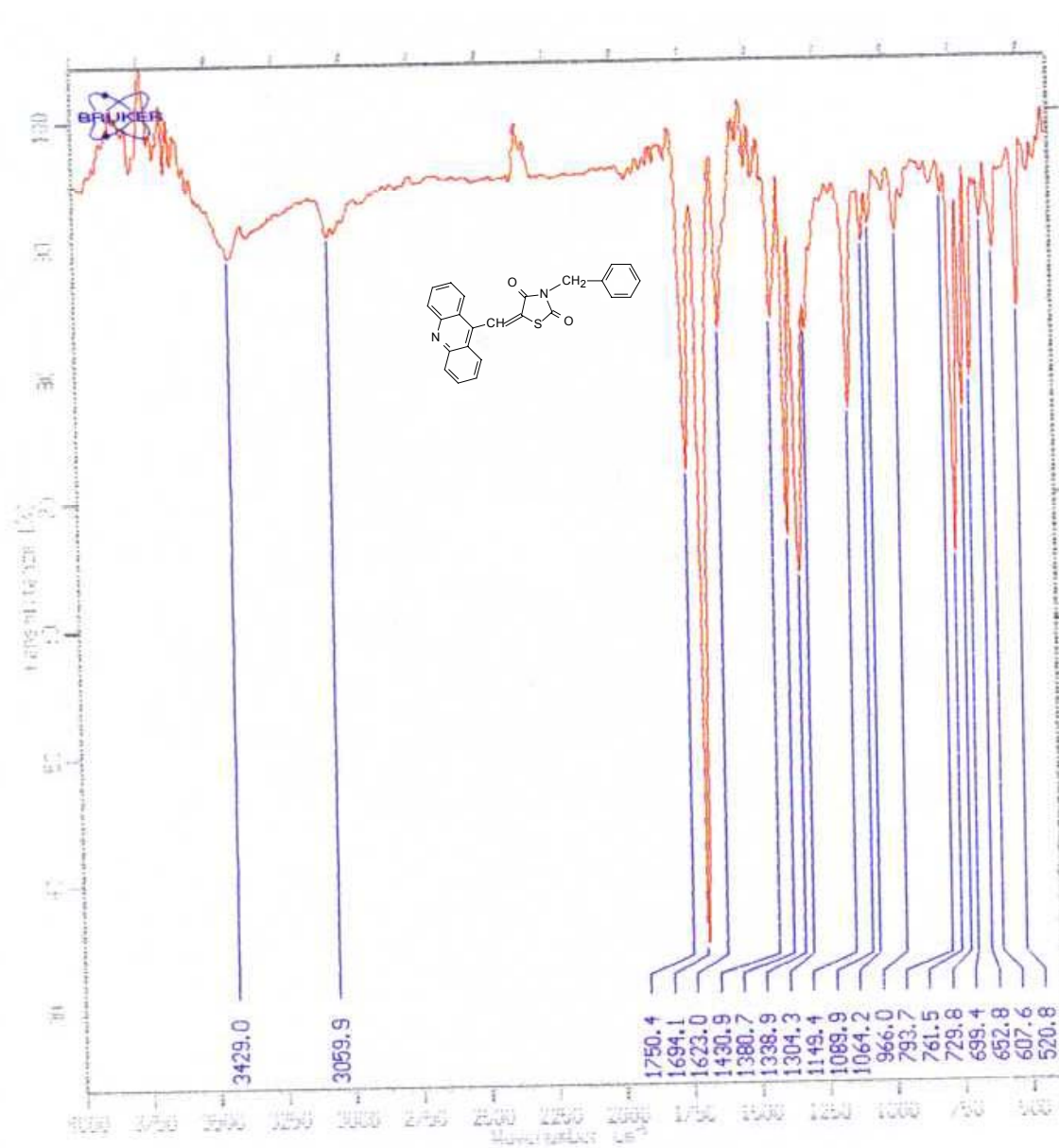


Figura 25 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (6j)



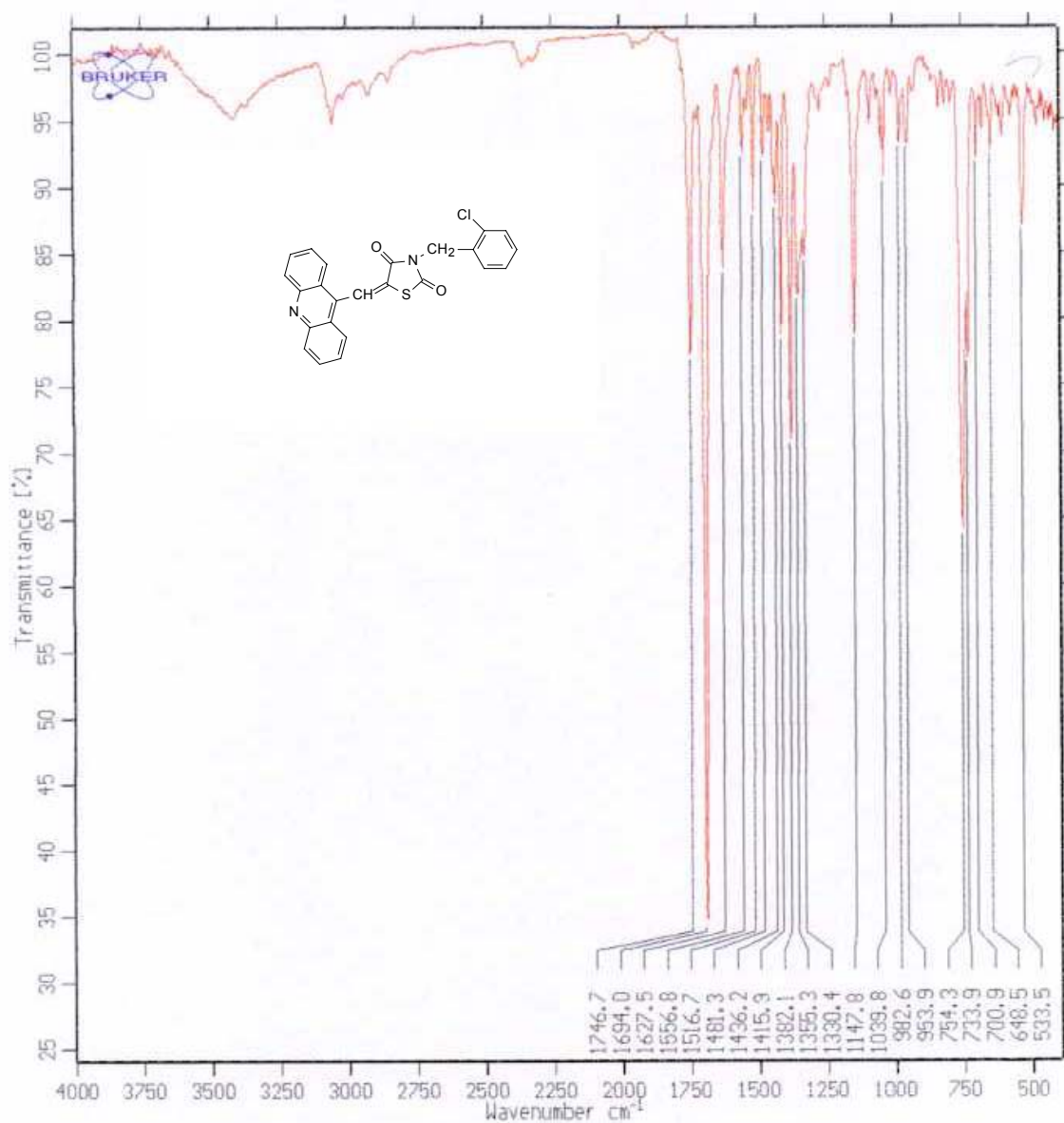


Figura 26 - Espectro de infravermelho, em cm<sup>-1</sup>, da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-cloro-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (**6k**)

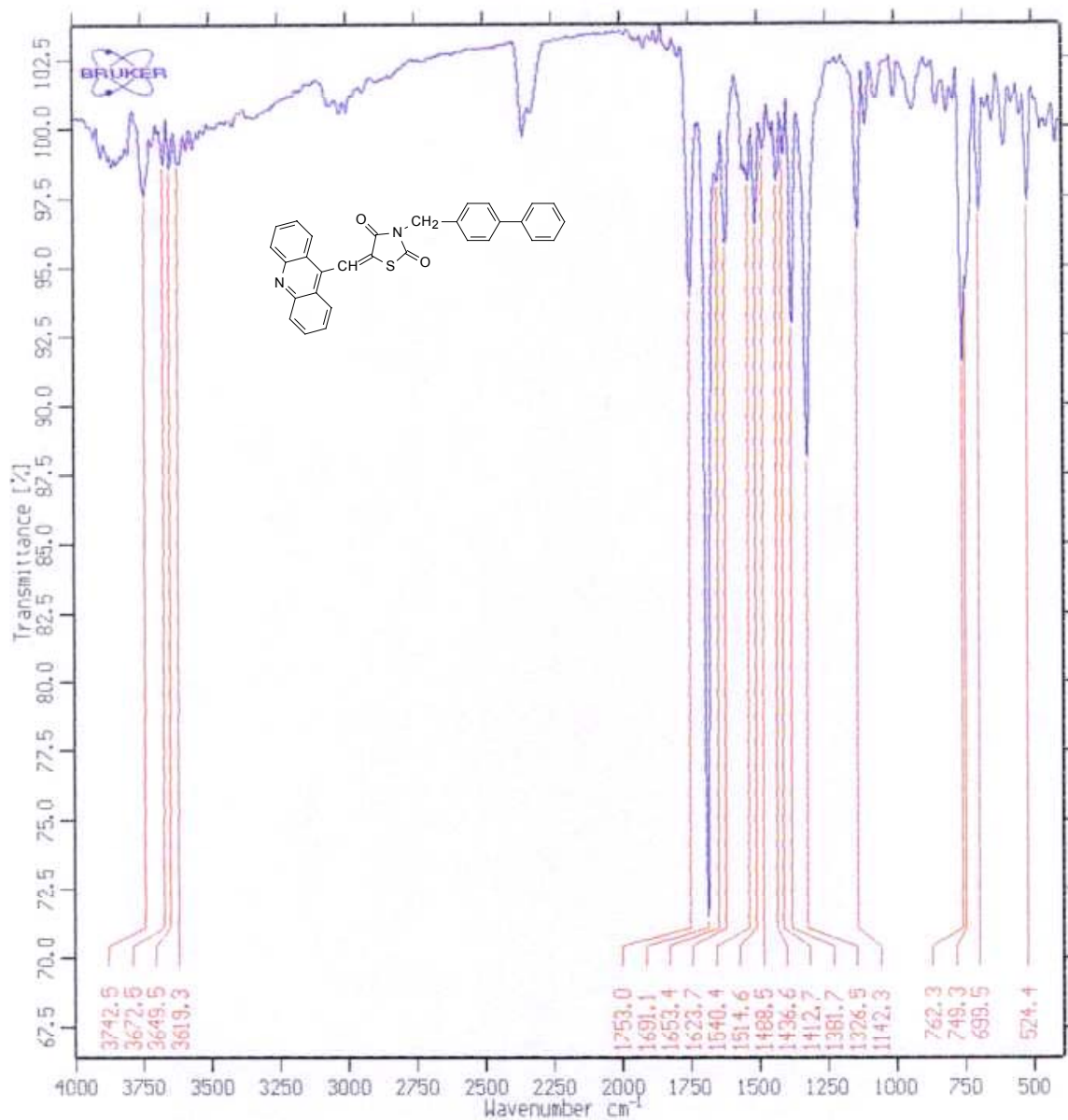


Figura 27 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-fenil-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (6l)

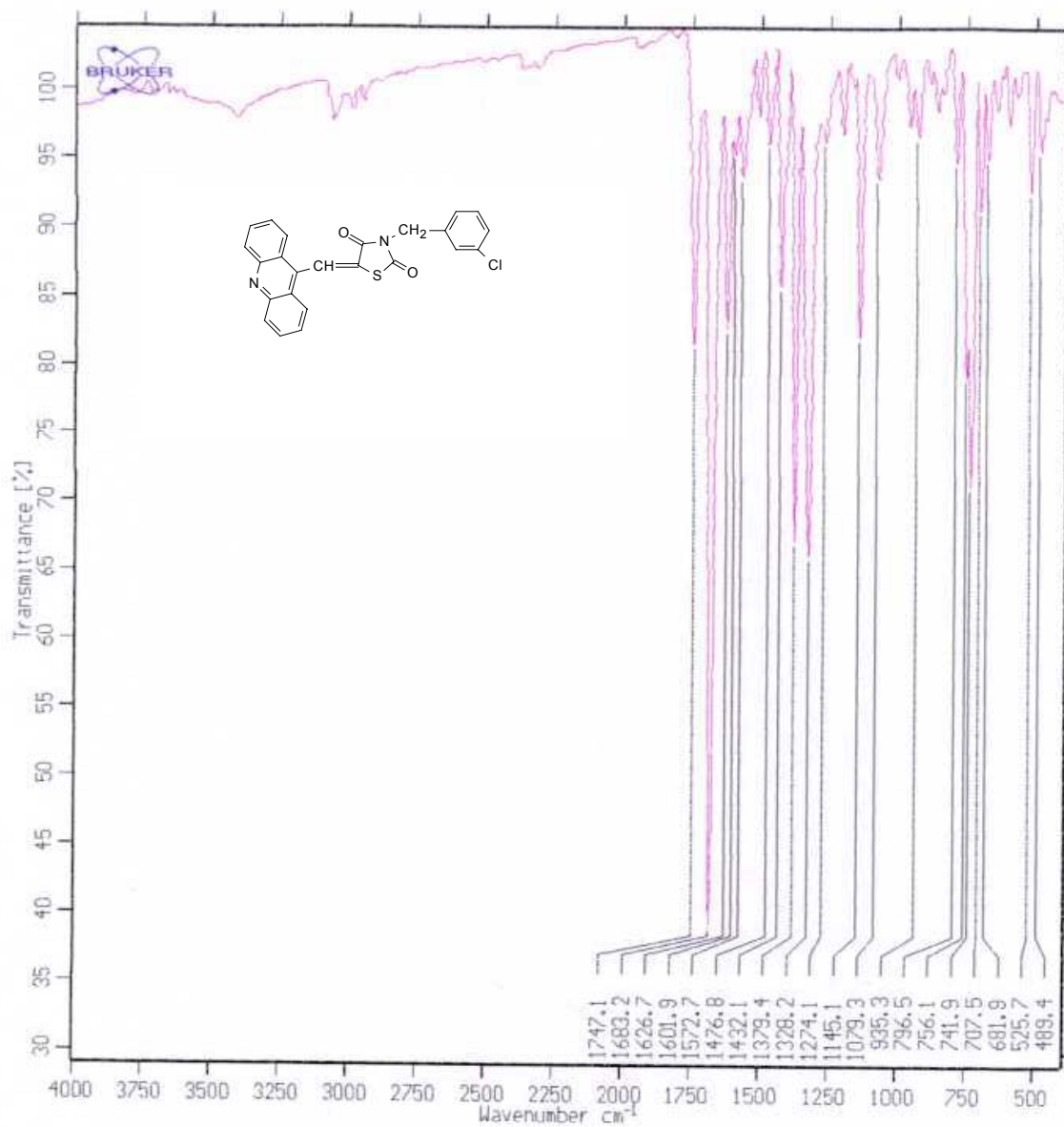


Figura 28 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(3-cloro-benzil)-  
tiazolidina-2,4-diona (6m)

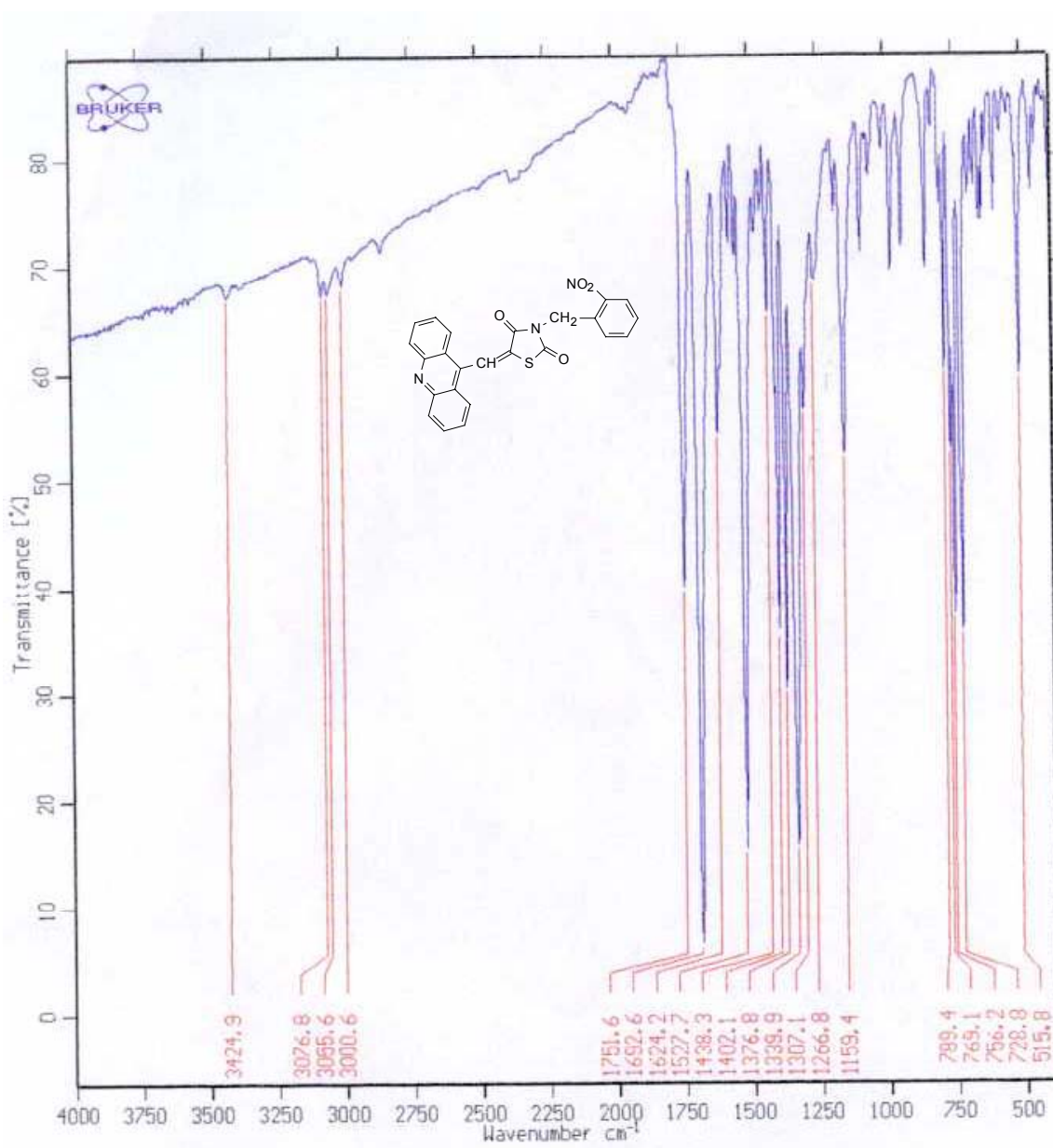


Figura 29 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(2-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (**6n**)

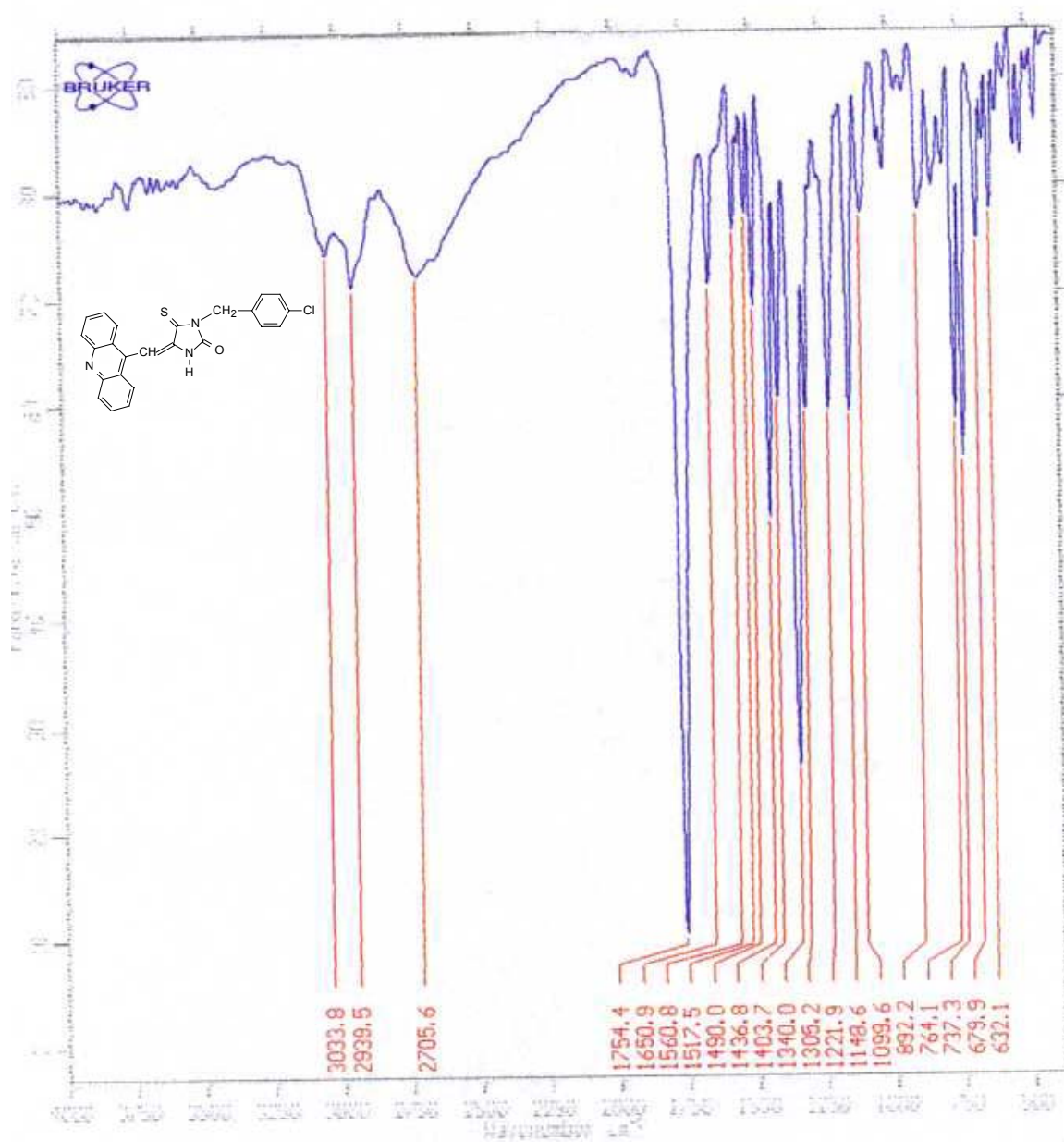


Figura 30 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidina-2-ona (10a)

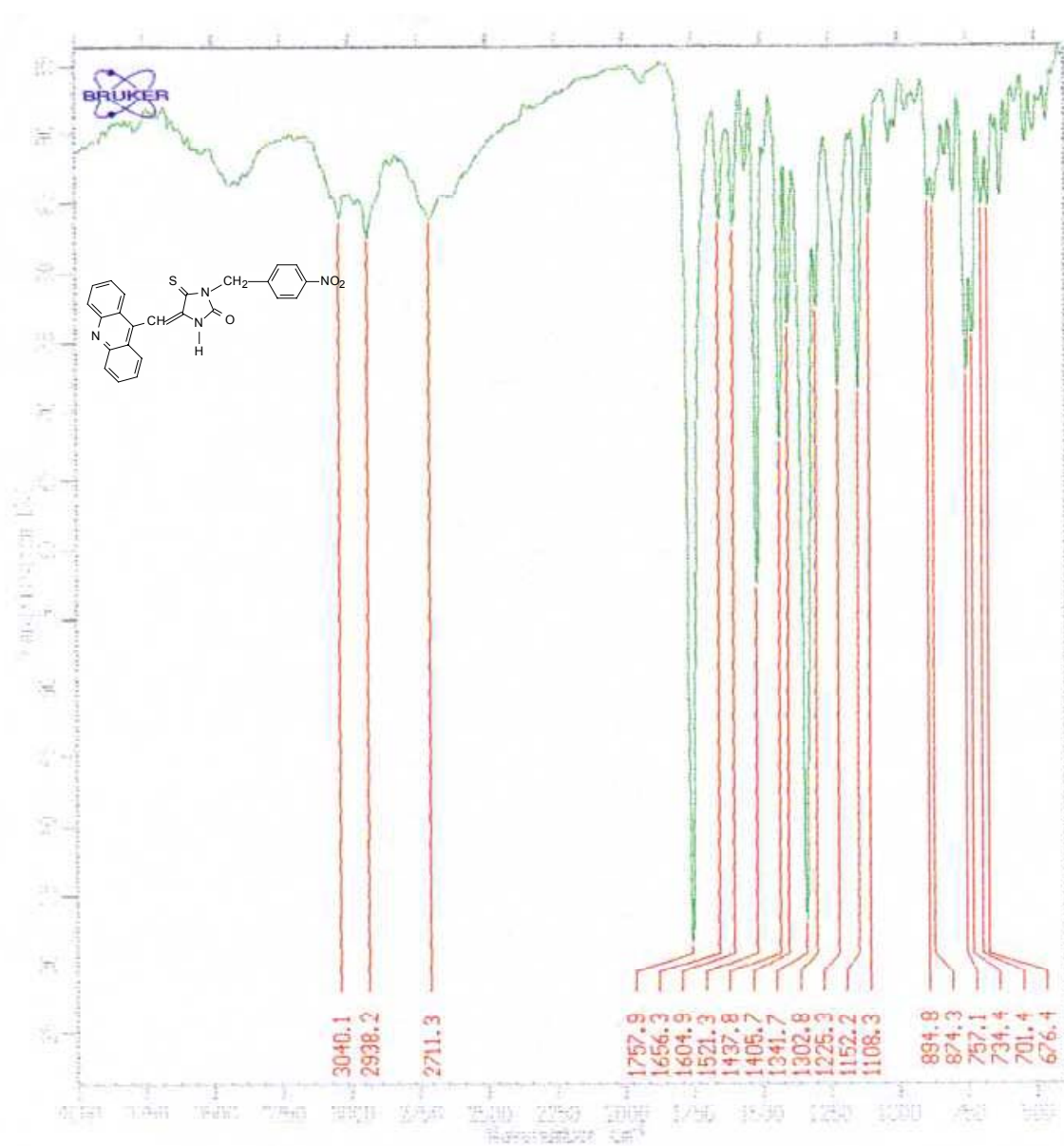


Figura 31 - Espectro de infravermelho, em  $\text{cm}^{-1}$ , da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-4-tioxi-imidazolidina-2-ona (10b)

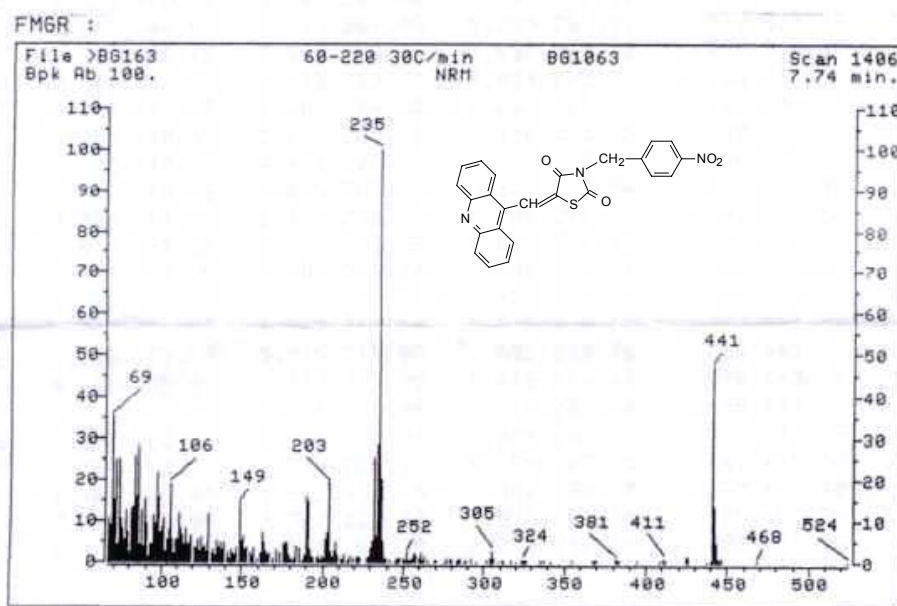


Figura 32 –Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-nitro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6b)

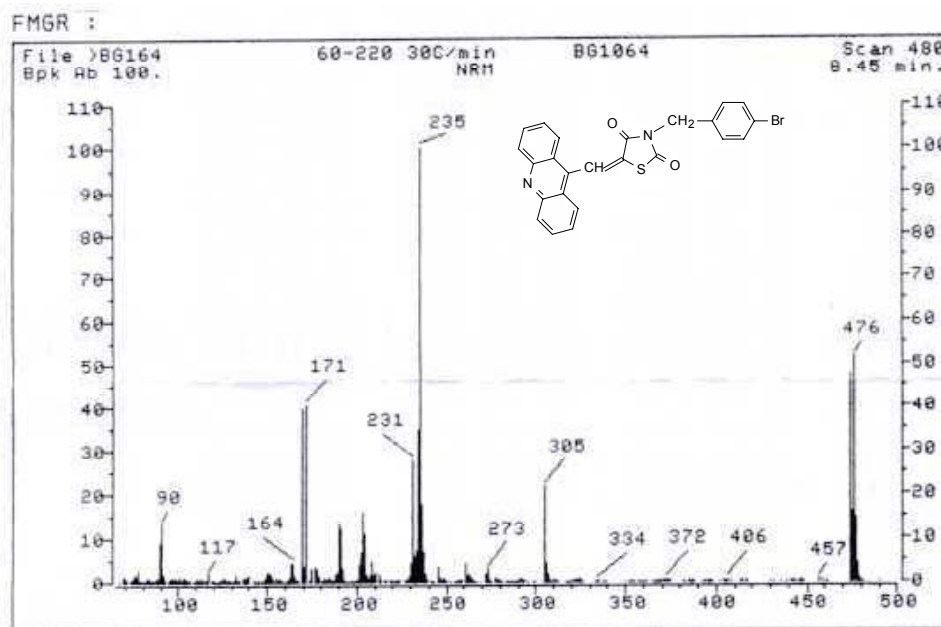


Figura 33 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-bromo-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6c)

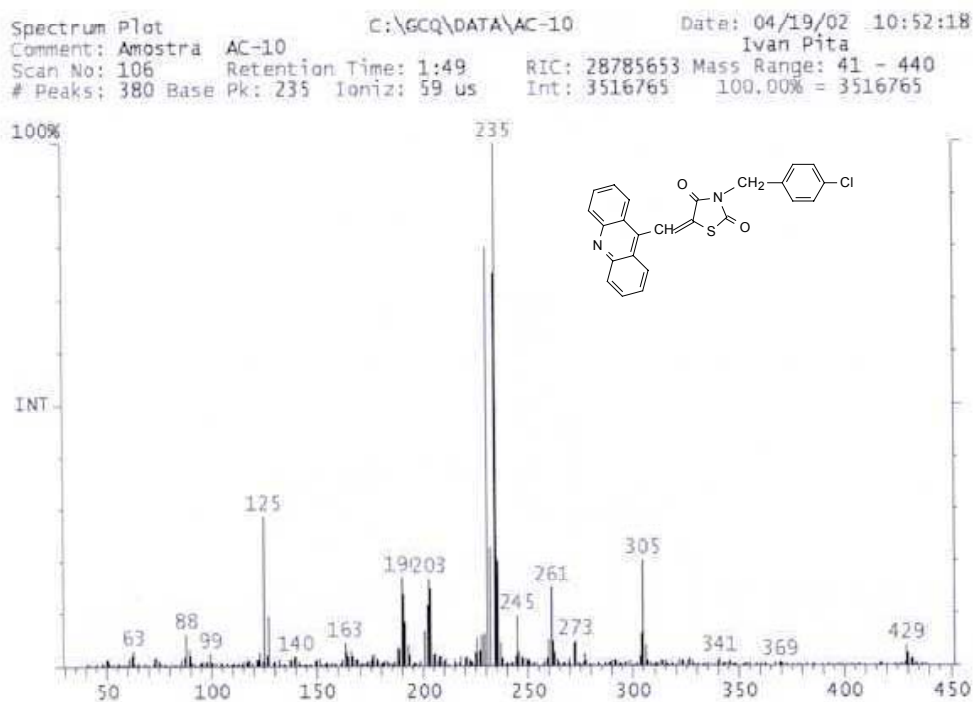


Figura 34 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona  
(6e)

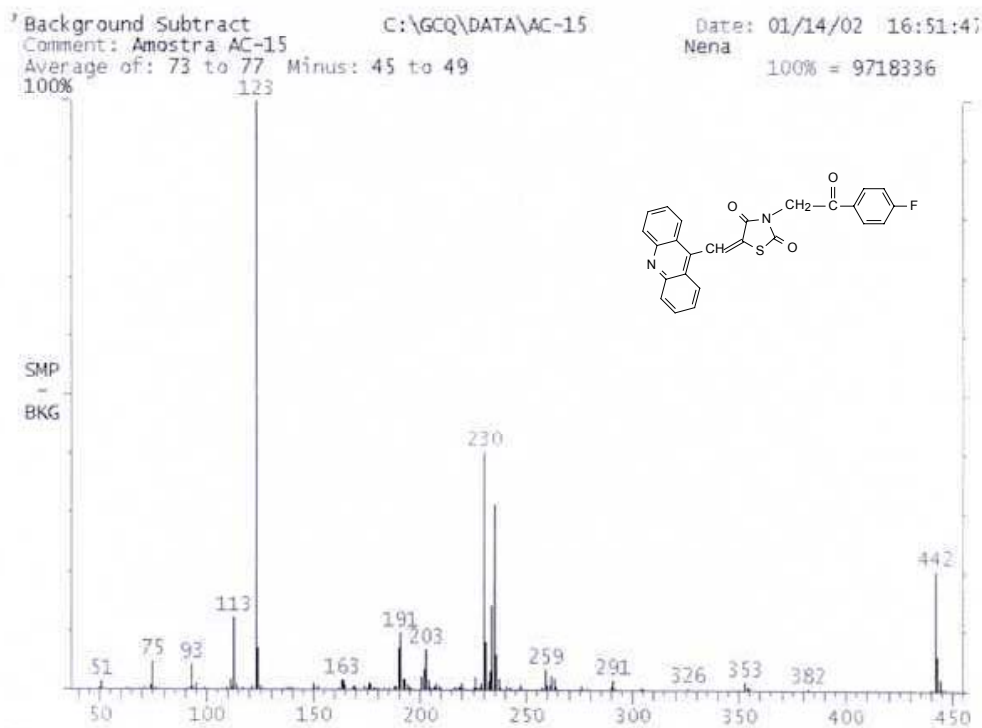


Figura 35 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-[4-fluor-(2-fenil-2-oxo-etil)]-tiazolidina-2,4-diona (6g)



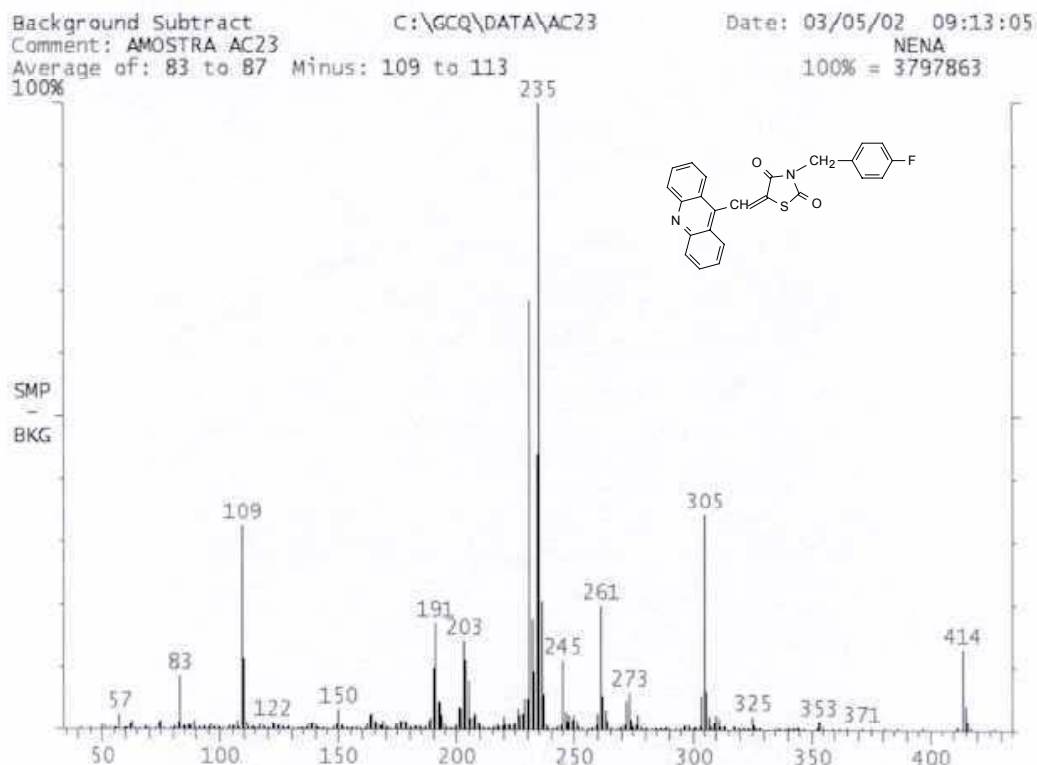


Figura 36 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (6i)

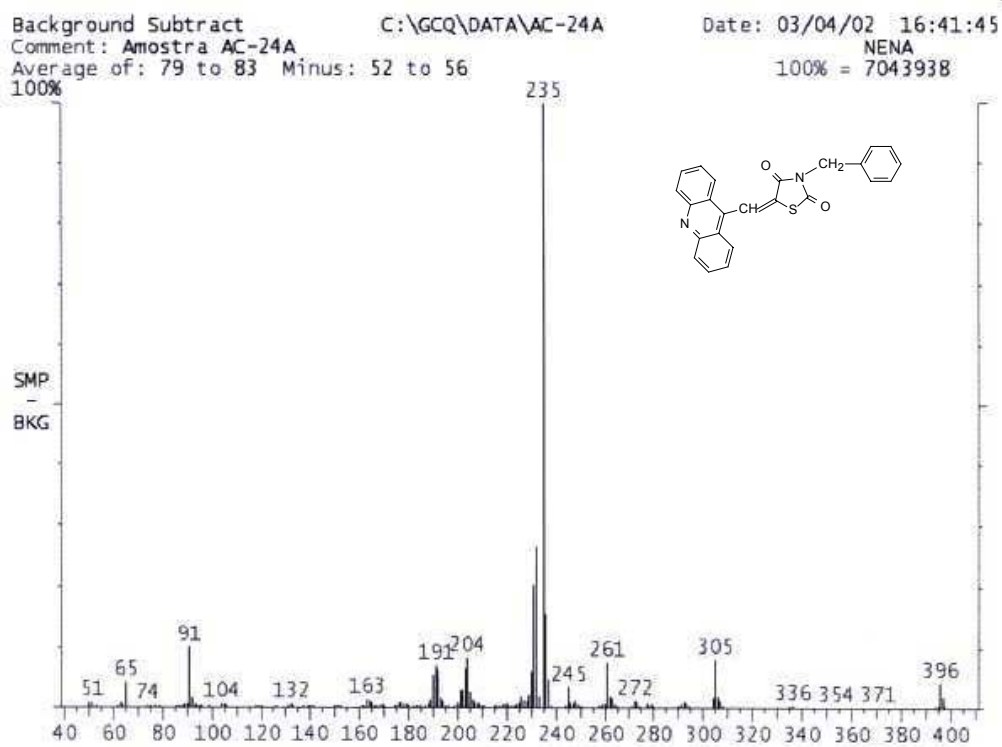


Figura 37 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (6j)

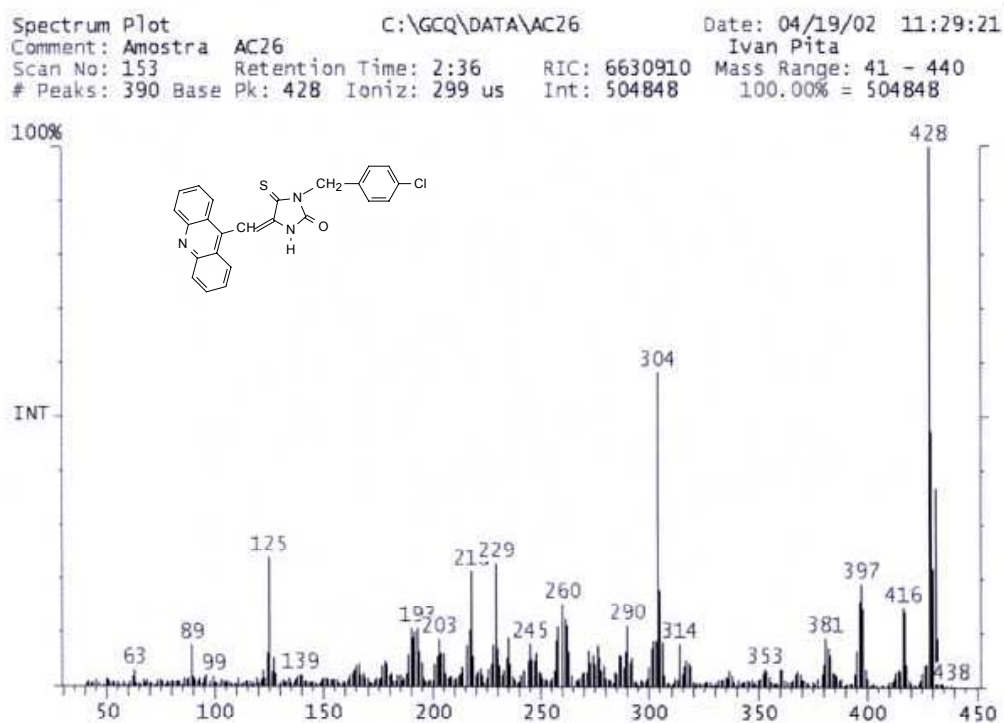


Figura 38 – Espectro de massa da 5-(acridina-9-il-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imdazolidina-2-ona (10a)

UFPE  
23076.004.33/2002-4  
1.1.0025/0013

### CONVENÇÃO DE COTUTELA DE TESE

Considerando as disposições legais e regulamentares que regem a cooperação entre estabelecimentos públicos em caracter científico, cultural e profissional com outros estabelecimentos públicos ou privados na França ou no estrangeiro.

Considerando o decreto de 30 de março de 1992 que regula na França os estudos de terceiro ciclo,

Considerando o decreto do Ministério francês do ensino superior e da pesquisa datado de 18 janeiro de 1994 relativo à criação de um procedimento de cotutela de tese entre estabelecimentos de ensino superior francês e estrangeiro.

Considerando a nota da direção geral de pesquisa e tecnologia do Ministério francês do ensino superior e da pesquisa MB/PG nº173 datado de 4 de julho de 1994,

entre, a Universidade Méditerranée (Aix-Marseille II), cuja sede se encontra em Marseille, França, 58 boulevard Charles Livon, representada por seu Presidente, agindo em nome da faculdade de Farmácia, GERCTOP-UMR CNRS 6009,

e a Universidade Federal de Pernambuco, cuja sede se encontra no Recife, Brasil, representada por seu Reitor agindo em nome do Doutorado do Centro de Ciências Biológicas, aqui abaixo designado estabelecimento associado.

ligados a um objetivo comum de desenvolver uma cooperação científica pela mobilidade de seus estudantes de doutorado, é decidido o que se segue:

#### I - MODALIDADES ADMINISTRATIVAS

##### Artigo 1

A partir do ano acadêmico 2000-2001 e por uma duração estimada de 3 anos, é ajustado um procedimento de cotutela de tese em favor de **Teresinha GONCALVES da SILVA**, abaixo designada doutoranda, titular do Diploma de Estudos Aprofundados em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba - MSc.

##### Artigo 2

A preparação da tese será realizada ao mesmo tempo na Universidade Méditerranée e no estabelecimento associado, em períodos alternados de trabalho de aproximadamente um ano na França e no Brasil. Uma modulação na duração destes períodos será autorizada de acordo com as necessidades materiais ou científicas vinculadas ao andamento do trabalho.

##### Artigo 3

A doutoranda responderá pelas taxas de inscrição na Universidade Federal de Pernambuco, mas além disso será regularmente inscrita no estabelecimento associado que aceita de exonerar das taxas de inscrição. Desta feita, a doutoranda será estudante-pesquisadora ao mesmo tempo no GERCTOP - UMR CNRS 6009 da Universidade Méditerranée e no Doutorado do Centro de Ciências Biológicas, estabelecimento associado. A inscrição deverá ser renovada no início de cada ano universitário.

##### Artigo 4

Quando a doutoranda realizar suas pesquisas na França, sua cobertura social será assegurada pelo seguro social estudante resultante de sua inscrição de tese na Universidade Méditerranée.

##### Artigo 5

O alojamento da doutoranda será assegurado na medida do possível pelos serviços universitários competentes de cada país. Além disso, os estabelecimentos contratantes trabalharão, medida do possível, no sentido de fazer a doutoranda beneficiar de uma fonte de financiamento renovável a cada ano, vinculada aos organismos que apoiam a colaboração franco-brasileira.

#### II - MODALIDADES PEDAGÓGICAS

UFPE  
Procuradoria  
Geral

UFPE  
23076.0047367.002-499  
P. : 0026/0033

**Artigo 6**

Os co-diretores de tese serão respectivamente o Professor **J. BARBE** da Universidade Méditerranée, e a Professora **S. LINS GALDINO** do estabelecimento associado, que assumem a responsabilidade perante a doutoranda.

**Artigo 7**

O trabalho de tese (da doutoranda) será previamente examinado por pelo menos dois examinadores, habilitados em dirigir pesquisas, não vinculados aos estabelecimentos contratantes e escolhidos pelo responsável do Doutorado de Química Molecular com a opinião dos co-diretores de tese.

**Artigo 8**

A banca examinadora da tese será composta em paridade por pesquisadores representantes dos dois países. A metade da banca no mínimo deverá ser composta por professores ou assimilados.

**Artigo 9**

Ela será redigida e defendida em português e o resumo oral e escrito será feito em francês.

**Artigo 10**

Os contratantes assumem o compromisso, observando uma ata de defesa de tese única, em conceder o grau de doutor pela Universidade de Méditerranée, e o grau de doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco.

**Artigo 11**

O depósito, a notificação e a reprodução da tese serão efetuados na França, em conformidade com a norma de 25 de setembro de 1985 (JO de 21 de novembro de 1985) e no Brasil em conformidade com a regulamentação em vigor.

Carimbos dos estabelecimentos, nomes e assinaturas :

**Pr. J. BARBE**  
Codirecteur de thèse à l'Université  
de la Méditerranée (Aix-Marseille II)

**Pr. J. BARBE**  
Responsable du laboratoire d'accueil  
à l'Université de la Méditerranée  
(Aix-Marseille II)

**Pr. J. BARBE**  
Responsable de l'École doctorale par délégation

**Pr. Michel LAURENT**  
Président Université de la Méditerranée



**Pr. S. LINS GALDINO**  
Codirecteur de thèse à  
l'Université Fédérale de Pernambuco

**Pr. I. PITTA**  
Responsable du laboratoire d'accueil à  
l'Université de Pernambuco

**Pr. L.C. BREITENBACH B. COELHO**  
Coordinateur en Sciences Biologiques

**Pr. P.R. FREIRE CUNHA**  
Pro-Rector de Recherche

**Pr. Mozart NEVES RAMOS**  
Reitor de l'Université Fédérale de  
Pernambuco

**Profa. Dra. Geraldo José Marques Pereira**  
Vice-Reitor no exercício  
da Reitoria - UFPE U F P U  
Procuradoria  
Geral