



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**SELENOGLICOLICAMIDAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÕES
DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, LEISHMANICIDA E CITOTÓXICA EM
CÉLULAS TUMORAIS**

HELIVALDO DIÓGENES DA SILVA SOUZA

JOÃO PESSOA – PB – BRASIL

AGOSTO/2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**SELENOGLICOLICAMIDAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÕES
DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, LEISHMANICIDA E CITOTÓXICA EM
CÉLULAS TUMORAIS**

HELIVALDO DIÓGENES DA SILVA SOUZA*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras Athayde Filho

2º Orientador: Prof. Dr. Bruno Freitas Lira

*Bolsista Capes

JOÃO PESSOA – PB – BRASIL

AGOSTO/2018

S729s Souza, Helivaldo Diogenes da Silva.

SELENOGLICOLICAMIDAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E
AVALIAÇÕES DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, LEISHMANICIDA
E CITOTÓXICA EM CÉLULAS TUMORAIS / Helivaldo Diogenes
da Silva Souza. - João Pessoa, 2018.
167 f. : il.

Orientação: Petrônio Filgueiras Athayde-Filho, Bruno
Freitas Lira.

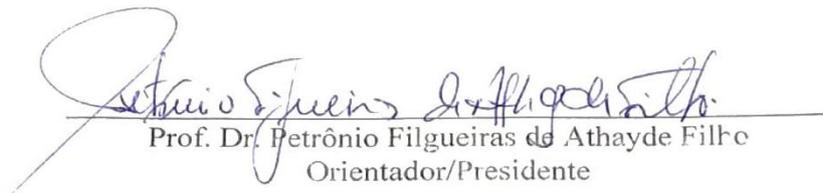
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

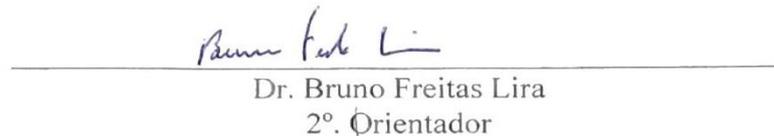
1. selênio. 2. selenoglicolicamidas. 3. antimicrobiana.
4. leishmanicidas. 5. células tumorais. I.
Athayde-Filho, Petrônio Filgueiras. II. Lira, Bruno
Freitas. III. Título.

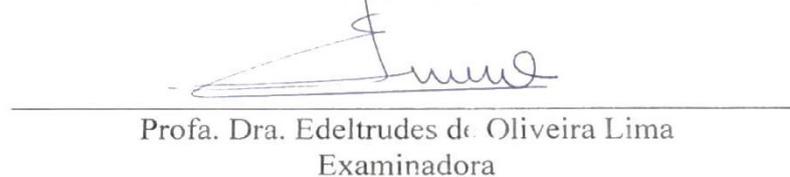
UFPB/CCEN

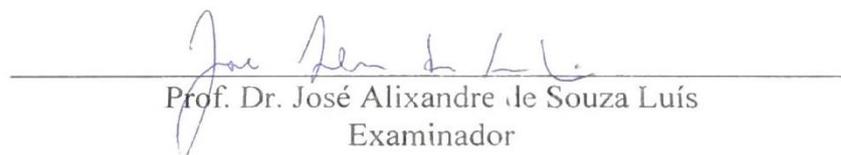
Selenoglicolicamidas: Síntese, caracterização e avaliações das atividades antimicrobiana, Leishamanicida e citotóxica em células tumorais .

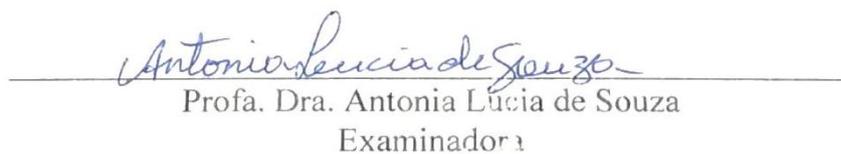
Tese de Doutorado apresentada pelo aluno Helivaldo Diógenes da Silva Souza e aprovada pela banca examinadora em 24 de agosto de 2018.

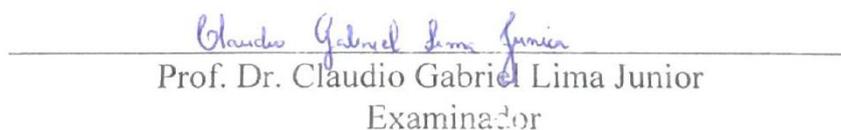

Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho
Orientador/Presidente


Dr. Bruno Freitas Lira
2º. Orientador


Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima
Examinadora


Prof. Dr. José Alixandre de Souza Luís
Examinador


Profa. Dra. Antonia Lucia de Souza
Examinadora


Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior
Examinador

Dedico esta dissertação aos meus pais – Ariosvaldo e Fernanda e aos meus avós, João Alexandre e Maria da Penha (*in memoriam*) pelo seu amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder o dom vida e estar comigo em todos os momentos da minha vida, principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Ariosvaldo e Fernanda pela confiança, dedicação, compreensão, força e principalmente o amor que me foi dado durante toda essa caminhada.

Aos meus tios, Ariosmar, Arivaldo, Alexandre, Vera, Dora, Dedinha, Elísio, Humberto e Fernando que sempre me apoiaram e nunca me fez desistir dos meus sonhos.

A minha namorada Michelle, pela paciência e carinho que tem comigo. Obrigado por fazer parte da minha vida. Aos pequenos Iago José e Kauê Marcio pelas tardes felizes.

Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho por aceitar como orientando, pela paciência, amizade e principalmente pela confiança para tornar a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Bruno de Freitas Lira, pela orientação e pela amizade que foi adquirida ao longo desses anos. Muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Barbosa, por ajudar na compra de reagentes necessários para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos irmãos de início de curso de graduação, Juliana Kelly e Helton Jader, muito obrigado pela amizade nos momentos mais alegres e difíceis da minha vida. Valeu irmãos.

A Prof. Prof.^a Dr.^a Gabriela e a mestranda Priscila por me ajudar no estudo cristalográfico das substâncias.

Aos Prof. Dr. José Rodrigues, Prof. Dr. Claudio Gabriel, Prof.^a Dr.^a Antônia Lúcia, Prof. Dr. Mário Vasconcellos pelos ensinamentos adquiridos no decorrer desses anos.

Ao mestre e amigo Prof. Caluête, pela sua amizade durante esse longo tempo.

Ao Prof. Dr. Manoel Adrião e o Prof. Dr. Diego Dantas pela realização do estudo citotóxico.

A Prof.^a Dr.^a Edeltrudes do Laboratório de Micologia (CCS) que realizou os estudos de atividade antifúngica.

Ao Prof. Dr. Siqueira e a Dr.^a Nathalie pelos estudos biológicos de atividade antibacteriana.

Ao Prof. Dr. José Alixandre e a Prof.^a Dr.^a Tatjana Keesen pelo estudo biológico da atividade leishmanicida.

A equipe Kifilmes, Yndrews, Samarone, Renato, Claudio, Kassiano, Raniere, Alisson, Ricardo e Everton pelos momentos alegres e difíceis dessa caminhada. Aos meus amigos Bruno, Marlio, Jóas, Helder e Jean, amigos que são irmãos.

Ao irmão Jean pelos incentivos, viagens e momentos alegres e difíceis. Muito obrigado.

A minha família LPBS e amigos da UFPB: Gabi, Claudia, Isabelle, Yuri, Severino, Cleinaldo, Sandro, Raissa, Roxana, Rogério, Matheus, Raquel, Daniella, Rafael, Normando, Thalisson, Min Fu, Graci, Jeane, Genilson, Adailton, Welisson, Thamires, Maria Emília, Mel, Rhayssa, Laís, Danielle, Hermes, Alex e Fernanda pela ajuda, conversas, alegria e pela preocupação. Agradeço a cada um pela amizade.

Aos colegas da Central Analítica Vicente, Evandro e Alexandro.

Ao secretário da Pós-Graduação em Química, Marcos Pequeno.

A Capes, pelo apoio financeiro.

E a todos aqueles que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Título: Selenoglicolicamidas: Síntese, Caracterização e Avaliações das Atividades Antimicrobiana, Leishmanicida e Citotóxica em Células Tumorais

Na busca de novos compostos sintéticos e o desenvolvimento de novos fármacos, os compostos de organoselênio vem se destacando bastante nas últimas décadas, principalmente pelo fato de apresentar uma larga gama de atividades biológicas tais como: antibacteriana, antiviral, antifúngica, anticâncer, anti-inflamatória, antinociceptivo, etc. Neste trabalho, se descreve a síntese das selenoglicolicamidas, os estudos antimicrobiano, leishmanicida e de citotoxicidade dos compostos. As selenoglicolicamidas foram obtidas com rendimentos entre 70-80% e foram caracterizadas pelas técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C . Na avaliação antimicrobiana *in vitro*, as selenoglicolicamidas apresentaram atividades frente às diversas linhagens de *Staphylococcus aureus* com concentração inibitória mínima (CIM) na faixa de 16-256 $\mu\text{g/mL}$, se destacando os compostos **HSe-01**, **HSe-06**, **HSe-09** que apresentaram uma CIM entre 16-64 $\mu\text{g/mL}$. Na avaliação antibacteriana frente ao *Staphylococcus aureus* resistente à tetraciclina pela modulação de resistência via bomba de efluxo, as selenoglicolicamidas apresentaram um potencial adjuvante para o antibiótico, apresentando um fator de redução da CIM da tetraciclina em até 512 vezes. Na atividade antifúngica, apenas os compostos **HSe-01** e **HSe-09** exibiram atividade inibidora contra as cepas de *Candida* com CIM entre 512 – 1024 $\mu\text{g/mL}$. A avaliação leishmanicida, em células promastigostas de *L. amazonensis*, mostra que as selenoglicolicamidas com halogênios em suas estruturas apresentaram CI_{50} inferiores a 10 μM , destacando-se para o composto **HSe-05** com uma CI_{50} de 5,46 μM . Na avaliação citotóxica contra células tumorais, as selenoglicolicamidas que mais se destacaram na inibição do crescimento celular (IC%) foram: **HSe-02** e **HSe-07** com 49% de inibição contra a linhagem MCF-7; **HSe-02** e **HSe-05** com 100% de inibição contra a linhagem HEp-2 e o **HSe-05** com inibição de 99,56% na linhagem HL60. Na determinação da CI_{50} na linhagem tumoral HL-60, a selenoglicolicamida HSe2 apresentou uma CI_{50} de 3,42 $\mu\text{g/mL}$.

Palavras-chave: selênio, selenoglicolicamidas, antimicrobiana, leishmanicidas, células tumorais

ABSTRACT

Title: Selenoglycolicamides: Synthesis, Characterization and Evaluations of Antimicrobial, Leishmanicidal and Cytotoxic Activities in Tumor Cells

In the search for new synthetic compounds and the development of new drugs, organoselenium compounds have been prominent in the last decades, mainly because they present a wide range of biological activities such as: antibacterial, antiviral, antifungal, anticancer, anti-inflammatory, antinociceptive, etc. In this work, we describe the synthesis of selenoglycolicamides, the antimicrobial, leishmanicide and cytotoxicity studies of the compounds. Selenoglycolicamides were obtained in yields between 70-80% and were characterized by IR, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic techniques. In the in vitro antimicrobial evaluation, the selenoglycolicamides presented activities against the different strains of *Staphylococcus aureus* with minimum inhibitory concentration (MIC) in the range of 16-256 $\mu\text{g/mL}$, highlighting the compounds **HSe-01**, **HSe-06**, **HSe-09** that presented an MIC between 16-64 $\mu\text{g/mL}$. In the antibacterial evaluation against tetracycline resistant *Staphylococcus aureus* by modulating efflux pump resistance, selenoglycolicamides presented a potential adjuvant for the antibiotic, presenting a reduction factor of tetracycline MIC up to 512 times. In the antifungal activity, only **HSe-01** and **HSe-09** compounds exhibited inhibitory activity against *Candida* strains with MIC between 512-1024 $\mu\text{g/mL}$. The leishmanicidal evaluation in *L. amazonensis* promastigote cells shows that selenoglycolicamides with halogens in their structures showed IC_{50} of less than 10 μM , especially for compound **HSe-05** with an IC_{50} of 5.46 μM . In the cytotoxic evaluation against tumor cells, the selenoglycolicamides that stood out the most in the inhibition of cell growth (IC_{50}) were: **HSe-02** and **HSe-07** with 49% inhibition against the MCF-7 lineage; **HSe-02** and **HSe-05** with 100% inhibition against the HEP-2 lineage and **HSe-05** with 99.56% inhibition in the HL60 lineage. In the determination of the IC_{50} in the HL-60 tumoral lineage, selenoglycolicamide **HSe-02** presented an IC_{50} of 3.42 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords: selenium, selenoglycolicamides, antimicrobial, leishmanicides, tumor cells.

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1 – Reação com o Selênio Elementar a partir de composto organolítio	27
Esquema 2 - Organoselênio a partir de enolatos	28
Esquema 3 - Compostos organoselênio a partir de reagentes Grignard	28
Esquema 4 - Composto análogo a combretastatina A-4.....	28
Esquema 5 - Sistema THF-Tolueno na obtenção de compostos organoselênio.....	29
Esquema 6 - Preparação dos haletos de selenila.....	29
Esquema 7 - Reação do haleto de selenila com alcenos.....	30
Esquema 8 - Reação de haleto de selenila com alcino terminal.....	30
Esquema 9 - Reação de haleto de selenila com alcetilenos terminal.....	30
Esquema 10 - Reação com o PhSeBr na síntese do intermediário	31
Esquema 11 - Obtenção do análogo selenoisocumarínico	31
Esquema 12 - Obtenção da <i>N</i> -fenilselenoftalimida	32
Esquema 13 - Obtenção do organoselenio da cisteína	32
Esquema 14 - Derivados de índoles usando <i>N</i> -fenilselenoftalimida	32
Esquema 15 - Preparação do trifluorometanosulfonato de benzenoselenila.....	33
Esquema 16 - Formação dos compostos cíclicos com trifluorometanosulfonato de benzenoselenila.....	33
Esquema 17 - Reação com Se ₂ Cl ₂ com alcinos na preparação de compostos organoselênio...34	
Esquema 18 - Reação com SeBr ₂ com o acetileno	34
Esquema 19 - Reação com SeBr ₂ e SeCl ₂ com os álcoois propargílicos	34
Esquema 20 - Reação com o KSeCN como haleto de alquila.....	35
Esquema 21 - Reação com o KSeCN em atmosfera de Argônio e Oxigênio.....	35
Esquema 22 - Reação a partir do disseleneto de sódio.....	36
Esquema 23 - Preparação do disseleneto de sódio usando hidrazina e NaOH.....	36
Esquema 24 - Reação do disseleneto de sódio com o brometo de arila	37

Esquema 25 - Preparação de amino quirais com disseleneto de Lítio.....	37
Esquema 26 - Reação do NaHSe na preparação de novos compostos de organoselênio	38
Esquema 27 - Reação a paritr da redução do disseleneto orgânico.....	38
Esquema 28 - Redução do disseleneto com NaBH ₄	39
Esquema 29 - Redução do disseleneto derivado do mentol	39
Esquema 30 - Obtenção dos compostos organoselenio usando índio como catalisador	39
Esquema 31 - Análise retrossintética da rota 1.....	50
Esquema 32 - Análise retrossintética da rota 2.....	51
Esquema 33 - Preparação da acetanilida	54
Esquema 34 - Preparação da <i>p</i> -nitroacetanilida	56
Esquema 35 - Preparação da <i>p</i> -bromoacetanilida.....	57
Esquema 36 - Preparação da <i>p</i> -nitroanilina e <i>p</i> -bromoanilina	59
Esquema 37 - Esquema reacional da obtenção dos ácidos aroilselenoglicólicos.....	63
Esquema 38 - Esquema da obtenção dos ácidos aroilselenoglicólico	64
Esquema 39 – Rota sintética para a obtenção dos compostos finais.....	76
Esquema 40 - Esquema da obtenção das selenoglicolicamidas	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Composto com atividades antifúngica e antibacteriana.....	40
Figura 2 - Benzisosselenazol-3(2H)-onas <i>N</i> -substituídas	41
Figura 3 - Compostos derivados do selenadiazóis.....	41
Figura 4 - Compostos derivados dos selenadiazóis	41
Figura 5 - Compostos com atividades antibacteriana.....	42
Figura 6 - Compostos derivados da selenolequinolina.....	42
Figura 7 - Compostos de organoselênio com atividades antimicrobianas.....	42
Figura 8 - Selenetos com atividades antimicrobianas	43
Figura 9 - Compostos com atividade anti-inflamatória.....	43
Figura 10 - Compostos derivados do ácido salicílico.....	44
Figura 11 - Compostos derivados do selenazole	44
Figura 12 - Compostos com propriedades anticâncer	45
Figura 13 - Estrutura Geral da Selenoglicolicamidas.....	49
Figura 14 - Estruturas das Selenoglicolicamidas sintetizadas	50
Figura 15 - Mecanismo da acetanilida.....	55
Figura 16 - Espectro de Infravermelho (ATR) da acetoanilida	55
Figura 17 - Mecanismo da <i>p</i> -nitroanilina	56
Figura 18 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>p</i> -nitroacetanilida	57
Figura 19 - Mecanismo da obtenção da <i>p</i> -bromoacetanilida.....	58
Figura 20 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>p</i> -bromoacetanilida	58
Figura 21 - Mecanismo da obtenção da <i>p</i> -nitroanilina e <i>p</i> -bromoanilina.....	60
Figura 22 - Espectro de infravermelho (ATR) de <i>p</i> -nitroanilina.....	61
Figura 23 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>p</i> -bromoanilina.....	61
Figura 24 - Mecanismo de obtenção dos cloretos de ácidos	62
Figura 25 - Proposta de Mecanismo de obtenção dos ácidos aroilselenoglicólicos.....	64

Figura 26 - Espectro de infravermelho (ATR) do ácido benzoselenoglicólico (SeH1)	65
Figura 27 - Espectro de infravermelho (ATR) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico (SeH2)	66
Figura 28 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico	67
Figura 29 - Espectro de RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico	67
Figura 30 - Mecanismo de obtenção das 2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas	71
Figura 31 - Espectro de Infravermelho (ATR) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metilfenil)acetamida (A4)....	72
Figura 32 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A2).....	75
Figura 33 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A4).....	75
Figura 34 - Proposta de Mecanismo de obtenção das selenoglicolicamidas	77
Figura 35 - Espectro de infravermelho (ATR) do <i>N</i> -(4-metilfenil)benzosenoglicolicamida HSe-04.....	83
Figura 36 - Representação ORTEP do composto HSe-03.....	85
Figura 37 - Representação ORTEP do composto HSE8	85
Figura 38 - Cluster supramolecular do composto HSe-03	86
Figura 39 - Cluster supramolecular do composto HSe-08	87
Figura 40 - 1º e 2º estágios de cristalização do composto HSe3	89
Figura 41 - 1º e 2º estágios de cristalização do composto HSe-08.....	90
Figura 42 - Citotoxicidade dos compostos HSe-02, HSe-05, HSe-06 e HSe-07 (gráficos de A a D respectivamente) e da doxorubicina (gráficos E) frente à linhagem tumoral HL-60, avaliada pelo método de MTT, após 24 h de tratamento. Os dados correspondem à média ± EPM de três experimentos independentes. *p<0,05; **p<0,01 e ***p<0,001.	101
Figura 43 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -fenilacetamida (A1).....	137
Figura 44 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da 2-cloro- <i>N</i> -fenilacetamida (A1)....	137
Figura 45 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) da 2-cloro- <i>N</i> -fenilacetamida (A1).....	138
Figura 46 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A2)	138

Figura 47 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A2).....	139
Figura 48 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A2).....	139
Figura 49 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-etilfenil)acetamida (A3).....	140
Figura 50 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-etilfenil)acetamida (A3)	140
Figura 51 - Espectro de RMN ^{13}C de (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-etilfenil)acetamida (A3).....	141
Figura 52 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metilfenil)acetamida (A4) ...	141
Figura 53 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metilfenil)acetamida (A4).....	142
Figura 54 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metilfenil)acetamida (A4).....	142
Figura 55 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-bromofenil)acetamida (A5) .	143
Figura 56 - Espectro de RMN ^1H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-bromofenil)acetamida (A5)	143
Figura 57 - Espectro de RMN ^{13}C de (50 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-bromofenil)acetamida (A5)	144
Figura 58 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-clorofenil)acetamida (A6) ...	144
Figura 59 - Espectro de RMN ^1H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-bromofenil)acetamida (A6)	145
Figura 60 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-clorofenil)acetamida (A6).....	145
Figura 61 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-isopropilfenil)acetamida (A7)	146
Figura 62 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-isopropilfenil)acetamida (A7).....	146

Figura 63 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-isopropilfenil)acetamida (A7).....	147
Figura 64 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metoxifenil)acetamida (A8).....	147
Figura 65 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-metoxifenil)acetamida (A8).....	148
Figura 66 - Espectro de RMN ¹ H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (A9)	148
Figura 67 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro- <i>N</i> -(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (A9)	149
Figura 68 - Espectro de infravermelho (ATR) do <i>N</i> -fenilbenzoselenoglicolicamida (HSe1)	149
Figura 69 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do <i>N</i> -fenilbenzoselenoglicolicamida (HSe1).....	150
Figura 70 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -fenilbenzoselenoglicolicamida (HSe1).....	150
Figura 71 - Espectro de Infravermelho (ATR) do <i>N</i> -(4-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe2).....	151
Figura 72 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe2).....	151
Figura 73 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe2).....	152
Figura 74 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>N</i> -(4-etilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe3).....	152
Figura 75 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-etilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe3)	153
Figura 76 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) <i>N</i> -(4-etilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe3).....	153
Figura 77 - Espectro de infravermelho (ATR) da <i>N</i> -(4-metilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe4).....	154

Figura 78 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe4)	154
Figura 79 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe4)	155
Figura 80 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>N</i> -(4-bromofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe5).....	155
Figura 81 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-bromofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe5).....	156
Figura 82 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-bromofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe5).....	156
Figura 83 - Espectro de Infravermelho (ATR) <i>N</i> -(4-clorofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe6).....	157
Figura 84 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-clorofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe6)	157
Figura 85 - Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-clorofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe6)	158
Figura 86 - Espectro de Infravermelho (ATR) <i>N</i> -(4-isopropilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe7).....	158
Figura 87 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-isopropilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe7)	159
Figura 88 - Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-isopropilfenil)benzoselenoglicolicamida (HSe7)	159
Figura 89 - Espectro de infravermelho (ATR) <i>N</i> -(4-metoxifenil)benzoselenoglicolicamida (HSe8).....	160
Figura 90 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-metoxifenil)benzoselenoglicolicamida (HSe8)	160
Figura 91 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) <i>N</i> -(4-metoxifenil)benzoselenoglicolicamida (HSe8)	161

Figura 92 - Espectro de infravermelho (ATR) da <i>N</i> -(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe9).....	161
Figura 93 - Espectro de RMN ¹ H de (500 MHz, DMSO) da <i>N</i> -(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe9).....	162
Figura 94 - Espectro de RMN ¹³ C (126 MHz, DMSO) da <i>N</i> -(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicolicamida (HSe9).....	162
Figura 95 - Espectro de Infravermelho (ATR) da <i>N</i> -fenil-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe10).....	163
Figura 96 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -fenil-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe10).....	163
Figura 97 - Espectro de Infravermelho (KBr) da <i>N</i> -(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe11).....	164
Figura 98 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe11).....	164
Figura 99 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO) da <i>N</i> -(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe11).....	165
Figura 100 - Espectro de Infravermelho (KBr) da <i>N</i> -(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe12).....	165
Figura 101 - Espectro de RMN ¹ H de (400 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe12).....	166
Figura 102 - Espectro de RMN ¹³ C (101 MHz, CDCl ₃) da <i>N</i> -(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicolicamida (HSe12).....	166
Figura 103 - Aceito do Artigo	167

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Condições da preparação do cloreto de ácido usando o cloreto de tioníla.....	62
Tabela 2 - Condições de acetilação para obtenção da 2-cloro- <i>N</i> -fenilacetamida.....	69
Tabela 3 - Condições de Reação, ponto de fusão e rendimentos das 2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas	70
Tabela 4 - Deslocamento químico de ^1H (H-2 e N-H) para as 2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas	72
Tabela 5 - Mudanças de valores nos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) dos hidrogênios aromáticos das 2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas substituídas com a 2-cloro- <i>N</i> -fenilacetamida.	73
Tabela 6 - Deslocamento químico de ^{13}C (C-1 e C-2) para as 2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas	74
Tabela 7 - Rendimentos e Pontos de fusão das selenoglicolicamidas	78
Tabela 8 - Deslocamento químico de ^1H em ppm de (H-6 e N-H) para os HSe1-9.....	80
Tabela 9 - Deslocamento químico de ^{13}C em ppm de (C-1, C-6 e C-7) para os HSe1-9.....	81
Tabela 10 - Deslocamento químico de ^1H em ppm de (H-6 e N-H) para os HSe10-12.....	81
Tabela 11 – Dados cristalográficos e refinamento das estruturas dos compostos HSe-03 e HSe-08.....	84
Tabela 12 - Áreas de contato (CM1...MN) para os dímeros da primeira esfera de coordenação dos compostos HSe-03 e HSe-08	88
Tabela 13 - Valores de CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos de organoselênio frente a linhagens de <i>Staphylococcus aureus</i>	91
Tabela 14 - Atividade Moduladora dos compostos das selenioglicolicamidas.....	93
Tabela 15 - Concentração Inibitória Mínima das selenoglicolicamidas frente às cepas de <i>Candidas</i>	95
Tabela 16 - Atividade leishmanicidas das selenoglicolicamidas contra as células promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	97
Tabela 17 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das selenoglicolicamida em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 $\mu\text{g/mL}$	99
Tabela 18 - Atividade citotóxica em 24 horas das selenoglicolicamidas frente à linhagem tumoral HL-60 e células não tumorais. CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$).....	100

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	26
2.1	SELÊNIO.....	26
2.2	SÍNTESE DOS COMPOSTOS ORGANOSELÊNIO.....	27
2.2.1	SELÊNIO ELEMENTAR	27
2.2.2	REAGENTES DE SELÊNIO ELETROFÍLICO.....	29
2.2.3	REAGENTES DE SELÊNIO NUCLEOFÍLICO.....	35
2.3	ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DOS COMPOSTOS ORGANOSELÊNIO	40
2.3.1	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	40
2.4	COMPOSTOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTINOCICEPTIVO	43
2.5	COMPOSTOS ANTICÂNCER.....	44
3	OBJETIVOS.....	47
3.1	OBJETIVO GERAL	47
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	ESTRATÉGIAS	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	SÍNTESE DA <i>p</i> -NITROANILINA E DA <i>p</i> -BROMANILINA	54
5.2	SÍNTESE DOS CLORETOS DE ÁCIDOS.....	61
5.3	SÍNTESE DOS COMPOSTOS FINAIS DERIVADOS DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICOS	63
5.3.1	TENTATIVA DE OBTENÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS USANDO OS CLORETOS DE AROILSELENOGLICOLICOS	63
5.3.2	OBTENÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS USANDO AS α -CLORO- <i>N</i> - ARILACETAMIDA.....	68
5.4	CARACTERIZAÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS	79

5.4.1	INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN ¹ H E ¹³ C DAS SELENOGLICOLICAMIDAS	79
5.4.2	INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS	82
5.4.3	DETERMINAÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA E ESTUDOS TOPOLÓGICOS DOS COMPOSTOS	83
5.5	ATIVIDADE BIOLÓGICA	90
5.5.1	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	90
5.5.2	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	94
5.5.3	ATIVIDADE LEISHMANICIDA	96
5.5.4	CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	98
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	103
6.1	CONCLUSÕES	103
6.2	PERSPECTIVAS	103
7	ESTUDOS EXPERIMENTAIS	106
7.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	106
7.2	PREPARAÇÃO DA ACETANILIDA	106
7.3	PREPARAÇÃO DA <i>p</i> -NITROACETANILIDA.....	107
7.4	PREPARAÇÃO DA <i>p</i> -BROMOACETANILIDA	107
7.5	PREPARAÇÃO DA <i>p</i> -NITROANILINA	108
7.6	PREPARAÇÃO DA <i>p</i> -BROMOANILINA.....	108
7.7	PREPARAÇÃO DO CLORETO DE BENZOÍLA	108
7.8	PREPARAÇÃO DO CLORETO DE 4-CLOROBENZOÍLA.....	109
7.9	PREPARAÇÃO DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICO.....	109
7.10	TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DOS CLORETOS DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICOS.....	110
7.11	PREPARAÇÃO DAS 2-CLORO- <i>N</i> -ARILACETAMIDAS (A1-A9).....	110

7.12	PREPARAÇÃO GERAL DAS SELENOGLICOLICAMIDAS	114
7.13	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	120
7.13.1	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) 120	
7.13.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA A TETRACICLINA	120
7.14	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	121
7.14.1	MICRO-ORGANISMOS TESTADOS	121
7.14.2	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) 122	
7.15	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA	122
7.16	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>	123
8	REFERÊNCIAS	126
9	ANEXO	137

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, progressos significativos foram realizados no desenvolvimento de novas moléculas bioativas ou marcadores biológicos para diagnosticar, tratar o câncer e/ou doenças causadas por microrganismo. Várias estratégias terapêuticas colocadas em praticas levaram a impressionantes resultados no tratamento dessas doenças (APOSTOLIDIS, 2013).

Apesar de existir um grande número de antibióticos e quimioterápicos disponíveis no mercado para o tratamento, o nosso planeta está correndo para uma era pós-antibiótica e estima-se que a carga global de resistência antimicrobiana aumente para 10 milhões de mortes anuais até 2050 (KRAKER et al., 2016).

Microrganismos resistentes (incluindo bactérias, vírus e alguns parasitas) que são capazes de resistir ao ataque de medicamentos antimicrobianos, tais como: antibióticos, antivirais e antitumorais (PATEL, 2013), passaram a ser uma preocupação mundial, complexa, séria e desafiadora. O alerta oficial foi dado pela Organização Mundial da Saúde – OMS, em seu relatório global sobre o problema, com base nas informações coletadas em mais de 114 países.

A resistência antimicrobiana decorre do abuso no uso indiscriminado de medicamentos pelos humanos. Um dos exemplos são as bactérias que desenvolvem diferentes tipos de mecanismos de resistência para inibir a ação dos antibióticos promovendo cada vez mais o surgimento de “Bactérias Multidrogas-Resistentes” (SANTOS, 2004). Os tipos de resistência aos antibióticos pelos microrganismos podem ser classificados em quatro categorias principais: Inativação enzimática ou modificação da molécula ativa; Modificação ou proteção do antibiótico alvo; Acesso limitado de antibióticos e efluxo ativo de antibióticos. O efluxo ativo é o mecanismo através do qual as bactérias diminuem a concentração citoplasmática de drogas pelo bombeamento do antibiótico para o meio extracelular.

Outra preocupação relacionada com a saúde humana trata das **Doenças das Neoplasias** (câncer), que é uma classe de doença identificada pelo crescimento descontrolado e disseminação de células anormais, que podem ser induzidas por fatores ambientais externos (radiação, substâncias químicas e organismos infecciosos) ou fatores internos (mutações, hormônios e imunidade alterada), tendo em vista que diversos tipos de câncer (mama, útero,

pulmão, próstata, leucemia, etc.) é a causa de milhares de óbitos por ano em todo o mundo (MATSUO, 2010).

Centros de pesquisas ao redor do mundo vêm desenvolvendo novas moléculas capazes de tratar o câncer por definitivo, nesse sentido, a busca por compostos bioativos naturais ou sintéticos com potencial para o tratamento e prevenção de doenças humanas e para atender essa e outras necessidades é atualmente um tema central em muitos laboratórios de pesquisas e indústrias farmacêuticas (GIL-CHAVEZ et al., 2013).

No campo das pesquisas farmacêuticas, a química medicinal dos compostos de selênio tem atraído à atenção de vários grupos “ao redor do mundo”, devido as suas atividades biológicas e farmacológicas úteis possuem tais como, antibacterianos, antivirais, antifúngicos, anti-histamínicos, antiparasitários, agentes anticancerígenos (quimioterápicos), anti-leishmaniose, antichagásicos e dentre outros.

Selênio, um mineral essencial (RAYMAN, 2002), é um componente vital das selenoproteínas, especificamente da glutathione peroxidase, que é necessária principalmente para saúde e reprodução normal (RAYMAN, 2000). Embora o selênio tenha sido descoberto em 1818 pelo químico sueco Jons Jacob Berzelius, a sua aplicação generalizada na química orgânica começou na década de 1970, quando a reação de eliminação do selenóxido foi relatada como um conveniente método de síntese de olefinas. O selênio foi considerado um veneno até quando foi identificado como um importante micronutriente de bactérias, mamíferos e pássaros (SCHWARZ e FOLTZ, 1957). O selênio é essencial para uma operação eficiente e efetiva do sistema imunológico em animais e humanos (ARTHUR et al, 2003). Compostos selenorgânicos têm uma maior biodisponibilidade do que o selênio inorgânico (CANTOR et al, 1975).

Os compostos de organoselênio podem agir tanto como nucleófilos, eletrófilos ou radicais, em uma ampla variedade de transformações diretas de grupos funcionais, potencialmente evitando medidas de proteção ou desproteção, que são particularmente prejudiciais na concepção de um procedimento da química verde (NICOLAU et al., 1984).

Os aspectos chave para o desenvolvimento de uma abordagem mais ecológica para a síntese e o uso dos compostos de organoselênio podem ser reunidos em três áreas principais: o uso de solventes alternativos e/ou meios de reação (tais como líquidos iônicos, glicerol e água), a utilização de fontes de ativação não-convencionais e na economia de energia (microondas, ultrassom e eletroquímica) e no uso de catalisadores. (SANTORO et al., 2014).

Capítulo 2

Fundamentação Teórica

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 SELÊNIO

O selênio, descoberto em 1817 pelo químico Jöns Jacob Berzelius (KIELISZEK e BŁAZEJAK, 2013), que na sua forma metálica apresenta uma cor cinza prateado é um micronutriente essencial que desempenha um papel importante no metabolismo dos seres vivos. Muito semelhante ao enxofre, o selênio apresenta configuração eletrônica $[\text{Ar}] 3d^{10} 4s^2 4p^4$ e apresenta estados de oxidação importantes como: -2 no seleneto de sódio, Na_2Se ; -1 no diseleneto de sódio, Na_2Se_2 ; 0 em Se_8 ; +1 em cloreto de selênio, Se_2Cl_2 ; +2 em dicloreto de selênio, SeCl_2 ; +4 selenito de sódio, Na_2SeO_3 ; e + 6 em selenato de sódio, Na_2SeO_4 . O selênio forma compostos naturais com outros 16 elementos. É um constituinte principal de 39 espécies de minerais e um componente menor de 37 espécies de minerais, principalmente em minerais de sulfetos (GEORGE, 2011).

O selênio elementar comercial e os selenetos metálicos são considerados estáveis e não tóxicos. No entanto, outros compostos que incluem o selênio, como os selenetos reativos; tais como os gasosos, voláteis e os solúveis, como o seleneto de hidrogênio e os óxidos são altamente tóxicos e devem ser manuseados com cuidado. O selênio pode entrar no corpo através da inalação, ingestão ou absorção através da pele, onde se acumula principalmente no fígado e nos rins. Os sintomas de intoxicação por selênio incluem irritação brônquica, desconforto gastrointestinal, irritação nasofaringe e odor de alho na respiração.

O selênio era conhecido principalmente pela sua toxicidade em animais. Entretanto, em 1957 Schwarz e Foltz relataram que a suplementação alimentar com o selênio preveniram os ratos que possuíam deficiência da vitamina E de desenvolverem a necrose hepática, sugerindo que o selênio é essencial para a saúde. A principal forma de suplementação de selênio é a partir dos alimentos como: castanhas do Brasil, ostras, salmão, arroz integral, frango, porco, nozes e dentre outros. A suplementação alimentar com o selênio apresentam efeitos importantes diretamente na saúde, como principalmente em relação ao câncer, doença cardiovascular, mutação viral, função endócrina e imunológica. A suplementação de selênio pode variar de concentrações dependendo da região em que o produto foi adquirido.

O consumo dietético de selênio pode ter uma decorrência sobre a função imunológica em humanos. Estudos que avaliaram as consequências fisiológicas causadas pela deficiência do selênio no sistema cardiovascular mostraram que essa carência mineral está relacionada

com a doença de Keshan que é uma doença cardiomiopatia congestiva que resulta em necrose miocárdica, a qual é de grande incidência na população da região nordeste da China, onde os mais afetados são mulheres e crianças mais jovens (SANTOS, 2014).

2.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS ORGANOSELÊNIO

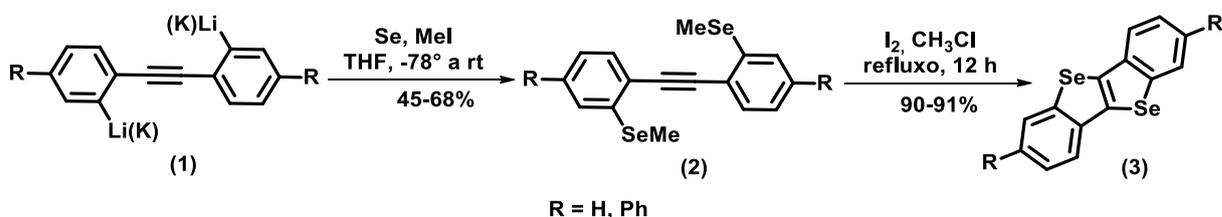
Os compostos de organoselênios podem ser obtidos através de reações entre moléculas orgânicas e/ou diferentes matérias-primas contendo selênio. Os materiais usados nessas reações podem ser: o Se elementar, os reagentes inorgânicos nucleofílico ou eletrofílico e os reagentes organoselênio nucleofílico ou eletrofílico, como mostrado a seguir, para uma melhor compreensão.

2.2.1 SELÊNIO ELEMENTAR

A inserção do selênio no esqueleto de compostos orgânicos podem ser realizada do selênio elementar a partir de reações com organolítio, reagentes de Grignard, térmicas, fotoquímicas, oxidação e dentre outros.

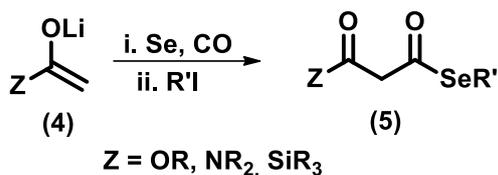
Os compostos de organolítio são frequentemente utilizados em varias estratégias de síntese orgânica. Takimiya e Sugino (2017) sintetizaram e avaliaram dois compostos organoselênio como transistores orgânicos de efeito de campo (TOEC), (esquema 1).

Esquema 1 – Reação com o Selênio Elementar a partir de composto organolítio



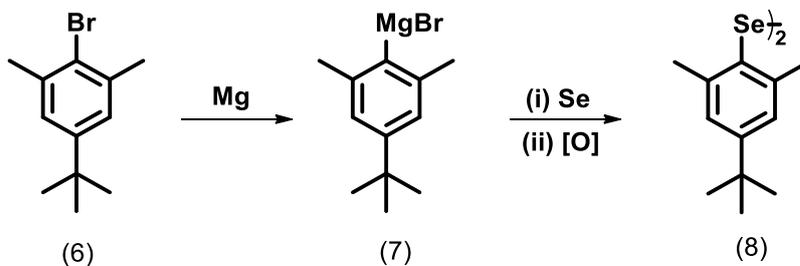
Os enolatos de lítio de ésteres, amidas e acila de silano (esquema 2) sofre carbonilação com monóxido de carbono junto com o selênio em condições suaves e em seguidas tratados com iodetos de alquila para se obter os organoselênio correspondentes (FUJIWARA, 2004).

Esquema 2 - Organoselênio a partir de enolatos



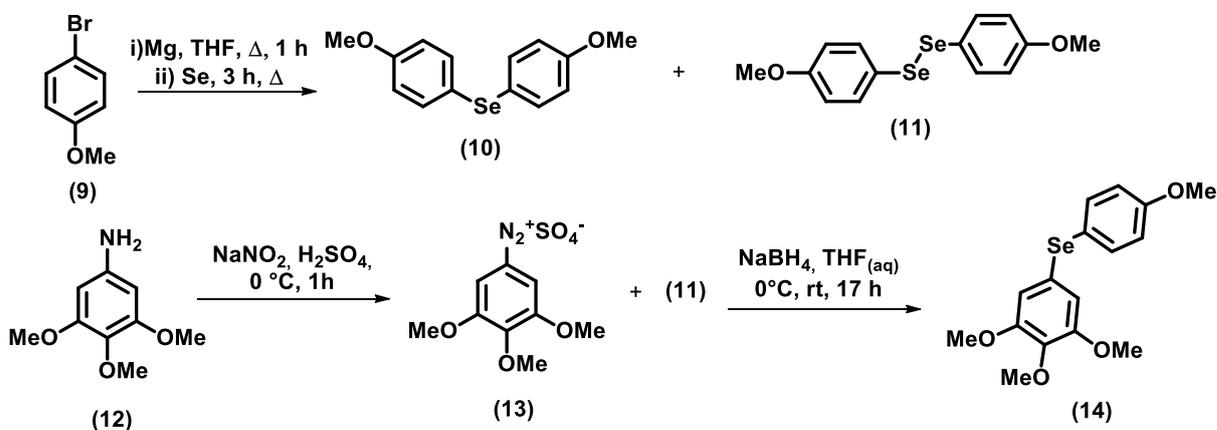
O selênio elementar também reage com os reagentes de Grignard para produzir compostos organoselênio. Mugesh et al (2001) relatou a síntese do composto organoselênio a partir do reagente de Grignard, que foi sequentemente tratado com selênio elementar, seguida de uma oxidação para produzir o composto com bom rendimento, (Esquema 3).

Esquema 3 - Compostos organoselênio a partir de reagentes Grignard



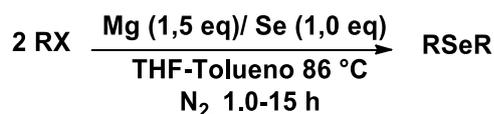
Santos et al (2013) sintetizaram um composto organoselênio análogo a combretastatina A-4 usando o reagente de Grignard e o selênio elementar. Depois avaliaram a sua citotoxicidade para células cancerosas humanas, (esquema 4).

Esquema 4 - Composto análogo a combretastatina A-4



Lin et al (2012) sintetizaram uma série de compostos de organoselênio desenvolvendo uma metodologia simples e obtendo excelentes rendimentos. A reação foi realizada em três etapas: iniciando com a formação do reagente de Grignard, seguida pela adição do selênio e posteriormente tratada com o agente alquilante sob atmosfera de N₂ e num sistema THF-Tolueno a 86 °C, (esquema 5).

Esquema 5 - Sistema THF-Tolueno na obtenção de compostos organoselênio

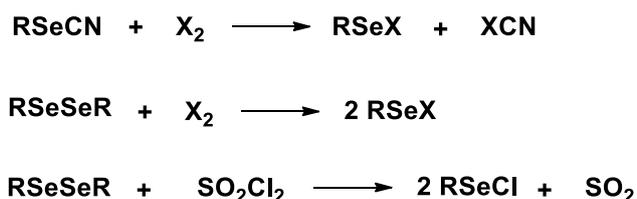


2.2.2 REAGENTES DE SELÊNIO ELETROFÍLICO

Os compostos eletrofílico contendo fontes de selênio eles podem ser compostos inorgânicos ou orgânicos e são usados para introduzir o selênio no esqueleto das moléculas orgânicas para formar os compostos organoselênio. Esses compostos são de grande importância para a química sintética, pois proporciona a formação de compostos que por outras vias sintéticas não fornece os compostos pretendidos. Os compostos eletrofílicos de selênio mais usados na síntese orgânica são os de derivados orgânicos como os haletos de selenila, tais como cloro e bromo e o *N*-fenilselenoftalimida.

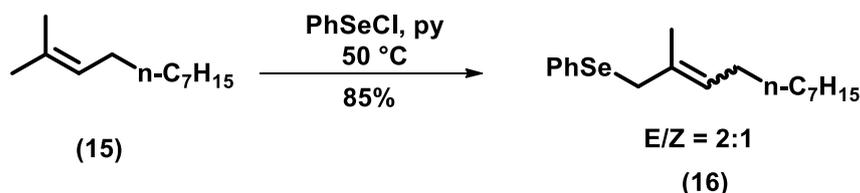
Os haletos de selenila são obtidos pelo tratamento de selenocianatos ou diselenetos, que são classes de compostos orgânicos contendo o selênio, com uma quantidade estequiométrica de halogênio ou por um agente de halogenação (ARASE e MASUDA, 1976), (esquema 6).

Esquema 6 - Preparação dos haletos de selenila



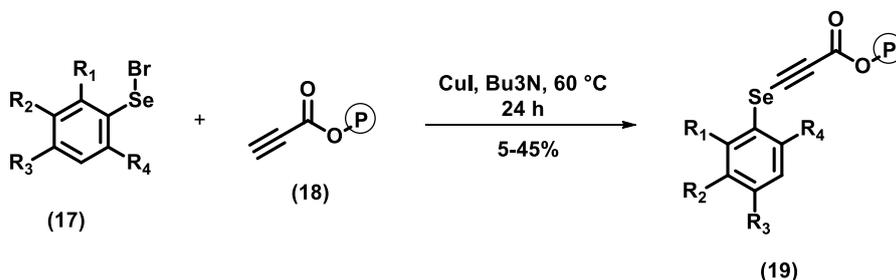
Oshida et al (2008) investigaram a oxidação alílica em um composto de organoselênio preparado pela reação entre o agente eletrofílico PhSeCl com um alceno. O composto organoselênio formado é reorganizado para uma estrutura mais estável pelo rearranjo sigmatrópico [1,3], (esquema 7).

Esquema 7 - Reação do haleto de selenila com alcenos



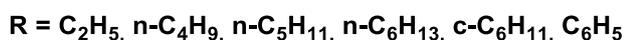
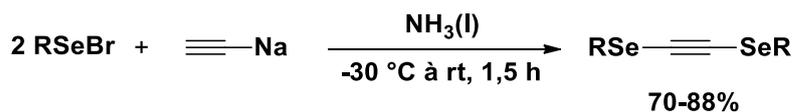
Gendre e Diaz (2000) sintetizaram uma nova série de compostos organoselênio pela reação dos brometos de selenila com os alquinos terminais em presença de CuI, obtendo-se rendimentos de 5-45%, (esquema 8).

Esquema 8 - Reação de haleto de selenila com alcino terminal



Yang e Huang (1997) preparam compostos de organoselênio com rendimentos de 70-88% a partir da reação do acetileno de sódio com os brometos de alquilselenila usando amônia líquida como solvente, (esquema 9).

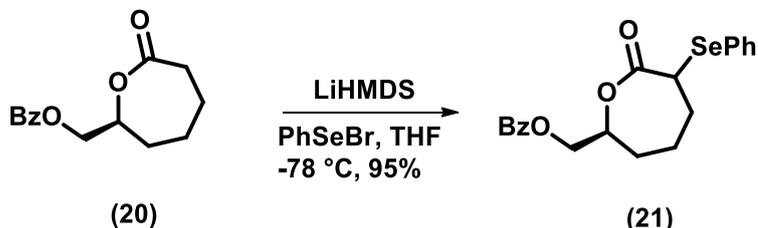
Esquema 9 - Reação de haleto de selenila com alctilenos terminal



Ferrié et al (2014) preparam o composto organoselênio a partir da litição da lactona e em seguida tratado com o PhSeBr. O composto obtido é oxidado para produzir o

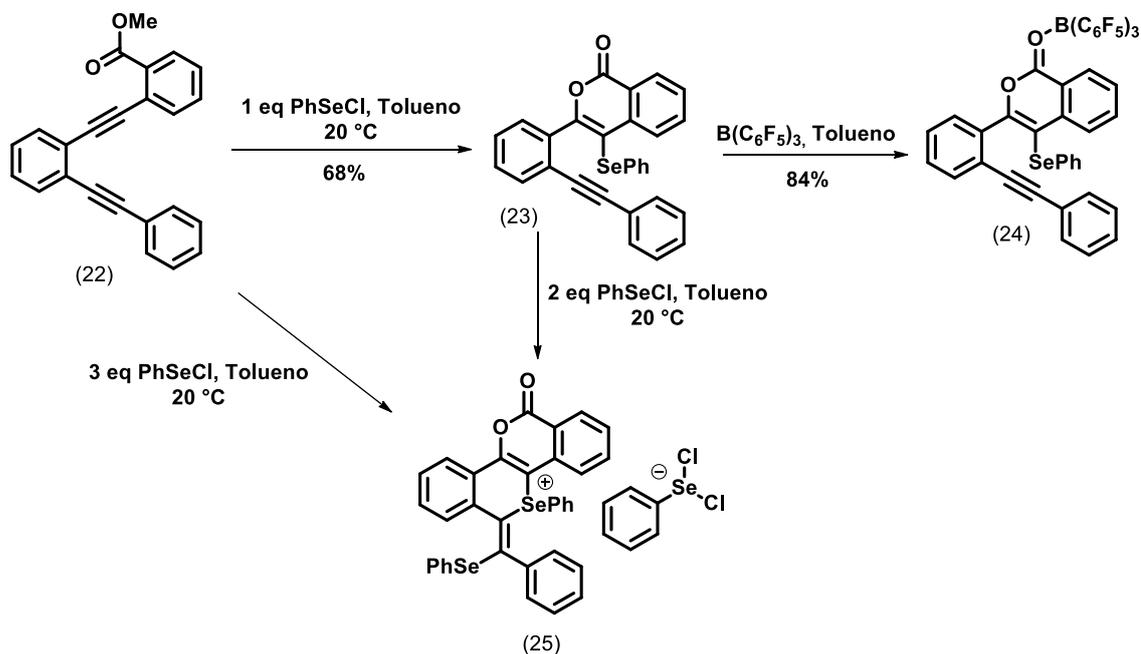
intermediário da síntese da Klaivanolide, que é um composto natural antiparasitária que foi isolado da *Uvaria klaineana*, (esquema 10).

Esquema 10 - Reação com o PhSeBr na síntese do intermediário



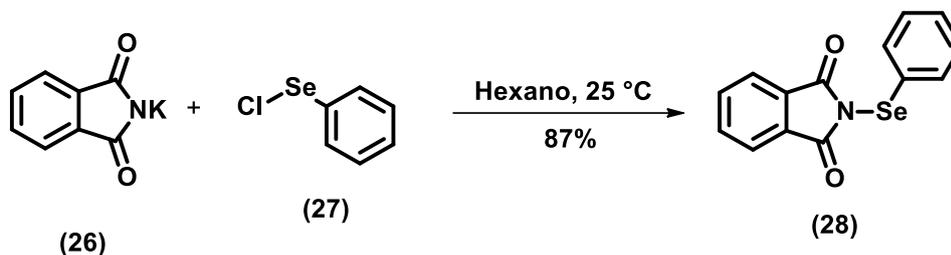
Wilkins et al (2016) relataram a síntese de novas moléculas de organoselênio análogas a isocoumarina reagindo o composto em tolueno a temperatura ambiente usando o agente eletrofílico PhSeCl como fonte do selênio, (esquema 11).

Esquema 11 - Obtenção do análogo selenoisocumarínico



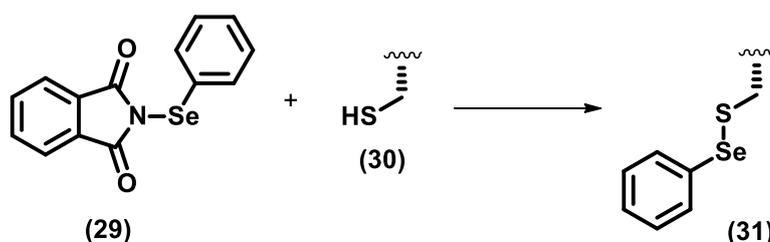
A *N*-fenilselenoftalimida pode ser eficientemente preparada pela reação da ftalimida de potássio com o PhSeCl (NICOLAU, 1985), (esquema 12).

Esquema 12 - Obtenção da *N*-fenilselenoftalimida



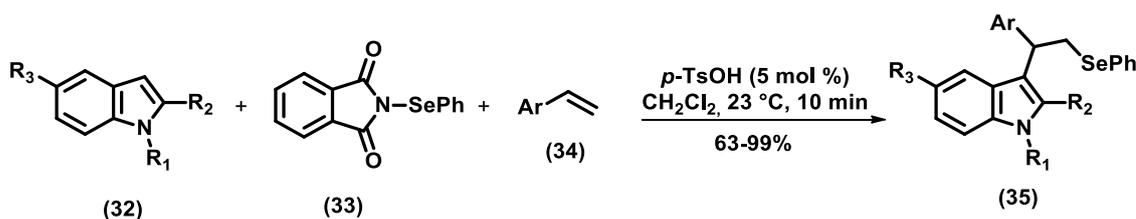
Parker e Brodbelt (2016) realizaram uma síntese de um composto organoselênio através da reação de *N*-fenilselenoftalimida com o aminoácido cisteína com o propósito de quantificar a quantidade de cisteínas livre e ligadas em proteínas, (esquema 13).

Esquema 13 - Obtenção do organoselênio da cisteína



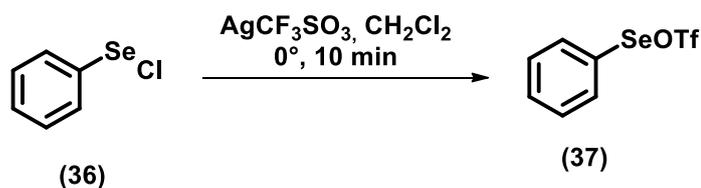
Zhao et al (2007) relataram a síntese de uma série de compostos de organoselênio derivados de índoles usando a *N*-fenilselenoftalimida como fonte de selênio em presença do ácido *p*-TsOH como catalisador, obtendo-se rendimentos de 63-99%, (esquema 14).

Esquema 14 - Derivados de índoles usando *N*-fenilselenoftalimida



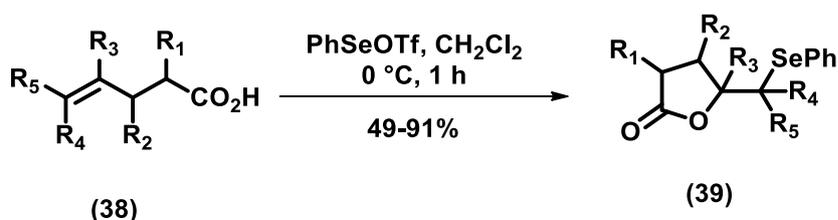
Outro agente eletrofílico usado como fonte de selênio é o trifluorometanosulfonato de benzenoselenila, PhSeOTf . Quando é usado, o composto é usualmente preparado via *in situ* pela reação entre PhSeCl com o trifluorometanosulfonato de prata em diclorometano, obtendo-se uma suspensão alaranjada (Murata e Suzuki, 1987), (esquema 15).

Esquema 15 - Preparação do trifluorometanosulfonato de benzenoselenila



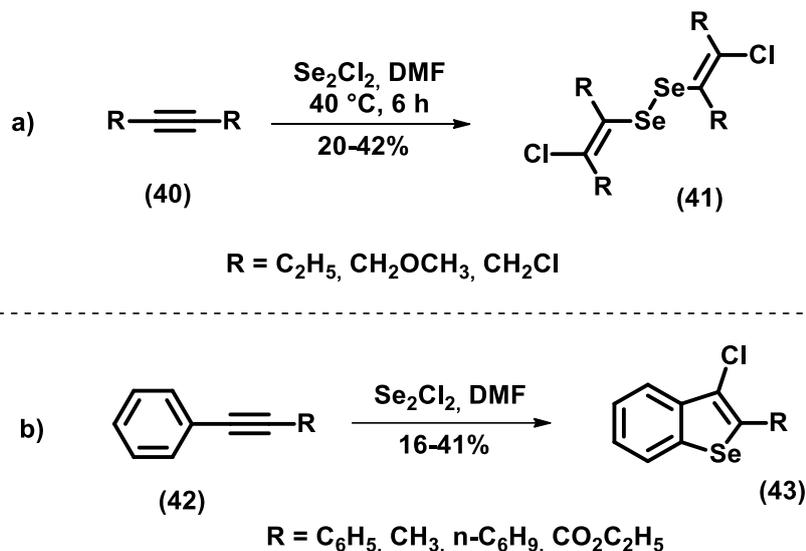
O PhSeOTf participa de reações para a formação de compostos cíclicos, como as lactonas, derivados de pirano ou de tetraidrofurano. Murata e Suzuki (1987) relataram a síntese de novos compostos organoselênio derivados da lactona a partir da reação entre o PhSeOTf com os ácidos carboxílicos γ,δ -insaturados, com rendimentos de 49-91%, (esquema 16).

Esquema 16 - Formação dos compostos cíclicos com trifluorometanosulfonato de benzenoselenila

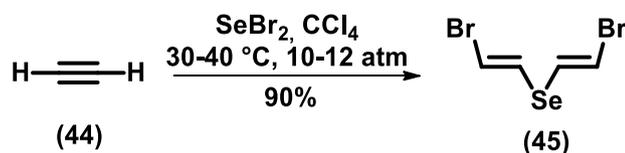


O Se_2Cl_2 é também usado como um agente eletrofílico como fonte de selênio. Esse reagente foi preparado por Berzelius usando o selênio elementar e o cloro. Uma mistura de selênio elementar ácido clorídrico e dióxido de selênio é outra forma de prepara o Se_2Cl_2 .

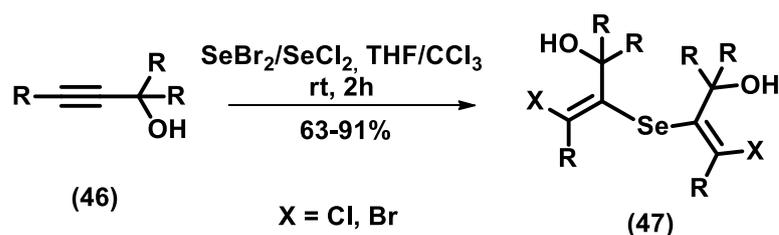
Ried e Sell (1974) relataram a síntese de novos compostos organoselênio a partir da reação entre o Se_2Cl_2 com diferentes alcinos usando o DMF como solvente, como rendimentos de 20-42%, (esquema 17, entrada a). No mesmo artigo relataram a síntese de compostos heterocíclicos contendo o selênio a partir de alcinos contendo anéis aromáticos com o Se_2Cl_2 , com rendimentos de 16-41%, (esquema 17, entrada b)

Esquema 17 - Reação com Se_2Cl_2 com alcinos na preparação de compostos organoselênio

Os compostos SeCl_2 e SeBr_2 são outras fontes utilizadas para a preparação de compostos organoselênio. Potapov et al (2009) relataram a síntese do seleneto de bis(2-bromovinila) como rendimento de 90% usando o SeBr_2 como agente eletrofílico e o acetileno em tetracloreto de carbono numa temperatura de 30-40 °C numa pressão de 10-12 atm, (esquema 18).

Esquema 18 - Reação com SeBr_2 com o acetileno

Braverman et al (2010) relataram a síntese de compostos organoselênio com rendimentos de 63-91% usando SeCl_2 e o SeBr_2 com os álcoois propargílicos usando THF ou CCl_3 como solvente a uma temperatura ambiente, (esquema 19).

Esquema 19 - Reação com SeBr_2 e SeCl_2 com os álcoois propargílicos

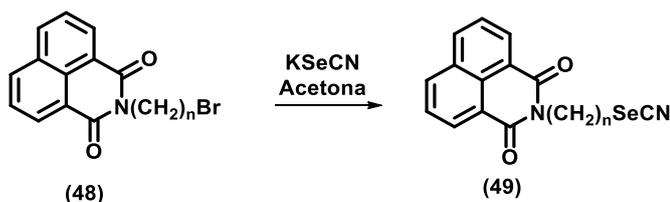
2.2.3 REAGENTES DE SELÊNIO NUCLEOFÍLICO

Da mesma forma que os compostos eletrofílico de selênio são usados para preparar compostos organoselênio, os compostos nucleofílicos de selênio são usados para introduzir o selênio no esqueleto das moléculas orgânicas. Os compostos nucleofílicos de selênio podem ser da natureza orgânica ou inorgânica.

Os compostos inorgânicos que são usados para introduzir o selênio em uma molécula orgânica são: o KSeCN, disseleneto de metais alcalinos (M_2Se_2), os selenetos de metais alcalinos (M_2Se), NaHSe, dentre outros.

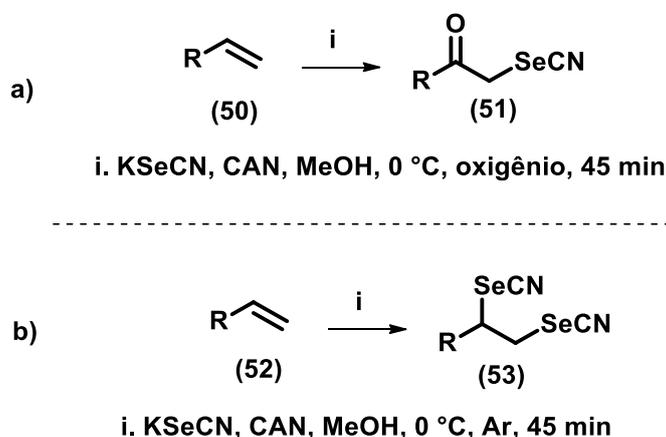
Hossain (2005) relatou vários compostos de organoselênio usando o KSeCN e o haleto de alquila em acetona, (esquema 20).

Esquema 20 - Reação com o KSeCN como haleto de alquila



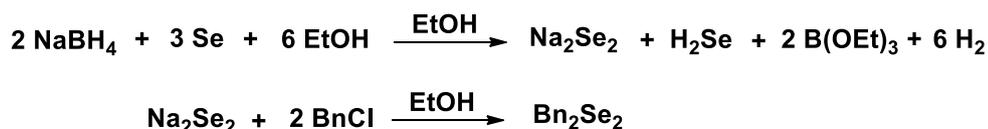
Nair (2002) relatou a síntese de novos organoselênio com bons rendimentos usando o KSeCN com estirenos em presença de nitrato de amônio de cério (IV) (CAN) em metanol sob oxigênio, (esquema 21, entrada a). Quando a reação é feita sob em atmosfera de argônio, ocorre a formação do bis(selenocianato) (esquema 21, entrada b).

Esquema 21 - Reação com o KSeCN em atmosfera de Argônio e Oxigênio



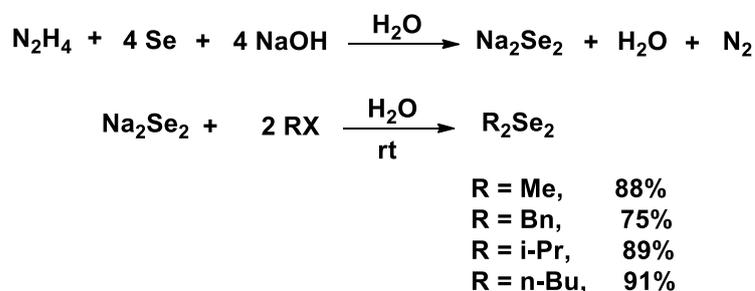
Klayman e Griffin (1973) investigaram e descobriram que o NaBH_4 em solventes práticos tais como água ou etanol, reduz o Se rapidamente e com liberação de calor na temperatura ambiente para obter o disseleneto de sódio (Na_2Se_2). Subsequentemente, a solução preparada com EtOH foi tratada com o cloreto de benzila, fornecendo o diseleneto de dibenzila com um rendimento de 92%, (esquema 22).

Esquema 22 - Reação a partir do disseleneto de sódio

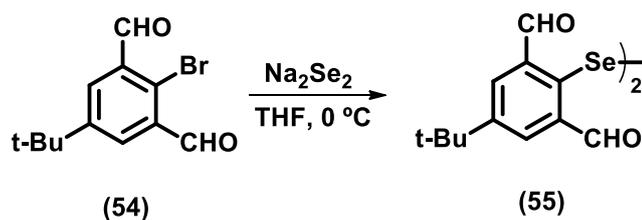


Syper e Młochowski (1984) mostrou que a reação entre a hidrazina hidratada e o selênio elementar na presença de NaOH é um método eficiente para a geração de disseleneto de sódio. Depois da obtenção, o mesmo pode ser tratado com os haletos de alquila para fornecer organoselênios com ótimos rendimentos, (esquema 23).

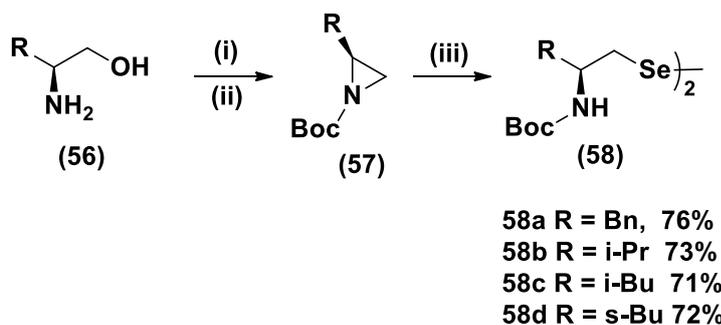
Esquema 23 - Preparação do disseleneto de sódio usando hidrazina e NaOH



Panda et al (1999) relataram a síntese do organoselênio de por meio da reação do brometo de arila (54) com disseleneto dissódico em THF à 0 °C, (esquema 24).

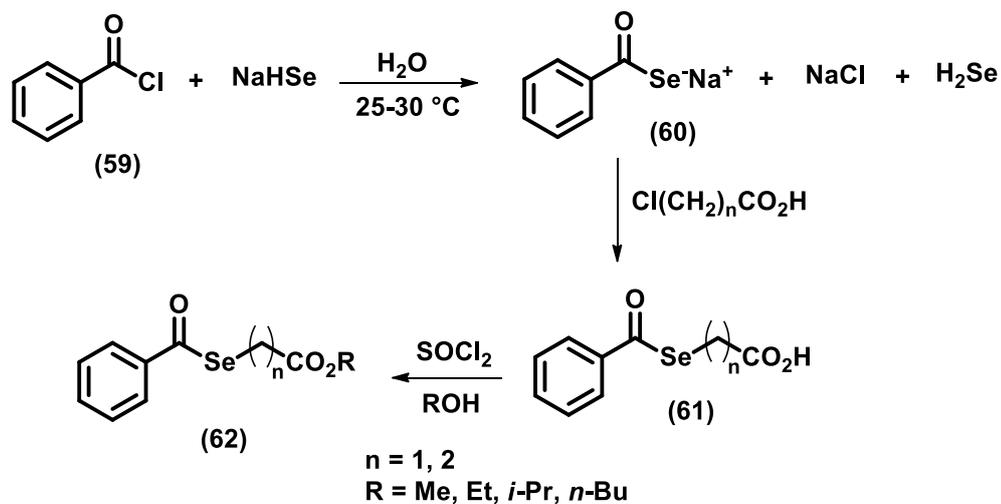
Esquema 24 - Reação do disseleneto de sódio com o brometo de arila

Braga et al (2003) relataram a síntese de uma série de organoselênio de amino quirais a partir de α -aminoalcoól como material de partida, (esquema 25). Esses compostos foram usados como catalisadores para a adição enantiosseletiva do Et_2Zn a aldeídos com 99% de excesso enantiomérica.

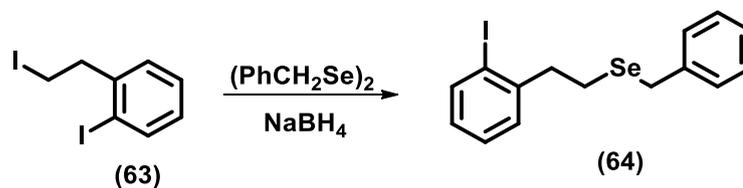
Esquema 25 - Preparação de amino quirais com disseleneto de Lítio

Reagentes e condições: (i) Boc_2O , CH_3N , rt, 3 h; (ii) KOH , TsCl , THF, refluxo, 4 h; (iii) Li_2Se_2 , THF, rt, 12 h.

O Se tratado com NaBH_4 em água fornece o NaHSe , um bom agente nucleofílico para a inserção de Se na química orgânica. Quando o NaHSe é tratado com o cloreto de benzoíla resulta a formação do selenoato. O selenoato é tratado com os derivados de ácido ω -cloro para formar os ácidos selenoéster. Os ésteres são obtidos pelo tratamento dos ácidos com o cloreto de tioníla e com o álcool correspondente, (esquema 26) (RADHAKRISHNA, 2010).

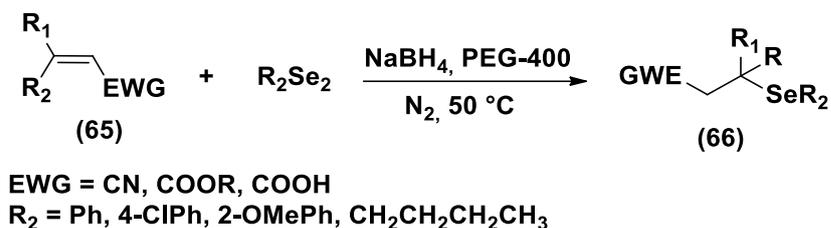
Esquema 26 - Reação do NaHSe na preparação de novos compostos de organoselênio

Espécies nucleofílica de Selênio podem ser obtidos a partir da redução de diselenetos com NaBH_4 em solventes como PEG-400, EtOH, THF. O composto organoselênio foi obtido a partir da reação do composto halogenado com o diseleneto que foi reduzido com o NaBH_4 (esquema 27).

Esquema 27 - Reação a partir da redução do disseleneto orgânico

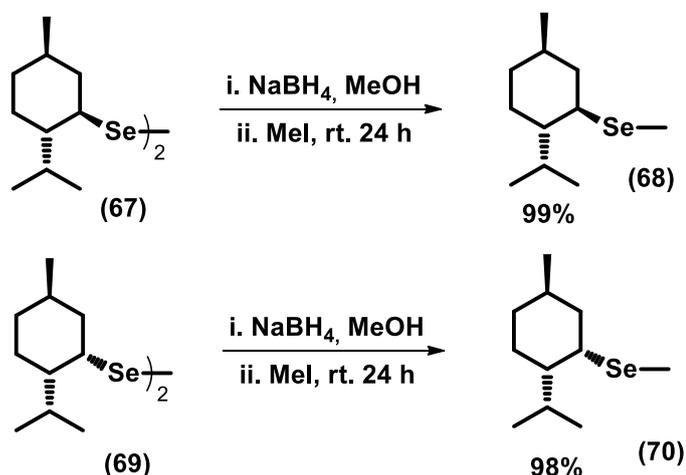
Perin et al (2013) usaram o disseleneto como gerador de espécie nucleofílica de Se depois de tratar com NaBH_4 em PEG-400 como solvente em atmosfera de N_2 . Vários compostos foram sintetizados usando esse método (esquema 28).

Esquema 28 - Redução do disseleneto com NaBH₄



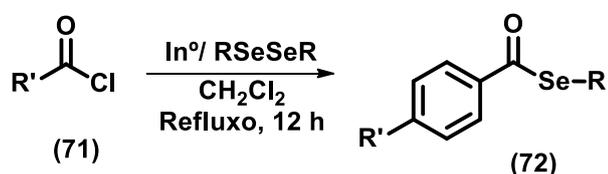
Os compostos de organoselênio derivados do mentol foram obtidos a partir da reação one-pot dos disselenetos derivados do mentol com NaBH₄ e depois tratados com iodeto de metila (esquema 29) (BANACH, 2015).

Esquema 29 - Redução do disseleneto derivado do mentol



Marin et al 2009 usaram o disseleneto como fonte de selênio para reagir com os cloretos de ácidos usando o índio metálico como catalisador (esquema 30). Neste método, observam-se as seguintes características: (i) são utilizados agentes de acilação facilmente acessíveis; (ii) o metal índio é estável ao ar e a umidade, não tóxico e está disponível na natureza em forma pura; (iii) condições neutra; (iv) vários grupos podem ser acoplados dentro do disseleneto ou nos cloretos de acíla; (v) possuem de bons a excelentes rendimentos para os ésteres de selenol (MARIN. 2009).

Esquema 30 - Obtenção dos compostos organoselenio usando índio como catalisador



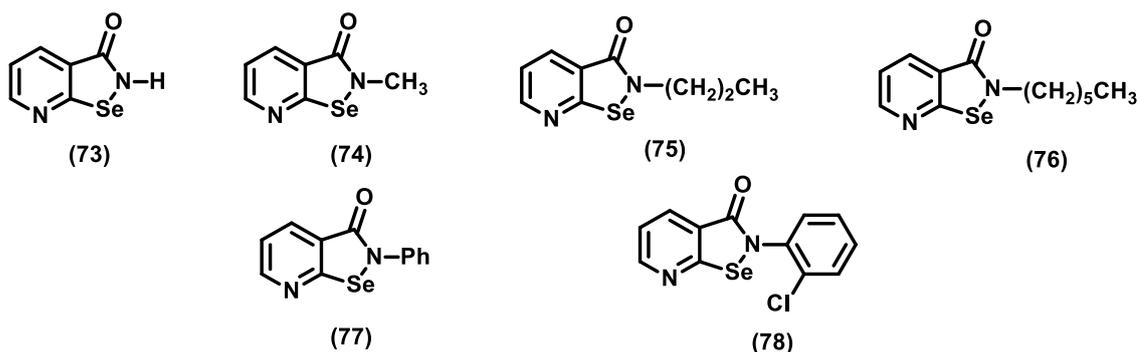
2.3 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DOS COMPOSTOS ORGANOSELÊNIO

Um das principais aplicabilidades dos compostos organoselênio é na variedade de atividades biológicas como: antimicrobiana, anti-inflamatórios, antinociceptivo, anticâncer e entre outros

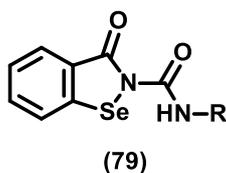
2.3.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Existem muitos compostos de organoselênio que apresentam atividades antibacteriana e antifúngica e são mais potentes que os análogos que possuem enxofre. Mlochowski et al (2003) apresentam uma série azabenzisoselenazol-3(2H)-ona que exibiram atividades contra varias espécies de bactéria e fungos, (figura 1).

Figura 1 - Composto com atividades antifúngica e antibacteriana

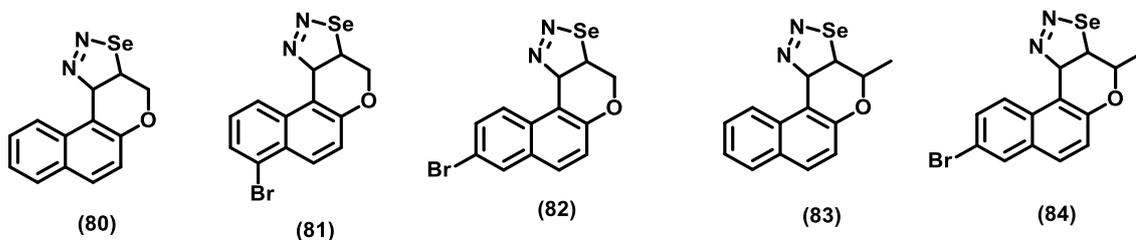


Pietka-Ottlik et al (2008) relataram diferentes benzisoselenazol-3(2H)-onas N-substituídas (figura 2), análogos de ebselen com atividade biológica contra os microorganismos patogênicos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*) com MIC entre 1.0-512 µg/mL.

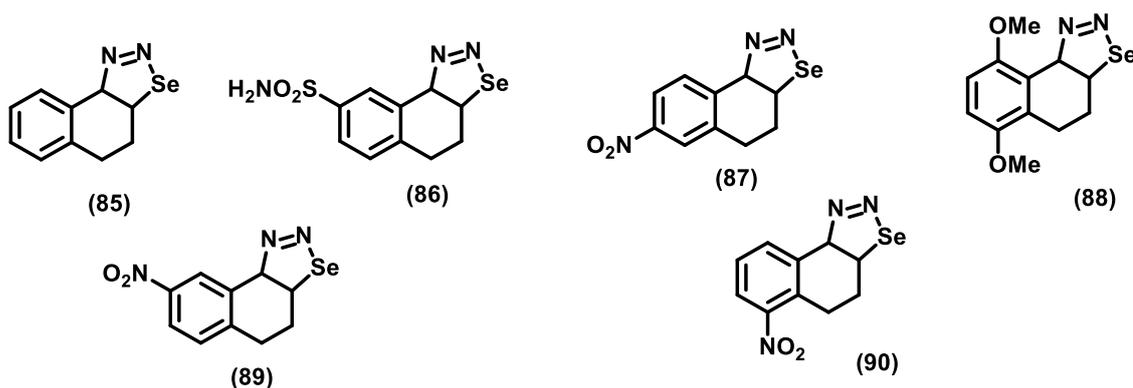
Figura 2 - Benzisoselenazol-3(2H)-onas *N*-substituídas

R = Ph, H, Me, Et, n-Pr, i-Pr, n-Bu, t-Bu, c-Hex, adamantil, $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$, CH_2OH , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OEt})_2$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{OMe})_2$, CH_2COOH , $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{I}^-$, $\text{CO}(\text{NHPr})$, $\text{CO}(\text{NH-c-Hex})$, $\text{CO}(\text{NHPh})$, $\text{CO}(\text{NHPh-3Cl})$

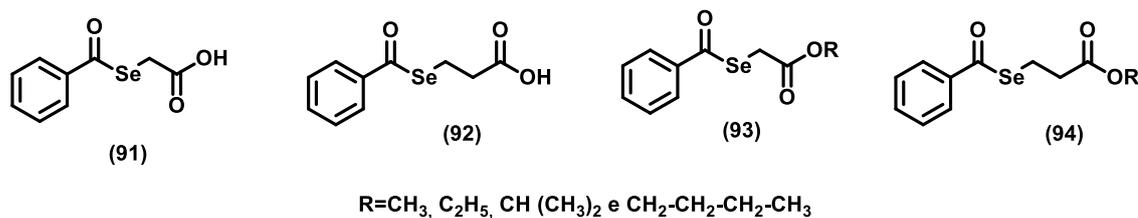
Karnik et al (2008) relataram a síntese e atividade contra espécies Gram-positivas e Gram-negativas de bactérias de uma série de selenadiazóis, (figura 3).

Figura 3 - Compostos derivados do selenadiazóis

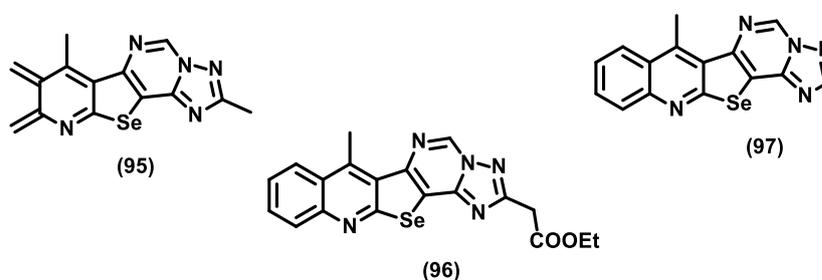
Shafiee et al (2003) verificaram que os compostos de selenadiazóis possuem baixa citotoxicidade e são bons agentes antifúngicos frente à cepa *Cryptococcus neoformans*, (figura 4).

Figura 4 - Compostos derivados dos selenadiazóis

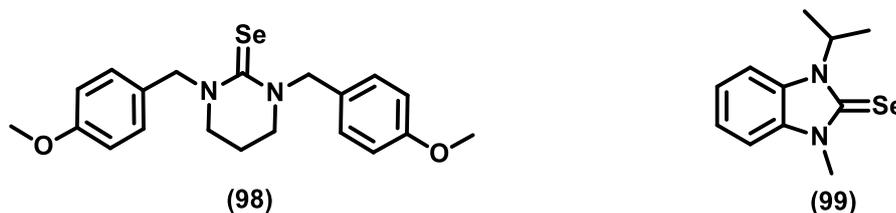
Radhakrishna et al (2010) sintetizaram e relataram a atividade inibitória dos compostos testados contra as espécies bacterianas (figura 5).

Figura 5 - Compostos com atividades antibacteriana

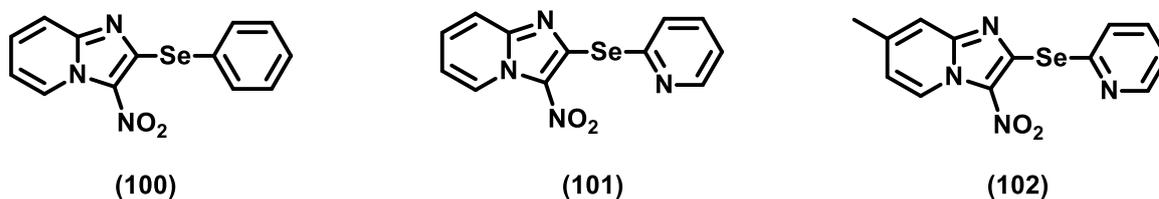
Abdel-Hafez (2010) realizaram testes antibacteriano e antifúngico com uma nova série de derivados selenole[2,3-b]quinolina e mostraram que na maioria dos compostos a CIM era de 100 mg/mL, (figura 6).

Figura 6 - Compostos derivados da selenolequinolina

Talas et al (2015) sintetizaram dois diferentes de compostos de organoselênio, 1-isopropil-3-metilbenzimidazol-2-selenona e 1,3-di-p-metoxibenzilpirimidina-2-selenona (figura 7) que apresentaram atividades antimicrobianas eficientes contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos.

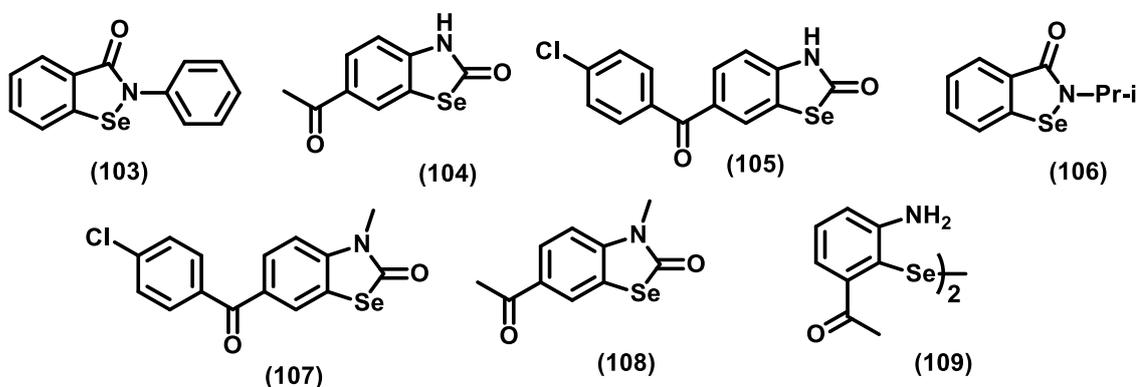
Figura 7 - Compostos de organoselênio com atividades antimicrobianas

Kumar et al (2016) avaliaram a atividade antimicrobianas em diferentes cepas de bactérias e fungos (*Aspergillus fumigatus*, *Escherichia coli*, *Candida krusei*, *Aspergillus niger* e *Candida parapsilosis*) dos compostos de selenetos de imidazo[1,2-a]piridina com uma MIC entre 2.48-41.66 µg/mL, (figura 8).

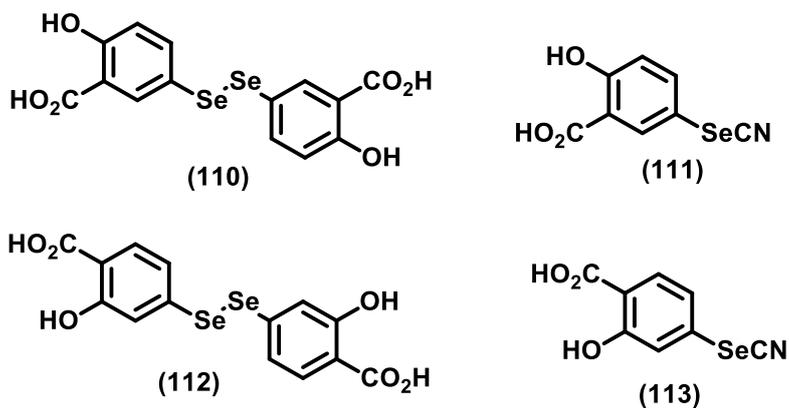
Figura 8 - Selenetos com atividades antimicrobianas

2.4 COMPOSTOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTINOCICEPTIVO

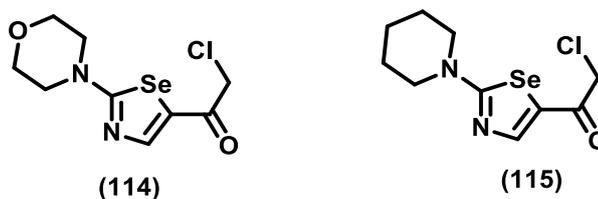
Os compostos de organoselênio são capazes de modular a ação anti-inflamatória. Um exemplo desses compostos é o Ebselen que exerceu seus efeitos através da inibição da COX e LOX. Outros compostos derivados de organoselênio apresentaram também seus efeitos através da inibição da COX e LOX (GALET et al., 1994; SCHEWE et al 1994), (figura 9).

Figura 9 - Compostos com atividade anti-inflamatória

Chagas et al (2014) realizaram um estudo acerca da atividade antinociceptivo e anti-inflamatória de compostos de organoselênio derivado do ácido salicílico. Além disso, um dos compostos sintetizados (111) não apresentou nenhuma toxicidade e nem lesões gastrointestinais. Com esse resultado observado, esse composto é de uma grande importância para o desenvolvimento de novas drogas clinicamente relevantes para o tratamento da dor e distúrbios inflamatórios, (figura 10).

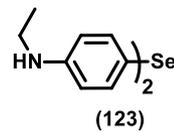
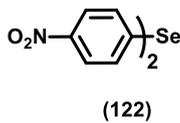
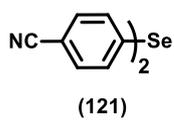
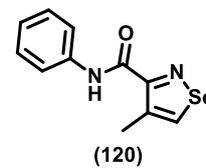
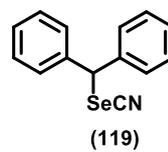
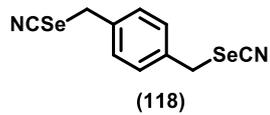
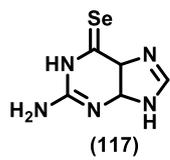
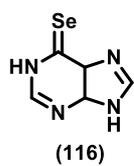
Figura 10 - Compostos derivados do ácido salicílico

Nam, Koketsu e Lee (2008) sintetizaram e relataram dois derivados de 2-amino-1,3-selenazolecetona, o 5-cloroacetila-2-morfolina-1,3-selenazole e o 5-cloroacetila-2-piperidina-1,3-selenazole que apresentaram a inibição da inflamação junto com as atividades antitumoral e neuroprotetores, (figura 11).

Figura 11 - Compostos derivados do selenazole

2.5 COMPOSTOS ANTICÂNCER

A atividade anticâncer do selênio foi descrita por Shamberger (1969) e é dependente da forma química deste elemento. No entanto, em geral, compostos de selênio inorgânicos, tais como selenato ou selenito, são de utilidade médica limitada, uma vez que estão associados com efeitos genotóxicos, particularmente em doses elevadas. Embora os efeitos tóxicos de compostos contendo selênio orgânico não são tão graves e a sua atividade anticancerígena pode variar dependendo da dosagem. Alguns compostos abaixo mostram propriedades anticancerígenas (figura 12) (MAUTNE et al., 1963; GROUTAS et al., 1984; FIALA et al., 1991; EL-BAYOUMY et al., 1991).

Figura 12 - Compostos com propriedades anticâncer

Capítulo 3

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo a sintetizar novos compostos organoselênio, selenoglicolicamidas e avaliar suas potencialidades biológicas, como antimicrobianos, leishmanicida e agentes antineoplásicos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obter compostos intermediários chaves 2-cloro-*N*-arilacetamidas pela reação de acetilação das aminas aromáticas substituídas com o cloreto de 2-cloroacetila;
- ✓ Obter derivados do ácido selenoglicólico usando o pelo método one-pot e o selênio em pó como matéria-prima;
- ✓ Caracterizar os produtos finais por métodos físicos usuais como: espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear unidimensional (^1H e ^{13}C);
- ✓ Determinar as estruturas através de estudos cristalográficos;
- ✓ Avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana, antifúngica, leishmanicida e a citotoxicidade em linhagens de células tumorais das novas moléculas sintetizadas.

Capítulo 4

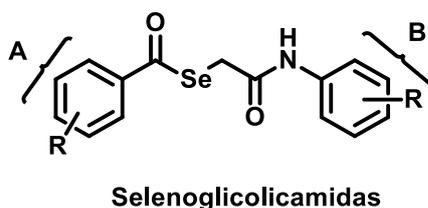
Estratégias

4 ESTRATÉGIAS

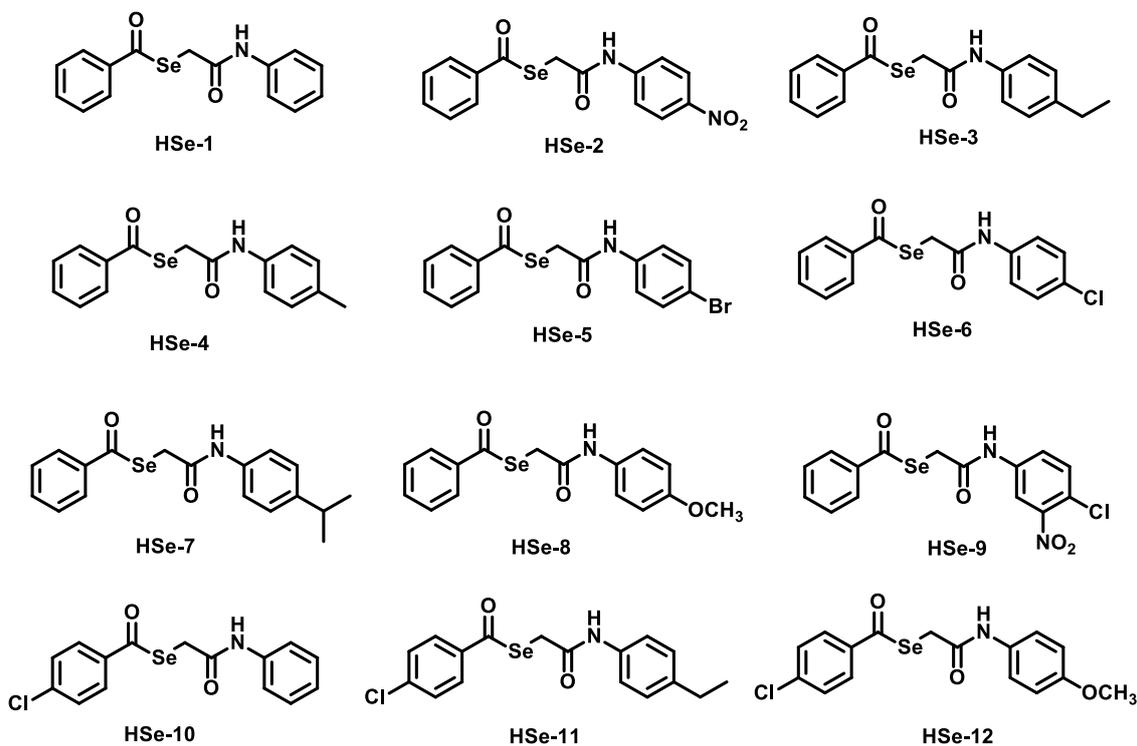
Com o intuito de se obter novas moléculas, como substratos de fácil obtenção e de baixo custo, o planejamento estrutural é uma fase essencial para o desenvolvimento da ciência, assegurando uma melhor probabilidade de resultados com propriedades desejadas.

Tendo em vista que os compostos de organoselênio possuem uma larga gama de atividades biológicas, como a atividade antimicrobiana, anticâncer e leishmanicida, planejou-se a síntese das selenoglicolicamidas, tendo como a figura 13 a estrutura geral. Nos compostos, os **anéis A** e **B** foram escolhidos com grupos farmacofóricos geralmente encontrados em substâncias com potencialidade farmacológica e o baixo custo para a obtenção.

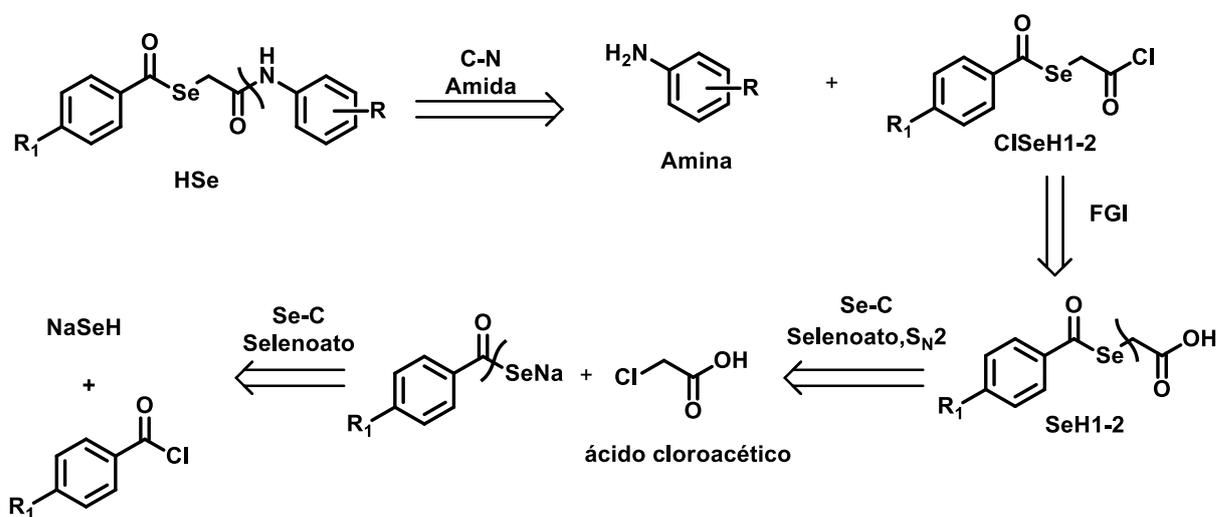
Figura 13 - Estrutura Geral da Selenoglicolicamidas



Desse modo foram sintetizadas 12 compostos inéditos sendo nove compostos (**HSe1-9**) contendo o hidrogênio no anel A (figura 13) e variando os grupos doadores e retiradores de elétrons no anel aromático B e três compostos (**HSe10-12**) contendo o substituinte cloro na posição *para* do anel aromática A (figura 13) e variando o grupo doadores de elétrons no anel aromático B. As estruturas sintetizadas podem ser observadas na Figura 14.

Figura 14 - Estruturas das Selenoglicolicamidas sintetizadas

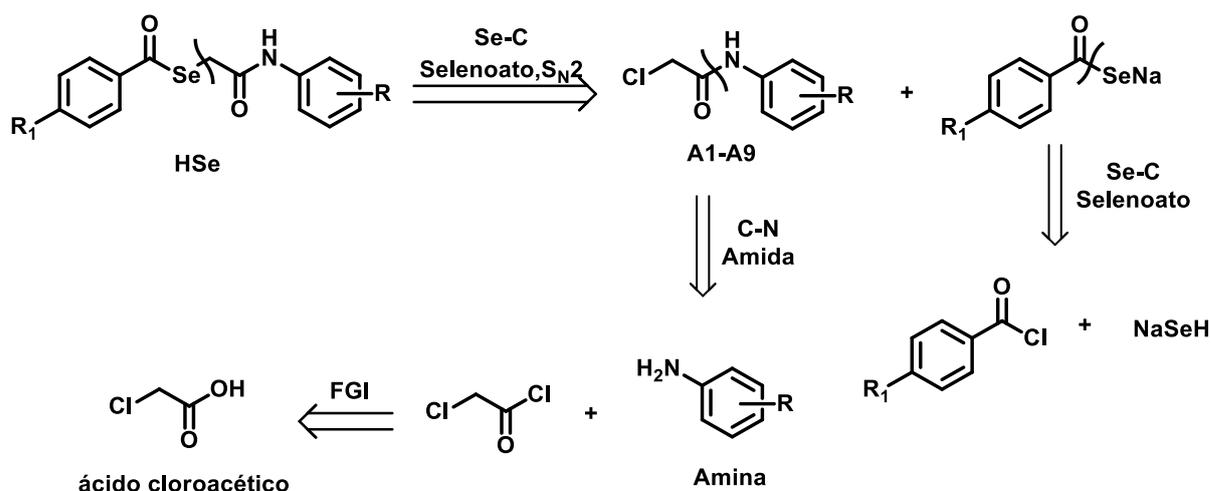
Para a síntese das selenoglicolicamidas, duas rotas sintéticas foram estudadas. O esquema 31 mostra a análise retrossintética para a obtenção das selenoglicolicamidas usando a primeira rota sintética.

Esquema 31 - Análise retrossintética da rota 1

A primeira desconexão baseia-se numa reação de acilação entre o cloreto de aroilselenoglicólico (**CiSeH1-2**) com aminas aromáticas para a obtenção das selenoglicolicamidas (**HSe**). Os cloretos aroilselenoglicólicos (**CiSeH1-2**) são obtidos a partir da reação entre os ácidos aroilselenoglicólicos (**SeH1-2**) com o cloreto de tioníla. Os ácidos aroilselenoglicólicos (**SeH1-2**) é obtido a partir de uma reação de substituição S_N2 onde o selênio nucleofílico na forma de selenoato de sódio reage com o ácido 2-cloroacético. O aroilseneloato de sódio é um intermediário chave para a obtenção dos ácidos aroilselenoglicólicos. Ele é obtido *in situ* pela reação de substituição a carbonila entre o cloreto de aroíla com o hidrogenoseleneto de sódio. O hidrogenoseleneto de sódio é preparado pela reação do selênio em pó com o selênio (preto em pó) com NaBH_4 .

O esquema 32 mostra a análise retrossintética para a obtenção das selenoglicolicamidas usando a segunda rota sintética.

Esquema 32 - Análise retrossintética da rota 2



A primeira desconexão baseia-se numa reação de substituição S_N2 onde o selênio nucleofílico na forma de aroilseneloato de sódio reage com as 2-cloro-N-arylacetamidas (**A1-A9**) para a obtenção das selenoglicolicamidas. Os compostos 2-cloro-N-arylacetamidas são obtidos pela reação entre as aminas aromáticas substituídas com o cloreto de 2-cloroacetila. O cloreto de 2-cloroacetila é obtido a partir da reação entre o ácido 2-cloroacético com o cloreto de tioníla. O aroilseneloato de sódio é obtido *in situ* pela reação de substituição a carbonila entre o cloreto de aroíla com o hidrogenoseleneto de sódio. O hidrogenoseleneto de sódio é preparado pela reação do selênio em pó com o selênio (preto em pó) com NaBH_4 .

A etapa posterior consiste no envio das selenoglicolicamidas para a avaliação biológica. O primeiro estudo foi na avaliação *in vitro* para a atividade antibacteriana e efeito modulador em três cepas de efluxo: **SA-1199B**, **RN-4220**, **IS-58** e também foi utilizada uma cepa padrão **ATCC 25923**, que não produz beta-lactamase e é uma cepa importante para a difusão de disco de teste de qualidade e teste de CIM em *Staphylococcus spp.* Os estudos de atividade antibacteriana foram realizados no Laboratório de Genética de Microrganismos do Departamento de Biologia Molecular da Universidade Federal da Paraíba pela doutora Nathalie Helen Paes Barreto Borges e pelo Professor Dr. José Pinto de Siqueira Júnior.

O segundo estudo foi sobre a avaliação *in vitro* para a atividade antifúngica contra quatro espécies de *Candida*: *Candida albicans* (**ATCC-76485** e **LM-5**) e *Candida tropicalis* (**ATCC 13803** e **LM-96**). Os estudos foram realizados no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas (CSS) da Universidade Federal da Paraíba pela Professora Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima.

O terceiro estudo foi sobre a avaliação *in vitro* para a atividade Leishmanicida frente células promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Os estudos foram realizados pela doutora Juliana da Câmara Rocha e pela Professora Dra. Tatjana Keesen de Souza Lima.

No quarto estudo as selenoglicolicamidas enviadas para a avaliação *in vitro* contra 3 linhagens de células tumorais: MCF-7 (carcinoma de cólon - humano), HEP-2 (carcinoma de laringe - humano) e HL60 (leucemia promielocítica) e foi realizada no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos em colaboração com o Professor Dr. Manoel Adrião.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

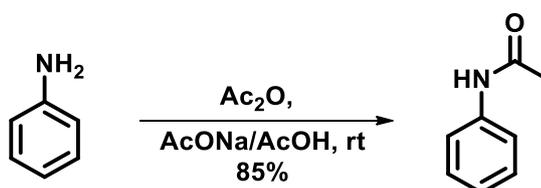
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os avanços e as dificuldades para a síntese das moléculas alvo, bem como a caracterização estrutural e uma breve discussão sobre os resultados da atividade biológica.

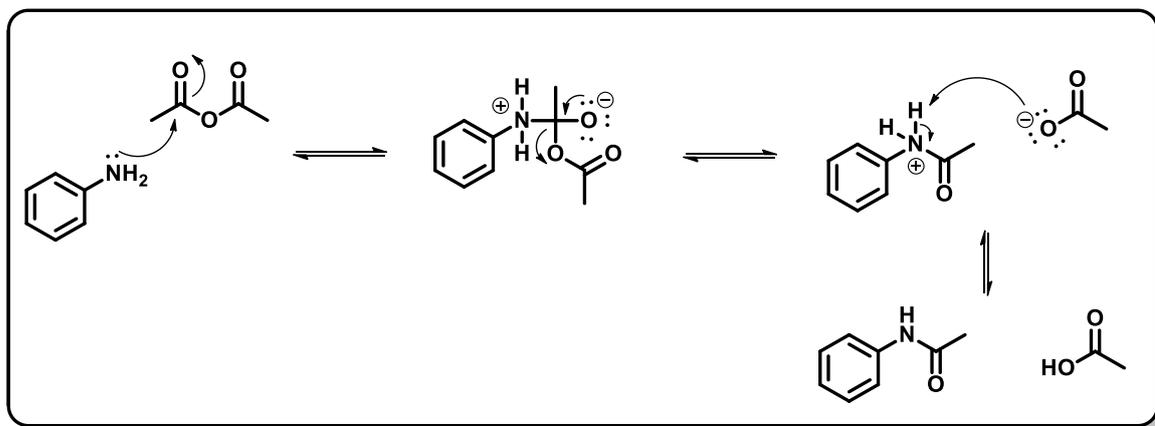
5.1 SÍNTESE DA *p*-NITROANILINA E DA *p*-BROMANILINA

A metodologia usada para a obtenção da *p*-nitroanilina é a partir da nitração da acetanilida seguida de uma hidrólise e a da *p*-bromoanilina é a partir da bromação da acetanilida seguida também de uma hidrólise. Dessa forma, a acetanilida a matéria-prima foi obtida a partir da anilina. As amins podem ser acetiladas de várias maneiras para a obtenção das acetamidas. Dentre elas estão o uso do cloreto de acetila, anidrido acético ou ácido acético. A acetilação é usada com frequência para proteger o grupo amino. A acetanilida foi preparada pela reação entre a anilina com o anidrido acético em uma solução tampão de ácido acético e acetato de sódio (Esquema 33). A acetanilida foi recristalizada usando o solvente etanol e foi obtida com 85% de rendimento.

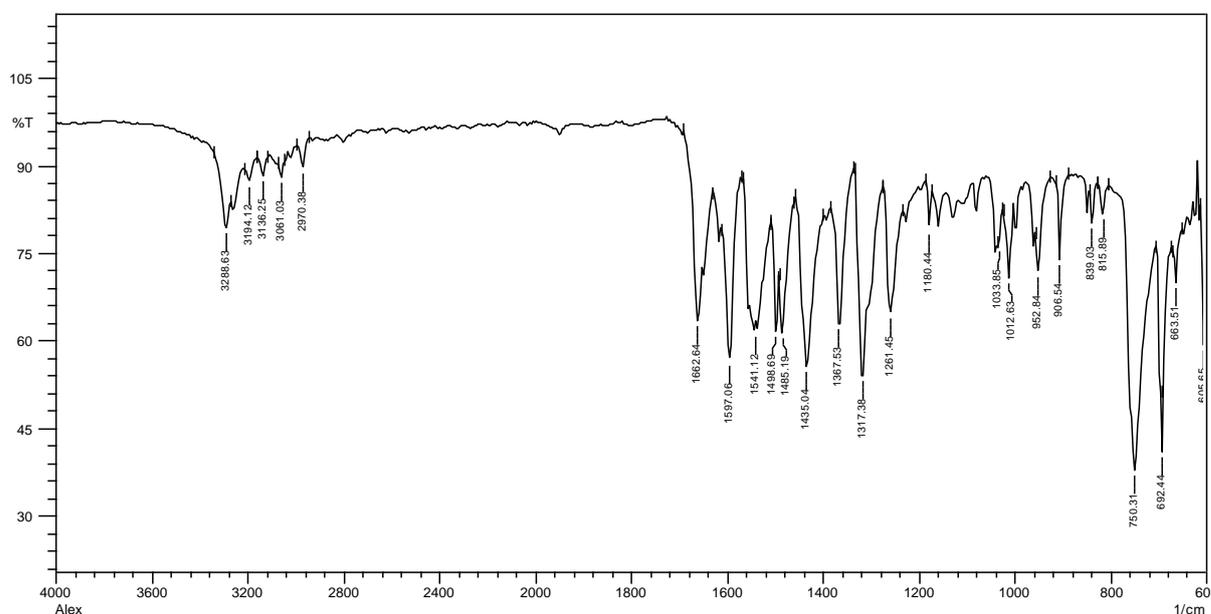
Esquema 33 - Preparação da acetanilida



O mecanismo proposto para a formação da acetanilida pode ser observado na figura 15. O primeiro passo é a adição da anilina ao grupo carbonílico do anidrido acético formando um intermediário tetraédrico. O par de elétrons do oxigênio desloca o grupo de saída, o íon acetato, gerando a acetanilida protonada. O íon acetato remove o próton e assim gerando a acetanilida.

Figura 15 - Mecanismo da acetanilida

O composto foi caracterizado pela técnica espectroscópica de infravermelho. No espectro de infravermelho (Figura 16) observa-se um estiramento em 3288 cm^{-1} referente ao NH da amida secundária. Observou-se em 1662 cm^{-1} um estiramento de $\text{C}=\text{O}$ da carbonila de amida. Absorções de estiramento de $\text{C}-\text{H}$ de sp^2 do anel aromático em 3136 a 3061 cm^{-1} e estiramento de $\text{C}=\text{C}$ de anel aromático em 1597 e 1485 cm^{-1} .

Figura 16 - Espectro de Infravermelho (ATR) da acetanilida

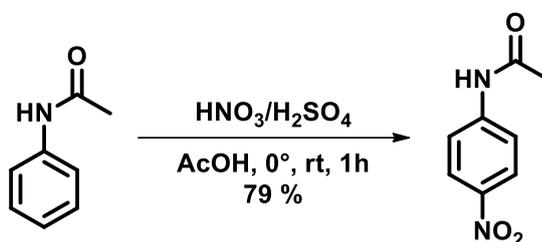
A conversão do grupo amino para o grupo amida modifica a interação do par de elétrons do nitrogênio com os elétrons π do sistema do anel aromático diminuindo o poder ativante do ataque eletrofílico. Dessa forma, quando o grupo acetamidas participa da reação

de substituição eletrofílica, o grupo direciona quase totalmente a substituição eletrofílica para a posição *para*.

Os métodos mais frequentemente usados na nitração de compostos aromáticos são: i) uma mistura de ácido nítrico concentrado e ácido sulfúrico; ii) ácido nítrico fumegante com anidrido acético; iii) ácido nítrico com ácido acético e iv) ácido nítrico diluído.

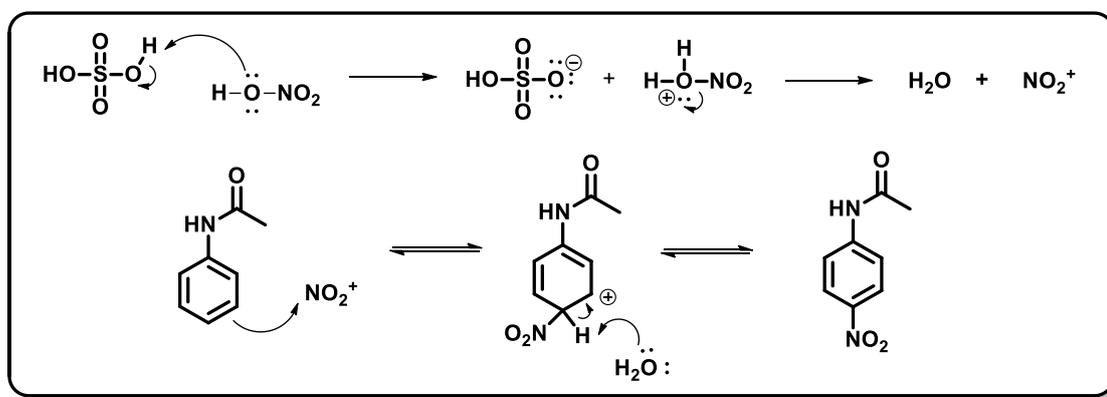
A *p*-nitroacetanilida foi obtida pela reação entre a acetanilida com a mistura de ácido nítrico com ácido sulfúrico usando ácido acético glacial como solvente (Esquema 34). A *p*-nitroacetanilida foi recristalizada em etanol e obtida com 79% de rendimento.

Esquema 34 - Preparação da *p*-nitroacetanilida



O mecanismo da reação pode ser vista na figura 17. A primeira etapa do mecanismo é a formação do íon nitroso, NO_2^+ , gerando in situ pela mistura de ácido nítrico com ácido sulfúrico. Na segunda, os elétrons π do anel aromático ataca o íon NO_2^+ . O resultado é um intermediário carbocátion. A abstração do próton restaura a aromaticidade resultando uma reação de substituição eletrofílica.

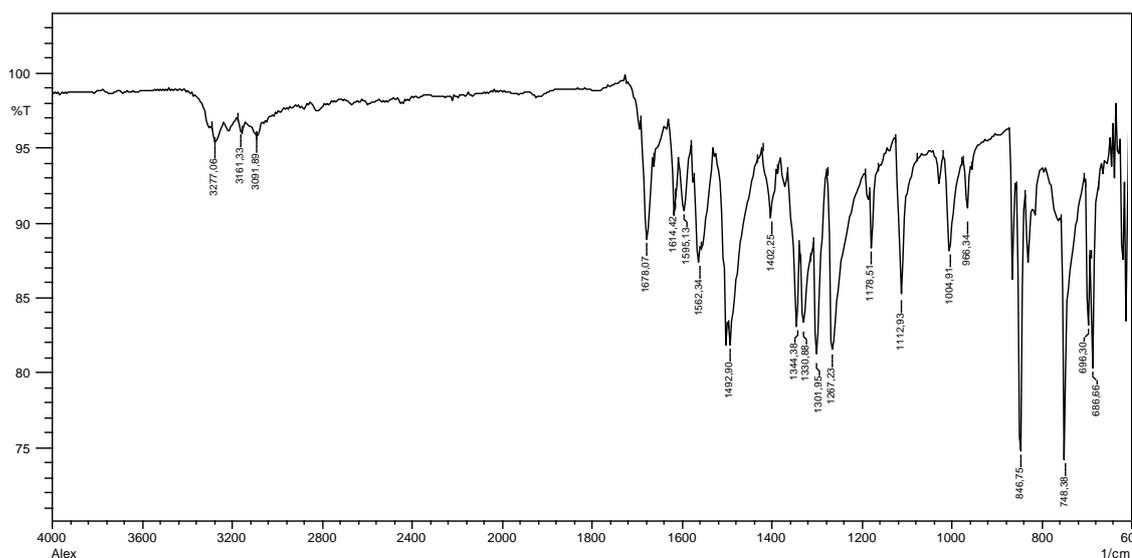
Figura 17 - Mecanismo da *p*-nitroanilina



O composto foi caracterizado pela técnica espectroscópica de infravermelho (Figura 18). No espectro de infravermelho observa-se um estiramento em 3269 cm^{-1} referente ao NH

da amida secundária. Observou-se em 1678 cm^{-1} um estiramento de C=O da carbonila de amida. Absorções de estiramento de C-H de sp^2 do anel aromático em 3161 a 3084 cm^{-1} e estiramento de C=C de anel aromático em 1614 e 1595 cm^{-1} . Absorções de estiramento assimétrico e simétrico do grupo NO_2 em 1492 e 1344 cm^{-1} , respectivamente.

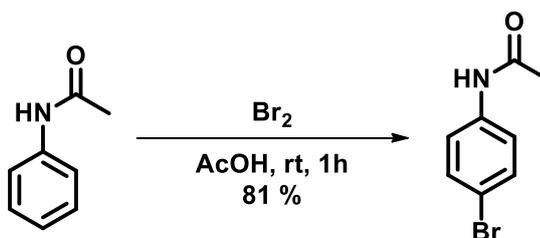
Figura 18 - Espectro de Infravermelho (ATR) da *p*-nitroacetanilida



O método da bromação de compostos aromáticos usa Br_2 e um ácido de Lewis, como FeBr_3 , como catalisador. Quando os compostos aromáticos possuem grupos ativantes, como $-\text{NHCOCH}_3$, esses compostos podem ser bromados com a ausência do catalisador.

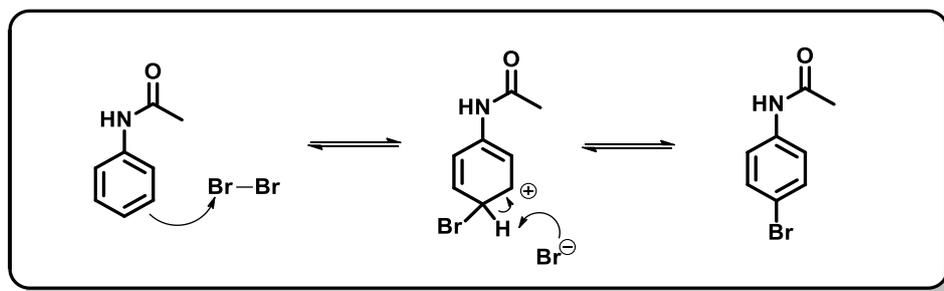
A *p*-bromoacetanilida foi obtida pela reação entre a acetanilida com Br_2 em ácido acético como solvente (Esquema 35). A *p*-bromoacetanilida foi recristalizada em etanol e foi obtida com 81% de rendimento.

Esquema 35 - Preparação da *p*-bromoacetanilida



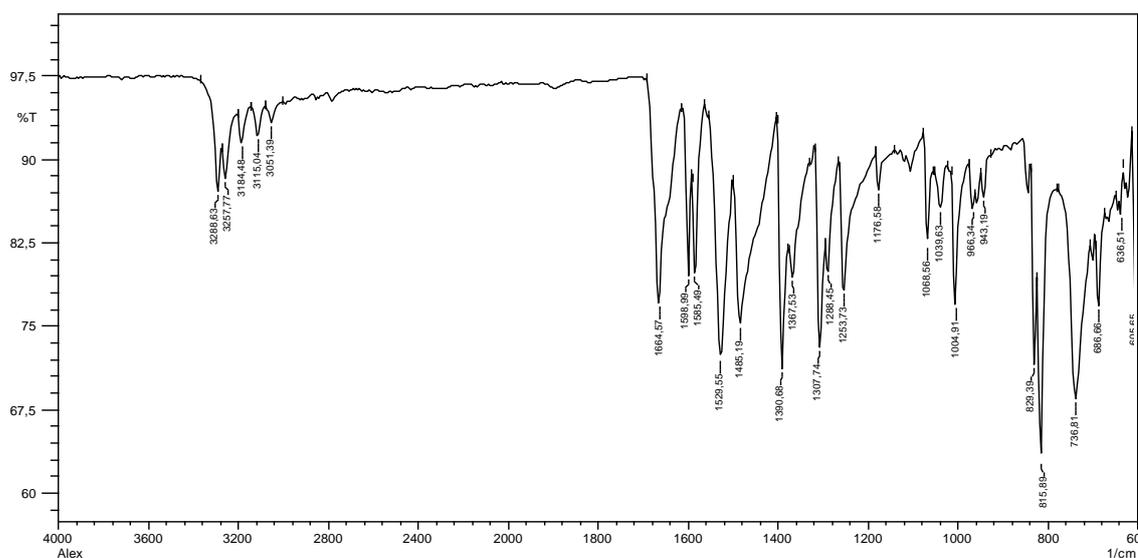
O mecanismo da reação pode ser vista na figura 19. Os elétrons π do anel aromático ataca o Br_2 . O resultado é um intermediário carbocátion. A abstração do próton restaura a aromaticidade.

Figura 19 - Mecanismo da obtenção da *p*-bromoacetanilida



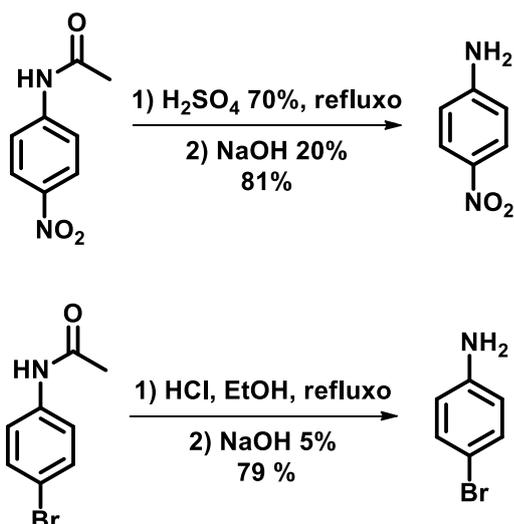
O composto foi caracterizado pela técnica espectroscópica de infravermelho (Figura 20). No espectro de infravermelho observa-se um estiramento em 3290 cm^{-1} referente ao NH da amida secundária. Observou-se em 1666 cm^{-1} um estiramento de $\text{C}=\text{O}$ da carbonila de amida. Absorções de estiramento de $\text{C}-\text{H}$ de sp^2 do anel aromático em 3115 a 3051 cm^{-1} e estiramento de $\text{C}=\text{C}$ de anel aromático em 1600 e 1525 cm^{-1} . Absorções de estiramento do grupo Br em 1068 cm^{-1} .

Figura 20 - Espectro de Infravermelho (ATR) da *p*-bromoacetanilida



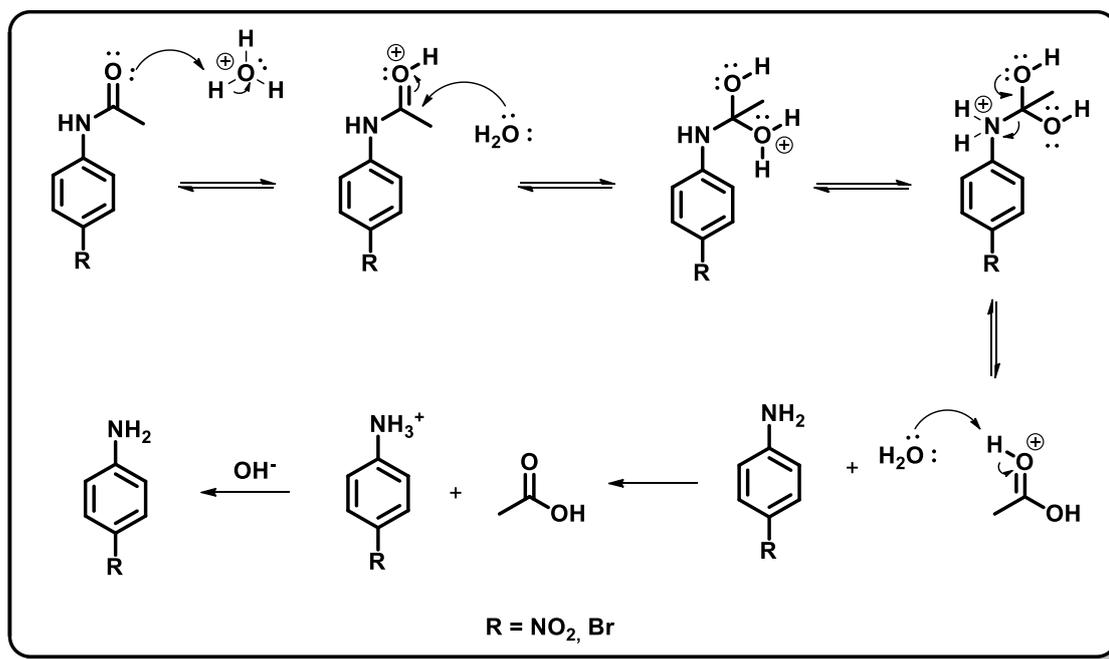
A *p*-nitroanilina e *p*-bromoanilina foram obtidas pela remoção do grupo acetila pela hidrólise catalisada por ácido (Esquema 36). A *p*-nitroanilina foi obtida recristalizada em etanol/água e foi obtida com um rendimento de 81% e a *p*-bromoanilina foi recristalizada em etanol e foi obtida com 79% de rendimento.

Esquema 36 - Preparação da *p*-nitroanilina e *p*-bromoanilina

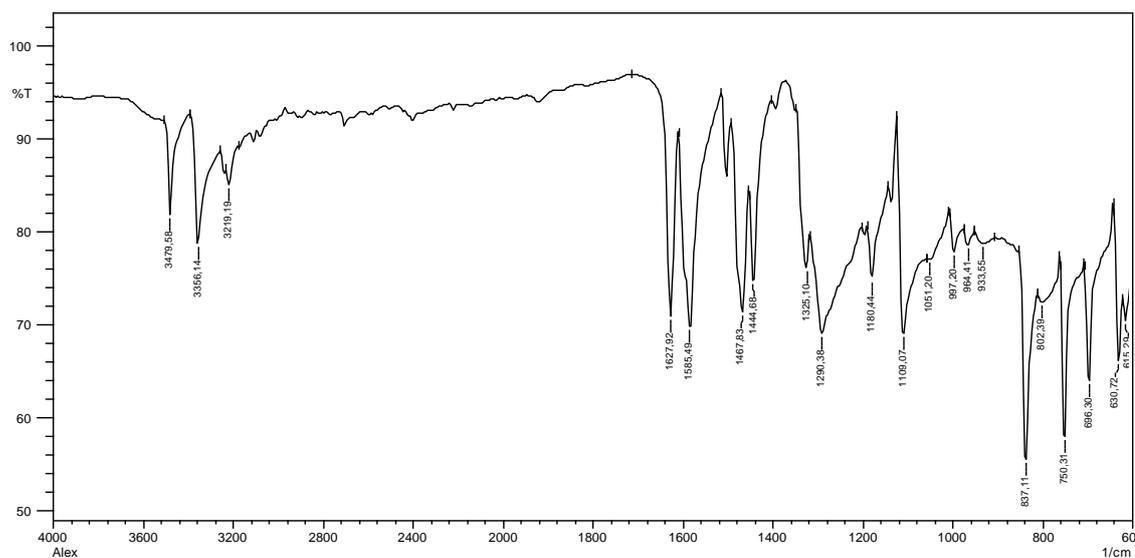
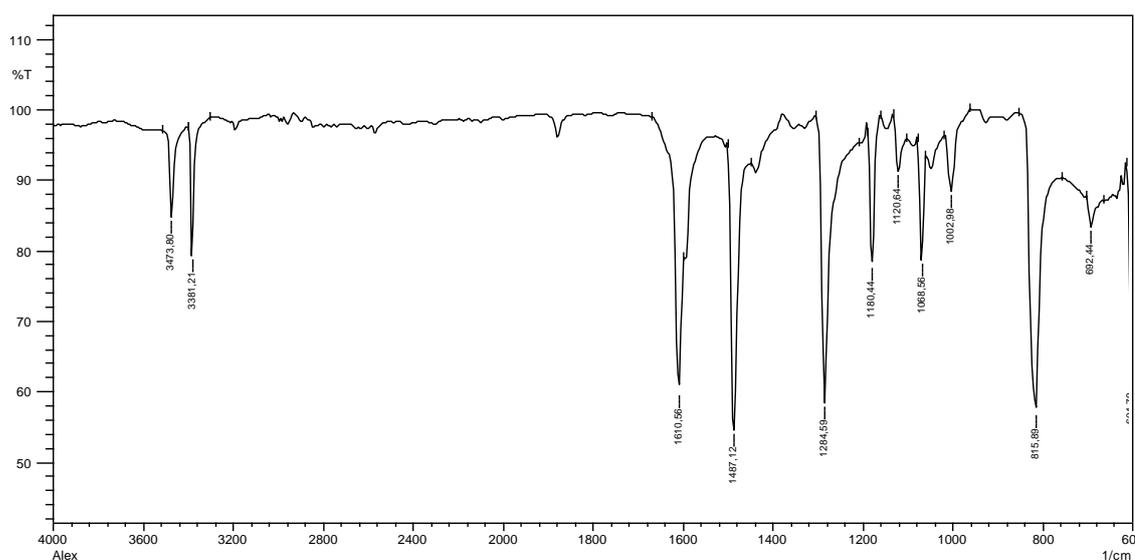


O mecanismo da reação pode ser vista na figura 21. A primeira etapa da reação é a protonação do oxigênio da carbonila, assim aumentando a eletrofilicidade do carbono. A água atua como o nucleófilo atacando a carbonila, gerando um intermediário tetraédrico. A transferência de um próton converte o NHR em um bom grupo abandonador. A carbonila é restaurada e o grupo amina é eliminado. O grupo amina captura o hidrogênio formando a amina protonada e o ácido acético. O sal da amina se converte em amina com a adição da base.

Figura 21 - Mecanismo da obtenção da *p*-nitroanilina e *p*-bromoanilina



Os compostos foram caracterizados pela técnica espectroscópica de infravermelho (Figura 22 e Figura 23). No espectro de infravermelho observou-se o desaparecimento do estiramento de C=O referente à carbonila da amida nos dois compostos. Observam-se estiramentos em 3479 a 3356 cm⁻¹ referentes ao NH de amina primária. Absorções de estiramento de C-H de sp² do anel aromático em 3219 cm⁻¹ e estiramento de C=C de anel aromático em 1610 a 1588 cm⁻¹. Absorções de estiramento do grupo NO₂ em 1487 e 1442 cm⁻¹ e absorções de estiramento do grupo Br em 1068 cm⁻¹.

Figura 22 - Espectro de infravermelho (ATR) de *p*-nitroanilina**Figura 23** - Espectro de Infravermelho (ATR) da *p*-bromoanilina

5.2 SÍNTESE DOS CLORETOS DE ÁCIDOS

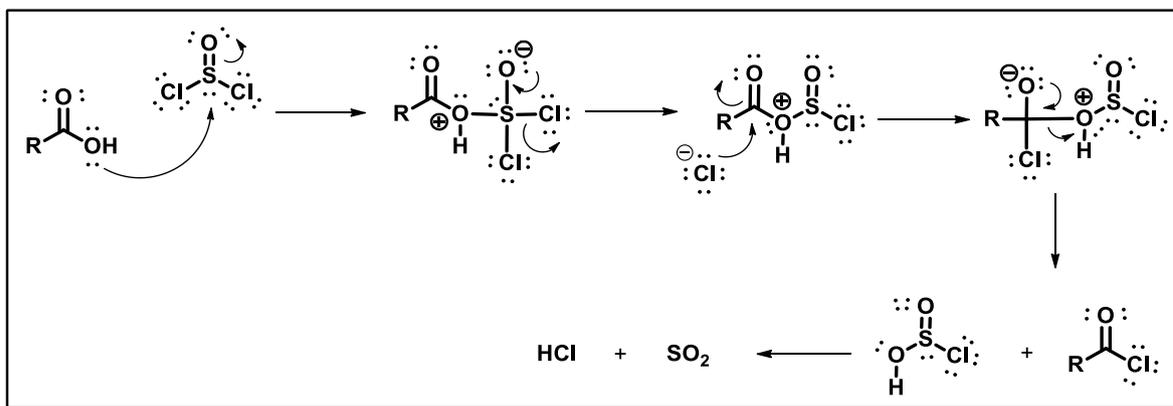
Os cloretos de ácidos usados nesse trabalho foram preparados usando o cloreto de tioníla (SOCl_2) e os respectivos ácidos carboxílicos (tabela 1). Por apresentarem alta reatividade, os cloretos foram utilizados para a próxima etapa sem purificação, após a remoção do excesso do cloreto de tioníla.

Tabela 1- Condições da preparação do cloreto de ácido usando o cloreto de tioníla

$$\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OH} \xrightarrow[\text{Refluxo}]{\text{SOCl}_2} \text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{Cl}$$

Entrada	Ácido carboxílicos	Cloreto de tioníla	Tempo (h)
1	C ₆ H ₅	1,5 equiv	4
2	4-ClC ₆ H ₄	1,5 equiv	4

O mecanismo da reação pode ser vista na figura 24. O grupo carboxílico atua como nucleófilo e é adicionado ao átomo de enxofre do cloreto de tioníla, formando uma nova ligação covalente e gerando um intermediário tetraédrico de enxofre. O íon cloreto é expulso do intermediário tetraédrico, regenerando o grupo sulfoníla, o qual é um bom grupo abandonador (em vermelho). O íon cloreto ataca o carbono da carbonila, formando uma nova ligação covalente e gerando um intermediário tetraédrico. O par de elétrons do oxigênio volta para regenerar a ligação da carbonila, formando o cloreto de ácido e expulsando o grupo abandonador que é instável e se decompõem para produzir dióxido de enxofre e ácido clorídrico.

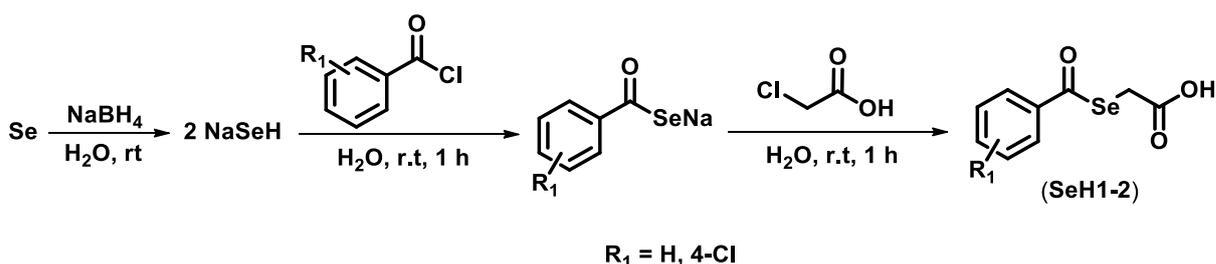
Figura 24 - Mecanismo de obtenção dos cloretos de ácidos

5.3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS FINAIS DERIVADOS DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICOS

5.3.1 TENTATIVA DE OBTENÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS USANDO OS CLORETOS DE AROILSELENOGLICOLICOS

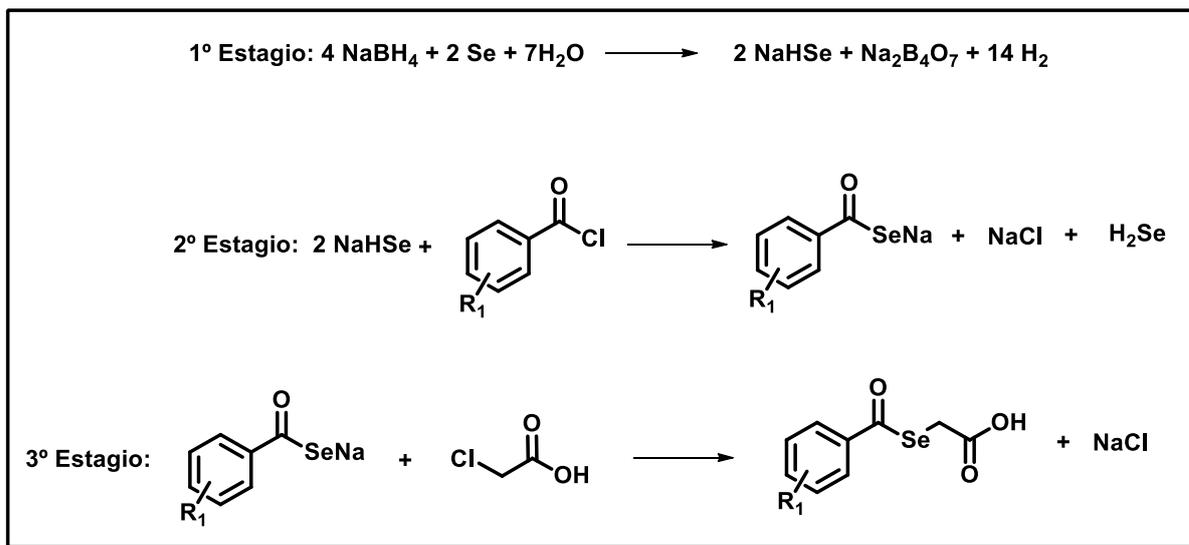
Os ácidos aroilselenoglicólicos (**SeH1-2**) foram obtidos a partir da metodologia apresentada por Athayde-Filho et al (2004) usando um processo “one pot” em meio aquoso ao reagir o NaHSe com os cloretos de aroila e em seguida adição dos ácidos α -halogenoacético para fornecer os produtos sólidos de acordo com o esquema 37. Os compostos foram obtidos com rendimentos entre 45-50%.

Esquema 37 - Esquema reacional da obtenção dos ácidos aroilselenoglicólicos



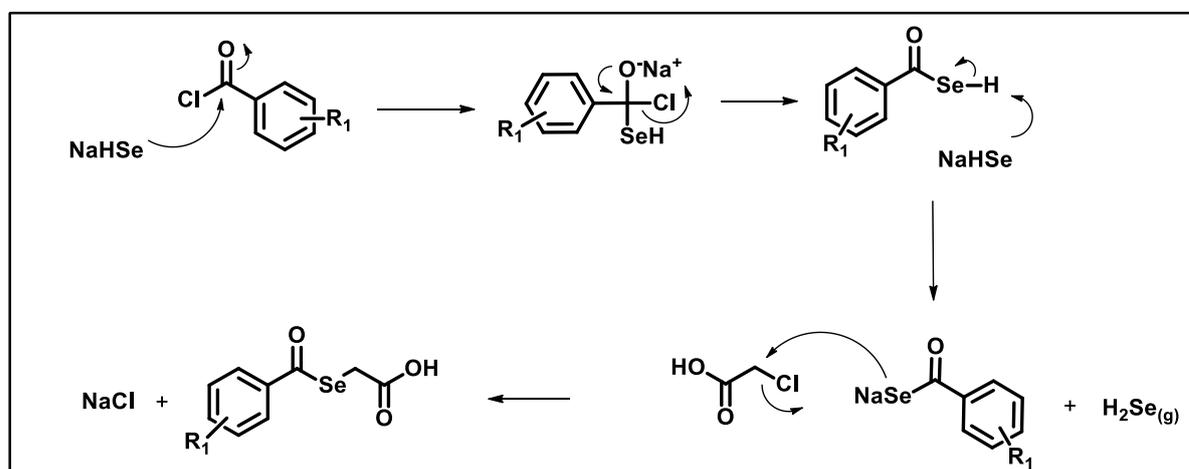
O processo de síntese pode ser considerado em três estágios: i) a produção do hidrogenoseleneto de sódio pela reação de selênio (preto em pó) com NaBH_4 em uma solução aquosa; ii) o NaHSe reage com cloretos de aroila formando aroilselenetos de sódio; iii) é produzido os ácidos aroilselenoglicólicos pela reação do aroilselenetos de sódio com as ácido cloroacético. Todo processo de síntese usa a água como solvente e todas as reações são realizadas em um único recipiente de vidro, no caso um balão de vidro de fundo redondo, sob eficiente agitação e temperatura ambiente. O esquema 38 mostra os estágios para a preparação dos ácidos.

Esquema 38 - Esquema da obtenção dos ácidos aroilselenoglicólico



A proposta de mecanismo da reação pode ser vista na figura 25. A primeira etapa do mecanismo é a adição nucleofílica de uma molécula de NaHSe ao grupo carbonila ocorrendo uma formação de uma nova ligação covalente e a formação de um intermediário tetraédrico na forma aniônica. O grupo carbonílico é regenerado pela expulsão do íon cloreto, como um grupo de saída. A formação do benzoselenoato de sódio ocorre pela reação ácido-base entre o ácido benzoselenônico com a segunda molécula de NaHSe. A última etapa ocorre por uma reação $\text{S}_{\text{N}}2$ onde o grupo aroilselenoato de sódio atuando como nucleófilo ataca por trás o carbono primário ligado ao cloro formando uma nova ligação e a ligação carbono-cloro se rompe e o cloro é expulso na forma de íon.

Figura 25 - Proposta de Mecanismo de obtenção dos ácidos aroilselenoglicólicos



Os compostos dos ácidos aroilselenoglicólicos (**SeH1-2**) foram caracterizados pela técnica espectroscópica de infravermelho (Figura 26 e Figura 27). As principais bandas de absorção observadas nestes compostos são: estiramento de C=O de selenol éster, estiramento de C=O de ácido carboxílico, estiramento de C=C de anel aromático, a deformação axial de O-H e a banda de vibração do cloro ligado ao anel benzênico. As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de ácido carboxílico variam entre 1697-1680 cm^{-1} . As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de selenol ésteres variaram de 1680-1676 cm^{-1} . Deformação axial larga de 3200-2551 cm^{-1} . Absorção de estiramentos de C-H sp^2 do anel aromático variaram de 3098-3010 cm^{-1} . Absorção de estiramentos de C-H de sp^3 variaram entre 2968-2924 cm^{-1} . Absorção de estiramentos de C=C de anéis aromáticos variaram entre de 1583-1546 cm^{-1} . No composto **SeH2** que possui o cloro na posição *para* absorção foi observada em 1082 cm^{-1} (Figura 27).

Figura 26 - Espectro de infravermelho (ATR) do ácido benzoselenoglicólico (**SeH1**)

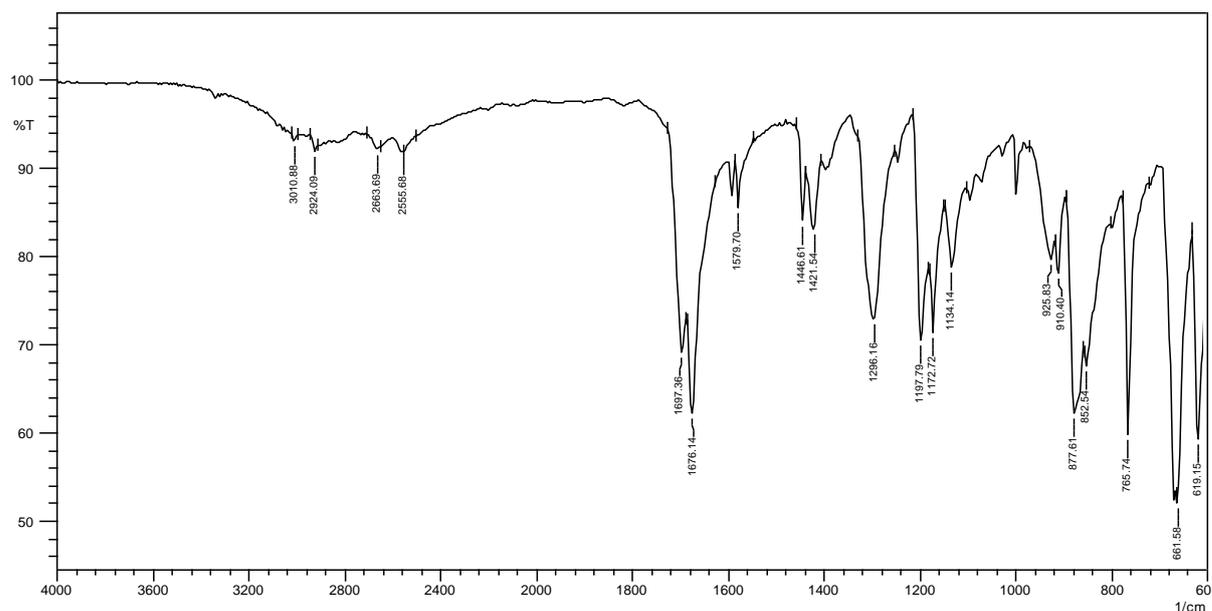
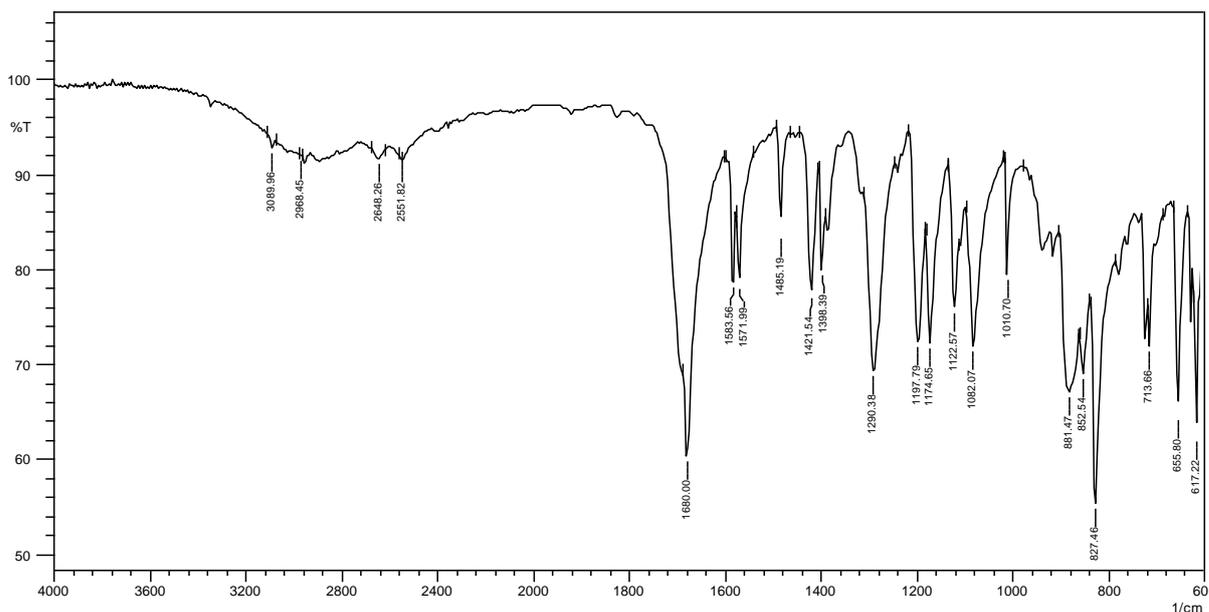


Figura 27 - Espectro de infravermelho (ATR) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico (**SeH2**)



Para o composto **SeH2** o espectros de RMN ^1H podemos observar a confirmação da estrutura química pelos sinais característicos para este sistema (Figura 28). Este possui uma porção aromática onde os hidrogênios apresentaram dois dubletos, um em 7.83 ppm ($J = 8,9$ Hz) e outro em 7.45 ppm ($J = 8,9$ Hz) e um singleto para 2 hidrogênios dos prótons de metileno $\text{CH}_2\text{-Se}$ em δ 3.85 ppm.

No espectro de RMN ^{13}C do composto **SeH2** (Figura 29) apresentou os seguintes sinais característicos: três sinais, um em δ 191.19 ppm atribuído ao carbono do grupo C=O correspondente ao selenol éster, um na faixa de δ 176.11 ppm atribuído ao carbono do grupo C=O correspondente ao ácido carboxílico e outro em δ 25.23 ppm atribuído ao carbono metileno.

Figura 28 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico

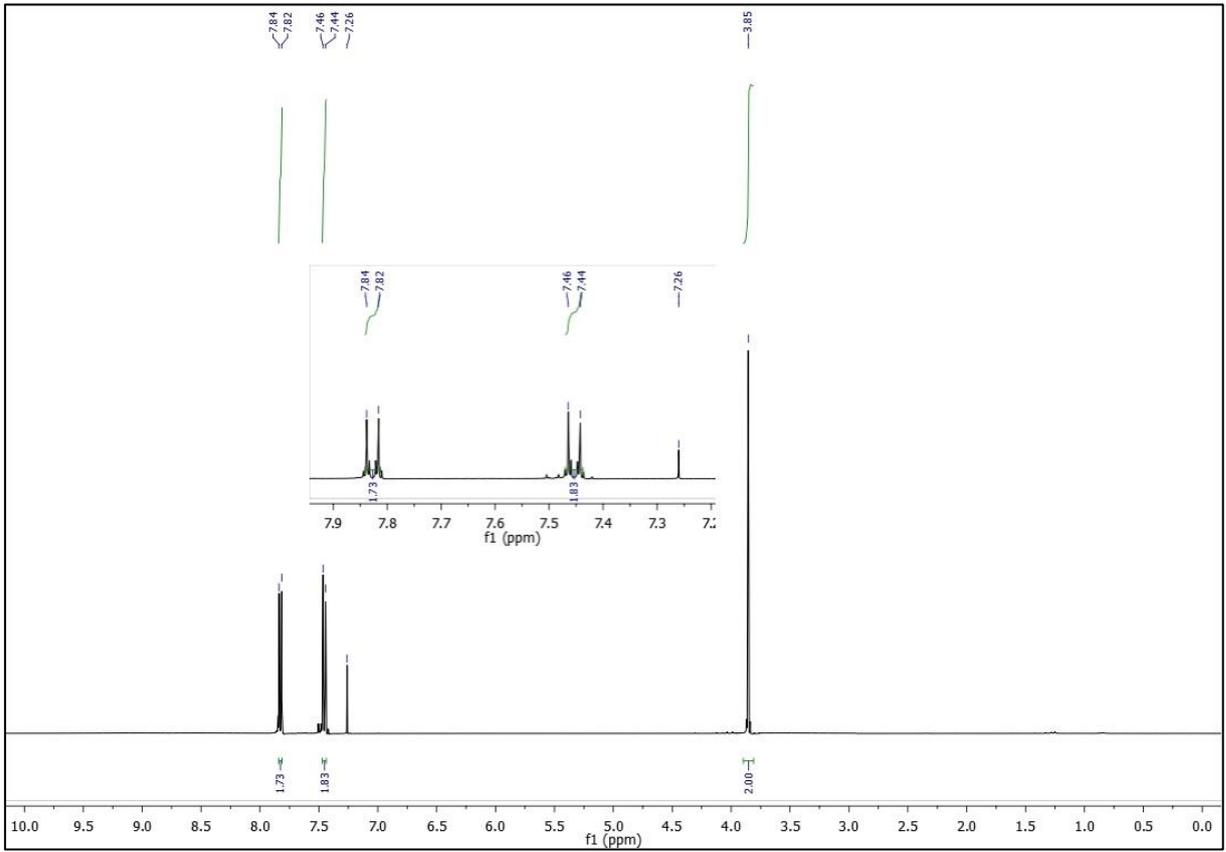
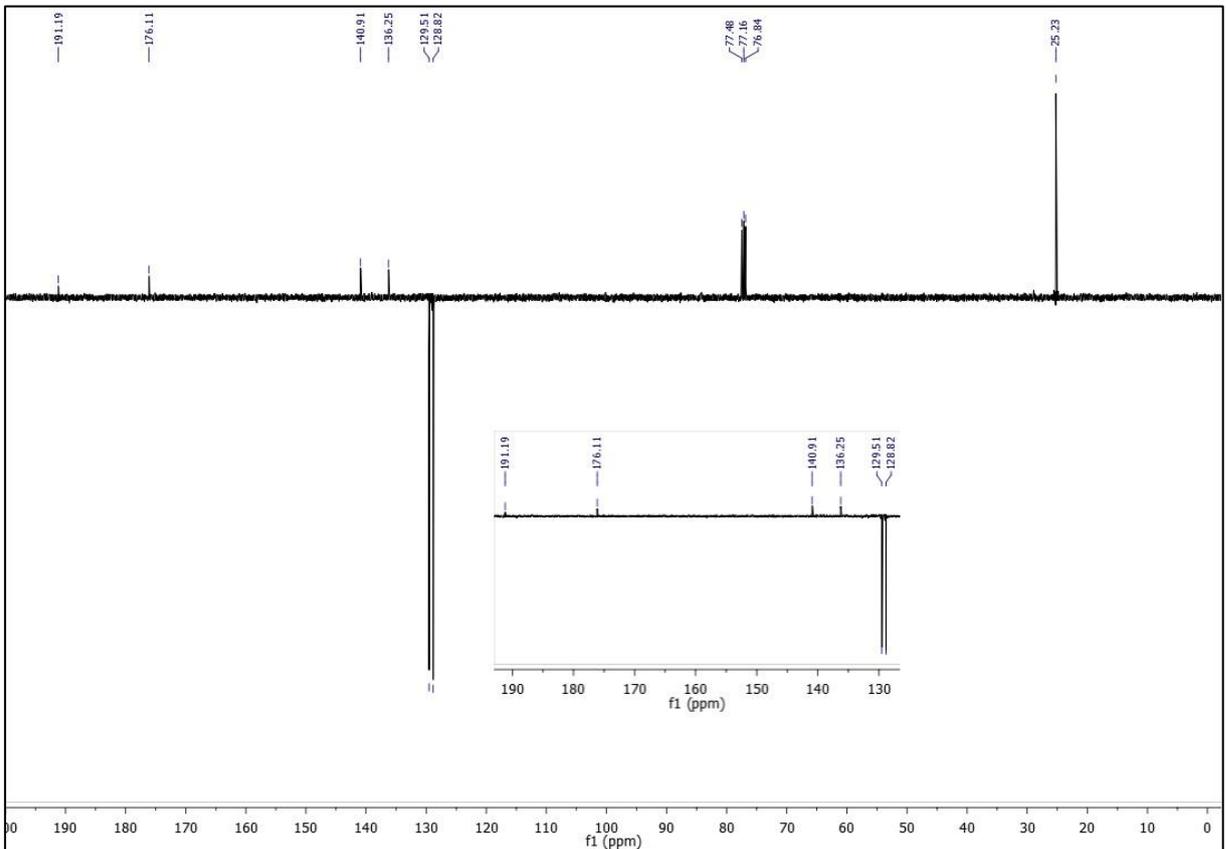


Figura 29 - Espectro de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do ácido 4-clorobenzoselenoglicólico



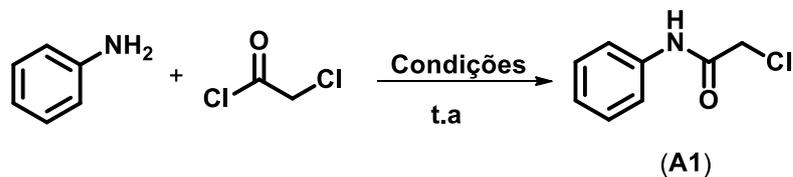
O processo para a obtenção das selenoglicolicamidas via reação dos cloretos de ácidos aroilselenoglicólicos com as arilaminas não foi satisfatório. Foi observado que durante a reação de síntese dos cloretos de ácidos, a mistura reacional inicialmente de coloração amarelada tornou-se escura ao evaporar o excesso do cloreto de tioníla, ocorrendo a formação de um precipitado escuro pegajoso que ao reagir com a anilina, por exemplo, tendo o diclorometano como solvente e em meio básico (K_2CO_3), a mistura reacional ficou sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente. Ao término da reação, a mistura reacional foi submetida a um tratamento via extração líquido-líquido e ao fim obtivesse um líquido. O produto foi analisado via técnica espectroscópica de RMN de 1H . Ao analisar o resultado ficou comprovada que o produto obtido se tratava da anilina. Essa via sintética mostrou que a preparação das selenoglicolicamidas via cloreto de ácido não é apropriada devido ao fato e dificuldade de impedir a hidrólise dos mesmos.

5.3.2 OBTENÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS USANDO AS α -CLORO-N-ARILACETAMIDA

Com a dificuldade encontrada na síntese das selenoglicolicamidas via cloreto de ácidos aroilselenoglicólicos, uma rota sintética alternativa mostrou-se ser mais eficaz, tanto na preparação dos intermediários-chaves como na formação do produto final.

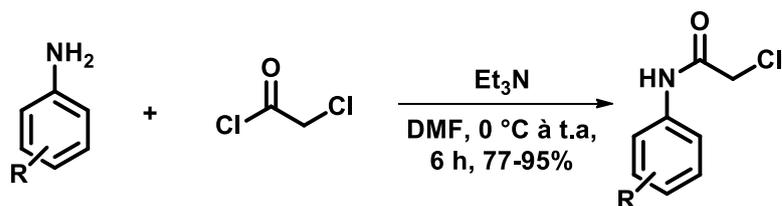
As 2-cloro-*N*-arilacetamidas são uma classe importante das amidas que são usadas como agentes alquilantes em síntese orgânica, por exemplo, na síntese de lactamas e amidas α,β -insaturadas (HARTE e GUNNLAUGSSON, 2006).

A síntese das 2-cloro-*N*-arilacetamidas foi realizada usando procedimentos relatados na literatura. As metodologias usam o cloreto de 2-cloroacetila como agente acilante em diferentes solventes e bases. A partir desses dados foram realizadas cinco reações, variando três solventes e duas bases. O condicionamento da metodologia pode ser vista na tabela 2.

Tabela 2 - Condições de acetilação para obtenção da 2-cloro-*N*-fenilacetamida

Entrada	Bases	Solventes	t (h)	Rendimento (%)
1	K ₂ CO ₃	DMF	12	85
2	K ₂ CO ₃	Acetona	24	80
3	Et ₃ N	DMF	6	93
4	Et ₃ N	Acetona	24	87
5	Et ₃ N	Diclorometano	20	90

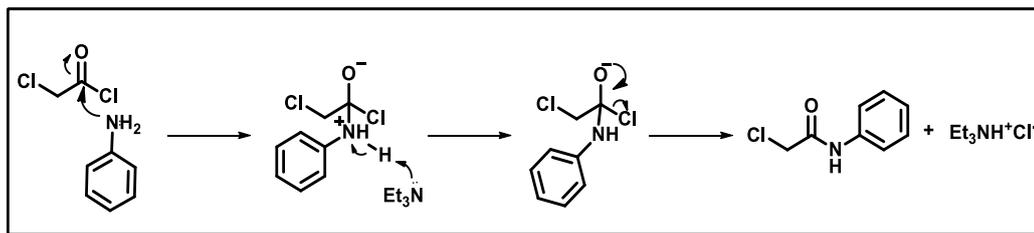
A tabela 2 mostra que os melhores procedimentos empregados na preparação das α -cloro-*N*-feniletamidas foram usando os solventes diclorometano e DMF e a base Et₃N (entrada 3 e 5). Neste trabalho foi usado o solvente DMF e a base Et₃N devido ao tempo de reação. As 2-cloro-*N*-arilacetamidas foram purificadas usando o método de recristalização usando etanol/água. Na tabela 3 os rendimentos das 2-cloro-*N*-arilacetamidas.

Tabela 3 - Condições de Reação, ponto de fusão e rendimentos das 2-cloro-*N*-arilacetamidas

Entrada	R	Composto	Ponto de Fusão	Rendimentos (%)
1	H	A1	133-135°	93
2	4-NO ₂	A2	188-190°	80
3	4-CH ₂ CH ₃	A3	140-142°	93
4	4-CH ₃	A4	182-184°	95
5	4-Br	A5	184-186°	84
6	4-Cl	A6	170-172°	85
7	4-CH(CH ₃) ₂	A7	141-143°	77
8	4-OCH ₃	A8	119-120°	80
9	4-Cl-3-NO ₂	A9	120-122°	78

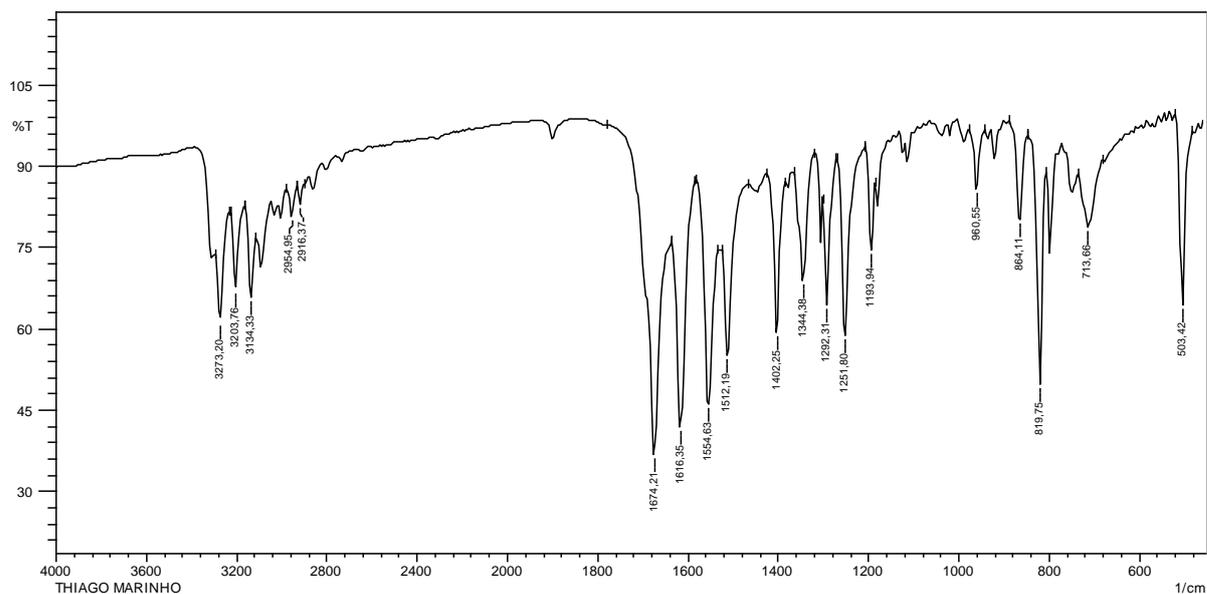
O mecanismo da reação pode ser vista na figura 30. A amina atua como um nucleófilo e ataca o carbono da carbonila. Ocorre uma formação de uma nova ligação covalente e a formação de um intermediário tetraédrico. A trietilamina captura o hidrogênio e deixando o nitrogênio neutro. O grupo carbonílico é regenerado pela expulsão do íon cloreto, como um grupo de saída, formando a amida, e o íon cloreto é capturado pelo íon trietilamônio, formando o cloridrato de trietilamônio.

Figura 30 - Mecanismo de obtenção das 2-cloro-*N*-arilacetamidas

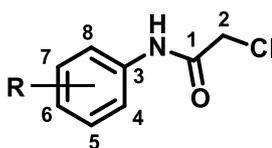


As 2-cloro-*N*-arilacetamidas foram caracterizadas pelos métodos espectroscópicos de infravermelho, ressonância magnética nuclear (RMN) ^1H e ^{13}C . Os espectros de infravermelho das 2-cloro-*N*-arilacetamida apresentam bandas de absorções que são características para as confirmações de sua formação a partir da reação entre as anilinas substituídas e o cloreto de 2-cloroacetila. As principais bandas de absorção observadas nestes compostos são: estiramento de C=O de amida secundária, estiramento N-H de amida secundária, estiramento de C=C de anel aromático e bandas de vibrações de outros grupos como, por exemplo, halogênios e NO_2 ligado ao anel benzênico.

Nos espectros analisados, foi possível identificar um padrão de absorção dos grupos citados acima, o que possibilitou uma fácil interpretação da mesma. As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de amida secundária variaram de $1691\text{-}1666\text{ cm}^{-1}$. As bandas de absorção das ligações N-H variaram de $3308\text{-}3128\text{ cm}^{-1}$. Absorção de estiramentos de C-H sp^2 do anel aromático variaram de $3122\text{-}3003\text{ cm}^{-1}$. Absorção de estiramentos de C-H de sp^3 variou entre $2964\text{-}2862\text{ cm}^{-1}$. E absorção de estiramentos de C=C de anéis aromáticos variaram entre $1600\text{-}1585\text{ cm}^{-1}$. Os compostos contendo o grupo nitro (**A2** e **A9**) apresentaram como características duas bandas de absorção, uma assimétrica e outra simétrica da ligação N=O em torno de $1597\text{-}1483\text{ cm}^{-1}$ e $1344\text{-}1338\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Para os compostos contendo halogênio na posição *para* do anel aromático (**A5**, **A6** e **A9**) as absorções foram observadas em torno de 1188 , 1095 e 1045 cm^{-1} . Como exemplo representativo de absorções na região do infravermelho, tem-se o espectro do composto 2-cloro-*N*-(4-metilfenil)acetamida (Figura 31).

Figura 31 - Espectro de Infravermelho (ATR) da 2-cloro-N-(4-metilfenil)acetamida (**A4**)

Nos espectros de RMN ^1H de todas as 2-cloro-*N*-arilacetamidas, de uma forma bem geral podemos observar dois sinais típicos: um singlete para 2 hidrogênios atribuído ao prótons metileno do $\text{CH}_2\text{-Cl}$ (H-2) na faixa de 4.16-4.36 ppm e uma banda larga atribuído ao próton do N-H da amida na região de 8.20-10.93 ppm (Tabela 4)

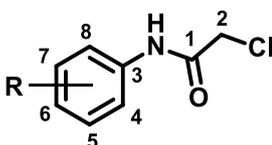
Tabela 4 - Deslocamento químico de ^1H (H-2 e N-H) para as 2-cloro-*N*-arilacetamidas

2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas									
δ ^1H	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
(H-2)	4.16	4.36	4.17	4.17	4.27	4.27	4.17	4.17	4.32
(N-H)	8.28	10.93	8.23	8.21	10.45	10.45	8.21	8.20	10.87

Os prótons do metileno ($\text{CH}_2\text{-Cl}$) na 2-cloro-*N*-fenilacetamida (**A1**) surgiram a 4.16 ppm. Para os compostos **A2**, **A5**, **A6** e **A9** que possuem grupos com características de retiradores de elétrons na porção aromática, os prótons do metileno apresentaram um deslocamento de desproteção de ± 0.20 ppm em relação ao composto **A1**. De maneira

semelhante, o próton do N-H nos compostos **A2**, **A5**, **A6** e **A9** apresentaram um deslocamento considerável ± 2.65 ppm em relação ao deslocamento do N-H do composto **A1** que apareceu em 8.28 ppm. Os sinais dos prótons aromáticos variam entre 6.88-10.86 ppm, devido a influência dos substituintes. Na tabela 5, observam-se as mudanças de valores nos deslocamentos químicos dos prótons aromáticos em virtude dos efeitos doadores e retiradores de elétrons dos substituintes. Para calcular a mudança de valores nos deslocamentos químicos, o composto 2-cloro-*N*-fenilacetamida (**A1**) é usado como referência.

Tabela 5 - Mudanças de valores nos deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) dos hidrogênios aromáticos das 2-cloro-*N*-arilacetamidas substituídas com a 2-cloro-*N*-fenilacetamida.



2-cloro-*N*-fenilacetamida (composto **A1**)

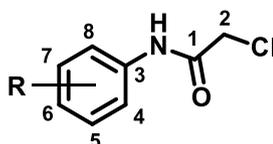
H-4 e H-8 = 7.52 ppm; H-5 e H-7 = 7.33 ppm; H-6 = 7.15 ppm

Composto	R	$\Delta\delta$ (ppm)				
		H-4	H-8	H-5	H-7	H-6
A2	4-NO ₂	0.33	0.33	0.93	0.93	-
A3	4-CH ₂ CH ₃	-0.08	-0.08	-0.15	-0.15	-
A4	4-CH ₃	-0.10	-0.10	-0.18	-0.18	-
A5	4-Br	0.03	0.03	0.22	0.22	-
A6	4-Cl	0.11	0.11	0.07	0.07	-
A7	4-CH(CH ₃) ₂	-0.07	-0.07	-0.10	-0.10	-
A8	4-OCH ₃	-0.09	-0.09	-0.45	-0.45	-
A9	4-Cl-3-NO ₂	0.88	0.29	-	0.41	-

O substituinte NO₂ na posição para do composto **A2** produziu um efeito de desblindagem de 0.33 ppm em relação aos hidrogênios H-4 e H-8 e de 0.93 ppm em relação aos hidrogênios H-5 e H-7 devido ao seu efeito retirador de elétrons. Os substituintes halogenados Br e Cl na posição para nos compostos **A5** e **A6** respectivamente, produziram um efeito de desblindagem para os prótons H-4, H-5, H-7 e H-8. No composto **A5**, o efeito de desblindagem foi maior para os prótons H-5 e H7 resultado num deslocamento de 0.22 ppm e no composto **A6** o efeito de desblindagem foi maior para os prótons H-4 e H-8 resultando num deslocamento de 0.11 ppm. Já nos compostos **A3**, **A4**, **A7** e **A8** tiveram um efeito de blindagem para os prótons H-4, H-5, H-7 e H-8, devido ao efeito doador de elétrons dos substituintes CH₂CH₃, CH₃, CH(CH₃)₂ e OCH₃ sendo que os prótons H-5 e H-7 do composto **A8** foi o mais blindado resultando um deslocamento de -0.45 ppm em relação ao composto **A1**.

No espectro de RMN ¹³C dos compostos 2-cloro-*N*-arilacetamidas podemos observar dois sinais característicos típicos: um sinal de C=O da amida (C-1) entre 163.86-165.54 ppm e um sinal do CH₂-Cl (C-2) que variam entre 42.66-43.63 ppm (Tabela 6).

Tabela 6 - Deslocamento químico de ¹³C (C-1 e C-2) para as 2-cloro-*N*-arilacetamidas



2-cloro- <i>N</i> -arilacetamidas									
$\delta^{13}\text{C}$	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
(C-2)	43.00	43.62	43.00	42.66	43.56	43.54	43.01	42.97	43.42
(C-1)	164.01	165.62	163.89	163.86	164.83	164.81	163.87	163.89	165.54

Como exemplo representativo dos sinais químicos dos prótons e carbonos, tem-se o espectro de RMN ¹H e RMN ¹³C do composto 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamidas (**A4**) (Figura 32 e 33).

Figura 32 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) da 2-cloro-N-(4-nitrofenil)acetamida (A2).

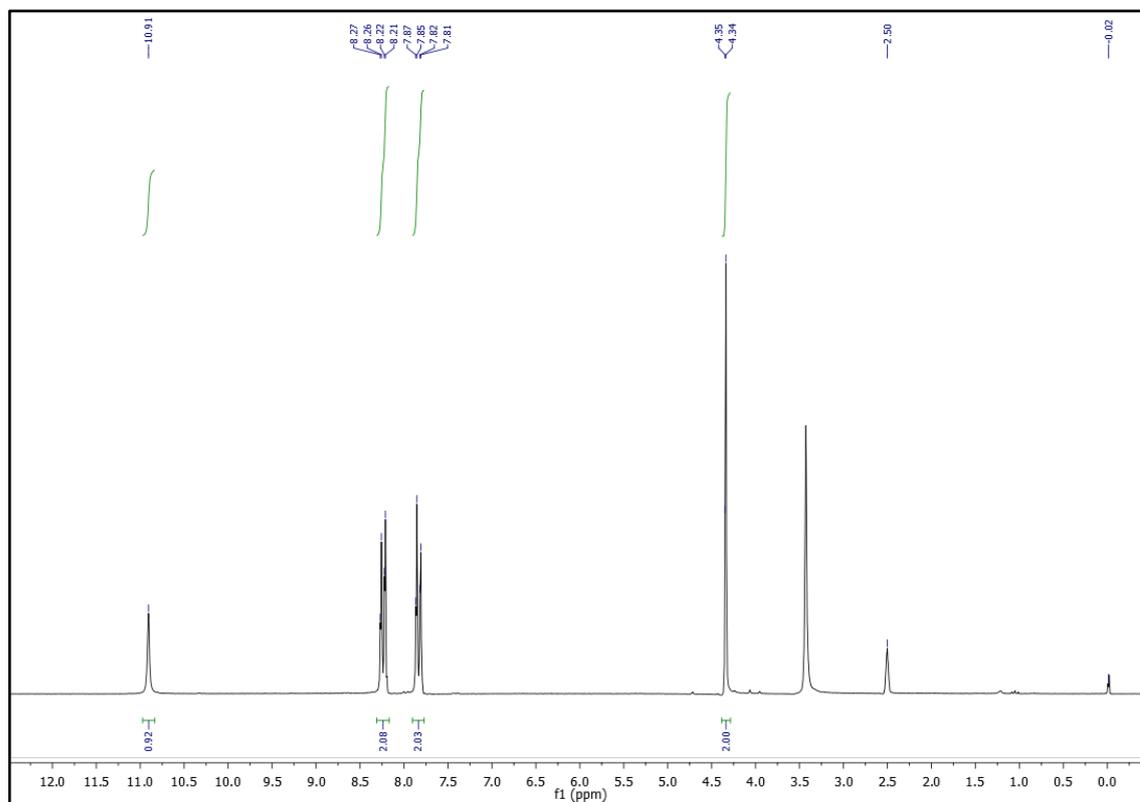
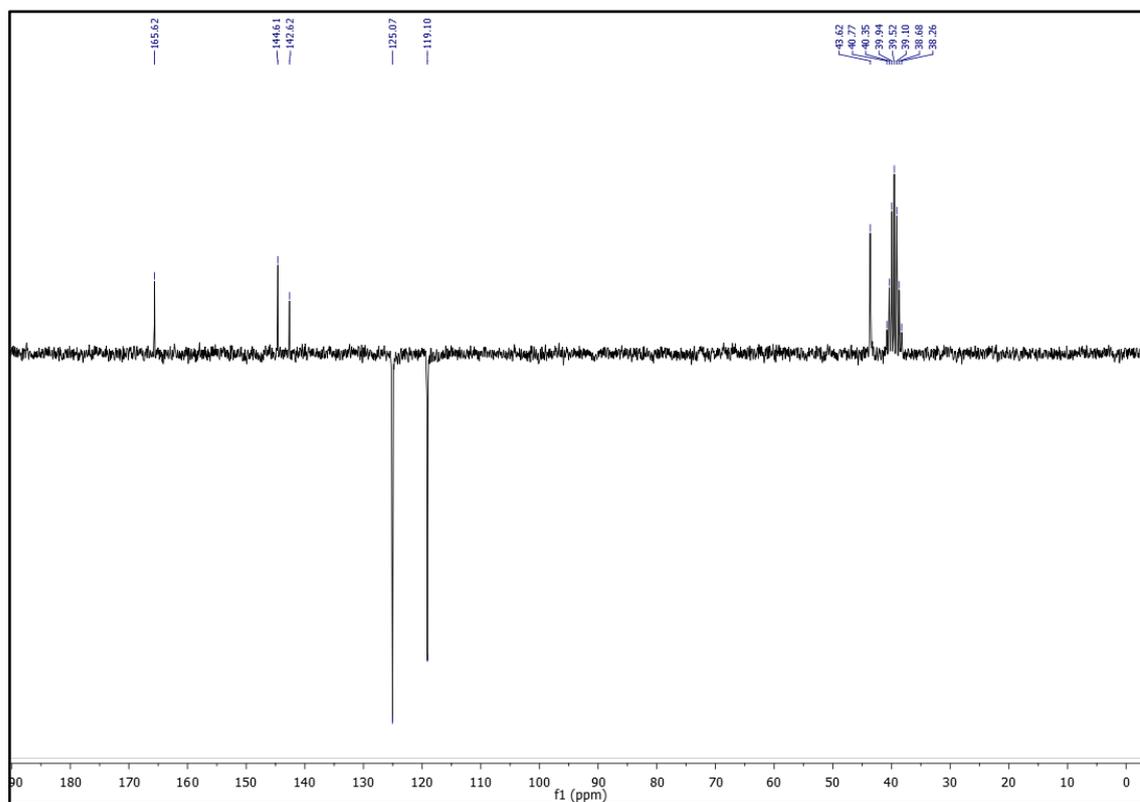
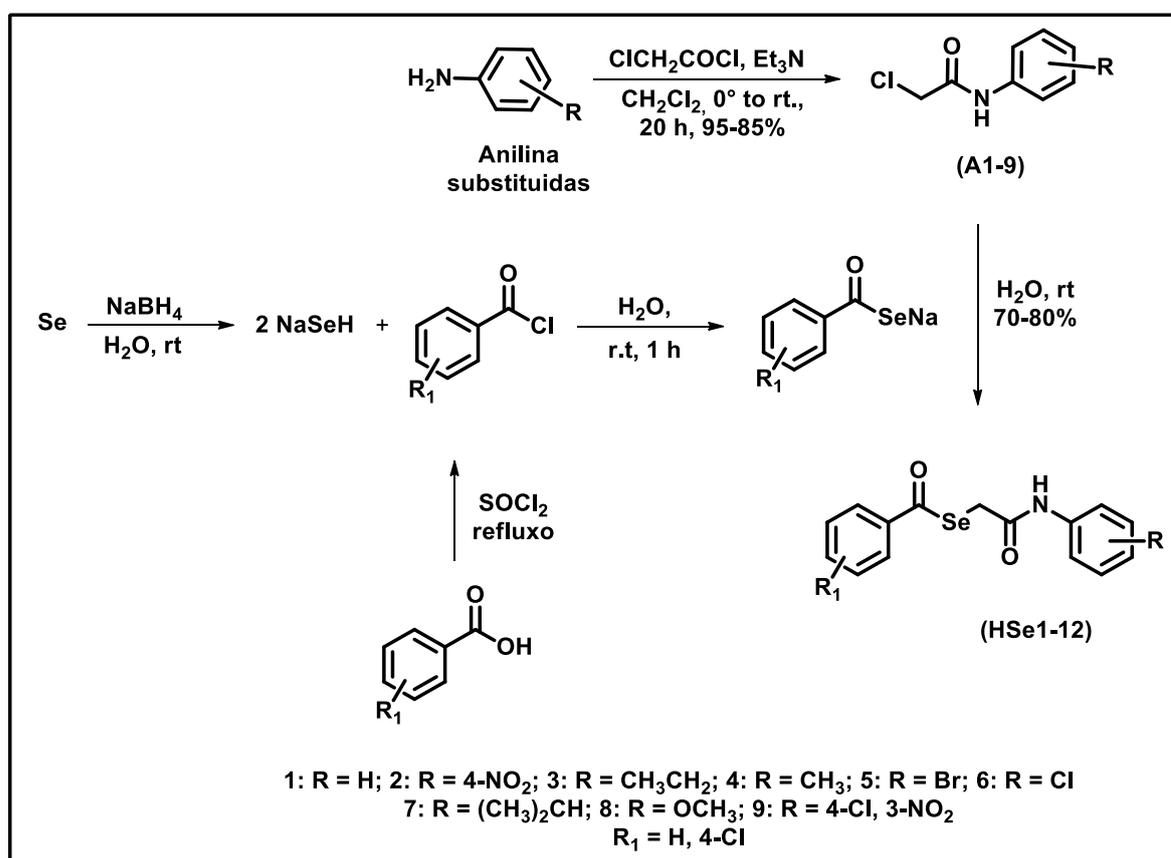


Figura 33 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro-N-(4-nitrofenil)acetamida (A4).



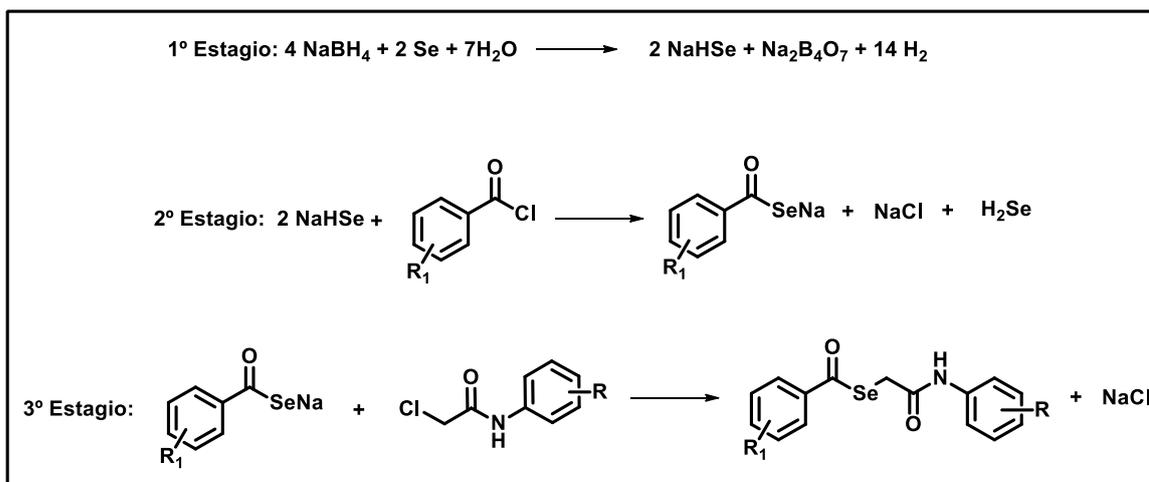
Depois da obtenção dos intermediários chaves, a síntese das selenoglicolicamidas é mostrada no esquema 39, usando a metodologia descrita por Athayde-Filho et al (2004) como pequenas modificações

Esquema 39 – Rota sintética para a obtenção dos compostos finais



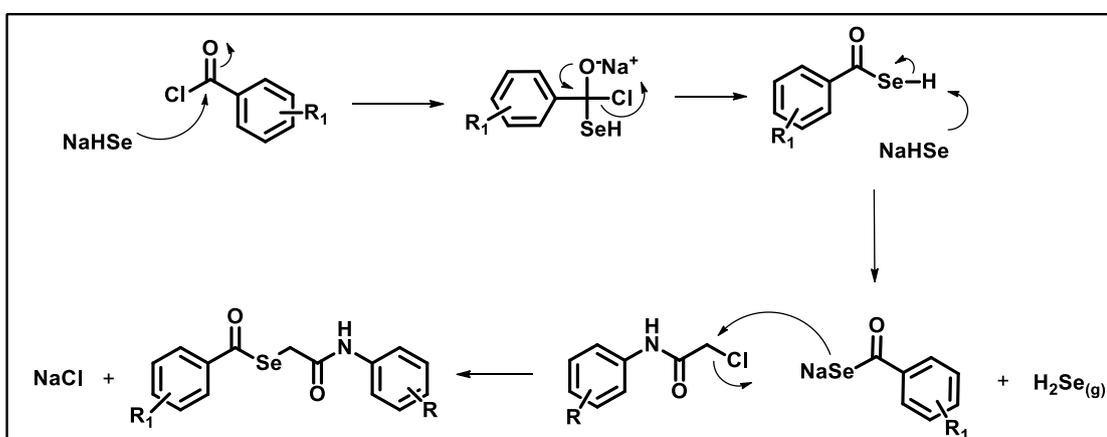
O processo de síntese é igual à obtenção dos ácidos aroilsenoglicólicos (**SeH1-2**), entretanto com a pequena modificação na terceira etapa dos três estágios: i) a produção do hidrogenoseleneto de sódio pela reação de selênio (preto em pó) com NaBH₄ em uma solução aquosa; ii) o NaHSe reage com cloretos de aroila formando aroilselenetos de sódio; iii) é produzido os derivados do selenol ésteres pela reação do aroilselenetos de sódio com as 2-cloro-*N*-arilacetamidas. Todo processo de síntese usa a água como solvente e todas as reações são realizadas em um único recipiente de vidro, no caso um balão de vidro de fundo redondo, sob eficiente agitação e temperatura ambiente. O esquema 40 mostra os estágios para a preparação dos compostos finais.

Esquema 40 - Esquema da obtenção das selenoglicolicamidas



A proposta de mecanismo da reação é semelhante a da formação dos ácidos aroilselenoglicólicos e pode ser vista na figura 34. A primeira etapa do mecanismo é a adição nucleofílica de uma molécula de NaHSe ao grupo carbonila ocorrendo uma formação de uma nova ligação covalente e a formação de um intermediário tetraédrico na forma aniônica. O grupo carbonílico é regenerado pela expulsão do íon cloreto, como um grupo de saída. A formação do benzoselenoato de sódio ocorre pela reação ácido-base entre o ácido benzoselenônico com a segunda molécula de NaHSe. A última etapa ocorre por uma reação $\text{S}_{\text{N}}2$ onde o grupo aroilselenoato de sódio atuando como nucleófilo ataca por trás o carbono primário ligado ao cloro da 2-cloro-*N*-arilacetamida formando uma nova ligação e a ligação carbono-cloro se rompe e o cloro é expulso na forma de íon.

Figura 34 - Proposta de Mecanismo de obtenção das selenoglicolicamidas



Os compostos foram purificados pelo método de recristalização. Na tabela 7 são observados os pontos de fusão e os rendimentos dos compostos obtidos.

Tabela 7 - Rendimentos e Pontos de fusão das selenoglicolicamidas

Compostos	R	R ₁	FM	MM	P.F (°C)	%
				(g/mol)		
HSe-01	H	H	C ₁₅ H ₁₃ NO ₂ Se	318.23	132-133	75
HSe-02	4-NO ₂	H	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₄ Se	363.23	192-193	70
HSe-03	4-CH ₂ CH ₃	H	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ Se	346.28	124-126	72
HSe-04	4-CH ₃	H	C ₁₆ H ₁₅ NO ₂ Se	332.26	132-134	77
HSe-05	4-Br	H	C ₁₅ H ₁₂ BrNO ₂ Se	397.13	165-167	73
HSe-06	4-Cl	H	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂ Se	352.67	152-154	68
HSe-07	4-(CH ₃) ₂ CH	H	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂ Se	360.31	108-110	70
HSe-08	4-OMe	H	C ₁₆ H ₁₅ NO ₃ Se	348.26	139-140	75
HSe-09	4-Cl-3-NO ₂	H	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂ Se	397.67	132-134	72
HSe-10	H	4-Cl	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂ Se	352.67	110-112	65
HSe-11	4-CH ₂ CH ₃	4-Cl	C ₁₇ H ₁₆ ClNO ₂ Se	380.73	142-144	75
HSe-12	4-OMe	4-Cl	C ₁₆ H ₁₄ ClNO ₃ Se	382.70	150-152	77

A obtenção dos compostos selenoglicolicamidas pode ser evidenciada por espectroscopia de RMN de ¹H e de ¹³C, analisando-se o deslocamento de sinais dos prótons do metileno do CH₂-Cl (H-2) na faixa de 4.16-4.36 ppm e o deslocamento dos CH₂-Cl (C-2) que variam entre 42.66-43.63 ppm nos intermediários 2-cloro-*N*-arilacetamidas, enquanto que nas selenoglicolicamidas os prótons do metileno do CH₂-Se (H-6) na faixa de 3.77-4.01 ppm, o deslocamento do CH₂-Se (C-6) na faixa de 28.02-29.02 ppm e o aparecimento de um sinal próximo a 200 ppm relacionado ao Se-CO (C-1).

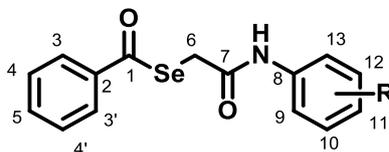
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS

As estruturas das selenoglicolicamidas foram confirmadas pela caracterização através das técnicas espectroscópicas de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C e pela técnica de difratometria de raios X. As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbono de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos puderam ser confirmadas através de comparações com as estruturas dos ácidos selenoglicólicos preparados por Athayde-Filho (2004).

5.4.1 INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C DAS SELENOGLICOLICAMIDAS

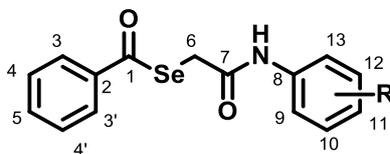
As estruturas derivadas de selenol ésteres tiveram suas confirmações através das técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C , uma vez que esses compostos possuem sinais bem característicos. Um exemplo, nos espectros de ^{13}C pode-se observar três sinais característicos que os compostos obtidos apresentam: um sinal de C=O (**C-7**) correspondente a amida próximo a δ 168 ppm, um sinal de C=O (**C-1**) correspondente ao selenol éster próximo de δ 200 ppm e um sinal próximo de δ 30 ppm correspondente ao carbono metileno $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**C-6**). Já nos espectros de RMN de ^1H podem-se observar dois sinais característicos: um atribuído aos prótons de metileno $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**H-6**) na região próximo de δ 4 ppm e um atribuído ao próton do N-H na região próximo de δ 9 ppm.

Para os compostos **HSe01** à **HSe09** os espectros de RMN ^1H apresentaram os seguintes sinais característicos: um singlete para 2 hidrogênios dos prótons de metileno $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**H-6**) na faixa de δ 3,77-4,01 ppm e um singlete para 1 hidrogênio de N-H na faixa de δ 8.24-10.91 ppm (tabela 8). No espectro do composto **HSe-03**, aparece um tripleto para 3 hidrogênios em δ 1.19 ppm e uma quarteto para 2 hidrogênios em δ 2.59 ppm onde R = CH_2CH_3 . Já no espectro do composto **HSe-04**, um singlete para 3 hidrogênios aparece em δ 2.29 ppm onde R = CH_3 . No espectro do composto **HSe-07**, aparece um duplete para 6 hidrogênios em δ 1.21 ppm e um septeto para 1 hidrogênio em δ 2.86 ppm onde R = $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$. No espectro do composto **HSe-08** observa-se um singlete para 5 hidrogênios em δ 3.77 ppm, onde o sinal dos prótons metilênicos $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**H-6**) se sobrepõem ao sinal do grupo OCH_3 .

Tabela 8 - Deslocamento químico de ^1H em ppm de (H-6 e N-H) para os HSe1-9

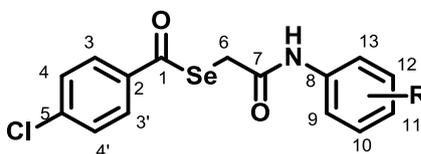
Selenoglicolicamidas									
δ ^1H	HSe1	HSe2	HSe3	HSe4	HSe5	HSe6	HSe7	HSe8	HSe9
(H-6)	3.78	3.80	3.78	3.77	3.77	3.77	3.77	3.77	4.01
(N-H)	8.36	8.82	8.30	8.28	8.40	8.38	8.25	8.24	10.91

Para os compostos de **HSe-01** à **HSe-09** os espectros de RMN de ^{13}C apresentaram os seguintes sinais característicos: três sinais, um na faixa de δ 193.09-197.59 ppm atribuído ao carbono (**C-1**) do grupo C=O correspondente ao selenol éster, um na faixa de δ 167.90-168.35 ppm atribuído ao carbono (**C-7**) do grupo C=O correspondente a amida e outro em δ 28.02-29.02 ppm atribuído ao carbono (**C-6**) do carbono metileno (tabela 9). No espectro do composto **HSe-03** observamos dois sinais adicionais na região de alifáticos: um em δ 28.31 ppm e outro em δ 15.72 ppm atribuídos aos carbonos do grupo etila na posição *para* do anel aromático B. No espectro do composto **HSe-04** observa-se um sinal adicional na região de alifático em δ 20.99 ppm atribuído ao carbono do grupo metila na posição *para* do anel aromático B. No espectro do composto **HSe-07** observa-se dois sinais adicionais: um em 33.74 ppm e outro em 24.14 ppm atribuídos aos carbonos do grupo isopropil na posição *para* do anel aromático B. No espectro do **HSe-08** observa-se um sinal adicional em δ 55.57 ppm atribuído ao carbono do grupo metóxi na posição *para* do anel aromático B. Em todos os compostos os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos se encontram na faixa entre δ 117.0-156.58 ppm.

Tabela 9 - Deslocamento químico de ^{13}C em ppm de (C-1, C-6 e C-7) para os HSe1-9.

$\delta^{13}\text{C}$	Selenoglicolicamidas								
	HSe1	HSe2	HSe3	HSe4	HSe5	HSe6	HSe7	HSe8	HSe9
(C-1)	196.74	197.59	196.51	196.64	197.03	196.91	196.63	196.37	193.09
(C-6)	28.27	28.02	28.16	28.27	28.14	28.15	28.29	28.22	29.02
(C-7)	168.25	168.83	167.99	168.10	168.35	168.28	168.10	168.00	167.90

Para os compostos HSe-10 à HSe-12 os espectros de RMN ^1H apresentaram os seguintes sinais característicos: um singlete para 2 hidrogênios dos prótons de metileno $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**H-6**) na faixa de δ 3.78-3.79 ppm e um singlete para 1 hidrogênio de N-H na faixa de δ 8.15-8.30 ppm (tabela 10). No espectro do composto **HSe-11**, aparece um tripleto para 3 hidrogênios em δ 1.19 ppm e um quarteto para 2 hidrogênios em δ 2.59 ppm onde R = CH_2CH_3 . No espectro do composto **HSe-12** observa-se um singlete para 5 hidrogênios em δ 3.78 ppm, onde o sinal dos prótons metilênicos $\text{CH}_2\text{-Se}$ (**H-6**) se sobrepõem ao sinal do grupo metóxi.

Tabela 10 - Deslocamento químico de ^1H em ppm de (H-6 e N-H) para os HSe10-12

$\delta^1\text{H}$	Selenoglicolicamidas		
	HSe-10	HSe-11	HSe-12
(H-6)	3.79	3.78	3.78
(N-H)	8.30	8.25	8.15

Para os compostos de **HSe-11** e **HSe-12** os espectros de RMN de ^{13}C apresentaram os seguintes sinais característicos: três sinais, um em δ 195.36-195.22 ppm atribuído ao carbono (**C-1**) do grupo C=O correspondente ao selenol éster, um em δ 167.81-167.71 ppm atribuído ao carbono (**C-7**) do grupo C=O correspondente a amida e outro em δ 28.50-28.43 ppm atribuído ao carbono (**C-6**) do carbono metilênico. Ainda no espectro do composto **HSe-11** observamos dois sinais adicionais na região de alifáticos: um em δ 28.42 ppm e outro em δ 15.85 ppm atribuídos aos carbonos do grupo etila na posição *para* do anel aromático B. No espectro do **HSe-12** observa-se um sinal adicional em δ 55.58 ppm atribuído ao carbono do grupo metóxi na posição *para* do anel aromático B. Os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos se encontram na faixa entre δ 156.60-114.22 ppm.

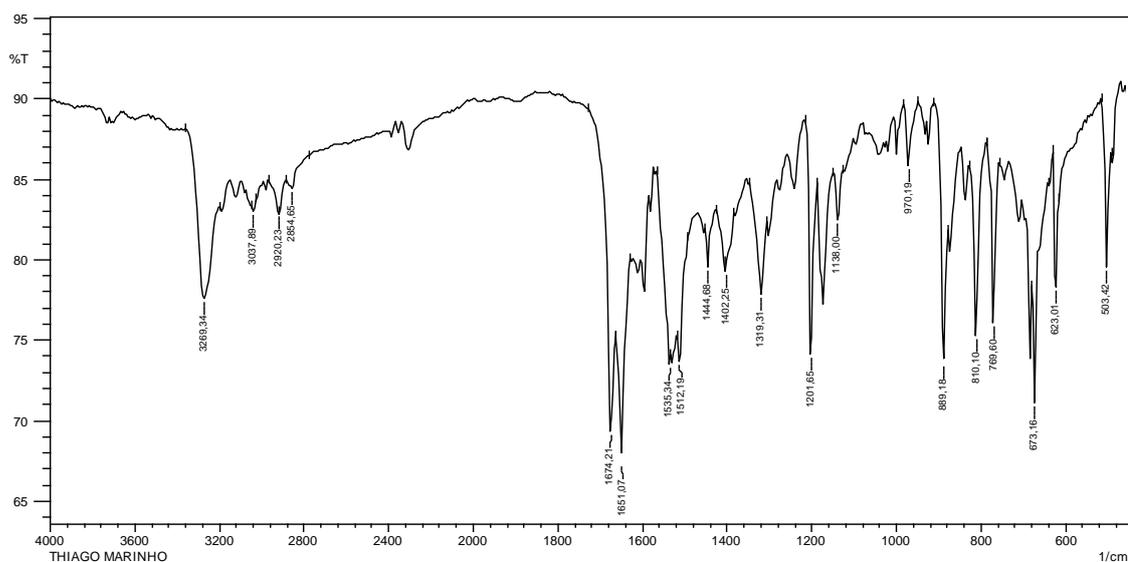
5.4.2 INTERPRETAÇÃO DOS ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DAS SELENOGLICOLICAMIDAS

Os espectros de infravermelho das selenoglicolicamidas apresentam bandas de absorção que são características para as confirmações de sua formação a partir da reação entre as 2-cloro-N-arilacetamidas e o aroilselenetos de sódio. As principais bandas de absorção observadas nestes compostos são: estiramento de C=O de selenol éster, estiramento de C=O de amida secundária, estiramento N-H de amida secundária, estiramento de C=C de anel aromático e bandas de vibrações de outros grupos como, por exemplo, halogênios e NO_2 ligado ao anel benzênico.

Nos espectros analisados, foi possíveis identificar um padrão de absorção dos grupos citados acima, o que possibilitou uma fácil interpretação da mesma. As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de amida secundária variaram de 1651-1670 cm^{-1} . As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de selenol ésteres variaram de 1670-1674 cm^{-1} . As bandas de absorção das ligações N-H variaram de 3261-3278 cm^{-1} . Absorções de estiramentos de C-H sp^2 do anel aromático variaram de 3207-3053 cm^{-1} . Absorções de estiramentos de C-H de sp^3 variaram entre 2962-2854 cm^{-1} . E absorções de estiramentos de C=C de anéis aromáticos variaram entre de 1600-1585 cm^{-1} . Os compostos contendo o grupo nitro (**HSe-02** e **HSe-09**) apresentaram como características duas bandas de absorção, uma assimétrica e outra simétrica da ligação N=O em torno de 1542-1502 cm^{-1} e 1335-1324 cm^{-1} , respectivamente. Para os compostos contendo halogênio na posição *para* do anel aromático (**HSe-05**, **HSe-06**, **HSe-09**, **HSe-10**, **HSe-11** e **HSe-12**) as absorções foram observadas em

torno de $1068\text{-}1108\text{ cm}^{-1}$. Como exemplo representativo de absorções na região do infravermelho, tem-se o espectro do composto *N*-(4-metilfenil)benzolenoglicamicamida (HSe4).

Figura 35 - Espectro de infravermelho (ATR) do *N*-(4-metilfenil)benzolenoglicamicamida HSe-04



5.4.3 DETERMINAÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA E ESTUDOS TOPOLÓGICOS DOS COMPOSTOS

Os cristais dos compostos HSe-03 e HSe-08 foram obtidos dissolvendo-se 5 mg de respectivo composto em 2 mL de solvente, após lenta evaporação de solvente à temperatura ambiente ($\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1). Os cristais obtidos foram submetidos à análise de difratometria de raios X, técnica através da qual são identificadas as posições atômicas, levando à obtenção da distribuição das moléculas no cristal.

Os arquivos de informações cristalográficas carregando os conjuntos de dados das selenoglicamicamidas HSe-03 e HSe-08 foram depositados na Base de Dados Cambridge Structural sob o depósito dos códigos CCDC 1825141 e CCDC 1845441 para o composto HSe-03 e o HSe-08 respectivamente. Os dados cristalográficos dos compostos e refinamento de estrutura estão mostrados na tabela 11.

Tabela 11 – Dados cristalográficos e refinamento das estruturas dos compostos HSe-03 e HSe-08

	HSe-03	HSe-08
Fórmula Molecular	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ Se	C ₁₆ H ₁₅ NO ₃ Se
Peso Molecular (g mol⁻¹)	346.27	348.25
Temperatura (K)	296(2)	100(2)
Comprimento de Onda (Å)	1.54178	0.71073
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	$P\bar{1}$	P2 ₁ /c
Parâmetros da Unidade da célula	a = 4.99600(10) Å b = 12.3491(3) Å c = 12.9092(3) Å α = 95.9540(10)° β = 93.1860(10)° γ = 94.2620(10)°	a = 13.9089(5) Å b = 4.6799(2) Å c = 23.0685(8) Å β = 96.6610(10)° $\alpha = \gamma = 90^\circ$
Volume (Å³)	788.35(3)	1491.44(10)
Z	2	4
Densidade Calculada (Mg/m³)	1.459	1.551
Coefficiente de Absorção	3.252 mm ⁻¹	2.527 mm ⁻¹
Tamanho do cristal (mm³)	0.451 x 0.230 x 0.135	0.162 x 0.152 x 0.077
θ-intervalo para coleta de dados	4.717 - 66.574°	2.438 - 27.145°
F(000)	352	704
Índice de Variação	-5 ≤ h ≤ 4; -14 ≤ k ≤ 14; -15 ≤ l ≤ 15	-17 ≤ h ≤ 17; -6 ≤ k ≤ 6; -29 ≤ l ≤ 29
Reflexões coletadas	10501	40631
Reflexões independentes	2601 [R _(int) = 0.0174]	3282 [R _(int) = 0.0282]
Perfeição para $\theta = 25^\circ$ (%)	92.2	99.8
Parâmetros refinados	185	195
Goodness-of-fit em F²	1.041	1.029
R1 para I > 2σ(I)	0.0499	0.0206
wR2 para todos os dados	0.1408	0.0497
Maior dif.. pico/orifício (eÅ⁻³)	1.549/-0.669	0.367/-0.464

Para os compostos HSe-03 e HSe-08 foi observada uma molécula na cela unitária. As representações ORTEP dos compostos HSe-03 e HSe-08 estão demonstradas nas Figuras 36 e 37. As elipsoides estão representadas a 50% de probabilidade e os átomos de hidrogênio estão demonstrados por círculos de raios arbitrários.

Figura 36 - Representação ORTEP do composto HSe-03

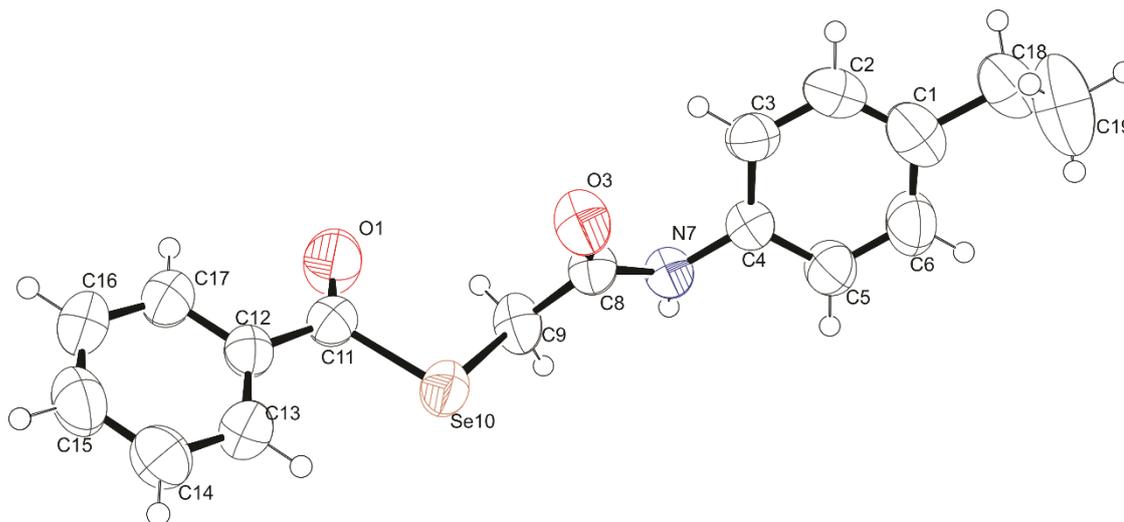
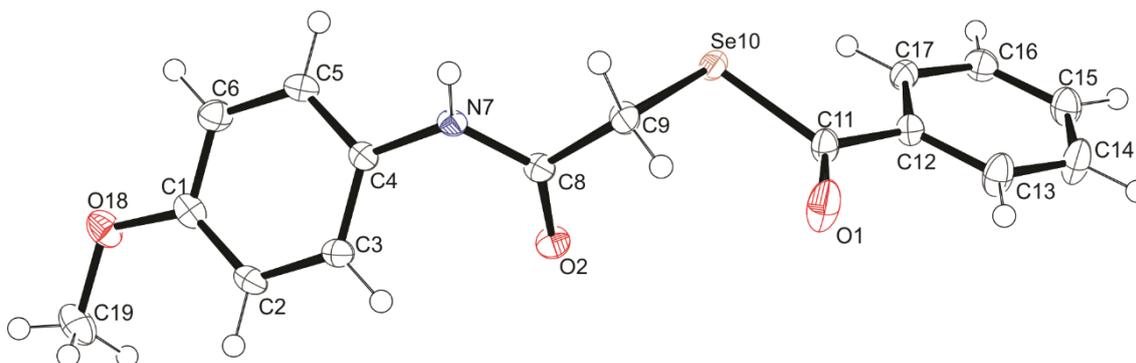


Figura 37 - Representação ORTEP do composto HSE8



A química supramolecular consiste na concepção de que sistemas podem se auto-organizar, ou seja, sistemas são capazes de gerar espontaneamente arquiteturas supramoleculares bem definidas através de interações entre seus componentes, sob o controle das informações moleculares armazenadas na estrutura covalente dos mesmos. Assim, será abordada a análise da estrutura supramolecular dos compostos HSe-03 e HSe-08, a partir da metodologia do cluster supramolecular (Martins et al., 2014), além do estudo do

empacotamento cristalino em função do número de coordenação molecular (NCM) e das áreas de contato entre as moléculas do cluster presentes na primeira esfera de coordenação. Para tal estudo serão empregados os programas TOPOS[®], com a finalidade de determinar os dados topológicos, além do Mercury[®].

Define-se o NCM como o número de moléculas que tem ao menos um contato com uma dada molécula (chamada de molécula central, M1). Estas moléculas compõem o cluster e são a representação mínima do cristal e constituem a primeira esfera de coordenação.

Para a determinação do NCM, utiliza-se o Poliedro de Voronoi-Dirichlet (PVD), o qual se baseia na intersecção de planos perpendiculares a um segmento que conectam um determinado átomo da M1 ao mesmo átomo de outra molécula vizinha, sendo adicionadas à primeira esfera de coordenação todas as moléculas onde seus poliedros possuem ao menos uma aresta em comum com a M1.

O NCM para os compostos HSe-03 e HSe-08 foi de 14, sendo observadas 6 moléculas na camada central e 4 moléculas em cada uma das camadas superior e inferior (Figura 38 e 39).

Figura 38 - Cluster supramolecular do composto HSe-03

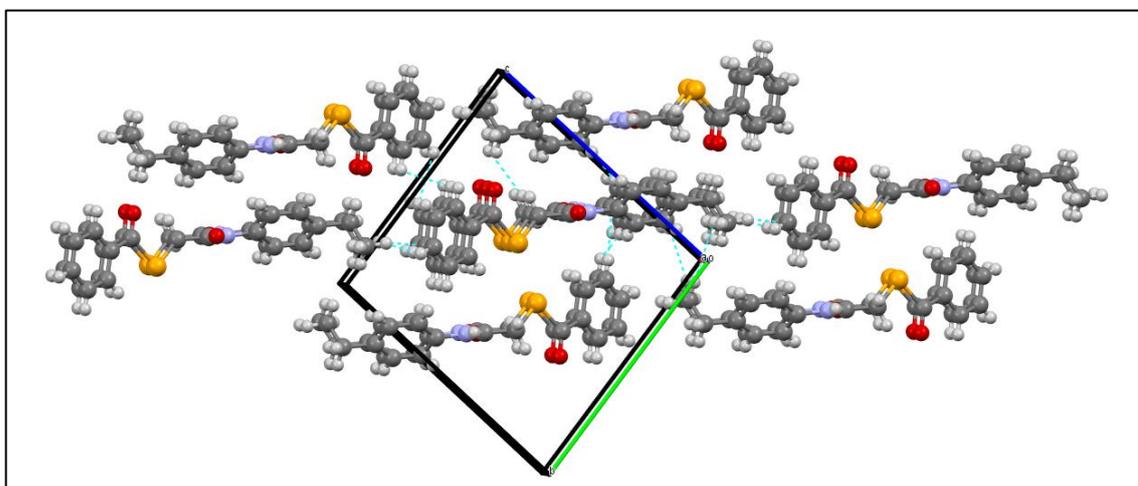
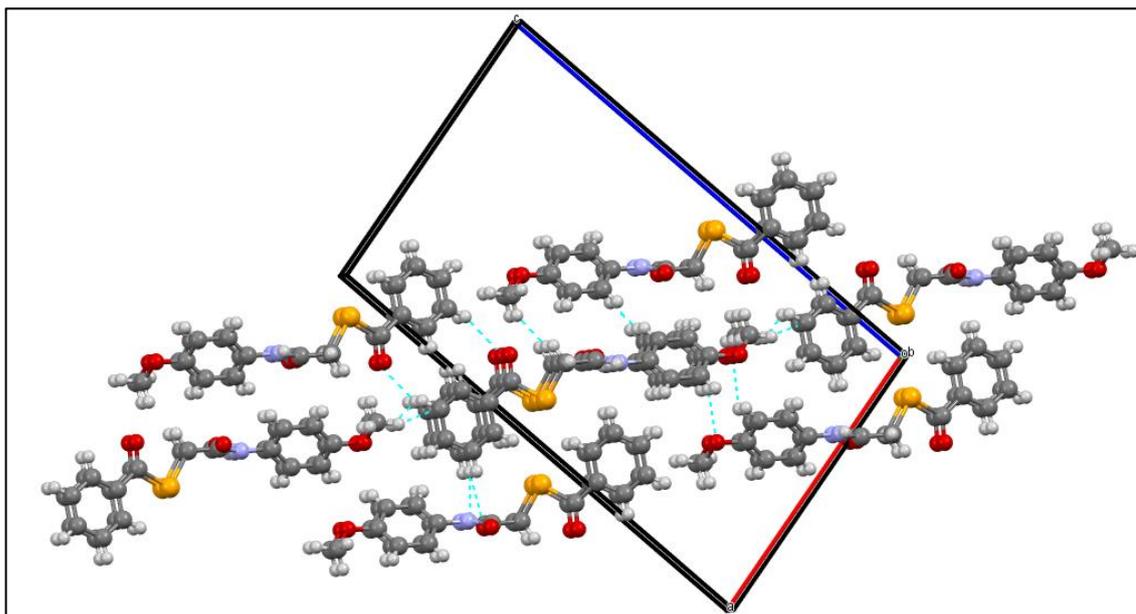


Figura 39 - Cluster supramolecular do composto HSe-08



A área de contato ($C_{M1...MN}$) é definida como a área através da qual a M1 e uma dada molécula vizinha (MN) estão associadas, de forma que a área de contato é equivalente às faces do PVD que estão em contato. Por sua vez, a área de contato total de cada cluster ($C_{cluster}$) pode ser obtida a partir do somatório da área de contato entre todos os dímeros, conforme a Equação 1.

$$C_{cluster} = \sum C_{M1...MN} \quad (1)$$

Na Tabela 12 estão apresentadas as áreas de contato para os dímeros da primeira esfera de coordenação dos compostos HSe3 e HSe8. Primeira hierarquia de interação: **Negrito** (vermelho); segunda hierarquia de interação: ***Itálico sublinhado*** (azul) ; terceira hierarquia de interação: ***Negrito itálico*** (cinza).

Tabela 12 - Áreas de contato (CM1...MN) para os dímeros da primeira esfera de coordenação dos compostos HSe-03 e HSe-08

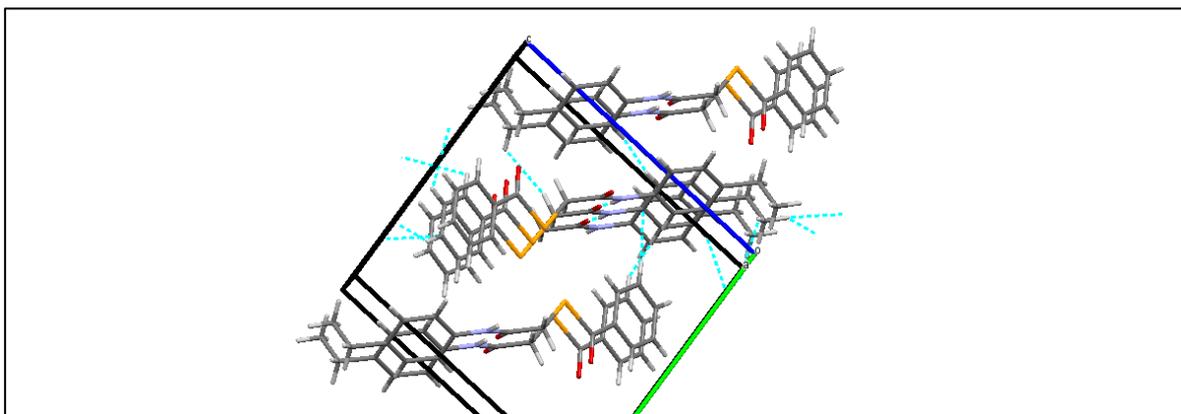
Composto	HSe-03	HSe-08
Dímero	$C_{M1...MN} (\text{Å}^2)$	$C_{M1...MN} (\text{Å}^2)$
M1...M2	60,88	53,41
M1...M3	60,88	53,41
M1...M4	13,35	12,95
M1...M5	11,9	12,71
M1...M6	11,07	16,12
M1...M7	16,36	16,12
M1...M8	<u>47,57</u>	<i>44,13</i>
M1...M9	<u>46,44</u>	<i>36,92</i>
M1...M10	11,9	12,95
M1...M11	13,35	12,71
M1...M12	6,07	13,94
M1...M13	19,25	13,94
M1...M14	<i>49,63</i>	<u>44,36</u>
M1...M15	<i>37,5</i>	<u>48,07</u>
$C_{\text{cluster}} (\text{Å}^2)$	406,15	391,74

Após determinar as áreas de contato para cada um dos dímeros dos clusters dos compostos **HSe-03** e **HSe-08** e hierarquizá-las em ordem decrescente, o próximo passo no

estudo do empacotamento cristalino consiste em sugerir um possível mecanismo de cristalização dos compostos, evidenciando as principais semelhanças e diferenças entre eles. O mecanismo de cristalização fundamenta-se na teoria da hierarquia das interações intermoleculares, segundo o qual no processo de cristalização ocorre primeiro a formação das interações intermoleculares mais estabilizantes, dímeros com maiores áreas de contato, e, subsequentemente, ocorre a formação das interações intermoleculares menos estabilizantes, dímeros com menores áreas de contato.

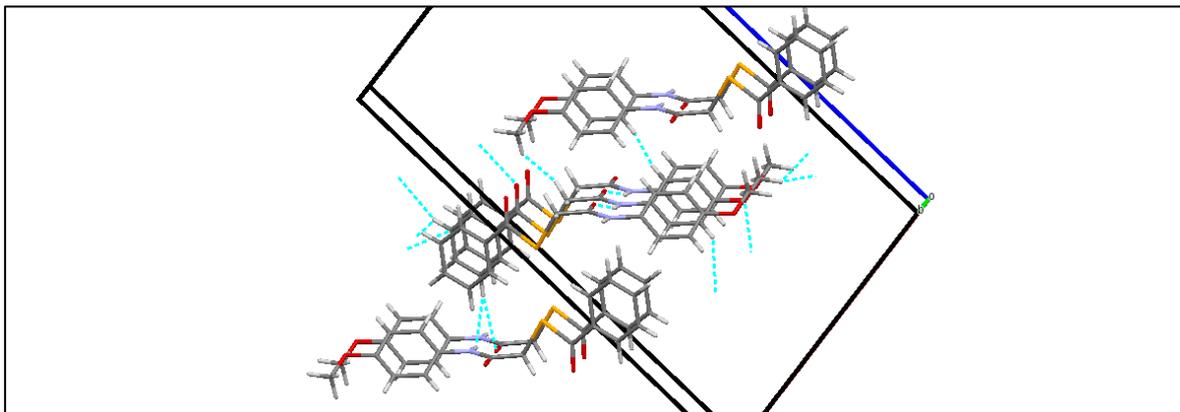
Assim, para o composto **HSe-03**, pode-se propor que no 1º estágio de cristalização ocorre a formação de trímeros, M2··M1··M3, através, principalmente, da ligação de hidrogênio clássica, e, conseqüentemente, empilhamento destes trímeros, correspondendo a 30% da área do cluster; no 2º estágio, ocorre a aproximação de colunas de dímeros, M8··M9 e M14··M15, somando 45% à área do cluster; por fim, colunas de dímeros de consequência se aproximam, completando a área total do cluster (Figura 40).

Figura 40 - 1º e 2º estágios de cristalização do composto **HSe3**



De maneira semelhante, para o composto **HSe-08**, pode-se propor que no 1º estágio de cristalização ocorre a formação de trímeros, M2··M1··M3, através, principalmente, da ligação de hidrogênio clássica, e, conseqüentemente, empilhamento destes trímeros, correspondendo a 27% da área do cluster; no 2º estágio, ocorre a aproximação de colunas de dímeros, M8··M9 e M14··M15, somando 44% à área do cluster; por fim, colunas de dímeros de consequência se aproximam, completando a área total do cluster (Figura 41).

Figura 41 - 1º e 2º estágios de cristalização do composto HSe-08



5.5 ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os compostos selenoglicolicamidas foram devidamente avaliados na atividade antimicrobiana, leishmanicida e na citotoxicidade *in vitro*.

5.5.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Staphylococcus aureus é um patógeno oportunista significativo causador de uma ampla série de infecções que afetam a epiderme e os tecidos moles, bem como infecções invasivas, englobando a pneumonia, infecções na corrente sanguínea, infecções ósseas e articulares (BOSWIHI e UDO, 2018). O primeiro antibiótico desenvolvido para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus* foi a penicilina. Contudo, as linhagens de *S. aureus* resistentes ao antibiótico surgiram após a sua aplicação clínica. Novos antibióticos foram desenvolvidos, como a tetraciclina, eritromicina e cloranfenicol para o tratamento das infecções causadas pela *S. aureus* que adquiriram resistência à penicilina. Entretanto, o patógeno adquiriu resistência às esses novos antibióticos. A resistência aos antibióticos é um dos desafios mais significativos para o setor de saúde atualmente.

Os compostos de selenoglicolicamidas (**HSe-01** à **HSe-09**) foram avaliados *in vitro* para a atividade antiestafilocócica em três cepas de efluxo de *Staphylococcus aureus*: **SA-1199B**, que transporta o gene que codifica a proteína de efluxo de fluoroquinolona NorA, cepa **RN-4220**, que possui o plasmídeo pUL5054 que transporta o gene que codifica a proteína MsrA para o efluxo macrólido e a estirpe **IS-58**, que possui a proteína de efluxo para

a tetraciclina (TetK). Também foi utilizada uma cepa padrão **ATCC 25923**, que não produz beta-lactamase e é uma cepa importante para a difusão de disco de teste de qualidade e teste de CIM em *Staphylococcus spp.*

Os compostos apresentaram atividade antiestafilocócica para as linhagens de *Staphylococcus aureus* (linhagens com sistema de efluxo) ensaiadas com CIM entre 16 µg/mL a 256 µg/mL e para a linhagem ATCC 25923 com CIM entre 128 µg/mL a 256 µg/mL Tabela 13.

Tabela 13 - Valores de CIM (µg/mL) dos compostos de organoselênio frente a linhagens de *Staphylococcus aureus*

Compostos	Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL				
	Linhagens de <i>S. aureus</i> (linhagens com sistema de efluxo)				
	ATCC 25923	IS-58 (TetK)	RN4220 (MsrA)	SA-1199B (NorA)	miLog P
HSe-01	128	32	32	128	3,23
HSe-02	256	128	128	256	3,19
HSe-03	>256	256	256	256	4,14
HSe-04	>256	256	256	256	3,67
HSe-05	>256	256	256	256	4,04
HSe-06	>256	16	32	32	3,90
HSe-07	>256	128	256	256	4,74
HSe-08	256	128	128	256	3,28
HSe-09	>256	32	64	16	3,79
Cloranfenicol	128	64	64	64	0,73

TEK = Proteína de efluxo para tetraciclina; MsrA = Proteínas de efluxo para macrolídeos; NorA = Proteínas de efluxo para fluoroquinolonas; miLog P = coeficiente de partição octanol/água baseado no modelo do software Molinspiration online disponível no site <http://www.molinspiration.com>

Segundo Gibbons (2008), compostos (de produtos naturais) com CIM acima de 100 µg/mL são considerados agentes antimicrobianos pouco ativos, enquanto aqueles com CIM abaixo de 10 µg/mL (ideal ≤ 2 µg/mL) são considerados de grande interesse para indústrias farmacêuticas. No entanto, de acordo com Radhakrishna (2010) os ésteres derivados dos ácidos selenoglicólicos e análogos são considerados moderados a bons agentes ativos contra

bactérias *Staphylococcus aureus* com valores de CIM entre 0,1-50 mg/mL e compostos derivados de ebselen são considerados altamente ativos contra *Staphylococcus aureus* com valores de CIM entre 2,0-32 µg/mL (PIĘTKA-OTTLIK, 2008).

Em geral, para as linhagens de efluxo testadas, dos nove compostos de selenoglicolicamidas, apenas três compostos (**HSe-01**, **HSe-06** e **HSe-09**) foram mais efetivos, apresentando valores de CIM ≤ 64 µg/mL, enquanto as outras selenoglicolicamidas apresentaram valores de CIM entre 256-128 µg/mL, considerada baixa atividade inibitória. O composto **HSe-01** apresentou atividade contra as cepas IS-58 e RN-4220 com uma CIM de 32 µg/mL e na cepa SA-1199B com uma CIM de 128 µg/mL. O composto **HSe-06** apresentou atividade contra a cepa IS-58, com uma CIM de 16 µg/mL, e as cepas RN-4220 e SA-1199B, com uma CIM de 32 µg/mL. O composto **HSe-09** apresentou uma CIM de 32 µg/mL para a cepa IS-58, uma CIM de 64 µg/mL para a linhagem RN-4220 e uma CIM de 16 µg/mL para a cepa SA-1199B. Assim, os compostos **HSe-01**, **HSe-06** e **HSe-09** mostraram ser melhores do que o composto padrão utilizado na experiência, cloranfenicol. Por outro lado, os compostos **HSe-02** e **HSe-08** apresentaram atividades idênticas contra as cepas IS-58 e RN-4220, com uma CIM de 128 µg/mL. Os compostos **HSe-03**, **HSe-04** e **HSe-05** apresentaram uma CIM de 256 µg/mL contra três espécies de efluxo (IS-58, RN-4220 e SA-1199B). Na linhagem ATCC 25923, os compostos apresentaram baixa atividade, com exceção do composto **HSe-01**, que apresentou resultado de atividade idêntica ao cloranfenicol.

Segundo Zloh et al., (2008) uma característica de substâncias que possuem um alto grau de lipofilicidade é a capacidade de inibir as bactérias multirresistentes (MR) que possuem proteínas de efluxo como mecanismo de defesa. Entretanto, este estudo mostrou que os resultados obtidos não foram consistentes com a afirmação de Zloh et al (2004), ou seja, esta regra não se aplica às selenoglicolicamidas. Os compostos **HSe-07**, **HSe-03** e **HSe-05** apresentaram os maiores valores de lipofilicidade, devendo demonstrar resultados de ação antimicrobiana compatíveis com a afirmação de Zloh et al., (2004) no entanto, eles não foram as cepas mais ativas testadas. Os compostos com halogênios em sua estrutura podem aumentar a lipofilicidade, como foi demonstrado pelos compostos **HSe-06** e **HSe-09**, ambos com cloro, que apresentaram melhores resultados frente às cepas IS-58 (TetK), RN-4220 (MsrA) e SA-1199B (NorA). No entanto, o composto **HSe-05**, com bromo, não apresentou atividade antibacteriana significativa. Embora o composto **HSe-02** possua um grupo nitro, que é um grupo farmacofórico capaz de promover um aumento no caráter hidrofóbico da molécula não apresentou atividade antibacteriana compatível. No entanto, o composto **HSe-**

09, que contém um átomo de cloro e um grupo nitro, demonstrou um efeito antibacteriano relevante. Para os compostos **HSe-03**, **HSe-04**, **HSe-07** e **HSe-08** que possuem grupos ativadores no anel benzeno, não foi observada ação antimicrobiana efetiva contra as cepas testadas.

Para a avaliação das selenoglicolicamidas como modulador da resistência, foi realizada a avaliação da sensibilidade do antibiótico tetraciclina na ausência e em uma combinação de concentração subinibitória ($\frac{1}{4}$ da CIM) das selenoglicolicamidas contra a cepa de *S. aureus* IS-58. Os resultados estão apresentados na tabela 14.

Tabela 14 - Atividade Moduladora dos compostos das selenioglicolicamidas

Compostos ($\frac{1}{4}$ da CIM)	Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$)	
	IS-58 (TetK)	Fator de redução da CIM
HSe-01	0,50	256
HSe-02	0,50	256
HSe-03	2	64
HSe-04	0,25	512
HSe-05	0,25	512
HSe-06	4	32
HSe-07	2	64
HSe-08	1	128
HSe-09	2	64
Tetraciclina	128	-

Na tabela 14, a modulação da resistência à tetraciclina frente à cepa IS-58 ocorreu para todas as combinações da tetraciclina com os compostos de selenoglicolicamidas. Verifica-se que na ausência das selenoglicolicamidas no meio de cultura, a CIM da tetraciclina foi de 128

$\mu\text{g/mL}$ e na combinação da tetraciclina com as selenoglicolicamidas ocorreu redução da CIM do antibiótico apresentando valores entre 4-0,25 $\mu\text{g/mL}$. Em geral, dos nove compostos de selenoglicolicamidas, os compostos **HSe-01**, **HSe-02**, **HSe-04**, **HSe-05** e **HSe-08** foram mais efetivos, apresentando atividade moduladora com valores de CIM entre 1-0,25 $\mu\text{g/mL}$. Na combinação da tetraciclina com o composto **HSe-08** a redução da CIM foi de 128 vezes, ou seja, 1 $\mu\text{g/mL}$. Na combinação da tetraciclina com os compostos **HSe-01** e **HSe-02** a CIM da tetraciclina passou de 128 $\mu\text{g/mL}$ para 0,50 $\mu\text{g/mL}$, com um fator de redução de 256 vezes. Os compostos **HSe-04** e **HSe-05** apresentaram um fator de redução de 512 vezes, ou seja, a CIM da tetraciclina passou de 128 $\mu\text{g/mL}$ para 0,25 $\mu\text{g/mL}$.

Esses resultados mostram a relevância da avaliação dos compostos de selênio como potencial adjuvante da tetraciclina na modulação da bomba de efluxo na cepa *S. aureus* IS-58.

5.5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Durante as últimas décadas, as infecções fúngicas sistêmicas tornaram-se uma preocupação para os especialistas da saúde devido ao aumento de hospedeiros imunocomprometidos. A mortalidade, a morbidade e as despesas no tratamento contra as infecções causadas pelos fungos aumentaram devido ao surgimento de cepas resistentes para todas as categorias de fármacos antifúngicas (SHENG et al., 2011; GUERRA et al., 2018). Entre os fungos responsáveis pelas doenças, destacam-se aqueles referentes ao gênero *Candida*, que são patógenos oportunistas regularmente coletados das regiões mucosas de pessoas normais, podendo causar danos superficiais até infecções espalhadas denominadas candidíases (ÁLVARES, 2007).

O fármaco anfotericina B usado no tratamento das doenças causadas pelos fungos é bastante tóxico e possui efeitos colaterais graves. Na busca por novos medicamentos que possuem menor toxicidade para o tratamento das infecções causadas pelos fungos, os compostos selenoglicolicamidas (**HSe-01** à **HSe-07**) foram avaliados contra quatro espécies de *Candida*: *Candida albicans* (**ATCC-76485** e **LM-5**) e *Candida tropicalis* (**ATCC 13803** e **LM-96**) usando a nistatina como padrão.

A atividade antifúngica (Tabela 15) dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes critérios: 50-500 $\mu\text{g/mL}$ =excelente/ótima atividade; 600-1500

$\mu\text{g/mL}$ =moderada atividade; e $> 1500 \mu\text{g/mL}$ = baixa atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

Tabela 15 - Concentração Inibitória Mínima das selenoglicolicamidas frente às cepas de *Candidas*

Compound	Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$)			
	Cepas de <i>Candida</i>			
	<i>C. albicans</i> ATCC-76485	<i>C. albicans</i> LM-5	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-96
HSe-01	1024	1024	1024	1024
HSe-02	+	+	+	+
HSe-03	+	+	+	+
HSe-04	+	+	+	+
HSe-05	+	+	+	+
HSe-06	+	+	+	+
HSe-07	+	+	+	+
HSe-08	+	+	+	+
HSe-09	+	+	512	512
Nistatina	-	-	-	-

-: Não houve crescimento do microrganismo; +: crescimento do microrganismo

Dos nove compostos testados, apenas os compostos **HSe-01** e **HSe-09** exibiram atividade inibidora contra as estirpes mencionadas na avaliação. O composto **HSe-01** demonstrou uma inibição de 100% e uma moderada atividade contra as quatro cepas de *Candida* (*C. albicans* ATCC-76485, *C. albicans* LM-5, *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. tropicalis* LM-96), concentração inibitória mínima de $1024 \mu\text{g/mL}$. No entanto, o composto **HSe-09** apresentou uma inibição de 50% com uma grande atividade contra duas das quatro cepas de *Candida* (*C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. tropicalis* LM-96), com uma concentração inibitória mínima de $512 \mu\text{g/mL}$. Os resultados, portanto, foram considerados entre bons e moderados em termos de atividade biológica e levando em consideração os parâmetros estabelecidos.

5.5.3 ATIVIDADE LEISHMANICIDA

A leishmaniose é uma doença infecciosa prevalente na Europa, África, Ásia e Américas. Ela é típica em 88 países, e mata milhares e enfraquece milhões de pessoas a cada ano (SCOTTI et al., 2015). É uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania* que afetam a pele, membranas mucosas e órgãos internos e são classificadas em três manifestações principais (SOARES-BEZERRA et al., 2004): Leishmaniose visceral é causada por parasitos das espécies *L. donovani*, *L. chagasi* e *L. infantum*; Leishmania cutânea é que caracteriza-se por úlceras crônicas na pele causada pela *L. mexicana*, *L. tropical* e *L. major*; Leishmania mucocutânea causada geralmente por *L. braziliensis*, destroem a mucosa nasal e oral. A Organização Mundial da Saúde – OMS revelou em 2016 que 1,3 milhões de pessoas são infectados anualmente pela leishmaniose, sendo que 0,2 a 0,5 milhões são da Leishmania visceral e 0,7 a 1,2 milhões da Leishmania cutânea.

Os medicamentos destinados à quimioterapia para o tratamento das leishmanioses não são satisfatórios e apresentam desvantagens devido à alta toxicidade e efeitos colaterais desagradáveis. Os principais fármacos aprovados para o uso são antimoniais pentavalentes (estibogluconato de sódio e antimoniato de meglumina), pentamidina, anfotericina B, paramonicina e miltefosina.

Na busca por novos medicamentos para o tratamento das leishmanioses, os compostos selenoglicolicamidas foram avaliados *in vitro* para a atividade Leishmanicida frente células promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Os resultados na tabela 16 apresentam os valores da CI_{50} dos dozes compostos da selenoglicolicamidas sintetizados neste trabalho.

Tabela 16 - Atividade leishmanicidas das selenoglicolicamidas contra as células promastigotas de *Leishmania amazonensis*

Compostos	CI ₅₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µM)	miLog P
HSe-01	5,13	16,12	3,23
HSe-02	10,19	28,05	3,19
HSe-03	7,21	20,81	4,14
HSe-04	4,62	13,90	3,67
HSe-05	2,17	5,46	4,04
HSe-06	2,49	7,06	3,90
HSe-07	4,17	11,57	4,74
HSe-08	3,54	10,16	3,28
HSe-09	3,46	8,70	3,79
HSe-10	4,14	11,73	3,91
HSe-11	2,83	7,43	4,82
HSe-12	3,47	9,06	3,97
Anfotericina B	0,17	0,52	-2,49

miLog P = coeficiente de partição octanol/água baseado no modelo do software Molinspiration online disponível no site <http://www.molinspiration.com>

Podemos observar na tabela 16 que todos os compostos selenoglicolicamidas apresentaram uma CI₅₀ entre 28,05 – 5,46 µM, sendo que os compostos **HSe-05**, **HSe-06**, **HSe-09**, **HSe-11** e **HSe-12** inferiores a 10 µM.

De acordo com a regra de Lipinski (1997 e 2001), compostos com Log P < 5 possuem melhor absorção e permeação *in vivo*. Daunes e D’Silva (2001) relataram uma série de moléculas que apresentaram mais atividade antiprotozoário, uma vez que essas moléculas

apresentaram um $\log P > 2.7$, ou seja, o caráter hidrofóbico dessas moléculas foram as que apresentam as melhores respostas para a atividade leishmanicida.

Neste trabalho, as selenoglicolicamidas mostraram uma lipofilicidade $3,19 < \text{milog } P < 4,82$ (tabela 16), refletindo dessa forma uma lipoficidade adequada para o transporte através das membranas e resultando uma ótima atividade leishmanicida. Outra abordagem que podemos observar nos resultados na tabela 16, é quando os compostos que apresentaram uma CI_{50} inferiores a $10 \mu\text{M}$ possuem halogênio no seu em suas estruturas. Isto é visto quando comparamos o composto **HSe-03** com o **HSe-11**, onde o **HSe-03** contendo o hidrogênio no anel A e o grupo CH_3CH_2 na posição *para* no anel aromático B (figura 27) possui uma CI_{50} de $20,81 \mu\text{M}$ enquanto que o **HSe-11** contém o cloro no anel A e o grupo CH_3CH_2 na posição *para* no anel aromático B (figura 27) possui uma CI_{50} de $7,43 \mu\text{M}$. A presença do halogênio no composto **HSe-11** apresentou uma redução na CI_{50} de aproximadamente 2,3 vezes comparado com a mesma estrutura sem a presença do halogênio.

5.5.4 CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

A citotoxicidade *in vitro* dos compostos selenoglicolicamidas (**HSe-01** à **HSe-07**) foi avaliada em 3 linhagens de células tumorais: MCF-7 (carcinoma de cólon - humano), HEp-2 (carcinoma de laringe - humano) e HL60 (leucemia promielocítica). e foi realizada no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos em colaboração com o professor Manoel Adrião.

Esses ensaios fazem parte de um *screening* inicial para determinação do potencial antitumoral destas amostras. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%). A tabela 17 apresenta o percentual de inibição dos compostos.

Tabela 17 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das selenoglicolicamida em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL.

Amostra	MCF-7		HEp-2		HL-60	
	Média IC%	Erro Padrão	Média IC%	Erro Padrão	Média IC%	Erro Padrão
HSe-01	45,20	1,65	93,38	2,14	96,95	0,52
HSe-02	70,90	2,63	100,0	0,00	97,56	1,73
HSe-03	43,45	0,87	94,45	0,09	94,38	0,217
HSe-04	48,42	0,38	94,74	0,39	95,25	0,82
HSe-05	48,51	2,43	100,0	0,00	99,56	0,43
HSe-06	40,63	3,31	98,44	1,55	97,12	0,34
HSe-07	49,00	3,11	93,48	2,04	91,60	3,78

Os compostos **HSe-01**, **HSe-03**, **HSe-04**, **HSe-05**, **HSe-06** e **HSe-07** apresentaram pouca atividade na linhagem MCF-7, onde a menor porcentagem de inibição foi de 40,63% para o **HSe-06** e o de maior porcentagem foi de 49,00% para **HSe-07** e o **HSe-02** apresentou atividade moderada com uma porcentagem de inibição de 70,90%. Na linhagem HEp-2 os compostos apresentaram muita atividade, onde a menor porcentagem de inibição foi de 93,38% para o **HSe-01** e o de maior porcentagem de inibição foram de 100% para o **HSe-02** e **HSe-05**. Na linhagem HL60 os compostos apresentaram muita atividade, onde a menor porcentagem de inibição foi de 91,60% para o **HSe-07** e o de maior porcentagem de inibição foi de 99,56% para o **HSe-05**.

Após esse screening inicial, quatro dos sete compostos foram escolhidos para determinação do CI 50%, concentração do composto que inibe em 50% o crescimento celular, tendo sido escolhidos os compostos **HSe-02**, **HSe-05**, **HSe-06** e **HSe-07**. Os testes de viabilidade celular, foram desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia Animal e Morfologia

Aplicada, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob coordenação do Prof. Manoel Adrião.

Para esta análise foram utilizadas duas linhagens, sendo uma de células tumorais não aderidas (HL-60) e uma linhagem de células sanguíneas normais (PBMC). A viabilidade celular foi avaliada para diferentes concentrações dos compostos, bem como em diferentes concentrações da doxorrubicina, um quimioterápico usual no tratamento clínico de pacientes oncológicos, como composto padrão. Resultados apresentados na tabela 18.

Tabela 18 - Atividade citotóxica em 24 horas das selenoglicolicamidas frente à linhagem tumoral HL-60 e células não tumorais. CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)

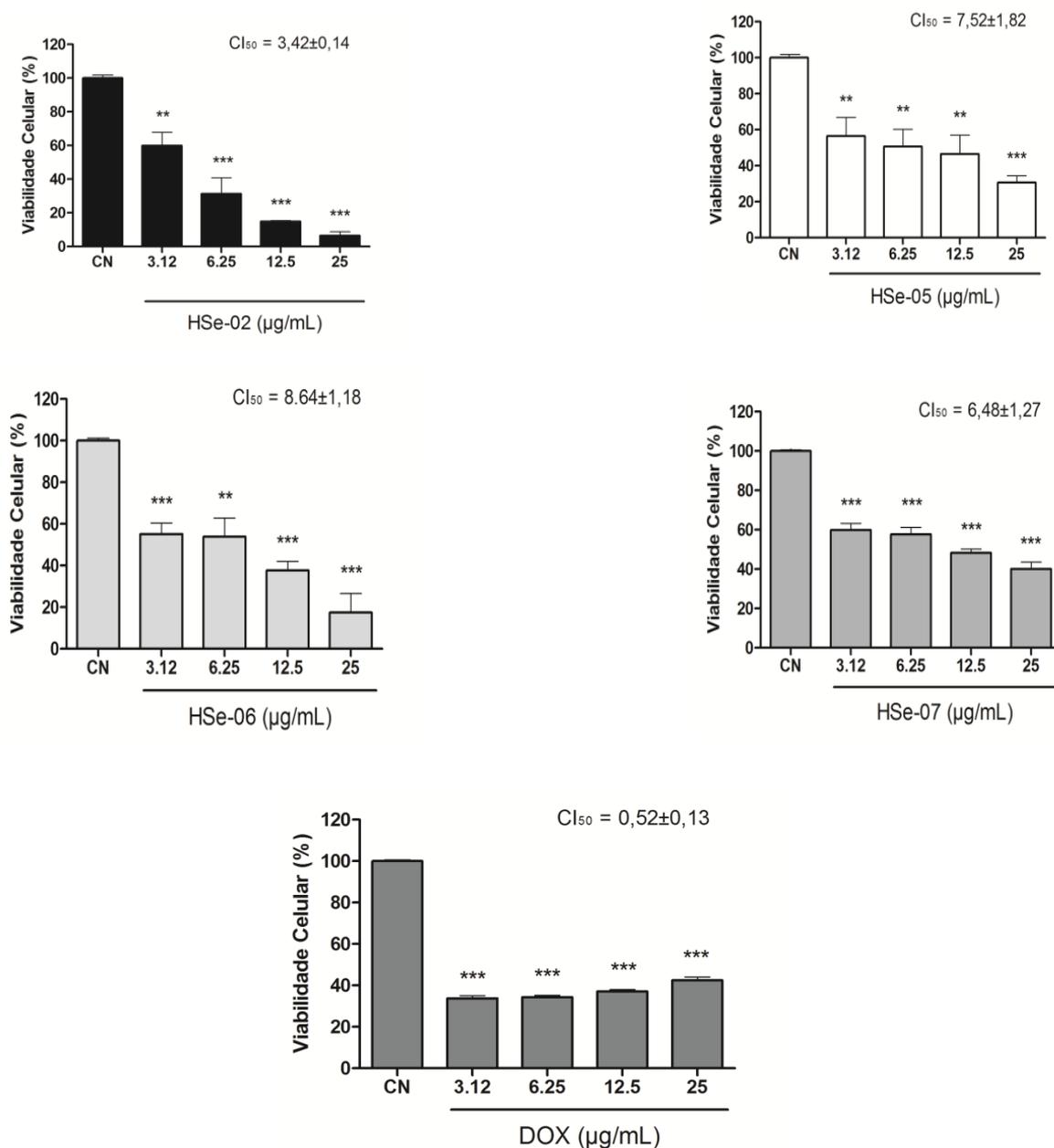
Compostos	HL-60	PBMC
	$CI_{50} \pm \text{EPM}$	$CI_{50} \pm \text{EPM}$
HSe-02	$3,42 \pm 0,14$	$238,80 \pm 1,40$
HSe-05	$7,52 \pm 1,82$	$102,00 \pm 39,99$
HSe-06	$8,64 \pm 1,27$	$286,32 \pm 45,71$
HSe-07	$6,48 \pm 1,27$	$136,35 \pm 25,35$
Doxorrubicina	$0,52 \pm 0,13$	Não Testada

Legenda: EPM – Erro padrão Médio

Como podemos observar na tabela 18, os compostos apresentaram maiores atividades citotóxicas na célula tumoral HL-60 em relação a células não tumorais no ensaio de 24 horas, o que demonstra que os compostos HSe possui maior seletividade pelas células tumorais do que pelas células normais. Dentre os compostos avaliados, o **HSe-02** foi o que apresentou a melhor atividade citotóxica, com uma IC_{50} de $3,42 \mu\text{g/mL}$. A droga padrão, a doxorrubicina apresentou melhor resultado em relação aos compostos testados.

A figura 42 apresenta os gráficos de viabilidade celular para cada um dos compostos frente à linhagem celular testada. Os compostos **HSe-02**, **HSe-05**, **HSe-06** e **HSe-07** promoveram redução estatisticamente significativa da viabilidade celular a partir de uma concentração de $3,12 \mu\text{g/mL}$.

Figura 42 - Citotoxicidade dos compostos HSe-02, HSe-05, HSe-06 e HSe-07 (gráficos de A a D respectivamente) e da doxorrubicina (gráficos E) frente à linhagem tumoral HL-60, avaliada pelo método de MTT, após 24 h de tratamento. Os dados correspondem à média \pm EPM de três experimentos independentes. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$.



Capítulo 6

Conclusões e Perspectivas

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSÕES

- ✓ A rota sintética utilizada para as selenoglicolicamidas mostrou-se ser simples e eficaz;
- ✓ Foram sintetizadas 12 moléculas inéditas com alto grau de pureza e rendimentos moderados a bons e as estruturas químicas das selenoglicolicamidas foram elucidadas por meio das técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C e por difratometria de raios X;
- ✓ Na avaliação da atividade antimicrobiana, as selenoglicolicamidas apresentaram atividade para as diversas linhagens de *Staphylococcus aureus* ensaiadas com concentração inibitória mínima entre 16 a 256 $\mu\text{g/mL}$, onde o **HSe-01**, **HSe-06** e **HSe-09** foram os que mostraram as melhores atividades. Na avaliação como modulador da resistência da bomba de efluxo resistente à tetraciclina, as selenoglicolicamidas apresentaram um potencial adjuvante apresentando um fator de redução da CIM da tetraciclina em até 512 vezes;
- ✓ Na atividade antifúngica, das nove selenoglicolicamidas apenas os compostos **Hse-01** e **Hse-09** exibiram atividade inibidora contra as espécies de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* com a CIM entre 512 – 1024 $\mu\text{g/mL}$;
- ✓ Os ensaios *in vitro*, em células promastigostas de *Leishmania amazonensis*, as selenoglicolicamidas apresentaram CI_{50} abaixo de 30 μM , principalmente os compostos **HSe-05**, **HSe-06**, **HSe-09**, **HSe-11** e **HSe-12** apresentaram CI_{50} inferiores a 10 μM ;
- ✓ Na avaliação de citotoxicidade *in vitro*, as selenoglicolicamidas apresentaram boa inibição para as linhagens de células tumorais, sendo que para o MCF-7 o melhor foi o **HSe-02** com 70% de inibição, para HEP-2 tanto o **HSe-02** e **HSe-05** apresentaram uma inibição de 100% e para HL60 o **HSe-05** teve uma inibição de 99%.
- ✓ Na determinação da CI_{50} na linhagem tumoral HL-60, as selenoglicolicamidas **HSe-02**, **HSe-05**, **HSe-06** e **HSe-07** possuíram maior seletividade pelas células tumorais do que pelas células normais e a selenoglicolicamida **HSe-02** apresentou uma CI_{50} de 3,42 $\mu\text{g/mL}$.

6.2 PERSPECTIVAS

- ✓ Sintetizar novas selenoglicolicamidas para os estudos sobre atividade antimicrobiana e moduladora de bomba de efluxo;

- ✓ Sintetizar novas selenoglicolicamidas para o estudo leishmanicida possuindo em suas estruturas grupos halogenados, como Br, Cl, F e I;
- ✓ Submeter as selenoglicolicamidas a estudos de citotoxicidade *in vivo*;
- ✓ Fazer um estudo de decomposição térmica dos compostos a partir de curvas termogravimétricas e determinar a possível ordem de estabilidade através da temperatura inicial da decomposição.

Capítulo 7

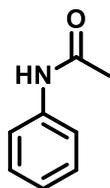
Experimental

7 ESTUDOS EXPERIMENTAIS

7.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

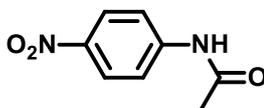
Todos os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos de fontes comerciais com grau P.A. Os que não apresentavam a qualidade adequada, quando necessário, foram purificados. Os espectros na região de Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrômetro FTIR modelo IRPrestige-21, do fabricante Shimadzu, utilizando-se pastilhas de KBr e em ATR. Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos no aparelho Oxford NMR 200 da marca Varian (200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C). Tetrametilsilano (TMS) foi usado como padrão interno e clorofórmio (CDCl_3) e dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$), ambos deuterados, foram usados como solventes. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em unidades de parte por milhão (ppm). As multiplicidades das bandas em RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: s – singleto, d – dubleto, t – tripleto, dt – duplo tripleto, q – quarteto, sept – septeto e m – multiplete. A purificação dos compostos foi realizada pela técnica de recristalização em etanol ou etanol/água e confirmadas a partir da determinação da faixa de fusão obtidos em placa de aquecimento da marca MQAPF-301 (Microquímica).

7.2 PREPARAÇÃO DA ACETANILIDA



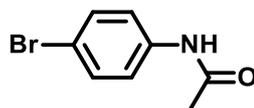
Anilina (0,16 mols) foi adicionada lentamente sobre uma solução de acetato de sódio (0,51 mols) e 15,8 mL de ácido acético contido em um béquer de 100 mL. Em seguida adicionou-se lentamente anidrido acético (0,18 mols). A mistura reacional foi agitada a temperatura ambiente por 30 minutos e em seguida adicionou-se 250 mL de água gelada. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água e seco. O produto foi recristalizado em água. Rendimento de 88%. Ponto de fusão: 113-114 °C.

7.3 PREPARAÇÃO DA *p*-NITROACETANILIDA



Ácido sulfúrico (18 mL) foi adicionado a uma mistura de acetanilida (0,066 mols) e ácido acético (9 mL) em um erlenmeyer de 100 mL. A mistura reacional foi esfriada em um banho de gelo até a temperatura abaixo de 5° e adicionou vagarosamente uma mistura de ácido nítrico concentrado (4 mL) e ácido sulfúrico concentrado (2,5 mL). Durante a adição, a temperatura da mistura reacional deve ser mantida abaixo de 10 °C. Depois do termino, a mistura reacional é deixada em repouso durante 1 hora em temperatura ambiente. Adicionou-se, com agitação em bécher contendo 200 mL de gelo pilado e água. O precipitado formado é filtrado e lavado com água gelado para a remoção dos resíduos ácidos. A *p*-nitroacetanilida foi recristalizada utilizando etanol. Rendimento de 81%. Ponto de fusão: 214-215 °C.

7.4 PREPARAÇÃO DA *p*-BROMOACETANILIDA



Bromo (3,82 mL) dissolvido em 6,7 mL de ácido acético glacial foi adicionado a uma mistura de acetanilida (0,066 mols) e ácido acético glacial (33,7 mL) contido em um erlenmeyer de 500 mL. A mistura reacional é esfriada em banho de água e deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 225 mL de água, lentamente e com agitação ocorrendo à formação de precipitados. Adicionou-se uma solução de bissulfito de sódio para a descoloração da solução. O sólido foi filtrado, lavado com água fria e seco. A *p*-bromoacetanilida foi recristalizada em etanol. Rendimento de 82%. Ponto de fusão: 166-168 °C.

7.5 PREPARAÇÃO DA *p*-NITROANILINA



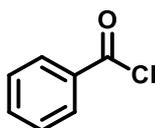
Em um balão de 100 mL, uma mistura de *p*-nitro-acetanilida (0,0416 mols) e 38 mL de ácido sulfúrico a 70% foi refluxada durante 20-30 minutos, com agitação constante. A mistura ainda quente foi vertida sobre 250 mL de água gela. Foi adicionado em excesso uma solução de hidróxido de sódio 20%. O precipitado amarelo foi filtrado, lavando com água gelada para remover impurezas minerais e seco ar. A *p*-nitroanilina foi recristalizada em etanol/água (1:1). Rendimento de 90%. Ponto de fusão: 146-148 °C.

7.6 PREPARAÇÃO DA *p*-BROMOANILINA



Em um balão de 250 mL, *p*-bromo-acetanilida (0,042 mols) foi dissolvido em 20 mL de etanol. A mistura reacional foi aquecida até a ebulição. Foi adicionado 12,6 mL de HCl concentrado lentamente a solução. Ao termino da adição, a mistura foi mantida em refluxo por 60 minutos. Adicionou-se 90 mL de água e a mistura reacional foi concentrado para Adicionou-se 90 mL de água gelada ao resíduo e uma solução de hidróxido de sódio 5% foi adicionado até ficar levemente alcalina. Forma-se um óleo que cristaliza logo. Os cristais foram filtrados, lavados com água gelada e seca. A *p*-bromoanilina foi recristalizada em etanol diluído. Rendimento 85%. Ponto de fusão: 66-67°C.

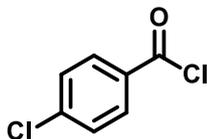
7.7 PREPARAÇÃO DO CLORETO DE BENZOÍLA



Em um balão de 50 mL, adicionou-se 2 gotas de DMF numa mistura contendo cloreto de tioníla (0,0105 mols) e ácido benzóico (0,007 mols). A mistura reacional foi aquecida a 80

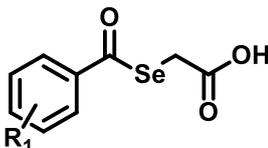
°C por 4 horas. Em seguida removeu-se o excesso de cloreto de tioníla em um rotaevaporador, obtendo-se um líquido que foi usado sem purificação.

7.8 PREPARAÇÃO DO CLORETO DE 4-CLOROBENZOÍLA



Em um balão de 50 mL, adicionou-se 2 gotas de DMF numa mistura contendo cloreto de tioníla (0,0105 mols) e ácido 4-clorobenzóico (0,007 mols). A mistura reacional foi aquecida a 80 °C por 4 horas. Em seguida removeu-se o excesso de cloreto de tioníla em um rotaevaporador, obtendo-se um líquido que foi usado sem purificação.

7.9 PREPARAÇÃO DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICO



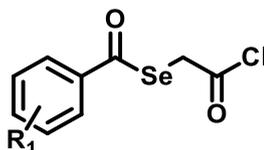
R₁ = H, 4-Cl

Borohidreto de Sódio (0,076 mol) foi dissolvido em 36 mL de água e adicionado lentamente sobre uma suspensão de selênio (0,038 mol) em 36 mL de água contida em um balão de 100 mL. A reação é exotérmica e observa-se o desprendimento de gás hidrogênio. Em seguida (*in situ*), o cloreto de aroíla (0,038 mol), foi adicionado lentamente à uma temperatura de 30 °C. Após 60 minutos de agitação à temperatura ambiente, o ácido 2-cloroacético (0,038 mol) é adicionado lentamente sobre a solução. Observa-se a formação de um precipitado ao fim da adição. A mistura foi deixada em agitação por mais 60 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, a mistura reacional foi submetida a uma extração com diclorometano (3 x 50 mL). A fase orgânica foi filtrada em uma placa de porcelana contendo sílica-gel e depois concentrada a uma pressão reduzida, fornecendo os produtos finais que foram recristalizados em etanol.

Ácido benzoselenoglicólico (SeH1): Rendimento: 50%, p.f. 83-84 °C. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 3.83 (s, 2H); 7.39-8.00 (m, 5H); 10.28 (s, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 192.1, 176.5, 137.6, 134.2, 128.9, 127.3, 24.9. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3098, 3049 (CH_{Ar.}), 2947, 2862 (CH_{Alif.}), 1701 (COOH), 1679 (Se-C = O), 1604, 1496 (C = C_{Ar.}).

Ácido 4-clorobenzoselenoglicólico (SeH2): Rendimento: 45%, p.f. 133-136 °C. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 3.84 (s, 2H); 7.43 (d, 2H); 7.80 (d, 2H); 10.71 (s, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 191.0, 176.3, 140.7, 136.1, 128.8, 128.6, 25.2. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3098, 3049 (CH_{Ar.}), 2947, 2862 (CH_{Alif.}), 1712 (COOH), 1668 (Se-C = O), 1604, 1496 (C = C_{Ar.}).

7.10 TENTATIVA DE PREPARAÇÃO DOS CLORETOS DOS ÁCIDOS AROILSELENOGLICÓLICOS

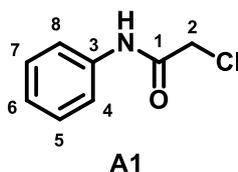


R₁ = H, 4-Cl

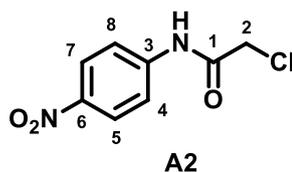
Em um balão de 50 mL equipado com condensador e tubo secante (CaCl₂), foram adicionados 0,0041 mols do ácido apropriado (Ac1 e Ac2), 0,0164 mols de SOCl₂ e duas gotas de DMF. O sistema foi levado a refluxo durante 5 horas. Em seguida, o excesso de SOCl₂ foi removido a pressão reduzida. O produto seguiu para a próxima etapa sem maiores purificações.

7.11 PREPARAÇÃO DAS 2-CLORO-N-ARILACETAMIDAS (A1-A9)

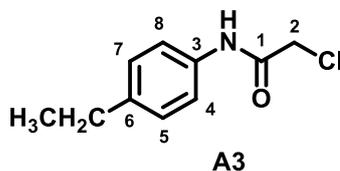
Num balão de 50 mL contendo amina correspondente (0,020 mols) e Et₃N (0,024 mols) solubilizado em 20 mL de DMF a uma temperatura de 0°C, é adicionado lentamente o cloreto de 2-cloroacetila (0,024 mols). O banho de gelo é retirado e a reação fica sobre agitação por 6 horas em temperatura ambiente. A mistura reacional é acompanhada por TLC (hexano/acetato de etila 1:1). Ao término da reação, água gelada é adicionada a mistura reacional ocorrendo à formação de um sólido. O sólido é filtrado e lavado com água gelada (3 x 20 mL) O produto é purificado por recristalização com uma mistura de etanol/água.



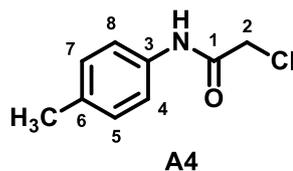
2-cloro-*N*-fenilacetamida (A1): Rendimento: 93%, p.f. 133-135 °C. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 4.16 (s, 2H, H-2); 7.15 (t, 1H, H-6); 7.33 (t, 2H, H-5 e H-7); 7.52 (d, 2H, H-4 e H-8); 8.28 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 164.01, 136.77, 129.22, 125.35, 120.27, 43.00. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3267, 3205, 3143 (NH), 3098, 3049 (CH_{Ar.}), 2947, 2862 (CH_{Alif.}), 1672 (C = O), 1604, 1496 (C = C_{Ar.}), 1290, 1250 (C – Cl), 1078, 858 (CH_{Ar.}), 750 (NH), 557, 499 (C – C_{Ar.}).



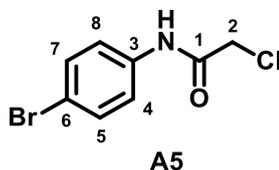
2-cloro-*N*-(*p*-nitrofenil)acetamida (A2): Rendimento: 85 %, p.f. 188 – 190 °C. RMN ¹H (200 MHz, DMSO): δ 4.36 (s, 2H, H-2), 7.85 (d, 2H, H-4 e H-8), 8.26 (d, 2H, H-5 e H-7), 10.93 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50MHz, DMSO): δ 165.62, 144.61, 142.62, 125.07, 119.10, 43.62. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3277, 3227, 3163 (NH), 3109, 3070 (CH_{Ar.}), 2939, 2825 (CH_{Alif.}), 1688 (C = O), 1624, 1506 (C = C_{Ar.}), 1597, 1570, 1338 (NO₂), 1294, 1255 (C – Cl), 1172, 869, 850 (C – N de ArNO₂), 1111, 829 (CH_{Ar.}), 748 (NH), 526 (C – C_{Ar.}).



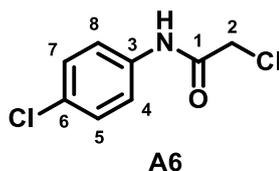
2-cloro-*N*-(*p*-etilfenil)acetamida (A3): Rendimento: 92 %, p.f. 140 – 142 °C. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 1.22 (t, 3H, CH₃), 2.63 (q, 2H, CH₂), 4.17 (s, 2H, H-2), 7.18 (d, 2H, H-5 e H-7), 7.44 (d, 2H, H-4 e H-6), 8.23 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163.89, 141.53, 134.37, 128.56, 120.45, 43.00, 28.45, 15.72. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3308, 3273, 3201 (NH), 3088, 2965 (CH_{Ar.}), 2964, 2868 (CH_{Alif.}), 1668 (C = O), 1614, 1512 (C = C_{Ar.}), 1292, 1254 (C – Cl), 1118, 864 (CH_{Ar.}), 740 (NH), 540, 487 (C – C_{Ar.}).



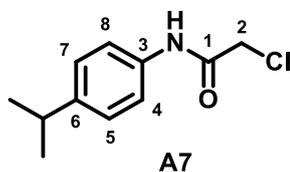
2-cloro-*N*-(*p*-metilfenil)acetamida (A4): Rendimento: 95 %, p.f. 182 – 184 °C. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 2.33 (s, 3H, CH₃), 4.17 (s, 2H, H-2), 7.15 (d, 2H, H-5 e H-7), 7.42 (d, 2H, H-4 e H-8.), 8.21 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163.86, 135.11, 134.21, 129.73, 120.35, 42.66, 21.02. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3307, 3273, 3203 (NH), 3134, 3089 (CH_{Ar.}), 2953 (CH_{Alif.}), 1674 (C = O), 1616, 1552 (C = C_{Ar.}), 1292, 1252 (C – Cl), 114, 864 (CH_{Ar.}), 748 (NH), 505 (C – C_{Ar.}).



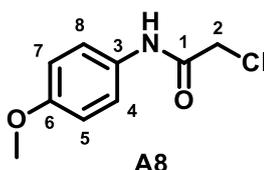
2-cloro-*N*-(*p*-bromofenil)acetamida (A5): Rendimento: 85 %, p.f. 184 – 186 °C. RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4.27 (s, 2H, H-2), 7.55 (m, 4H, H-4, H-5, H-7 e H-8.), 10.45 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 164.83, 137.85, 131.71, 121.28, 115.51, 43.56. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3263, 3194 (NH), 3124, 3076 (CH_{Ar.}), 2999, 2953 (CH_{Alif.}), 1670 (C = O), 1610, 1550 (C = C_{Ar.}), 1281, 1246 (C – Cl), 1188 (C – Br), 1072, 860 (CH_{Ar.}), 736 (NH), 497 (C – C_{Ar.}).



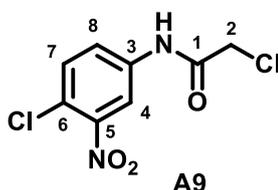
2-cloro-*N*-(*p*-clorofenil)acetamida (A6): Rendimento: 79 %, p.f. 170 – 172 °C. RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4.27 (s, 2H, H-2), 7.40 (d, 2H, H-5 e H-7), 7.63 (d, 2H, H-4 e H-8.), 10.45 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 164.81, 137.44, 128.81, 127.45, 120.92, 43.54. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3264, 3198 (NH), 3128, 3080 (CH_{Ar.}), 3003, 2951 (CH_{Alif.}), 1668 (C = O), 1612, 1551 (C = C_{Ar.}), 1281, 1246 (C – Cl), 1095 (C – Cl of ArCl), 1010, 862 (CH_{Ar.}), 737 (NH), 567, 501 (C – C_{Ar.}).



2-cloro-*N*-(*p*-isopropilfenil)acetamida (A7): Rendimento: 77 %, p.f. 141 – 143 °C. RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 1.24 (d, 6H, CH₃), 2.90 (s, 1H, CH), 4.17 (s, 2H, H-2), 7.23 (d, 2H, H-5 e H-7), 7.45 (d, 2H, H-4 e H-8), 8.21 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163.87, 146.19, 134.42, 127.16, 120.47, 43.01, 33.76, 24.12. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3271, 3199 (NH), 3130 (CH_{Ar.}), 2960, 2870 (CH_{Alif.}), 1674 (C = O), 1612, 1548 (C = C_{Ar.}), 1282, 1250 (C – Cl), 1300, 1282 (*i*CH_{Alif.}), 1016, 837 (CH_{Ar.}), 779 (NH), 534 (C – C_{Ar.}).



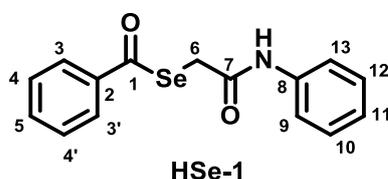
2-cloro-*N*-(*p*-metoxifenil)acetamida (A8): Rendimento: 85 %, p.f. 119 – 120 °C. RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.17 (s, 2H, H-2), 6.88 (d, 2H, H-5 e H-7), 7.43 (d, 2H, H-4 e H-8), 8.20 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163.89, 157.16, 129.79, 122.22, 114.34, 55.61, 42.97. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3296, 3199 (NH), 3136, 3072 (CH_{Ar.}), 2956, 2835 (CH_{Alif.}), 1666 (C = O), 1605, 1548 (C = C_{Ar.}), 1346, 1301 (C – Cl), 1248, 1113 (C – O – C), 1029, 831 (CH_{Ar.}), 788 (NH), 582, 532 (C – C_{Ar.}).



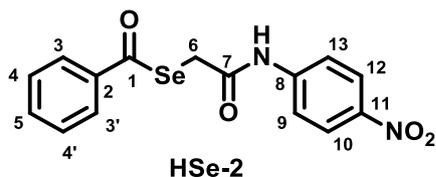
2-cloro-*N*-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (A9): Rendimento: 80 %, p.f. 120 – 122 °C. RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4.32 (s, 2H, H-2), 7.74 (d, 1H, H-7), 7.81 (dd, 1H, H-8), 8.40 (d, 1H, H-4), 10.87 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 165.54, 147.28, 138.33, 132.20, 124.27, 119.16, 115.76, 43.42. IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3313, 3269 (NH), 3122, 3094 (CH_{Ar.}), 2945, 2881 (CH_{Alif.}), 1691 (C = O), 1605, 1544 (C = C_{Ar.}), 1483, 1404, 1344 (NO₂), 1300, 1265 (C – Cl), 1045, 831 (CH_{Ar.}), 895 (C – N de ArNO₂), 785 (NH), 559 (C – C_{Ar.}).

7.12 PREPARAÇÃO GERAL DAS SELENOGLICOLICAMIDAS

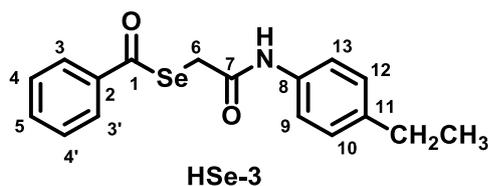
Borohidreto de Sódio (0,0139 mol) foi dissolvido em 6 mL de água e adicionado lentamente sobre uma suspensão de selênio (0,0063 mol) em 6 mL de água contida em um balão de 50 mL. A reação é exotérmica e observa-se o despreendimento de gás hidrogênio. Em seguida (*in situ*), o cloreto de aroíla (0,0063 mol), foi adicionado lentamente à uma temperatura de 30 °C. A mistura reacional torna-se amarelada. Após 60 minutos de agitação à temperatura ambiente, as 2-cloro-*N*-arilacetamidas (0,0063 mol), em pequena quantidade de acetona foi adicionada lentamente sobre a solução. Observa-se a formação de um precipitado ao fim da adição. A mistura foi deixada em agitação por mais 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, a mistura reacional foi submetida a uma extração com diclorometano (3 x 25 mL). A fase orgânica é lavada com uma solução de 10% de NaHCO₃ (3 x 25 mL), foi filtrada em uma placa de porcelana contendo sílica-gel e depois concentrada à uma pressão reduzida, fornecendo os produtos finais que foram recristalizados em etanol.



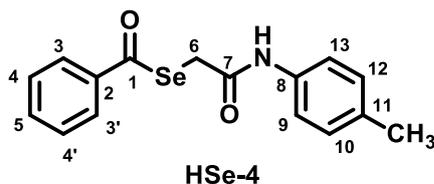
***N*-fenilbenzoselenoglicolicamida (HSe-01):** Rendimento: 75 %. Sólido branco com p.f. 132-133 °C. Análise elementar para C₁₅H₁₃NO₂Se: Teórico: C, 56.61; H, 4.12; N, 4.40; Experimental: C, 55.30; H, 3.90; N, 4.84. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.36 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-5); 7.54-7.45 (m, 4H, H-4, H-4', H-9 and H-13); 7.30 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H-10 and H-12); 7.08 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-11); 3.78 (s, 2H, H-6). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.74 (C-1); 137.94 (C-2); 129.16 (C-3 and C-3'); 129.09 (C-4 and C-4'); 134.73 (C-5); 28.27 (C-6); 168.25 (C-7); 138.06 (C-8); 119.91 (C-9 and C-13); 127.38 (C-10 and C-12); 124.44 (C-11). IV (KBr, cm⁻¹): 3292 (N-H); 3053 (=C-H, Ar); 1654 (-N-CO); 1674 (-Se-CO); 1596 and 1444 (C=C, Ar).



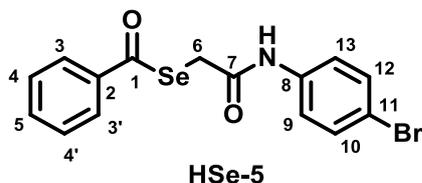
***N*-(4-nitrofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-02):** Rendimento: 70 %. Sólido branco com p.f. 192-193 °C. Análise elementar para C₁₅H₁₂N₂O₄Se: Teórico: C, 49.60; H, 3.33; N, 7.71; Experimental: C, 48.68; H, 3.19; N, 7.99. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.82 (s, 1H, NH); 8.19 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, H-10 and H-12); 7.94 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.73 to 7.66 (m, 3H, H-5 to H-9 and H-13); 7.52 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4 and H-4'); 3.80 (s, H, 2H, H-6). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 197.59 (C-1); 137.66 (C-2); 129.38 (C-3 and C-3'); 127.7 (C-4 and C-4'); 135.16 (C-5); 28.02 (C-6); 168.83 (C-7); 143.91 (C-8); 119.22 (C-9 and C-13); 125.2 (C-10 and C-12); 143.66 (C-11). IV (KBr, cm⁻¹): 3261 (N-H); 3207 to 3067 (=C-H, Ar); 1670 (-Se-CO and -N-CO overlapping); 1564 and 1404 (C=C, Ar); 1510 and 1342 (NO₂); 852 (=C-H, Ar).



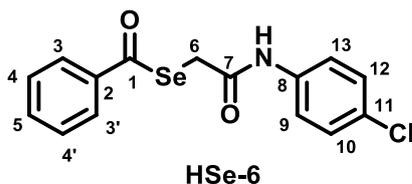
***N*-(4-etilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-3):** Rendimento: 72%. Sólido branco com p.f. 124-125 °C. Análise elementar para C₁₇H₁₇NO₂Se: Teórico: C, 58.96; H, 4.95; N, 4.04; Experimental: C, 59.78; H, 4.95; N, 4.90. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.30 (s, 1H, NH); 7.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.63 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5); 7.52 to 7.66 (m, 4H, H-4, H-4', H-9 and H-13); 7.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-10 and H-12); 3.78 (s, 2H, H-6); 2.59 (q, 2H, CH₂CH₃); 1.19 (t, 3H, CH₂CH₃). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.62 (C-1); 137.98 (C-2); 129.21 (C-3 and C-3'); 128.37 (C-4 and C-4'); 134.69 (C-5); 28.27 (C-6); 168.11 (C-7); 135.67 (C-8); 120.04 (C-9 and C-13); 127.55 (C-10 and C-12); 140.58 (C-11); 28.43 (CH₂); 15.83 (CH₃). IV (KBr, cm⁻¹): 3284 (N-H); 3068 (=C-H, Ar); 1674 (-Se-CO); 1651 (-N-CO); 1593 and 1413 (C=C, Ar); 883 (=C-H, Ar); 767 (N-H).



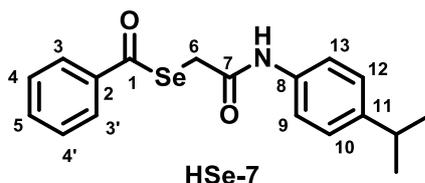
***N*-(4-metilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-4):** Rendimento: 77 %. Sólido branco com p.f. 132-134 °C. Análise elementar para C₁₆H₁₅NO₂Se: Teórico: C, 57.84; H, 4.55; N, 4.22; Experimental: C, 58.37; H, 4.52; N, 5.01. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.28 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5); 7.49 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-4 and H-4'); 7.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-9 and H-13); 7.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-10 and H-12); 3.77 (s, 2H, H-6); 2.29 (s, 3H, CH₃). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.64 (C-1); 135.49 (C-2); 129.54 (C-3 and C-3'); 129.22 (C-4 and C-4'); 134.7 (C-5); 28.27 (C-6); 168.1 (C-7); 134.09 (C-8); 119.95 (C-9 and C-13); 127.56 (C-10 and C-12); 137.99 (C-11); 20.99 (CH₃). IV (KBr, cm⁻¹): 3269.34 (N-H); 3037.89 (=C-H, Ar); 1674 (-Se-CO); 1651 (-N-CO); 1595 and 1402 (C=C, Ar); 889 (=C-H, Ar).



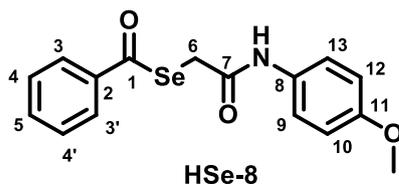
***N*-(4-bromofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-5):** Rendimento: 73%. Sólido branco com p.f. 165-167 °C. Análise elementar para C₁₅H₁₂BrNO₂Se: Teórico: C, 45.37; H, 3.05; N, 3.53; Experimental: C, 46.08; H, 3.03; N, 4.05. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.40 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.67 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, H-5); 7.50 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4 and H-4'); 7.42 (s, 4H, H-9, H-10, H-12 and H-13); 3.77 (s, 2H, H-6). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 197.03 (C-1); 137.15 (C-2); 129.28 (C-3 and C-3'); 127.62 (C-4 and C-4'); 134.9 (C-5); 28.14 (C-6); 168.35 (C-7); 137.83 (C-8); 121.41 (C-9 and C-13); 132.02 (C-10 and C-12); 117.0 (C-11). IV (KBr, cm⁻¹): 3263 (N-H); 3182 to 3059 (=C-H, Ar); 1672 (-Se-CO); 1651 (-N-CO); 1537 and 1487 (C=C, Ar); 815 (=C-H, Ar).



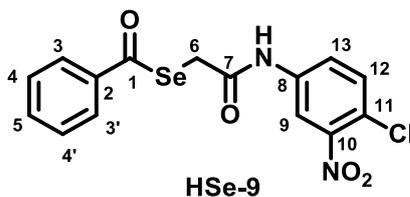
***N*-(4-clorofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-6):** Rendimento: 68 %. Sólido branco com p.f. 152-154 °C. Análise elementar para C₁₅H₁₂ClNO₂Se: Teórico: C, 51.08; H, 3.48; N, 3.97; Experimental: C, 51.98; H, 3.43; N, 4.10. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.38 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5); 7.51 to 7.49 (m, 4H, H-4, H-4', H-9 and H-13); 7.26 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, H-10 and H-12); 3.77 (s, 2H, H-6). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.92 (C-1); 137.93 (C-2); 129.29 (C-3 and C-3'); 129.08 (C-4 and C-4'); 134.86 (C-5); 28.15 (C-6); 168.28 (C-7); 136.7 (C-8); 121.12 (C-9 and C-13); 127.62 (C-10 and C-12); 129.42 (C-11). IV (KBr, cm⁻¹): 3278 (N-H); 3122 to 3068 (=C-H, Ar); 1674 (-Se-CO); 1654 (-N-CO); 1544 and 1400 (C=C, Ar); 833 (=C-H, Ar).



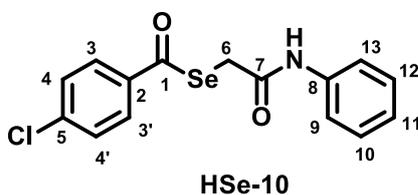
***N*-(4-isopropilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-07):** Rendimento: 70%. Sólido branco com p.f. 108-110 °C. Análise elementar para C₁₈H₁₉NO₂Se: Teórico: C, 60.00; H, 5.32; N, 3.98; Experimental: C, 60.76; H, 5.48; N, 4.55. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.25 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.64 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-5); 7.49 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H-4 and H-4'); 7.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-9 and H-13); 7.16 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-10 and H-12); 3.77 (s, 2H, H-6); 2.86 (sep, 1H, CH(CH₃)₂); 1.21 (d, 6H, CH(CH₃)₂). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.63 (C-1); 138.07 (C-2); 129.23 (C-3 and C-3'); 127.58 (C-4 and C-4'); 134.7 (C-5); 28.29 (C-6); 168.1 (C-7); 135.78 (C-8); 120.1 (C-9 and C-13); 126.96 (C-10 and C-12); 145.26 (C-11); 33.74 (CH(CH₃)₂); 24.1 (CH(CH₃)₂). IV (KBr, cm⁻¹): 3282 (N-H); 3124-3061 (=C-H, Ar); 1674 (-Se-CO); 1656 (-N-CO); 1600-1446 (C=C, Ar); 889 (=C-H, Ar); 767 (N-H).



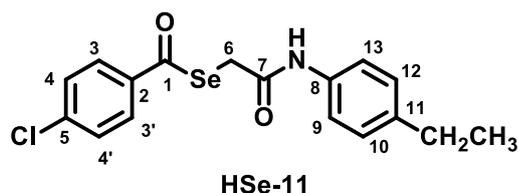
***N*-(4-metoxifenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-08):** Rendimento: 75%. Sólido branco com p.f. 139-140 °C. Análise elementar para C₁₆H₁₅NO₃Se: Teórico: C, 55.18; H, 4.34; N, 4.02; Experimental: C, 54.33; H, 4.25; N, 4.44. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.24 (s, 1H, NH); 7.92 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.65 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-5); 7.53-7.49 (m, 4H, H-4, H-4', H-9 and H-13); 6.48 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-10 and H-12); 3.77 (s, 5H, H-6 and OCH₃). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 196.37 (C-1); 138.03 (C-2); 129.19 (C-3 and C-3'); 127.53 (C-4 and C-4'); 134.63 (C-5); 29.22 (C-6); 168.0 (C-7); 131.19 (C-8); 121.74 (C-9 and C-13); 114.22 (C-10 and C-12); 156.58 (C-11); 55.57 (OCH₃). IV (KBr, cm⁻¹): 3282 (N-H); 3124-3061 (=C-H, Ar); 1678 (-Se-CO); 1639 (-N-CO); 1541 (C=C, Ar); 1029 (C-O-C); 883 (=C-H, Ar); 767 (N-H).



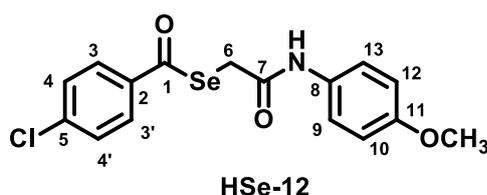
***N*-(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe-9):** Rendimento: 72%. Sólido cinza com p.f. 132-134 °C. Análise elementar para C₁₅H₁₁ClN₂O₄Se: Teórico: C, 45.30; H, 2.79; N, 7.04; Experimental: C, 45.80; H, 2.79; N, 7.47. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 10.91 (s, 1H, NH); 8.40 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-9); 7.90 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H, H-3 and H-3'); 7.74 (m, 3H, H-5, H-12 and H-13); 7.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4 and H-4'); 4.01 (s, 2H, H-6). RMN ¹³C – (50 MHz, CDCl₃, δ): 193.09 (C-1); 138.77 (C-2); 129.46 (C-3 and C-3'); 126.92 (C-4 and C-4'); 134.59 (C-5); 29.02 (C-6); 167.9 (C-7); 137.58 (C-8); 115.43 (C-9); 147.26 (C-10); 118.71 (C-11); 123.97 (C-12); 132.10 (C-13). IV (KBr, cm⁻¹): 3238 (N-H); 3101 to 3059 (=C-H, Ar); 1674 (-Se-CO); 1654 (-N-CO); 1595 and 1408 (C=C, Ar); 1529 and 1361 (NO₂); 1047 (C-Cl) 835 (=C-H, Ar); 765 (N-H).



N-fenil-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe-10): Rendimento: 65%. Sólido branco com p.f. 110-112 °C. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.30 (s, 1H, NH), 7.86 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-3 e H-3'), 7.49 (t, *J* = 8.8 Hz, 4H, H-10, H-12, H-4 e H-4'), 7.32 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, H-9 e H-13), 7.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-11), 3.79 (s, 2H, H-6). IV (KBr, cm⁻¹): 3261 (N-H); 3207 à 3067 (=C-H, Ar); 1670 (-Se-CO e -N-CO sobrepostos); 1564 e 1404 (C=C, Ar); 1510 e 1342 (NO₂); 852 (=C-H, Ar); 767 (N-H).



N-(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe-11): Rendimento: 75%. Sólido branco com p.f. 142-144 °C. RMN ¹H – (200 MHz, CDCl₃, δ): 8.25 (s, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3 e H-3'), 7.57 – 7.36 (m, 4H, H-4, H-4', H-9 e H-13), 7.13 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H-10 e H-12), 3.78 (s, 2H, H-6), 2.59 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.19 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H, CH₂CH₃). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 195.36 (C-1), 167.81 (C-7), 141.17 (C-11), 140.66 (C-5), 136.29 (C-2), 135.57 (C-8), 129.53 (C-3 e C-3'), 128.81 (C-4 e C-4'), 128.40 (C-10 e C-12), 120.01 (C-9 e C-13), 28.50 (CH₂CH₃), 28.42 (C-6), 15.85 (CH₂CH₃). IV (KBr, cm⁻¹): 3261 (N-H); 3207 à 3067 (=C-H, Ar); 1670 (-Se-CO e -N-CO sobrepostos); 1564 e 1404 (C=C, Ar); 1510 e 1342 (NO₂); 852 (=C-H, Ar); 767 (N-H).



N-(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe-12): Rendimento: 77%. Sólido branco com p.f. 150-152 °C. RMN ¹H – (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.16 (s, 1H, NH), 7.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-3 e H-3'), 7.46 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-4 e H-4'), 7.41 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H-9 e H-13), 6.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-10 e H-12), 3.78 (s, 2H, H-6), 3.77 (s, 3H, OCH₃). RMN ¹³Cl – (101 MHz, CDCl₃, δ): 195.22 (C-1), 167.71 (C-2), 156.60 (C-11), 141.17 (C-5), 136.35 (C-2), 131.11 (C-3 e C-3'), 129.54 (C-8), 128.82 (C-4 e C-4'), 121.70 (C-9 e C-13), 114.22 (C-10 e C-12), 55.58 (OCH₃), 28.43 (C-6). IV (KBr, cm⁻¹): 3261 (N-H); 3207 à 3067 (=C-H,

Ar); 1670 (-Se-CO e -N-CO sobrepostos); 1564 e 1404 (C=C, Ar); 1510 e 1342 (NO₂); 852 (=C-H, Ar); 767 (N-H).

7.13 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

7.13.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A determinação CIM das selenoglicolicamidas e dos antibióticos foram realizadas por meio da técnica de microdiluição, utilizando placa de 96 cavidades. Foi preparada uma solução-mãe contendo caldo nutritivo (BHI – Brain and Heart Infusion) e 1% da suspensão bacteriana (10⁵ ufc/mL em solução salina a 0,9% de NaCl). Foram utilizadas as cepas SA-1199B, RN-4220, IS-58 e ATCC 25923, sendo que esta última foi utilizada como controle de qualidade do teste (NCLSS, 2005). A solução-mãe foi distribuída na placa de 96 cavidades por colunas e as selenoglicolicamidas foram dispensados por meio da diluição seriada a uma razão de dois, com concentrações finais variando de 256 µg/mL a 0,25 µg/mL ou 128 µg/mL a 0,125 µg/mL. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e a CIM foi definida como a menor concentração que inibiu completamente o crescimento bacteriano após 24 horas (incubada em estufa a 37°C) (SMITH et al, 2005). Para melhor visualização do resultado, foi utilizada solução (0,01%) de resazurina (SigmaAldrich), indicador de viabilidade celular. Cloranfenicol foi utilizado como controle positivo para a determinação da CIM.

7.13.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA A TETRACICLINA

Para avaliar a atividade das selenoglicolicamidas como inibidores putativos de bomba de efluxo foram determinadas a CIM da tetraciclina na presença e na ausência das selenoglicolicamidas frente à cepa IS-58. Foi preparada uma solução-mãe contendo caldo nutritivo (BHI – Brain and Heart Infusion), suspensão bacteriana (10⁵ ufc/mL em solução salina a 0,9% de NaCl) e as selenoglicolicamidas em concentração correspondente a ¼ de sua CIM, considerada concentração subinibitória (STAVRI et al., 2007).

Cada solução-mãe foi distribuída na placa por colunas e a tetraciclina foi dispensada por meio da diluição seriada a uma razão de dois, com concentrações variando de 256 µg/mL a 0,25 µg/mL ou 128 µg/mL a 0,125µg/mL (SMITH et al, 2005). Após incubação em estufa a 37°C por 24 horas, foi feita a visualização da presença/ausência de atividade bacteriana, com o uso da solução (0,01%) de resazurina (Sigma-Aldrich). Os experimentos foram realizados em duplicata. A atividade moduladora foi definida quando ocorreu redução da CIM da tetraciclina na presença de concentração subinibitória das selenoglicolicamidas.

7.14 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Os ensaios antifúngicos das selenoglicolicamidas foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba sob a coordenação da professora Edeltrudes O. Lima.

As selenoglicolicamidas foram solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção de até 10 % e tween 80 a 0,02%. Em seguida, foi completado com água destilada esterilizada (q.s.p. 3mL) para obter uma emulsão na concentração inicial de 1024 µg/mL (CLEELAND e SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

7.14.1 MICRO-ORGANISMOS TESTADOS

Para os ensaios da avaliação antifúngica das selenoglicolicamidas, foram utilizadas quatro cepas de *Candida*: *C. albicans* ATCC-76485, *C. albicans* LM-5, *C. tropicalis* ATCC - 13803, *C. tropicalis* LM-96.

Os micro-organismos pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em Brain Heart Infusion (BHI)/bactérias (DIFCO Laboratories/USA/France) e Agar Sabouraud Dextrose (ASD)/leveduras, os quais foram preparados segundo as descrições dos fabricantes. As cepas

foram mantidas em BHI e ASD à temperatura de 4 °C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24-48 horas em ASD/BHI, incubados a 35 ± 2 °C.

7.14.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland e Squires (1991) e NCCLS/CLSI (2002). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas fúngicas e bacterianas foram realizadas através da técnica da microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços. Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de RPMI/BHI duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão dos produtos preparados duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 1024 µg/mL até 64 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas *Candidas* nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma cepa. Foi feito o controle de crescimento do micro-organismo no meio de cultura e do antifúngico nistatina (100 UI/mL) como medida comparativa com os resultados obtidos pelas selenoglicolicamidas.

O ensaio foi realizado em duplicata e incubado a 35 ± 2 °C durante 24-48 h. A CIM para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico e/ou verificado pela permanência da coloração do corante indicador de crescimento.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

7.15 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA

A avaliação da atividade biológica anti-*Leishmania* das selenoglicolicamidas sobre formas promastigotas *Leishmania (L.) amazonensis* foi utilizando o teste do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-zil]-2,5-difeniltetrazolio). Esse método é baseado na atividade de

enzimas desidrogenases citosólicas e mitocondriais, que são capazes de reduzir o MTT (coloração amarela) e formar um produto de coloração azul, insolúvel em água, o sal formazan (MOSMANN, 1983). Em placa de 96 poços foram adicionados 100 µL de meio Schneider suplementado e cerca de 1×10^6 promastigotas por poço. Posteriormente, foram adicionadas as substâncias-teste em triplicata, previamente diluídas em meio Schneider suplementado para um volume final de 100 µL para cada poço nas concentrações de 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12 µg/mL. Em seguida foram incubadas por 72 h em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) a temperatura de 26 °C. Ao final da incubação, foi adicionado 10 µL de MTT diluído em PBS a uma concentração final de 5 mg/mL. Foram incubados por mais 4 h em estufa de B.O.D. a 26°C, e em seguida foi adicionado 50 µL de SDS a 10%. A placa ficou em overnight para dissolução do formazan e por último, foi realizado a leitura a 550 nm em leitora de placa (Biotek modelo ELx800). O controle negativo foi realizado com meio Schneider suplementado a 0,2% de DMSO. O controle positivo foi realizado na presença de anfotericina B que é o fármaco de referência.

7.16 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO*

Células: As linhagens tumorais utilizadas, MCF-7 (carcinoma de cólon - humano), HEP-2 (carcinoma de laringe - humano) e HL60 (leucemia promielocítica) foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio DMEN, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. **Amostras:** As selenoglicolicamidas foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 25 µg/mL para extratos.

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

As células foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100µL/ poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvio no programa *GraphPad Prism*. Cada amostra foi testada em duplicata. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%).

A viabilidade celular foi calculada a partir da razão da DO, obtida para cada concentração dos compostos testados, pela DO do controle negativo e expressa em termos percentuais e erro padrão médio (EPM). Para a comparação entre os grupos aplicou-se o teste ANOVA, seguido do teste Student Newman-Keuls. Os dados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. A citotoxicidade foi expressa por meio da média da CI₅₀ (Concentração que inibe 50% do crescimento celular) dos três experimentos e EPM, determinada por meio de regressão não-linear utilizando o software GraphPad Prisma®, versão 5.0 Demo.

Referências

8 REFERÊNCIAS

ABDEL-HAFEZ, S. H. Selenium containing heterocycles: Synthesis and pharmacological Activities of Some New Selenolo[2,3-b]quinolone derivatives and related pentacyclic systems. **Phosphorus, Sulfur Silicon, Relat. Elem.**, 185, 2543-2550, 2010.

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, 43, 319-327, 2007.

APOSTOLIDIS, I.; LIARAS, K.; GERONIKAKI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; GAVALAS, A.; SOKOVIC, M.; GLAMOCLJIA, J.; CIRIC, A. Synthesis and biological evaluation of some 5-arylidene-2-(1,3-thiazol-2-ylimino)-1,3-thiazolidin-4-ones as dual anti-inflammatory/antimicrobial agents. **Bioorg. Med. Chem.**, 21, 532-539, 2013.

ARASE, A.; MASUDA, Y. Convenient syntheses of alkyl thiocyanates and alkyl selenocyanates from sterically hindered olefin via hydroboration. Selective reactions of secondary or tertiary alkyl group in mixed trialkylboranes with ferric thiocyanate or ferric selenocyanate. **Chem. Lett.**, 5, 1115-1118, 1976.

ARTHUR, J. R.; MCKENZIE, R. C.; BECKETT, G. J. Selenium in the immune system. **J. Nutr.**, 133, 1457S-1459S, 2003.

ATHAYDE-FILHO, P. F.; SOUZA, A. G.; MORAIS, S. A.; BOTELHO, J. R.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MILLER, J.; LIRA, B. F. Synthesis and characterization of three new organo-selenium compounds. A convenient synthesis of aroylselenoglycolic acids. **ARKIVOC**, vi, 22-26, 2004.

BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, 4: 14-19, 1996.

BOSWIHI, S. S.; UDO, E. E. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: An update on the epidemiology, treatment options and infection control. **Curr. Med. Res. Pract.**, 8, 18-24, 2018.

BRAGA, A. L.; PAIXÃO, M. W.; LÜDTKE, D. S.; SILVEIRA, C. C.; RODRIGUES, E. D. Synthesis of New Chiral Aliphatic Amino Diselenides and Their Application as Catalysts for the Enantioselective Addition of Diethylzinc to Aldehydes. **Org. Lett.**, 5, 2635-2638, 2003.

CANTOR, A. H.; LANGEVIN, M. L.; NOGUCHI, T.; SCOTT, M. L. Efficacy of selenium in selenium compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. **J. Nutr.**, 105, 96-105, 1975.

CHAGAS, P. M.; ROSA, S. G.; SARI, M. H. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; CANTO, R. F. S.; LUZ, S. C. A.; BRAGA, A. L.; NOGUEIRA, C. W. Evaluation of the pharmacological properties of salicylic acid-derivative organoselenium: 2-Hydroxy-5-selenocyanatobenzoic acid as an anti-inflammatory and antinociceptive compound. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 118, 87-95, 2014.

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

DAUNES, S.; D’SILVA, C. QSAR Study on the contribution of log P and Es to the *in vitro* antiprotozoal activity of glutathione derivatives. **J. Med. Chem.**, 44, 2976–2983, 2001.

EL-BAYOUMY, K.; UPADHYAYA, P.; DESAI, D. H.; AMIN, S.; HECHT, S. S. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone tumorigenicity in mouse lung by the synthetic organoselenium compound, 1,4-phenylenebis(methylene)selenocyanate. **Carcinogenesis**, 14, 1111-1113, 1991.

FERRIÉ, L.; FERHI, S.; BERNADAT, G.; FIGADÈRE, B. Toward the Total Synthesis of Klaivanolide: Complete Reinterpretation of Its Originally Assigned Structure. **Eur. J. Org. Chem.**, 28, 6183-6189, 2014.

FIALA, E. S.; JOSEPH, C.; SOHN, O. S.; EL-BAYOUMY, K.; REDDY, B. Mechanism of benzylselenocyanate inhibition of azoxymethane-induced Colon Carcinogenesis in F344 Rats. **Cancer Res.**, 51, 2826-2830, 1991.

FUJIWARA, S.; NISHIYAMA, A.; SHIN-IKE, T.; KAMBE, N.; SONODA, N. Carbonylation of Lithium Enolates with Carbon Monoxide Mediated by Selenium. **Org. Lett.**, 6, 453-455, 2004.

GALET, V.; BERNIER, J-L.; HENICHART, J-P.; LESIEUR, D.; ABADIE, C.; ROCHETTE, L.; LINDENBAUM, A.; CHALAS, J.; RENAUD DE LA FAVERIE, J-F.; PFEIFFER, B.; RENARD, P. Benzoselenazolinone derivatives designed to be glutathione peroxidase mimetics feature inhibition of cyclooxygenase/5-lipoxygenase pathways and anti-inflammatory activity. **J. Med. Chem.**, 37, 2903-2911, 1994.

GEORGE, M. W. Selenium. Ch. in Mineral Commodity Summaries, U.S. Geological Survey, 142-143, 2011.

GIBBONS, S. Phytochemicals for bacterial resistance--strengths, weaknesses and opportunities. **Planta. Med.**, 74, 594, 2008.

GENDRE, F., DIAZ, P. Coupling reaction of chalcogenyl halides with alkynes on a solid support. Synthesis of new selenium-containing retinoids. **Tetrahedron Lett.**, 41, 5193-5197, 2000.

GIL-CHAVEZ, G. J.; VILLA, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; HEREDIA, J. B.; SULPUVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUIAR, G. A. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Compr. Rev. Food Sci F.**, 12, 5-23, 2013.

GROUTAS, W. C.; THEODORAKIS, M. C.; TOMKINS, W. A.; HERRO, G.; GAYNOR, T. Synthesis and antitumor activity of some aromatic selenolactones. **J. Med. Chem.**, 27, 548-550, 1984.

GUERRA, F. Q. S.; ARAÚJO, R. S. A.; SOUZA, J. P.; SILVA, V. A.; PEREIRA, F. O.; MENDONÇA-JUNIOR, F. J. B.; BARBOSA-FILHO, J. M.; PEREIRA, J. A.; LIMA, E. O.: A new coumarin derivative, 4-acetatecoumarin, with antifungal activity and association study against *Aspergillus* spp. **J. Braz. Chem. Soc.**, 49, 407–413, 2018.

HARTE, A. J.; GUNNLAUGSSON, T. Synthesis of α -chloroamides in water. **Tetrahedron Lett.**, 47, 6321-6324, 2006.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 97, 1027-1031, 2002.

HOSSAIN, S.U.; SENGUPTA, S.; BHATTACHARYA, S. Synthesis and evaluation of antioxidative properties of a series of organoselenium compounds. **Bioorg. Med. Chem.**, 13, 5750-5758, 2005.

KARNIK, A. V.; KULKARNI, A. M.; MALVIYA, N. J.; MOURYA, B. R.; JADHAV, B. L. Synthesis and in vitro anti-bacterial evaluation of tetracyclic-ortho-fused 4H-naphtho[1',2'-5,6]pyrano[3,4-d](1,2,3)selenadiazole and its derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, 43, 2615-2617, 2008.

KIELISZEK, M.; BŁAZEJAK, S. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. **Nutrition**, 29, 713-718, 2013.

KLAYMAN, D. L.; GRIFFIN, T. S. Reaction of selenium with sodium borohydride in protic solvents. A Facile Method for the introduction of selenium into organic molecules. **J. Am. Chem. Soc.**, 95, 197-199, 1973.

KRAKER, M. E.; STEWARDSON A. J.; HARBARTH, S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? **PLoS Med.**, 13, 1-6, 2016.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 46, 3-26, 2001.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 23, 3-25, 1997.

MARIN, G.; BRAGA, A. L.; ROSA, A. S.; GALLETO, F. Z.; BURROW, R. A.; GALLARDO, H.; PAIXÃO, M. W. Efficient synthesis of selenol esters from acid chlorides mediated by indium metal. **Tetrahedron**, 65, 4614-4618 2009.

MARTINS, M. A. P.; FRIZZO, C. P.; MARTINS, A. C. L.; TIER, A. Z.; GINDRI, I. M.; MEYER, A. R.; BONACORSO, H. G.; ZANATTA, N. Energetic and topological approach for characterization of supramolecular clusters in organic crystals. **RSC Adv.**, 4, 44337-44349, 2014.

MATSUO, A. L.; TANAKA, A. S.; JULIANO, M. A.; RODRIGUES, E. G.; TRAVASSOS L. R. A novel melanoma-targeting peptide screened by phage display exhibits antitumor activity. **J. Mol. Med.**, 88, 1255–1264, 2010.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, 65, 55-63, 1983.

MUGESH, G.; PANDA, A.; SINGH, H. B.; PUNEKAR, N. S.; BUTCHER, R. J. Glutathione Peroxidase-like Antioxidant Activity of Diaryl Diselenides- A Mechanistic Study. **J. Am. Chem. Soc.**, 123, 839-850, 2001.

NAIR, V.; AUGUSTINE, A.; GEORGE, T. G. A Facile CAN-Mediated Synthesis of Selenocyanates from Arylalkenes and Heteroarenes. **Eur. J. Org. Chem.**, 14, 2363-2366, 2002.

NAM, K. N.; KOKETSU, M.; LEE, E. H. 5-chloroacetyl-2-amino-1,3-selenazoles attenuate microglial inflammatory responses through NF-KB inhibition. **Eur. J. Pharmacol.**, 589, 53-57, 2008.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17, 108-113, 2007.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twelfth informational supplement M100-512, vol. 22, nº 01, 2002. – NCCLS.

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2005.

NICOLAU, K. C., PETASI, N. A., Selenium in Natural Products Synthesis, CIS, Philadelphia, PA, 1984.

NICOLAU, K. C., PETASI, N. A., CLAREMON, D. A. N-phenylselenophthalimide (NPSP). A Valuable Selenenylating Agent. **Tetrahedron**, 41, 4853-4841, 1985.

OSHIDA, M. NAKAMURA, T., NAKAZAKI, A., KOBAYASHI, S. A PhSeCl - Mediated Allylic Oxidation of Prenyl Moiety: A Convenient Method for the Construction of 3-Isopenten-2-ol Unit. **Chem. Pharm. Bull.**, 56, 404-406, 2008.

PANDA, A.; MUGESH, G.; SINGH, H. B.; BUTCHER, R. J. Synthesis, Structure, and Reactivity of Organochalcogen (Se, Te) Compounds Derived from 1-(*N,N*-Dimethylamino)naphthalene and *N,N*-Dimethylbenzylamine. **Organometallics**, 18, 1986-1993, 1999.

PARKER, W. R., BRODBELT, J. S. Characterization of the Cysteine Content in Proteins Utilizing Cysteine Selenylation with 266 nm Ultraviolet Photodissociation (UVPD). **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, 27, 1344-1350, 2016.

PATEL, N. B.; PUROHIT, A. C.; RAJANI, D. P.; MOO-PUC, R.; RIVERA, G. New 2-benzylsulfanyl-nicotinic acid based 1,3,4-oxadiazoles: Their synthesis and biological evaluation. **Eur. J. Med. Chem.**, 62, 677-687, 2013.

PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharm. Biol.**, 53, 1-7, 2014.

PIĘTKA-OTTLIK, M.; WÓJTOWICZ-MŁOCHOWSKA, H.; KOŁODZIEJCZYK, K.; PIASECKI, E.; MŁOCHOWSKI, J. New organoselenium compounds active against pathogenic bacteria, fungi and viruses. **Chem. Pharm. Bull.**, 56, 1423-1427, 2008.

POTAPOV, V. A.; KHURIGANOVA, O. I.; MUSALOV, M. V.; LARINA, L. I.; AMOSOVA, S. V. Stereospecific synthesis of *E,E*-bis(2-chlorovinyl)selenide. **Russ. J. Gen. Chem.**, 80, 541-542, 2010.

RADHAKRISHNA, P. M.; SHARADAMMA, K. C.; VAGDEVI, H. M.; ABHILEKHA, P. M.; RUBEENA MUBEEN S.; NISCHAL, K. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Organoselenium Compounds. **Int. J. Chem.**, 2, 149-154, 2010.

RAYMAN, M. P. The argument for increasing selenium intake. **Proc. Nutr. Soc.**, 61, 203-215, 2002.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, 356, 233-241, 2000.

SANTORO, S.; AZEREDO, J. B.; NASCIMENTO, V.; SANCINETO, L.; BRAGA, A. L.; SANTI, C.; The green side of the moon: ecofriendly aspects of organoselenium chemistry. **RSC Adv.**, 4, 315-321, 2014.

SANTOS, C.; FONSECA, J. Selênio: fisiopatologia, clínica e nutrição. **Associação Portuguesa de Nutrição Entérica e Parentérica**, 8, 1-9, 2013.

SANTOS, E. A. HAMEL, E.; BAI, R.; BURNETT, J. C.; TOZATTI, C. S. S.; BOGO, D.; PERDOMO, R. T.; ANTUNES, A. M. M.; MARQUES, M. M.; MATOS, M. F. C.; LIMA, D. P. Synthesis and evaluation of diaryl sulfides and diaryl selenide compounds for antitubulin and cytotoxic activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 23, 4669-4673, 2013.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enferm.**, 13, 64-70, 2004.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz. J. Microbiol.**, 35, 275–280, 2004.

SCHEWE, C.; SCHEWE, T.; WENDEL, A. Strong inhibition of mammalian lipoxygenases by the anti-inflammatory seleno-organic compound ebselen in the absence of glutathione. **Biochem. Pharmacol.**, 48, 65-67, 1994.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **J. Am. Chem. Soc.**, 79, 3292–3293, 1957.

SCOTTI, L.; ISHIKI, H.; MENDONCA, F.J.B.; DA SILVA, M.S.; SCOTTI, M.T. In-silico Analyses of Natural Products on Leishmania Enzyme Targets. **Mini Rev. Med. Chem.**, 15, 253-269, 2015.

SHAFIEE, A. JALILIAN, A. R.; SATTARI, S.; BINESHMARVASTI, M.; DANESHTALAB, M. Synthesis and in vitro antifungal and cytotoxicity evaluation of substituted 4,5-dihydronaphtho[1,2-*d*][1,2,3]thia(or seleno)diazoles. **II Farmaco**, 58, 63-68, 2003.

SHAMBERGER, R. J.; FROST, D. V.; Possible protective effect of selenium against human cancer. **Can. Med. Assoc. J.**, 100, 682, 1969.

SHENG, C.; CHE, X.; WANG, W.; WANG, S.; CAO, Y.; YAO, J.; MIAO, Z.; ZHANG, W. Structure-Based Design, Synthesis, and Antifungal Activity of New Triazole Derivatives. **Chem Biol Drug Des.**, 78, 309–313, 2011.

SKEHAN , P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, 82(13): 1107-1112, 1990.

SMITH, E. C. J.; KAATZ, G. W.; SEO, S. M.; WAREHAM, N.; WILLIAMSON E. M.; GIBBONS, S. the phenolic diterpene totarol inhibits multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 51, p. 4480-4483, 2007.

SOARES-BEZERRA, R.J.; LEON, L.; GENSTRA, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 40, p.139-149, 2004.

STAVRI, M.; PIDDOCK L.J.V., GIBBONS, S. Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. **J. Antimicrob. Chemother.**, 59, 1247-1260, 2007.

SYPER, L.; MŁOCHOWSKI, J. The Convenient Syntheses of Organoselenium Reagents. **Synthesis**, 5, 439, 1984.

TAKIMIYA, K.; SUGINO, H. Effects of selenium atoms on [1]benzochalcogenopheno[3,2-*b*]benzochalcogenophene-based Organic Semiconductors. **Chem. Lett.**, 46, 345-347, 2017.

TALAS, Z. S.; GOK, Y.; OZDEMIR, I.; ATES, B.; GUNAL, S.; YILMAZ, I. Synthesis, antioxidant and anti-microbial properties of two organoselenium compounds. **Pak. J. Pharm. Sci.**, 28, 611–616, 2015.

WILKINS, L. C. et al. Contrasting Frustrated Lewis Pair Reactivity with Selenium-and Boron-Based Lewis Acids. **Angew. Chem. Int.**, 55, 1-5, 2016.

YANG, D., HUANG, X. The hydroboration-iodination of Dialkylselenoacetylenes to Vinylic Diselenides. **Synlett**, 8, 891-892, 1997.

ZHAO, X.; YU, Z.; XU, T.; WU, P.; YU, H. Novel Brønsted Acid Catalyzed Three-Component Alkylations of Indoles with *N*-Phenylselenophthalimide and Styrenes.. **Org. Lett.**, 9, 5263-5266, 2007.

ZLOH, M.; DRAKULIĆ, B. J.; JURANIĆ, I. O.; ERIĆ, S. Role of complexes formation between drugs and penetration enhancers in transdermal delivery. **Int. J. Pharm.**, 363, 40-49, 2008.

ZLOH, M.; KAATZ, G. W.; GIBBONS S. Inhibitors of multidrug resistance (MDR) have affinity for MDR substrates. **Bioorg Med. Chem. Lett.**, 14, 881-885, 2004.

Anexos

9 ANEXO

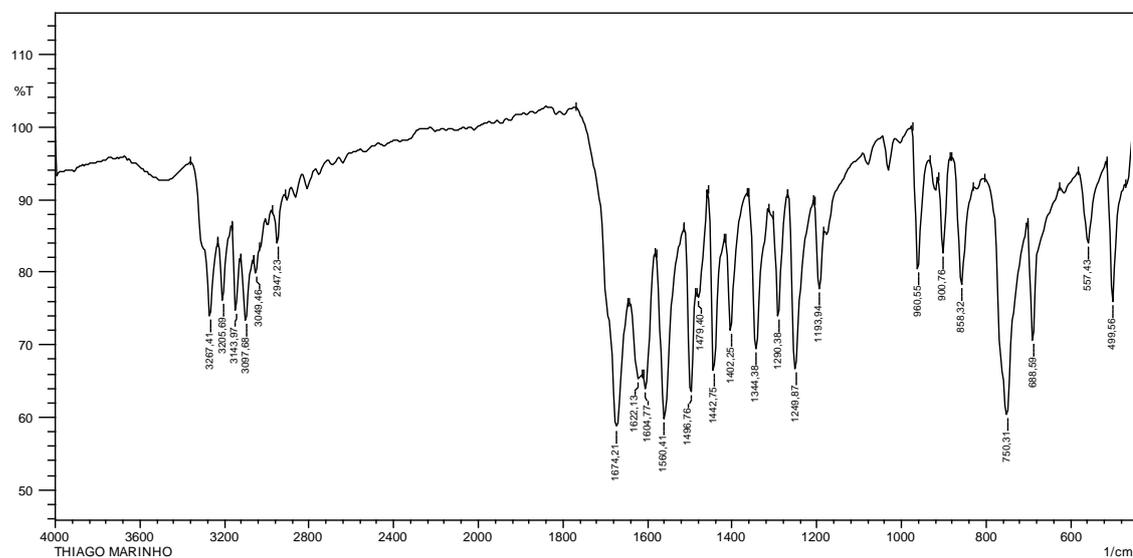
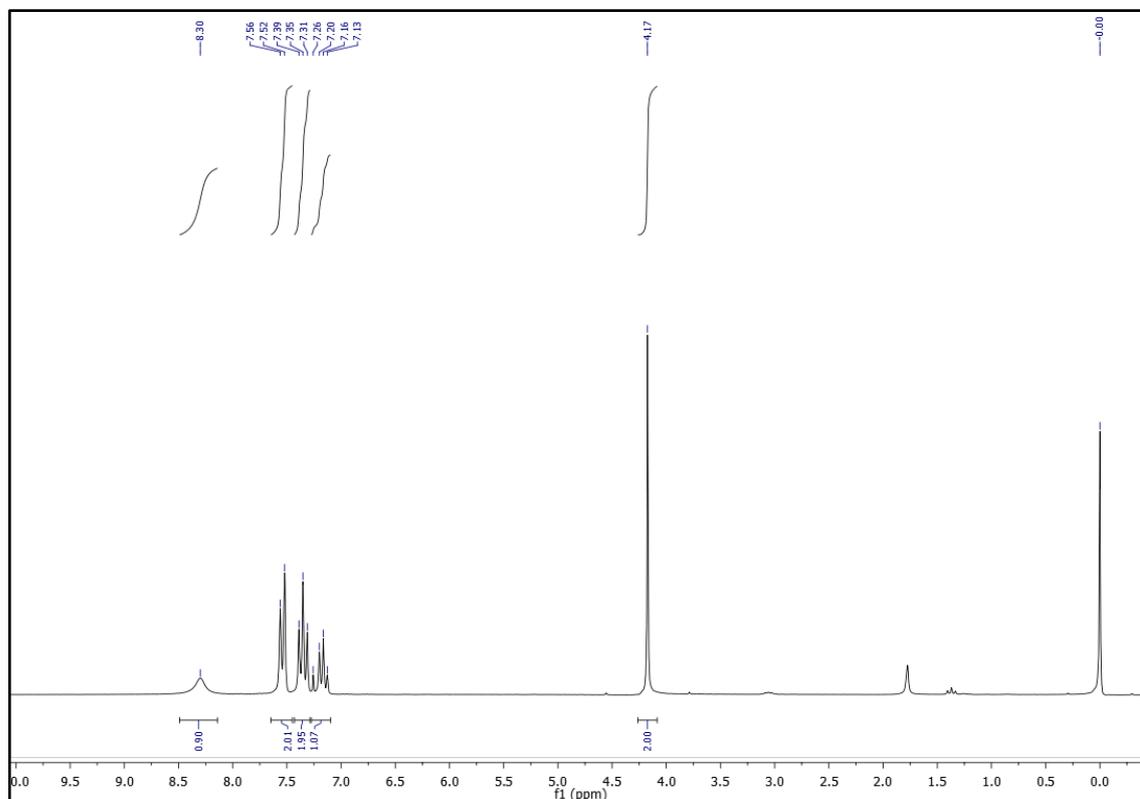
Figura 43 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-fenilacetamida (A1)**Figura 44** - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-fenilacetamida (A1)

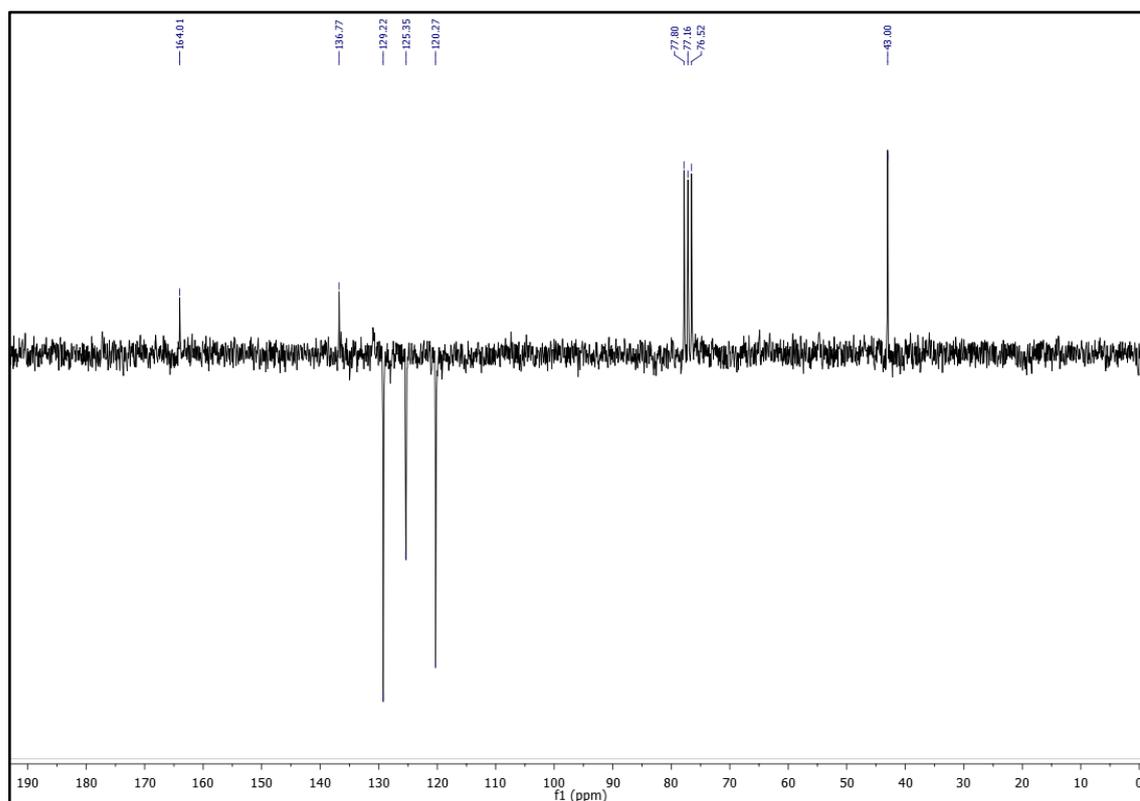
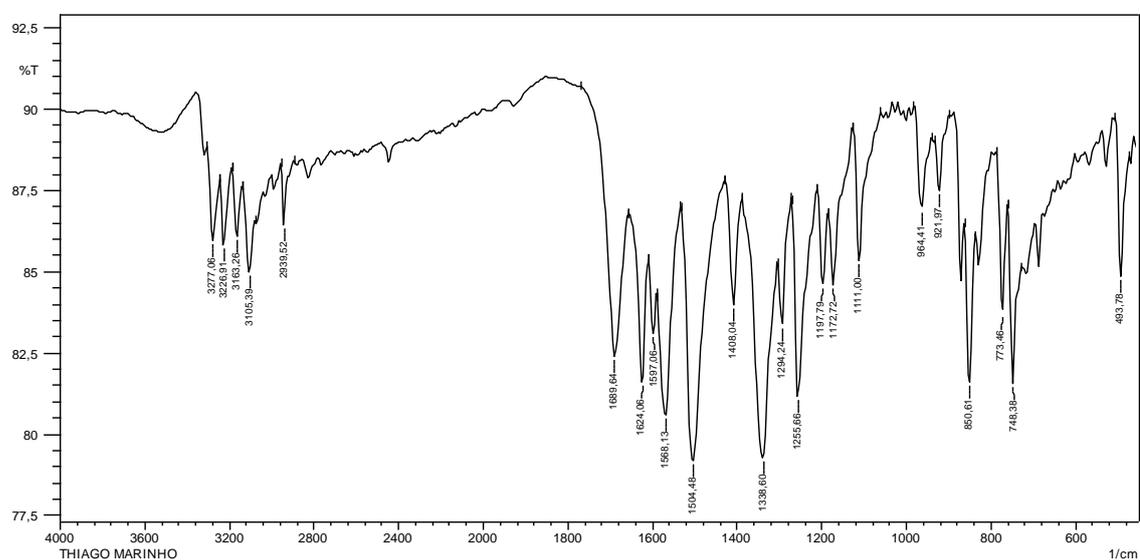
Figura 45 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-fenilacetamida (A1)**Figura 46** - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamida (A2)

Figura 47 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamida (A2)

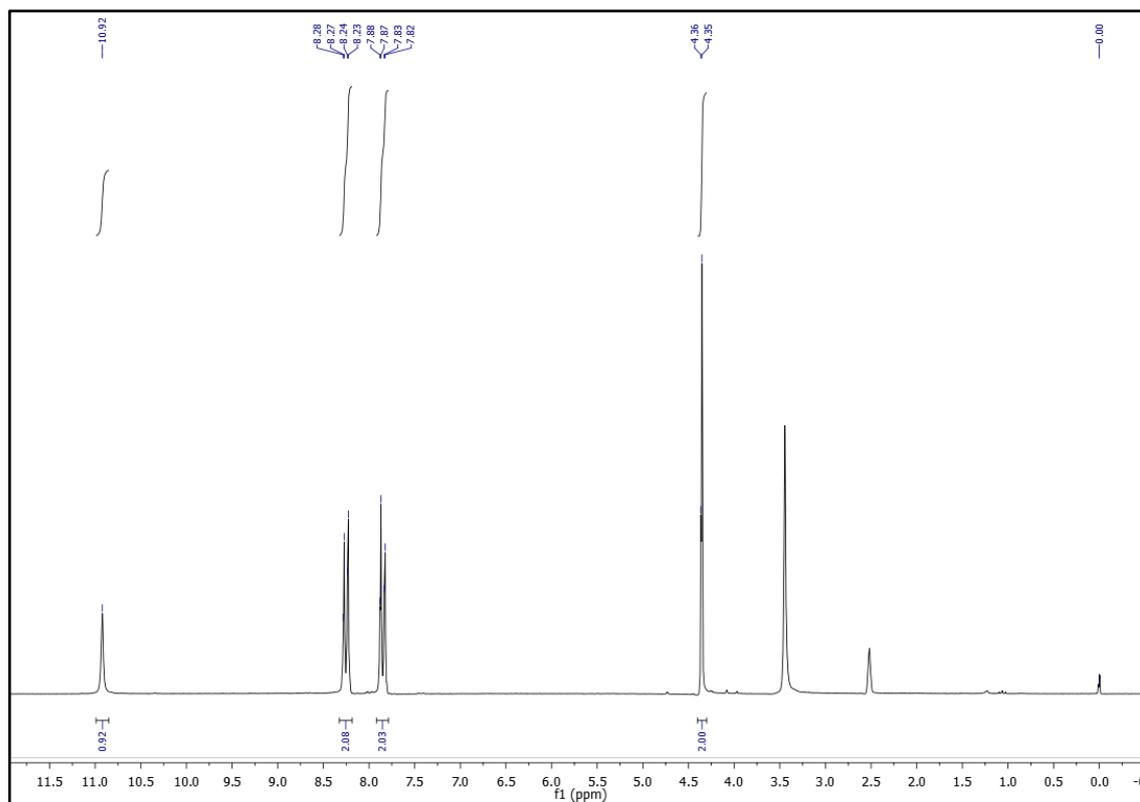


Figura 48 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamida (A2)

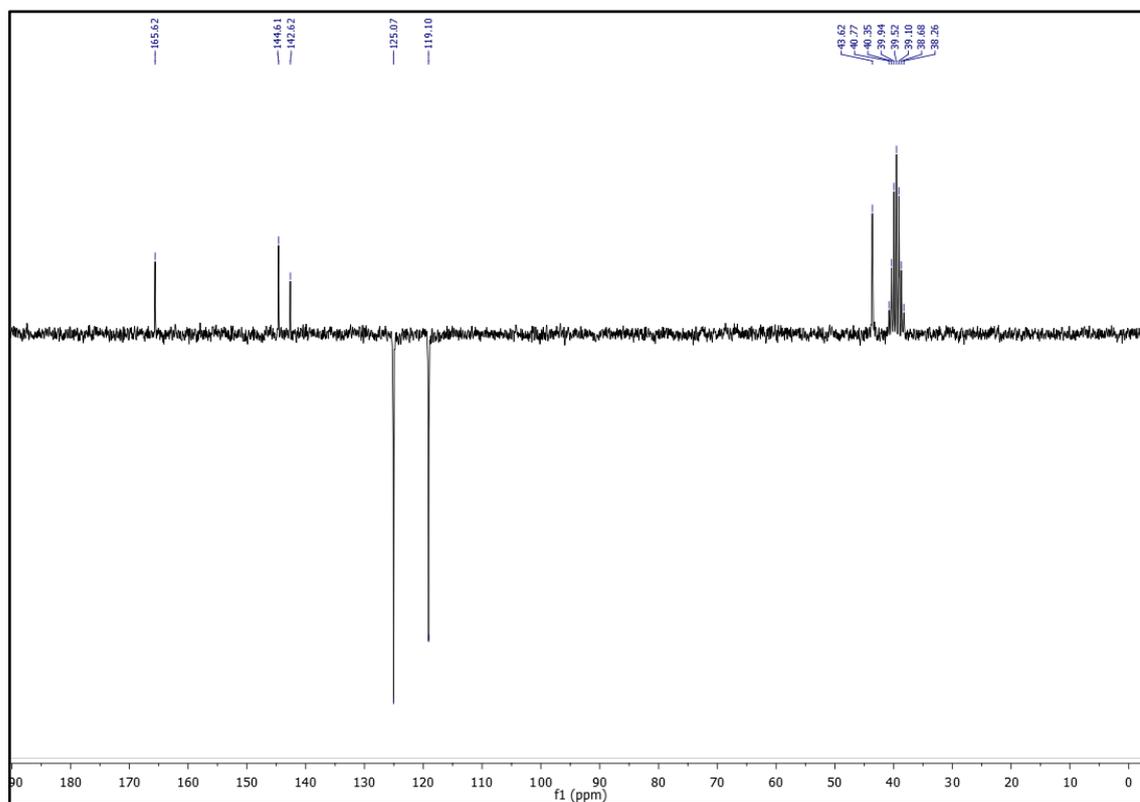


Figura 49 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-etilfenil)acetamida (A3)

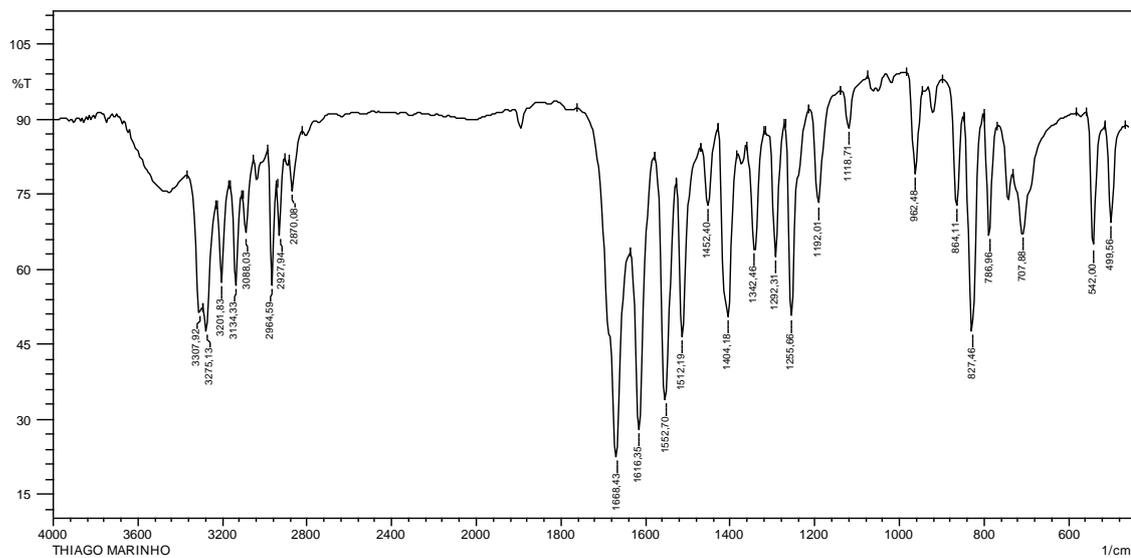


Figura 50 - Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-*N*-(4-etilfenil)acetamida (A3)

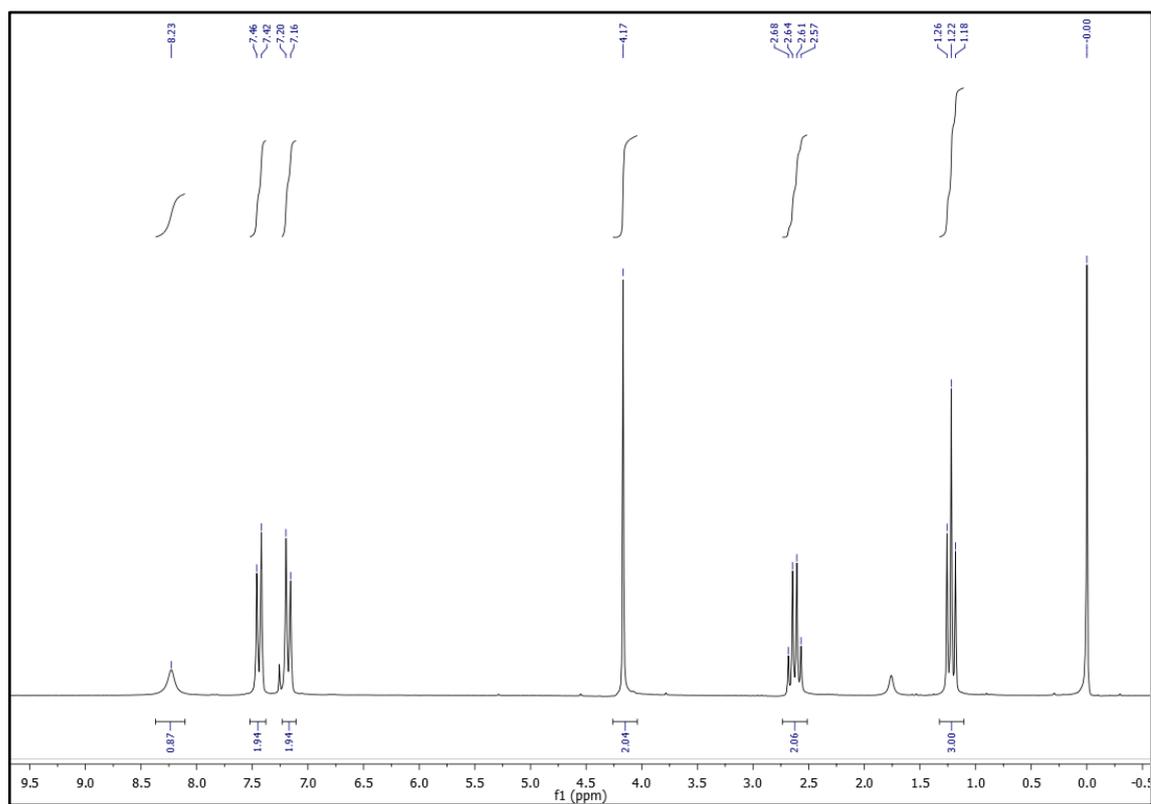


Figura 51 - Espectro de RMN ^{13}C de (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-etilfenil)acetamida (A3)

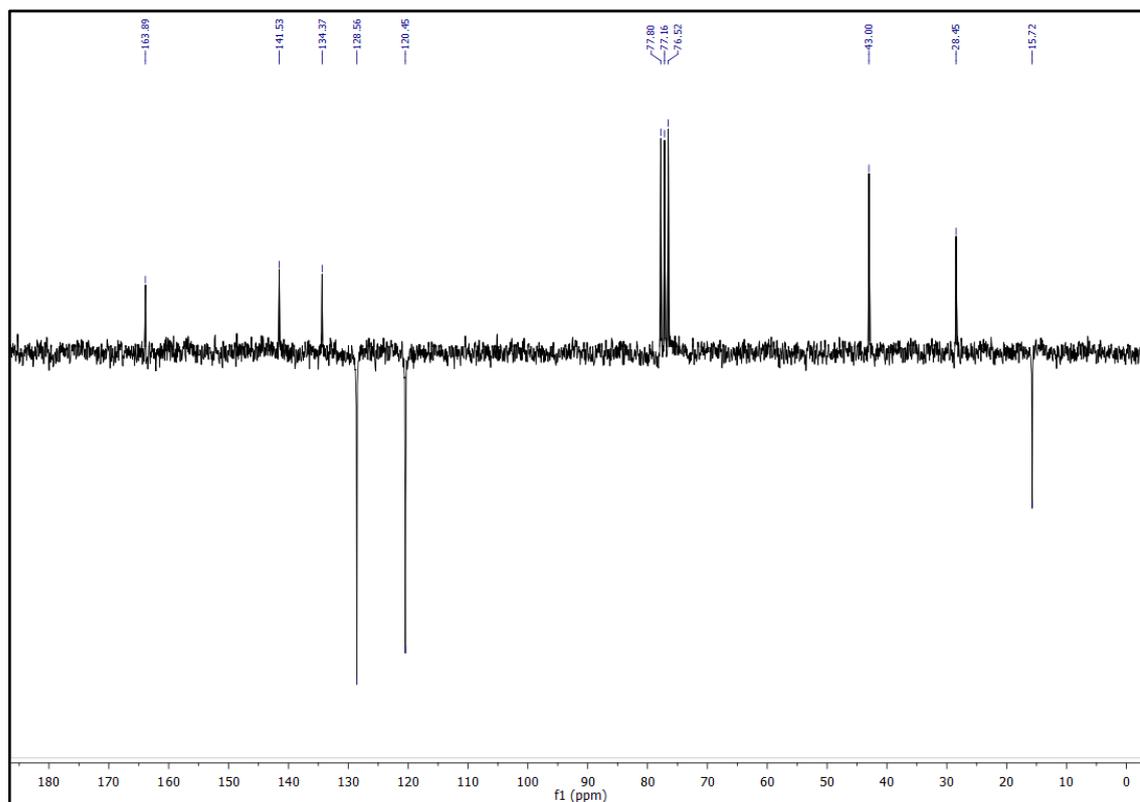


Figura 52 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-metilfenil)acetamida (A4)

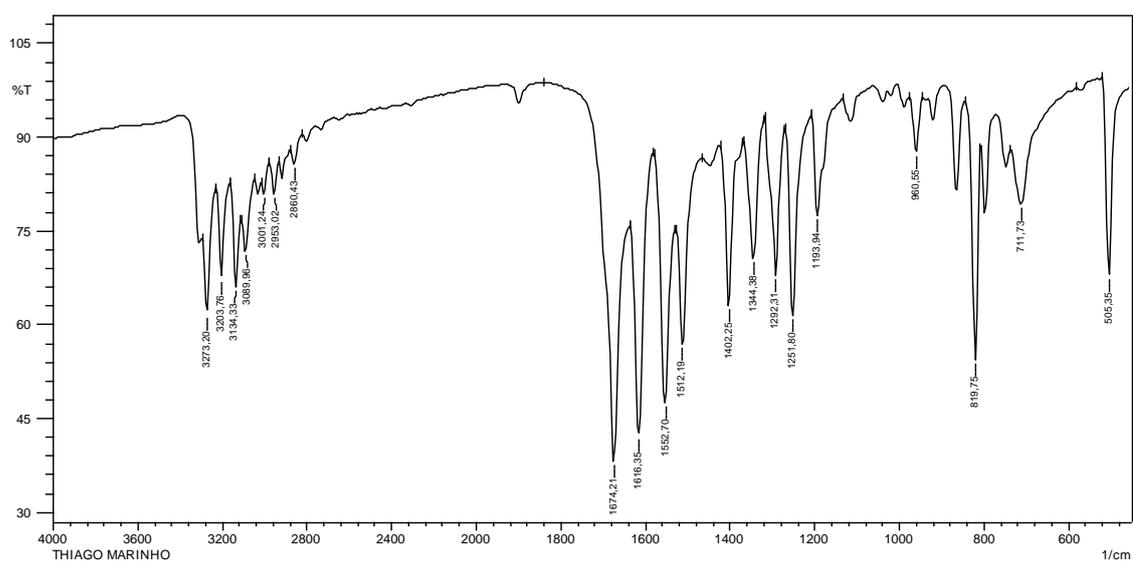


Figura 53 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-metilfenil)acetamida (A4)

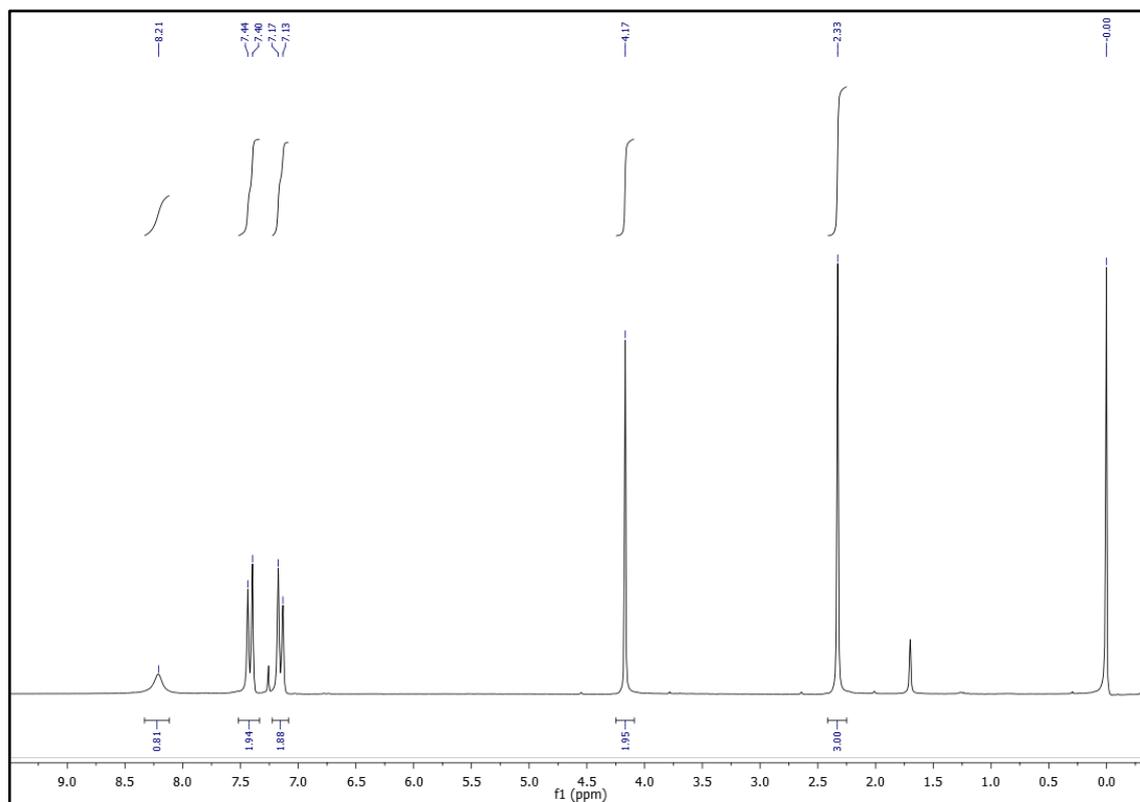


Figura 54 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-metilfenil)acetamida (A4)

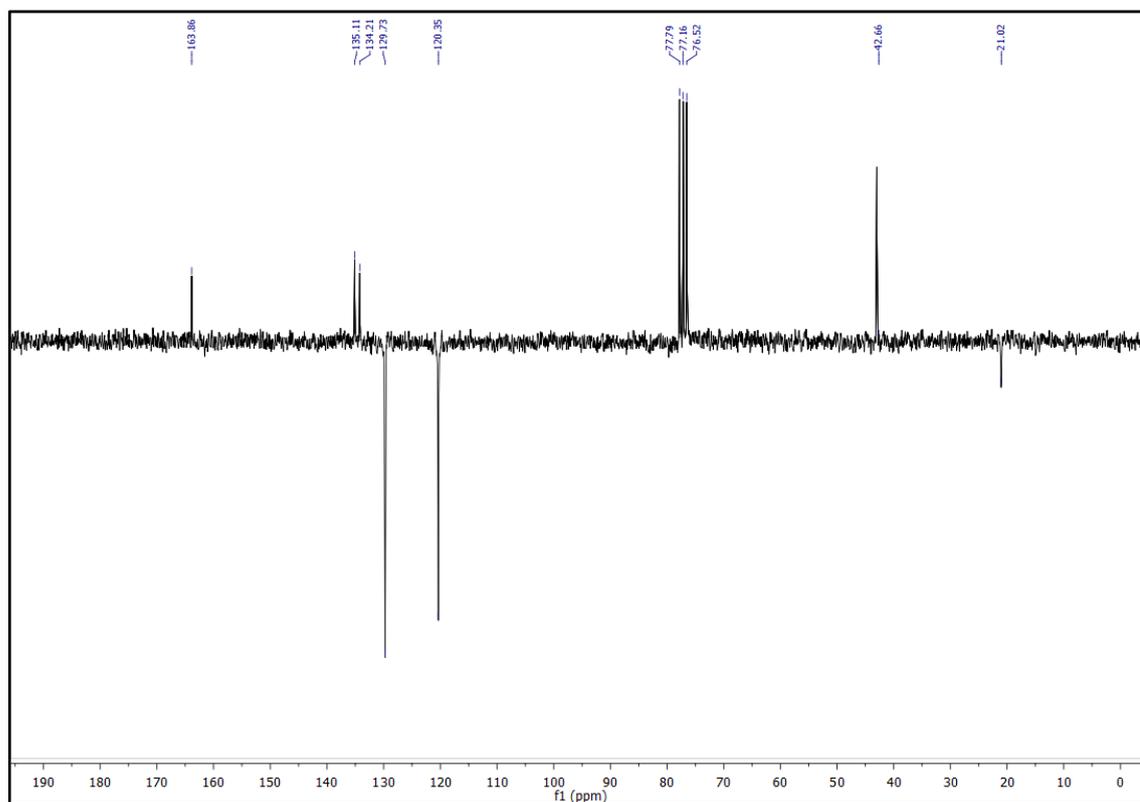


Figura 55 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-bromofenil)acetamida (A5)

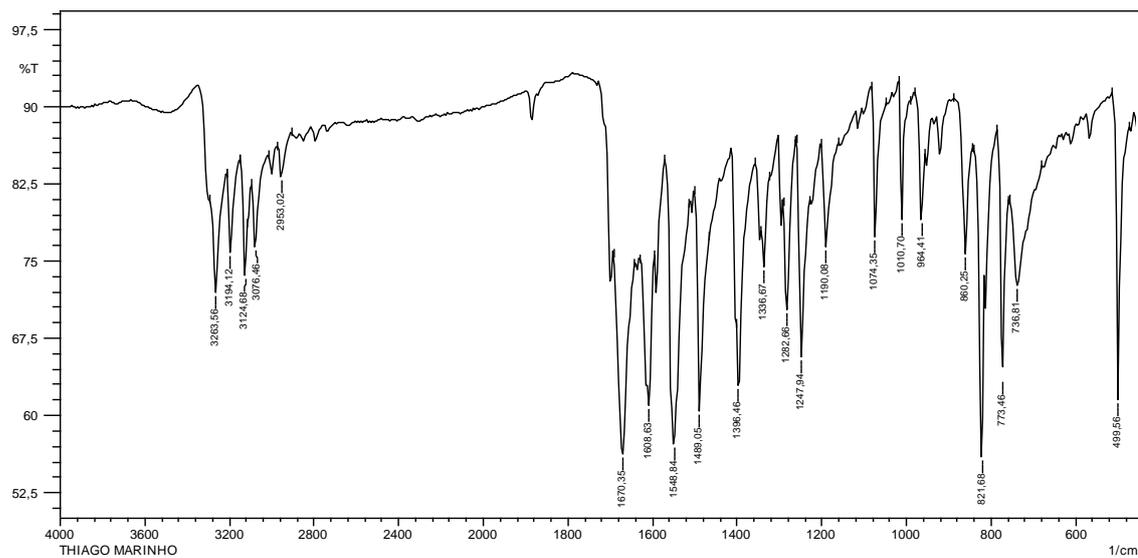


Figura 56 - Espectro de RMN ^1H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-bromofenil)acetamida (A5)

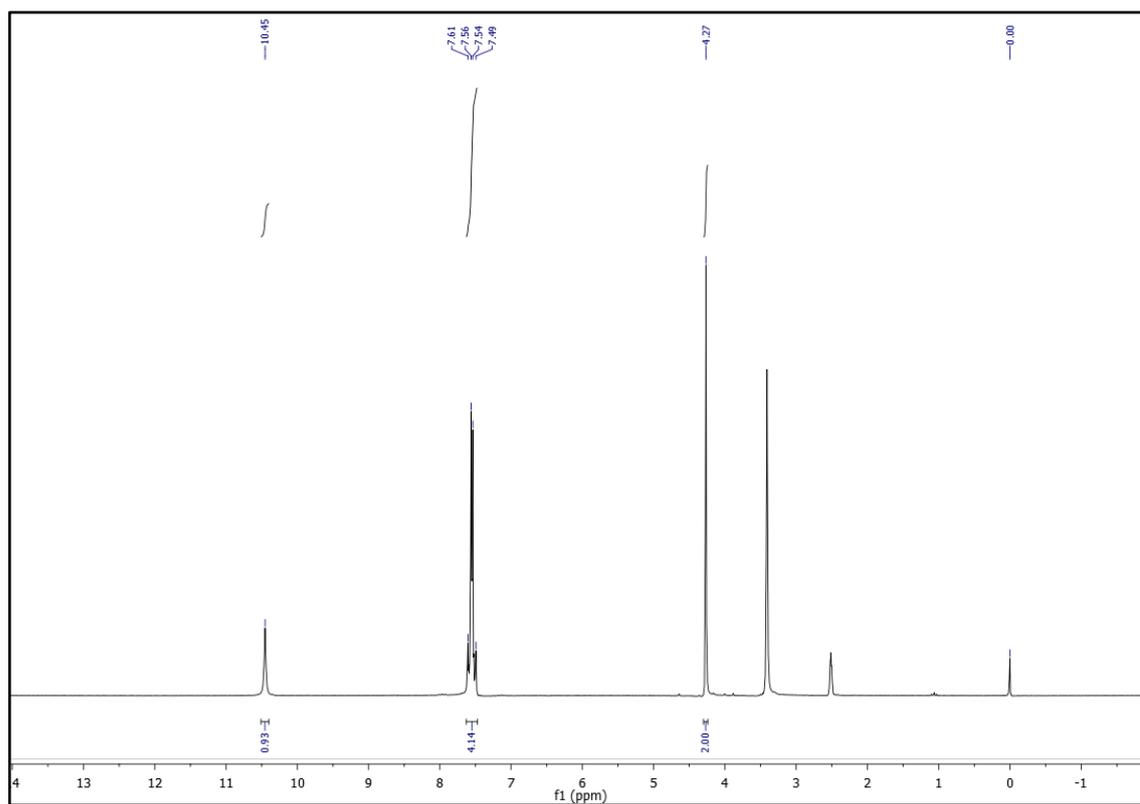


Figura 57 - Espectro de RMN ^{13}C de (50 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-bromofenil)acetamida (A5)

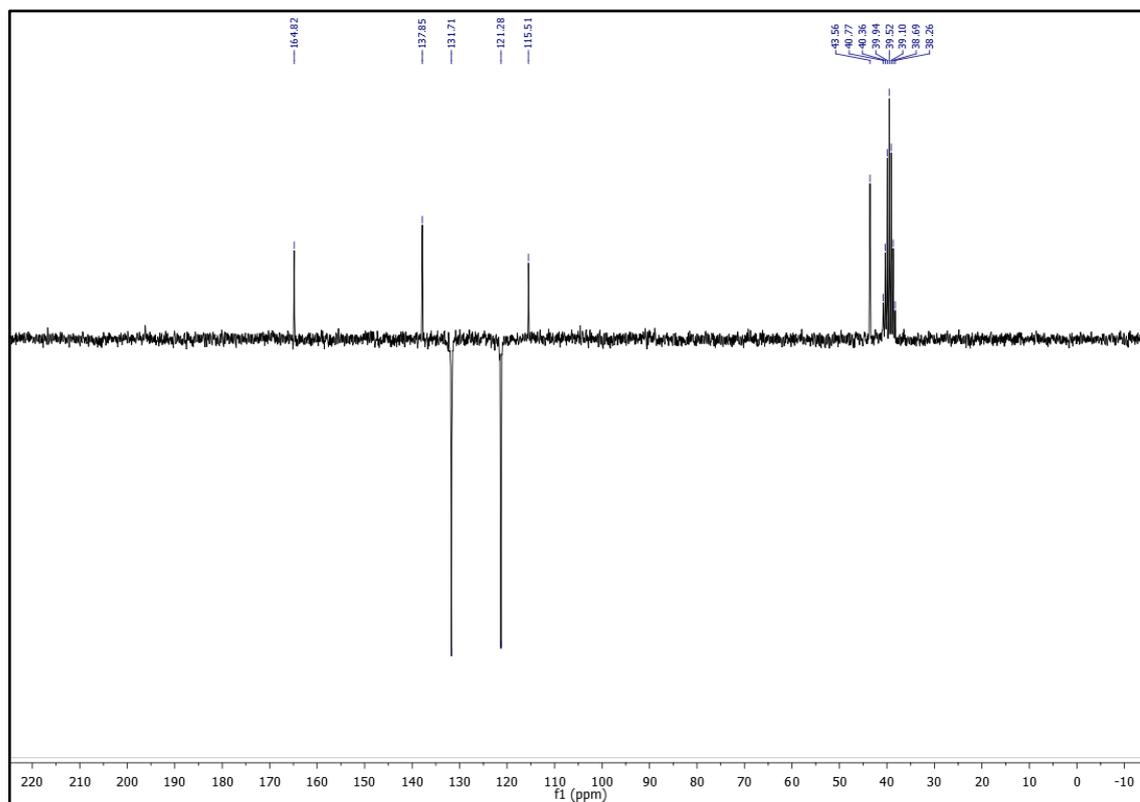


Figura 58 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-clorofenil)acetamida (A6)

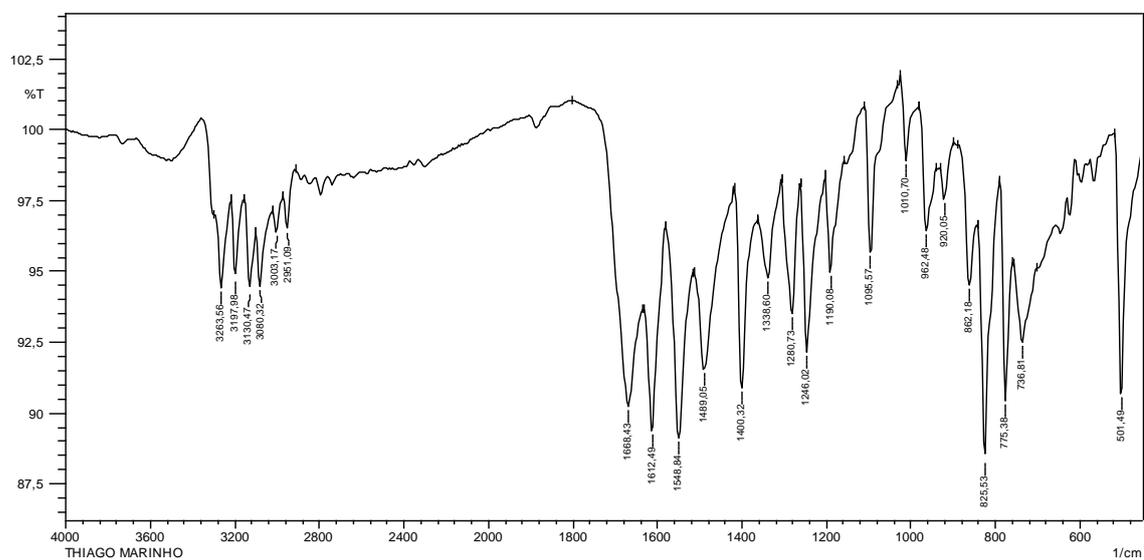


Figura 59 - Espectro de RMN ^1H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-bromofenil)acetamida (A6)

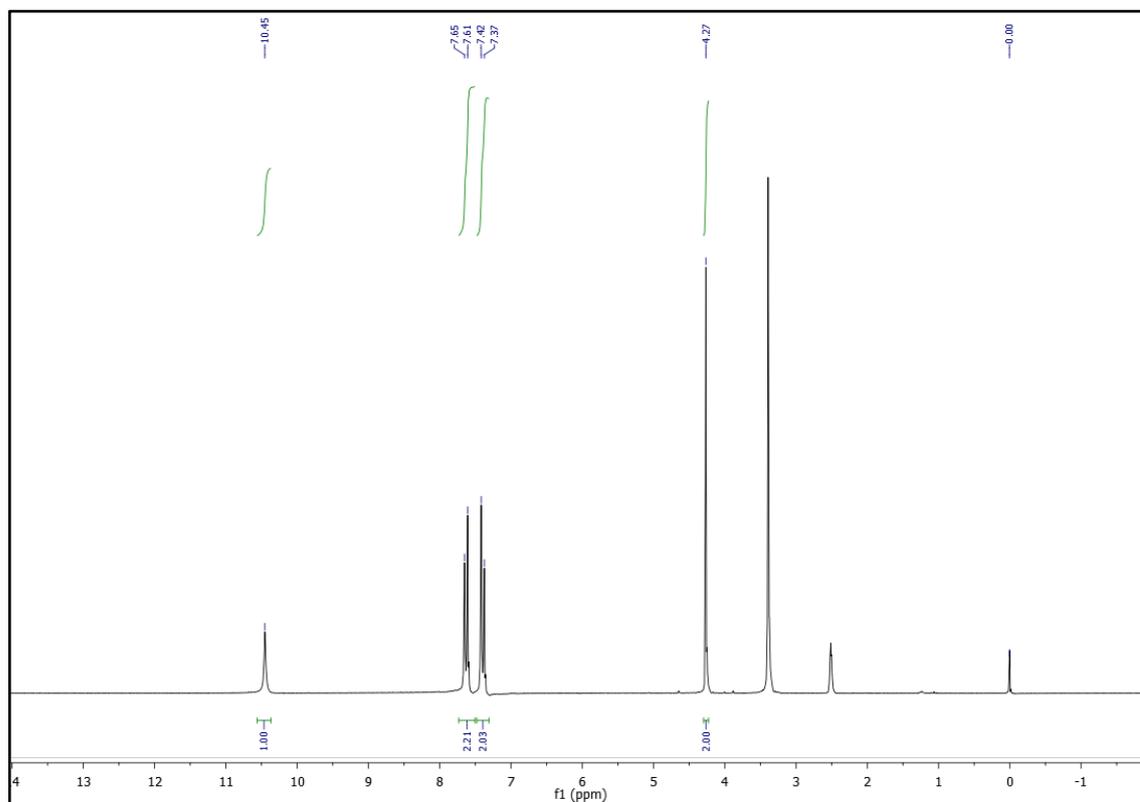


Figura 60 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-clorofenil)acetamida (A6)

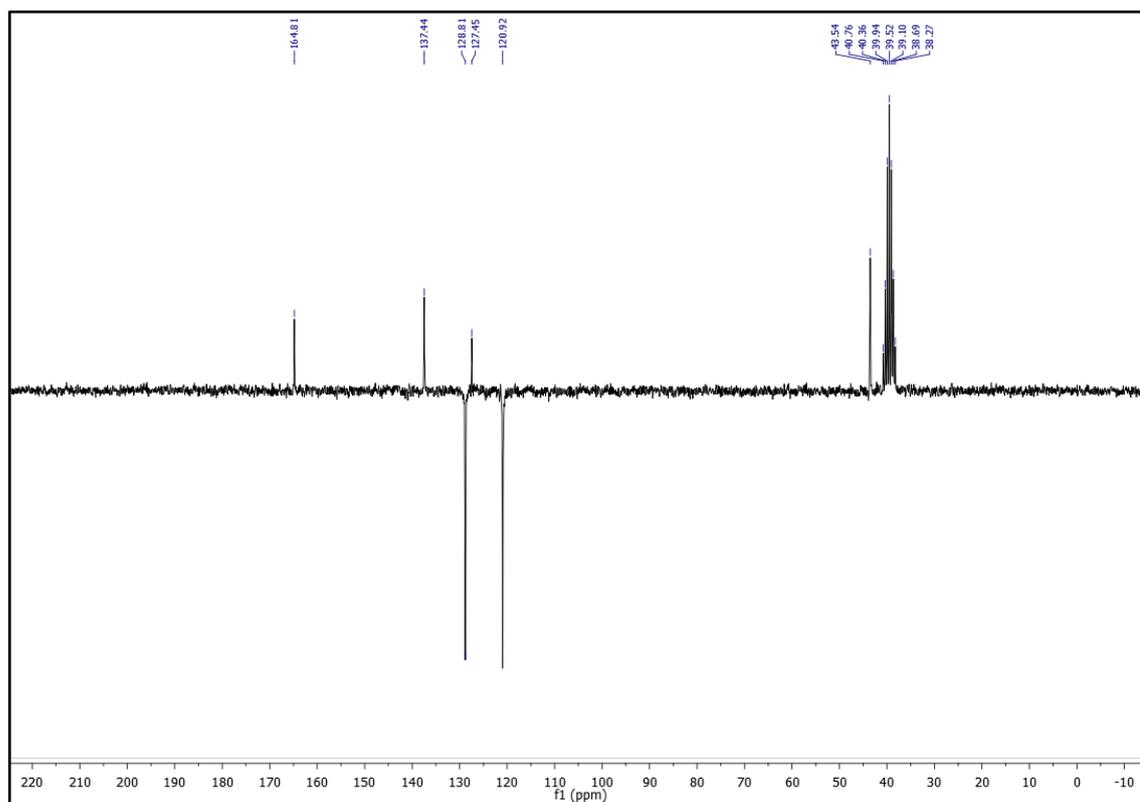


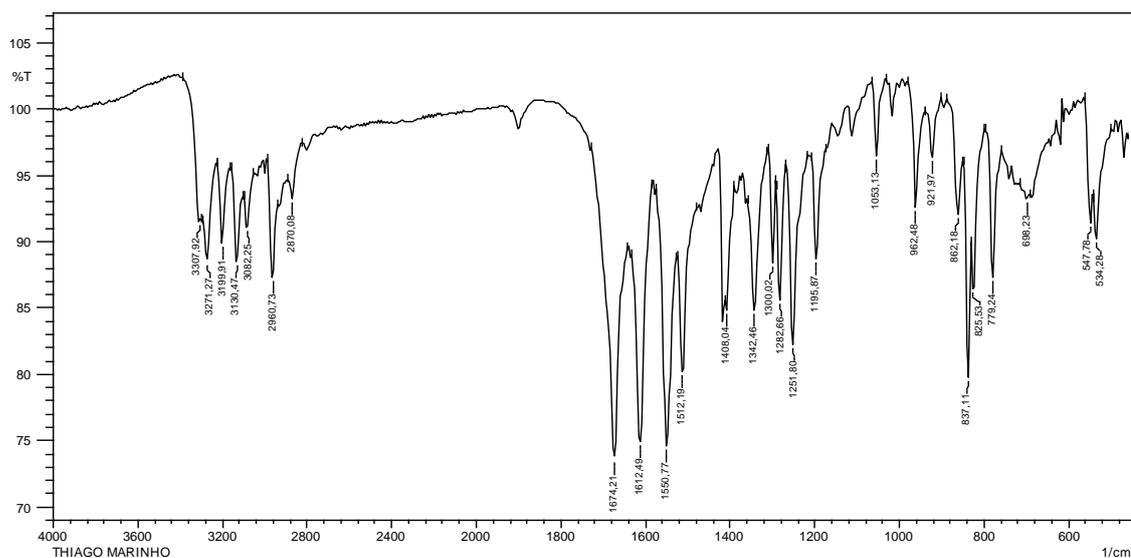
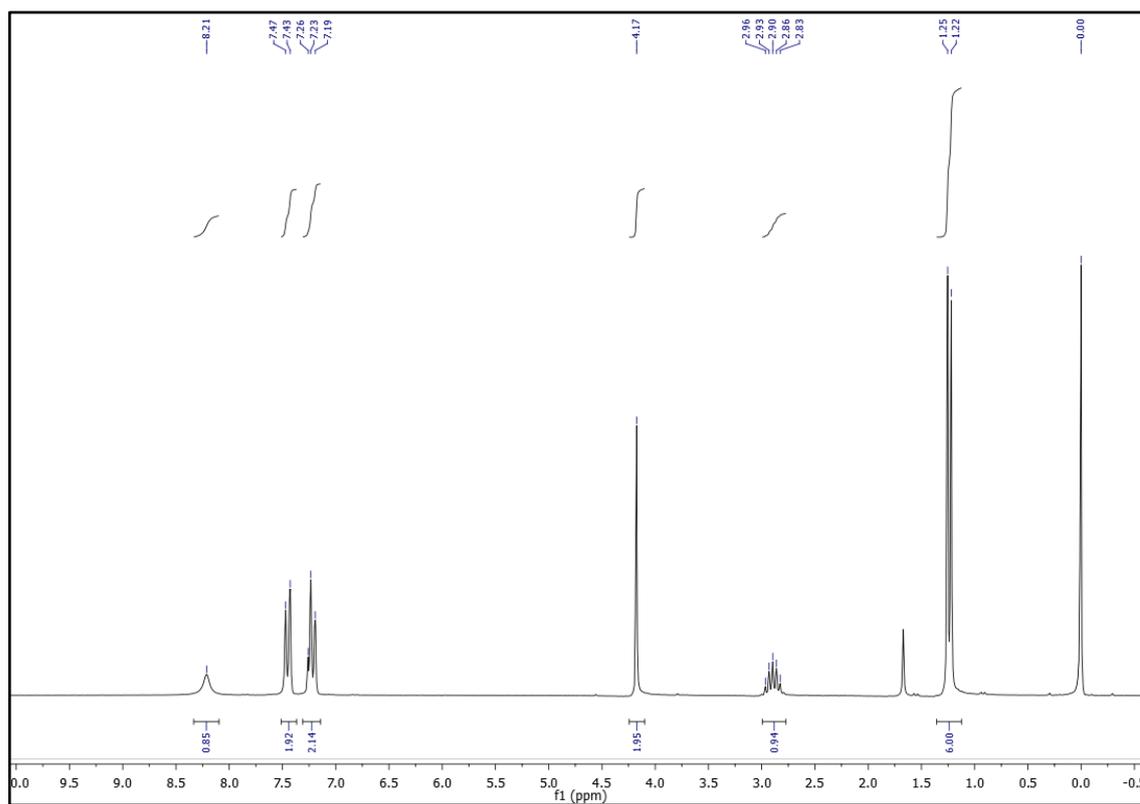
Figura 61 - Espectro de infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-(4-isopropilfenil)acetamida (A7)**Figura 62** - Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-*N*-(4-isopropilfenil)acetamida (A7)

Figura 63 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-isopropilfenil)acetamida (A7)

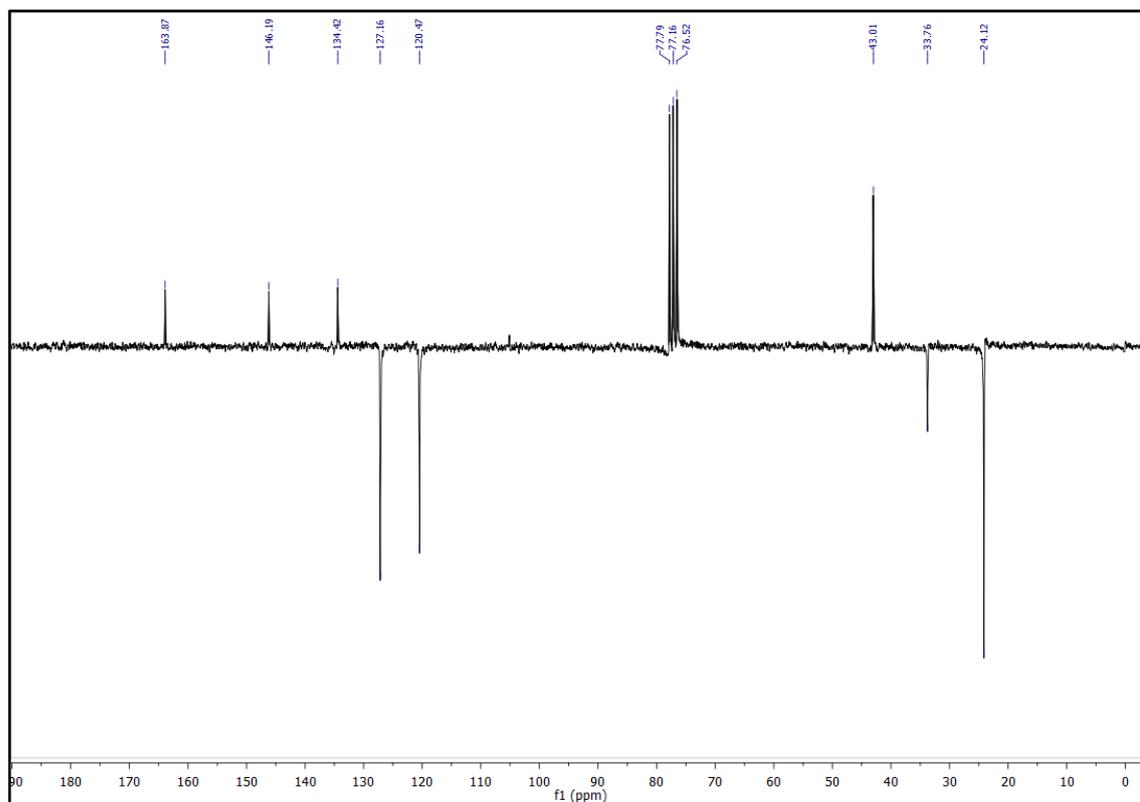


Figura 64 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-metoxifenil)acetamida (A8)

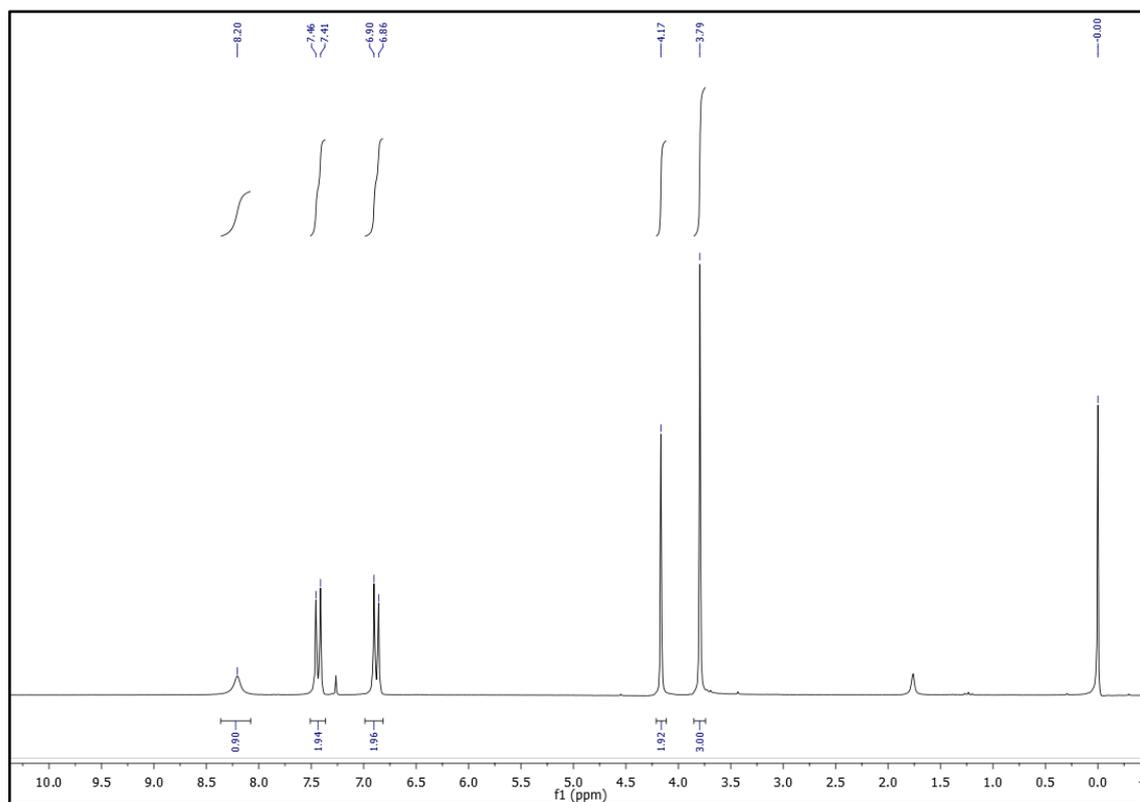


Figura 65 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-(4-metoxifenil)acetamida (A8)

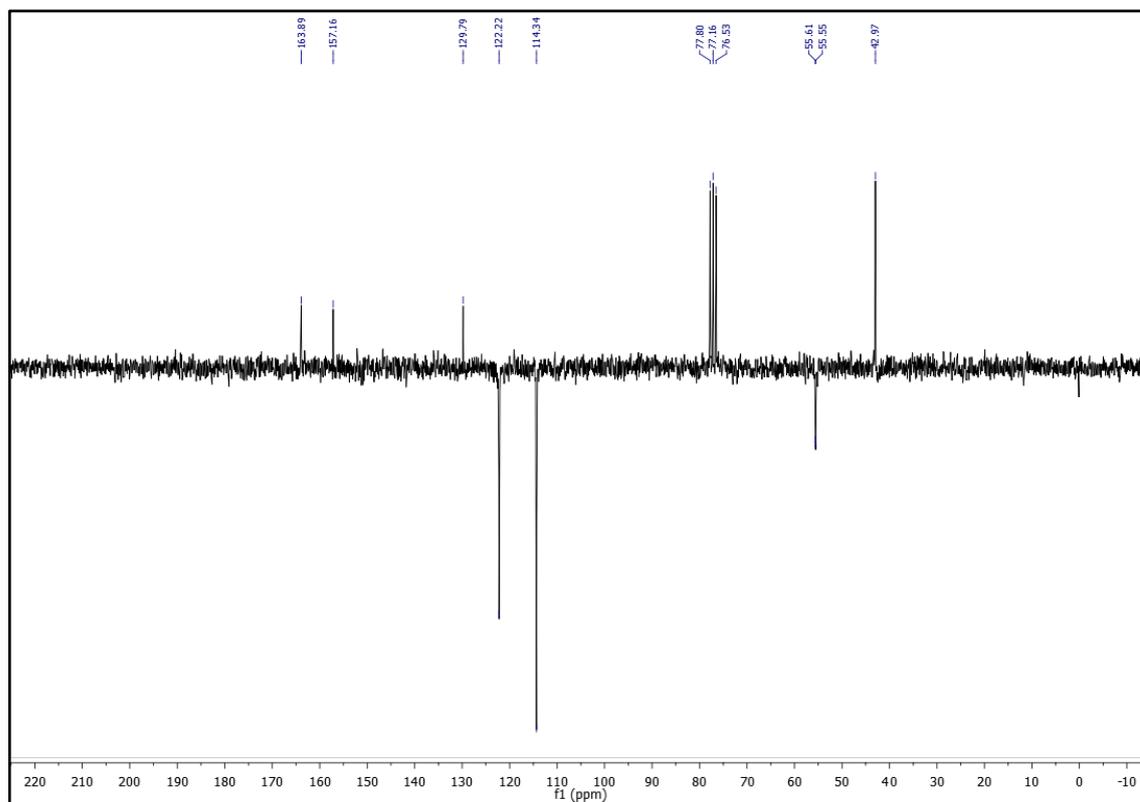


Figura 66 - Espectro de RMN ^1H de (200 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (A9)

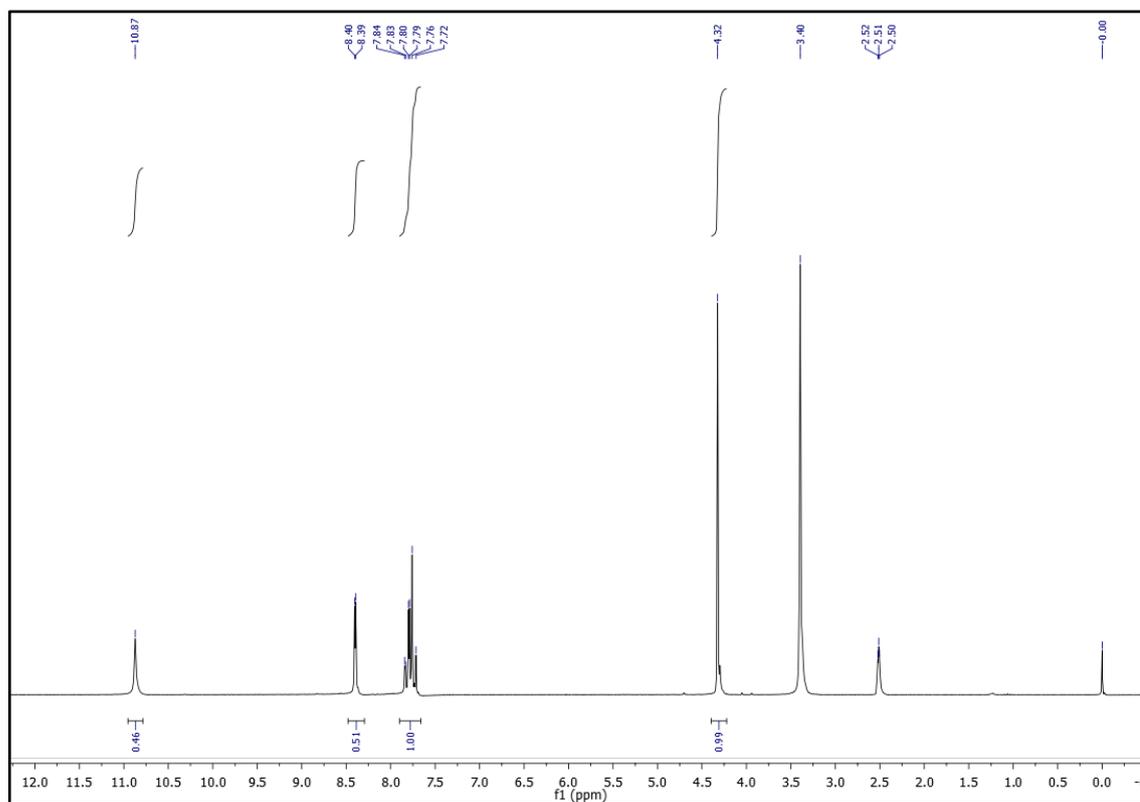


Figura 67 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da 2-cloro-*N*-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (A9)

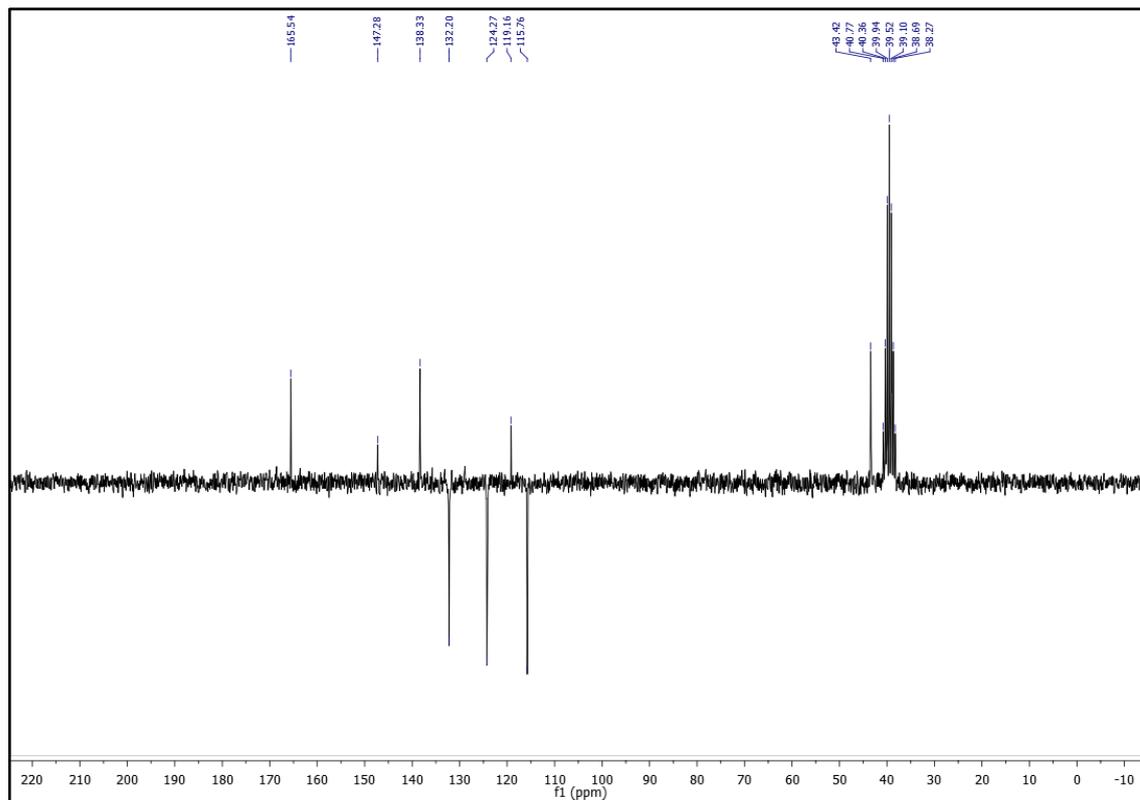


Figura 68 - Espectro de infravermelho (ATR) do *N*-fenilbenzoselesenicamicamida (HSe1)

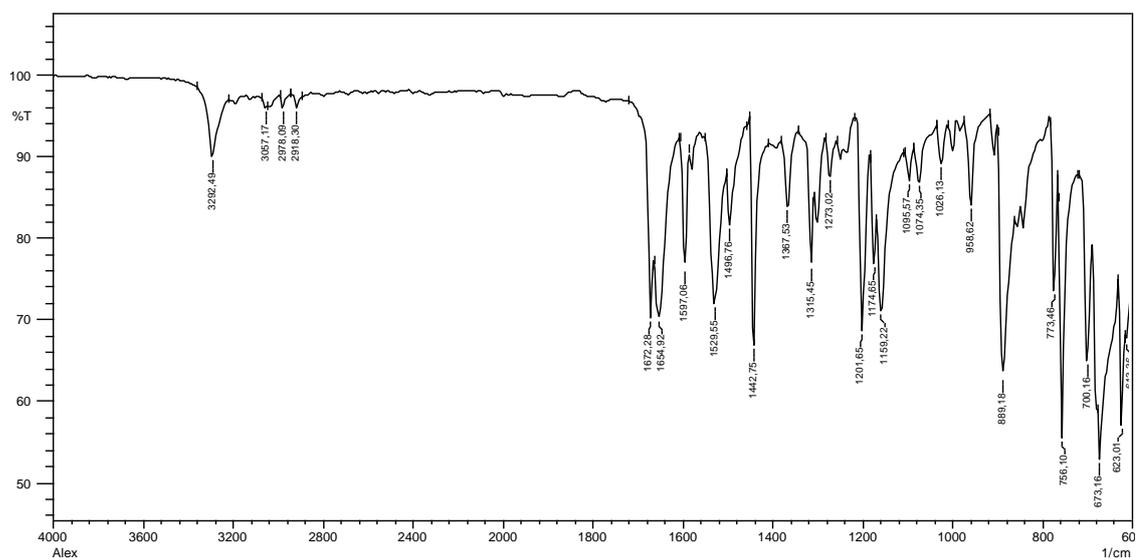


Figura 69 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do *N*-fenilbenzoselenoglicamicida (HSe1)

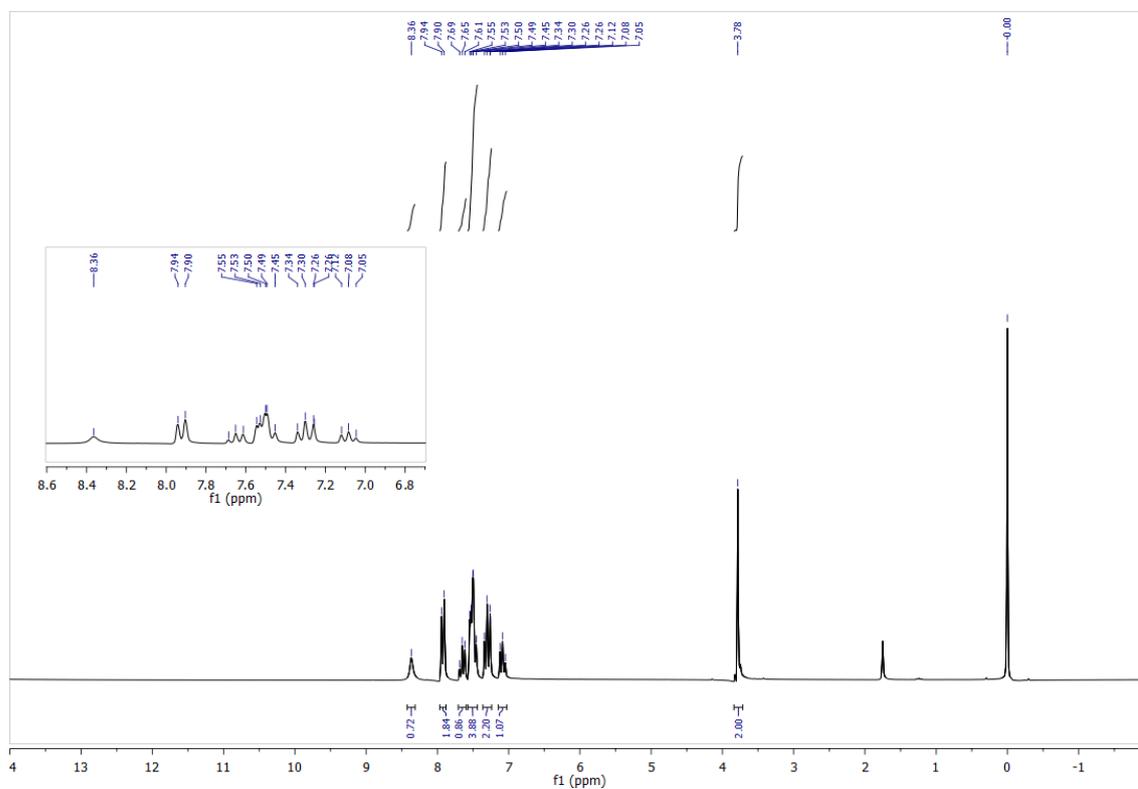


Figura 70 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da *N*-fenilbenzoselenoglicamicida (HSe1)

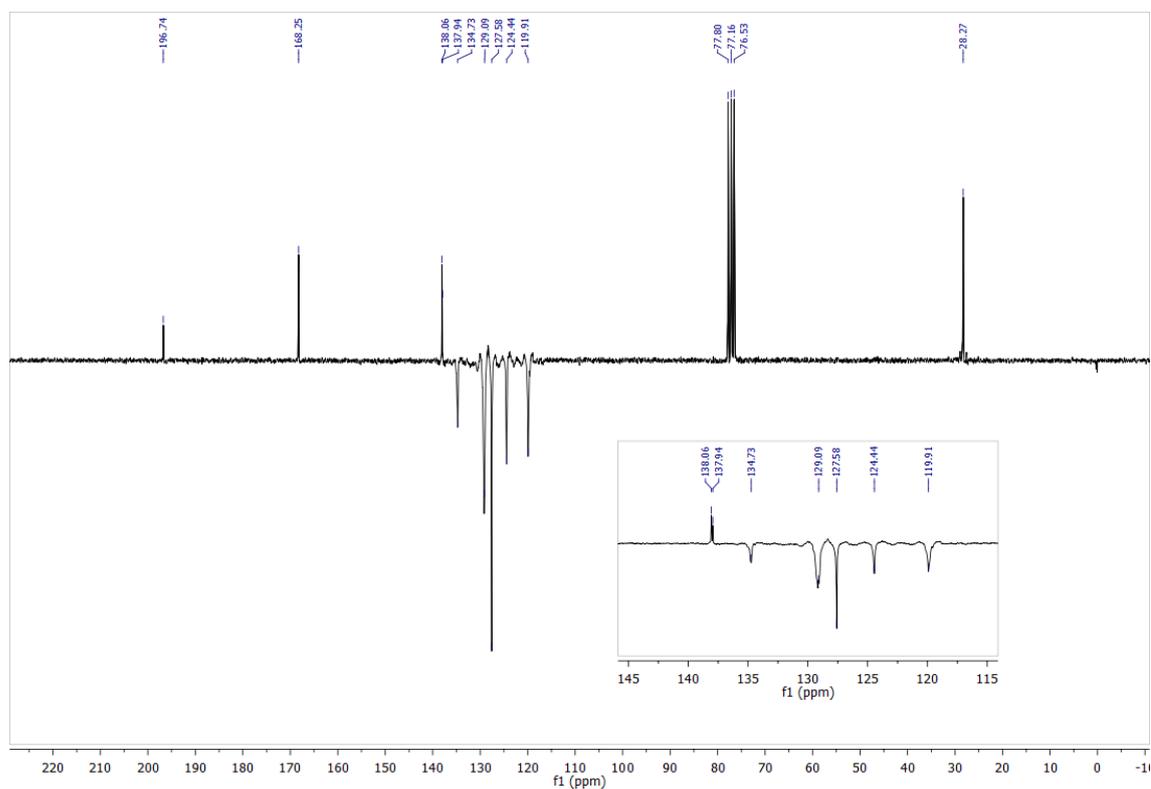


Figura 71 - Espectro de Infravermelho (ATR) do *N*-(4-nitrofenil)benzoselenoglicamicida (HSe2)

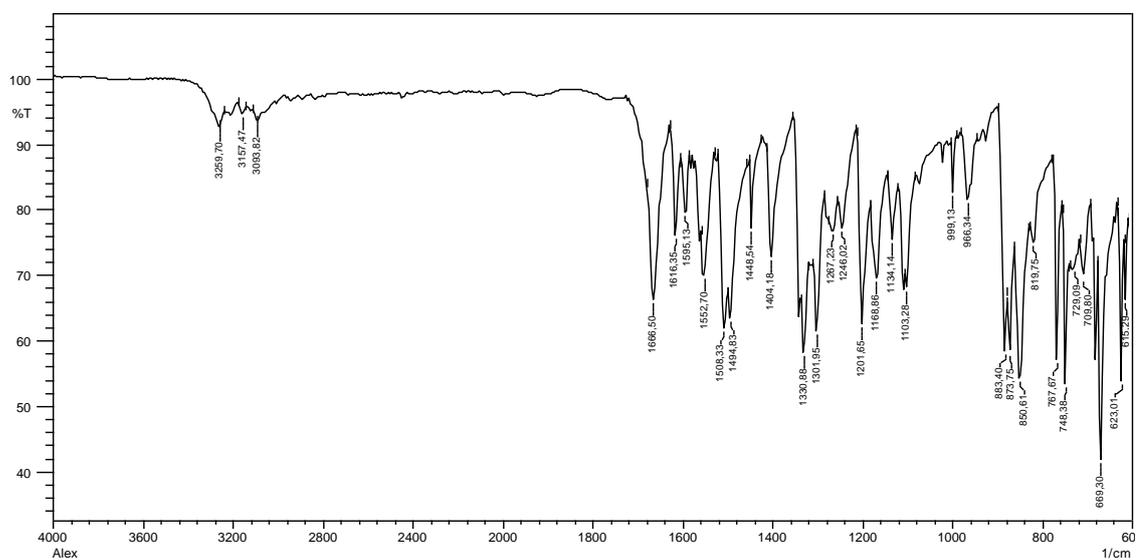


Figura 72 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-nitrofenil)benzoselenoglicamicida (HSe2)

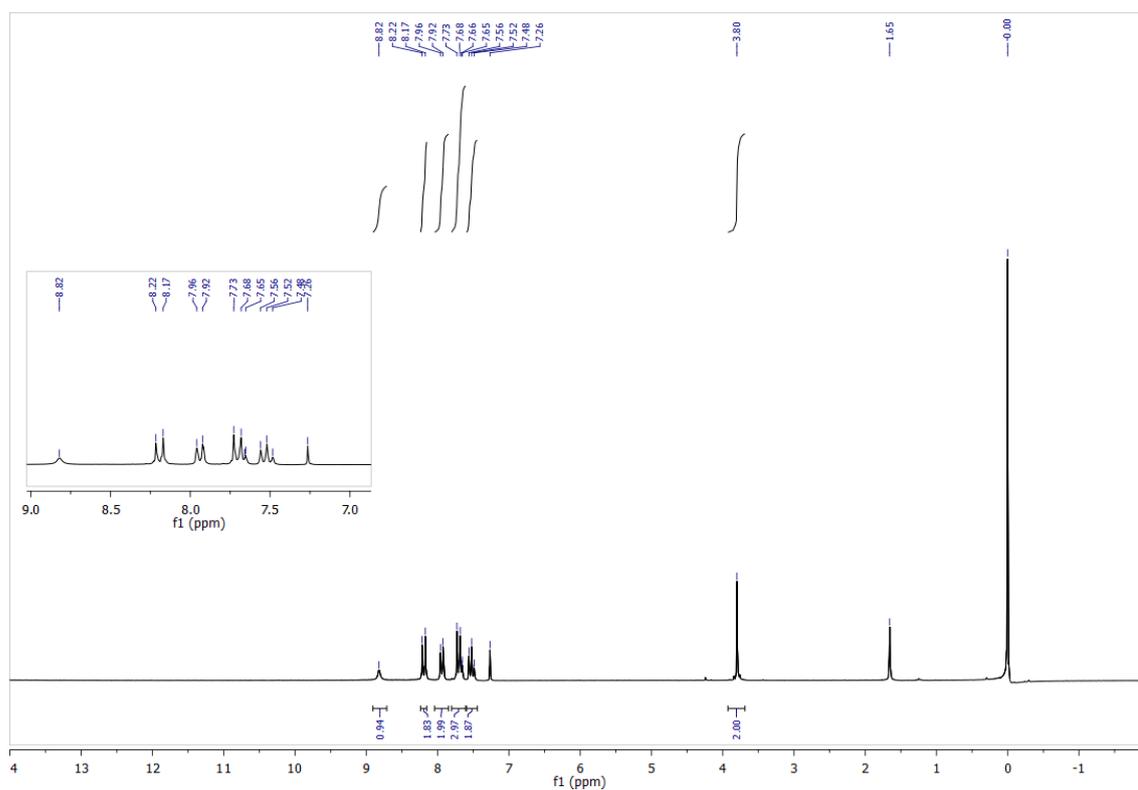


Figura 73 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-nitrofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe2)

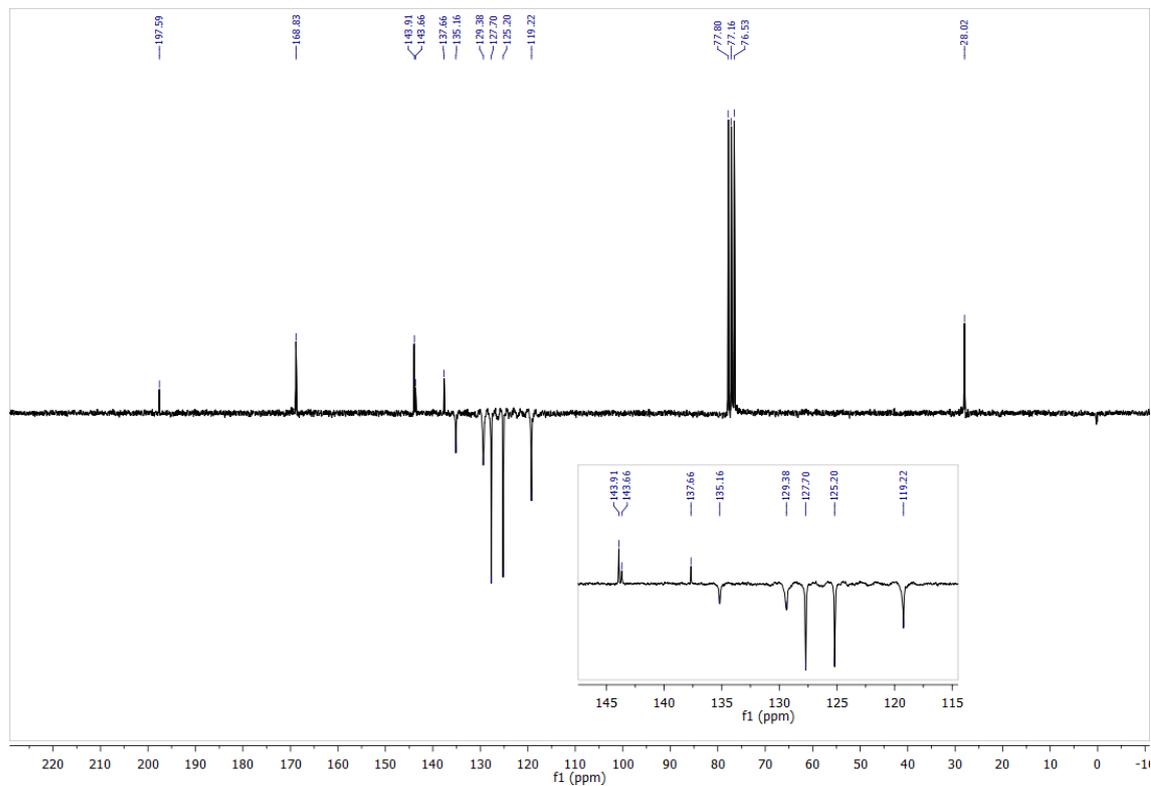


Figura 74 - Espectro de Infravermelho (ATR) da *N*-(4-etilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe3)

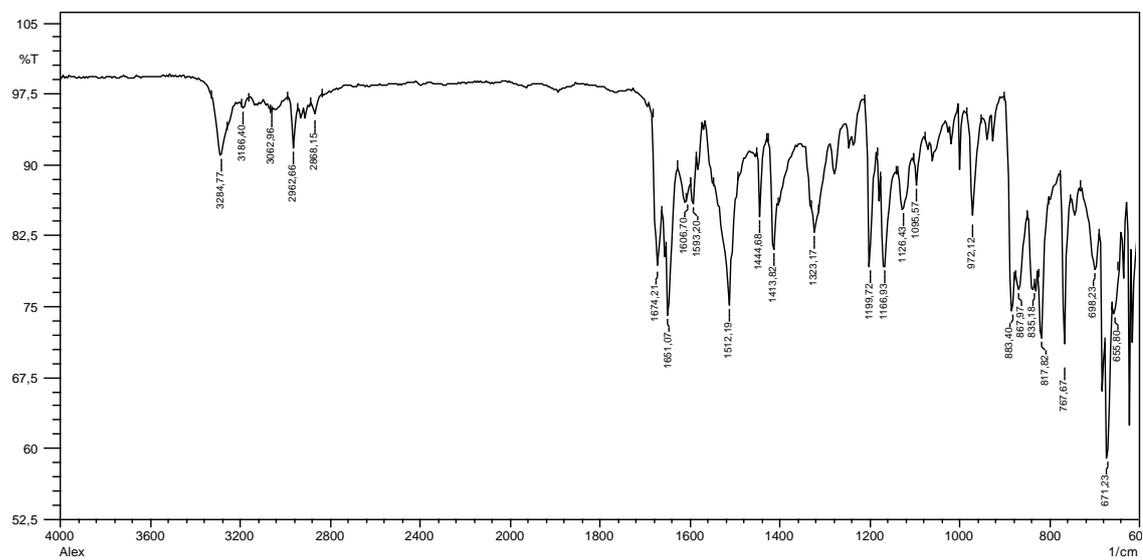


Figura 75 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-etilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe3)

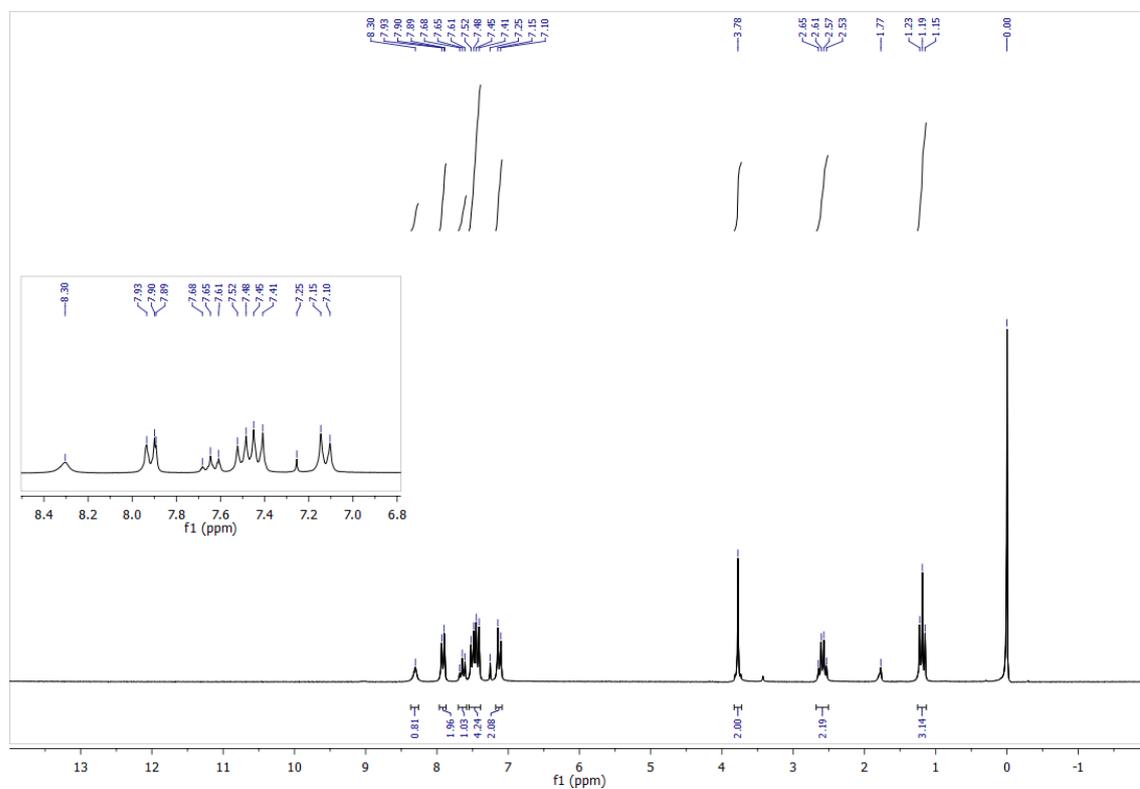


Figura 76 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) *N*-(4-etilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe3)

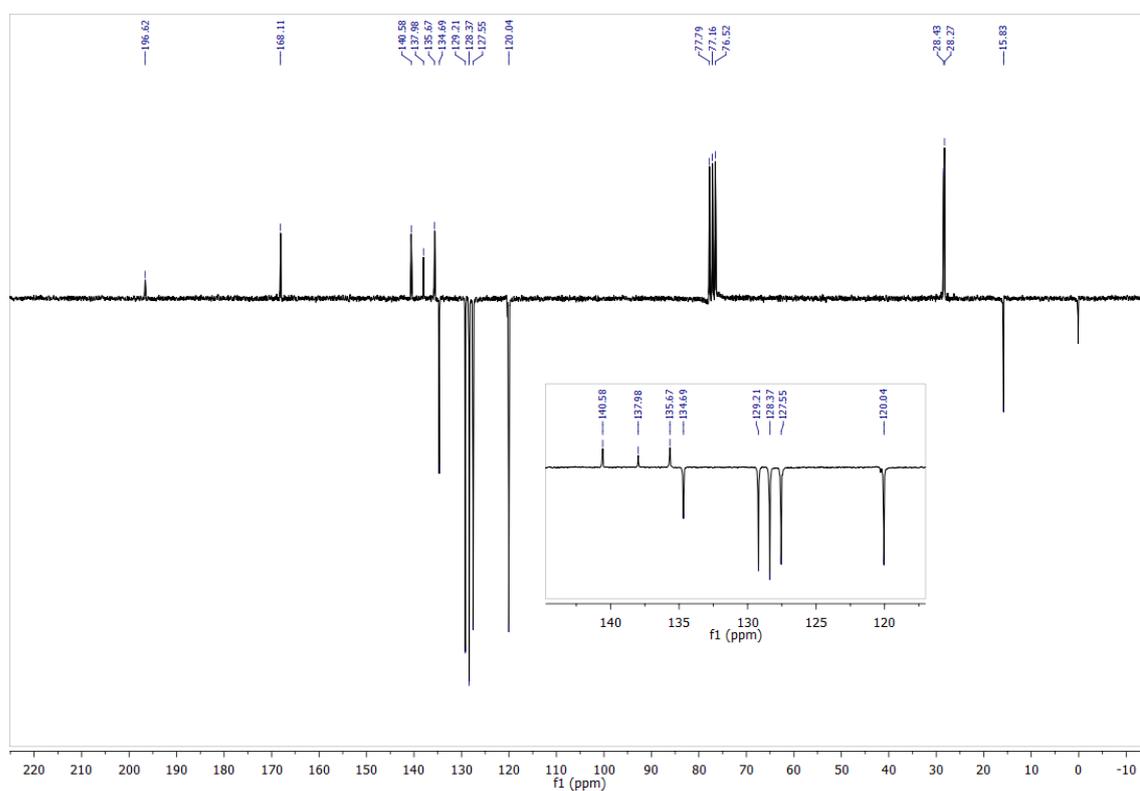


Figura 77 - Espectro de infravermelho (ATR) da *N*-(4-metilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe4)

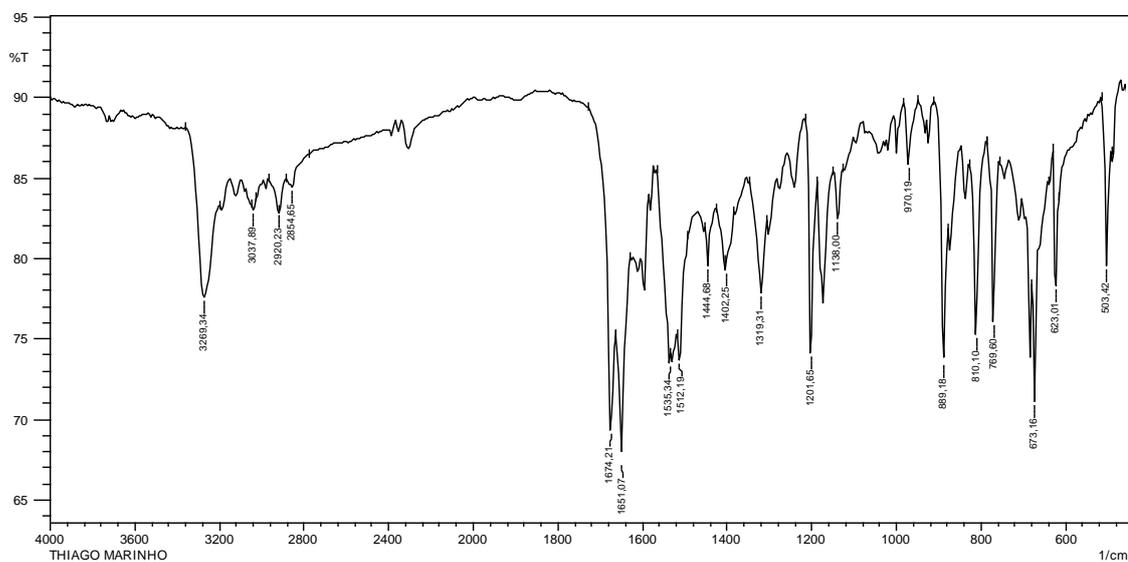


Figura 78 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe4)

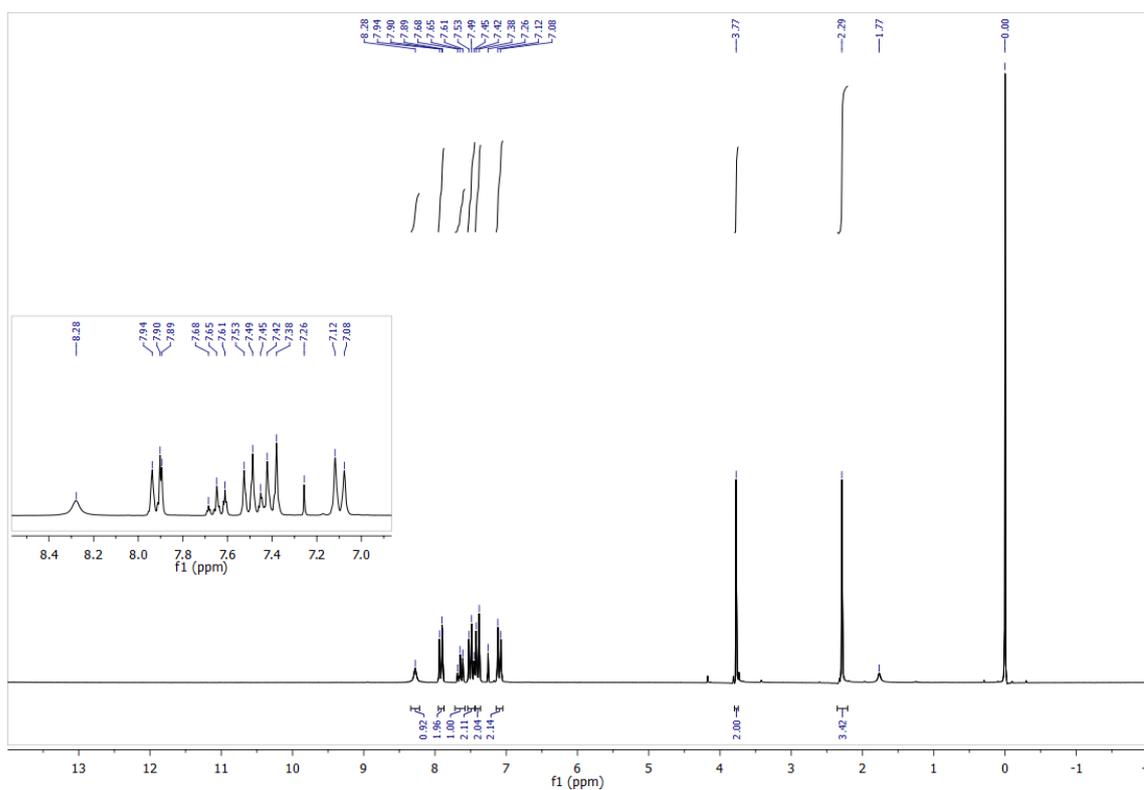


Figura 79 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe4)

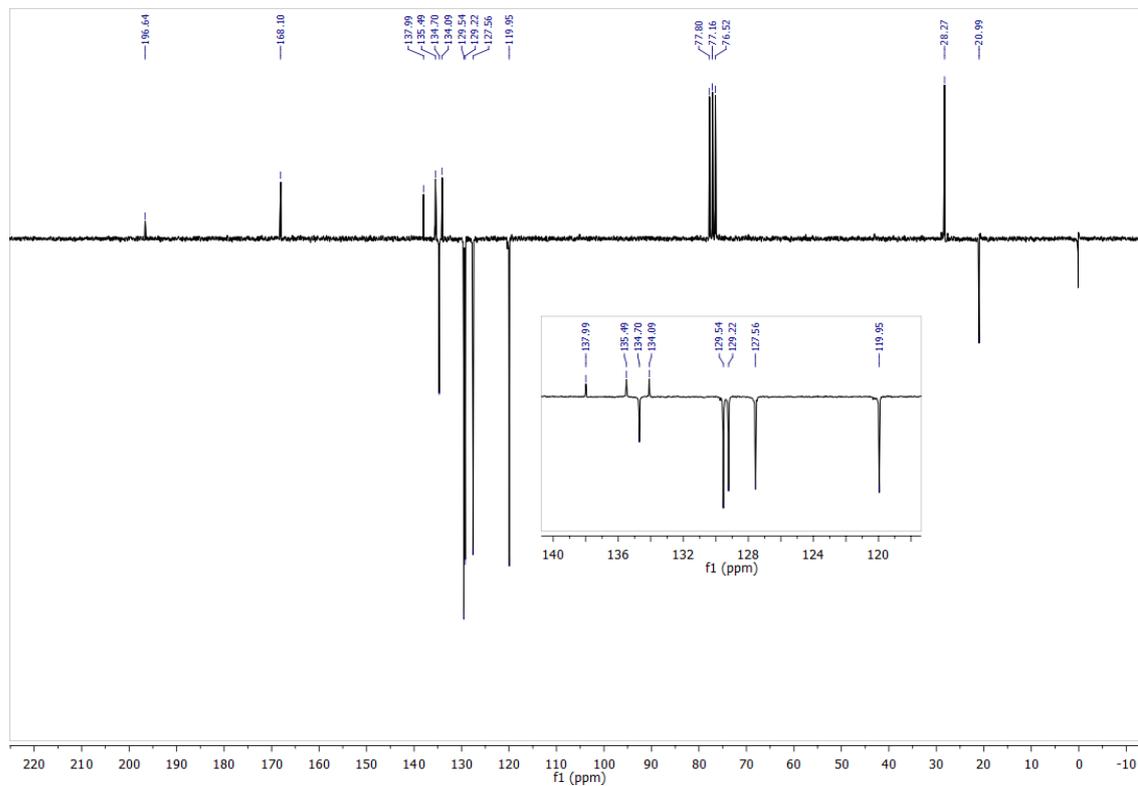


Figura 80 - Espectro de Infravermelho (ATR) da *N*-(4-bromofenil)benzoselenoglicamicida (HSe5)

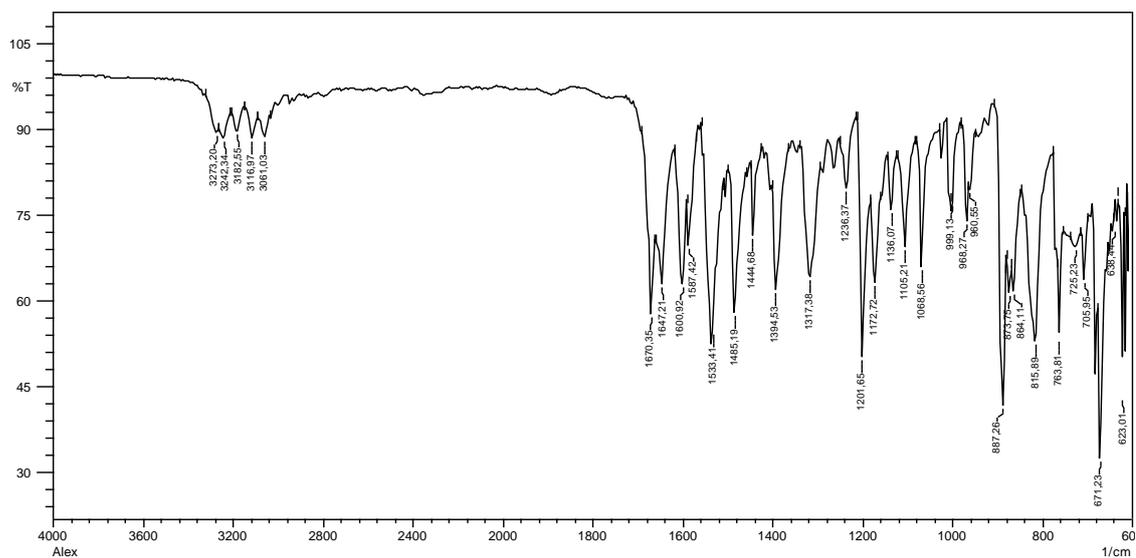


Figura 81 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-bromofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe5)

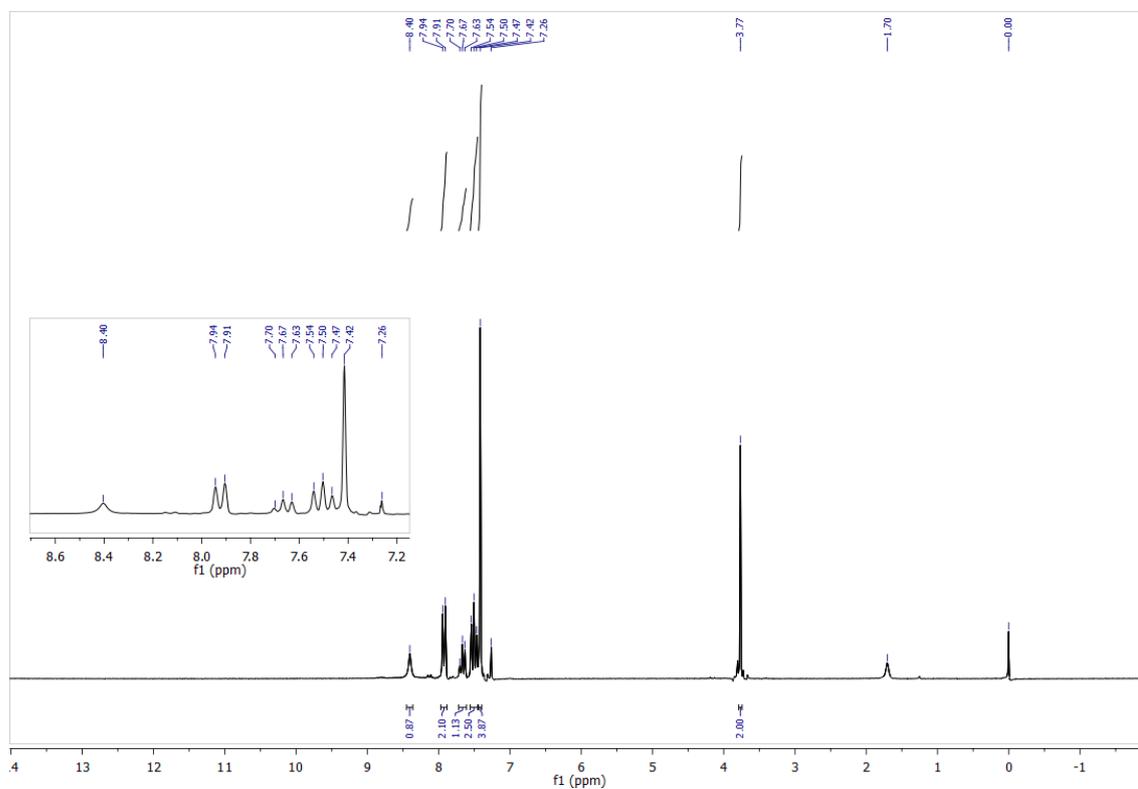


Figura 82 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) *N*-(4-bromofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe5)

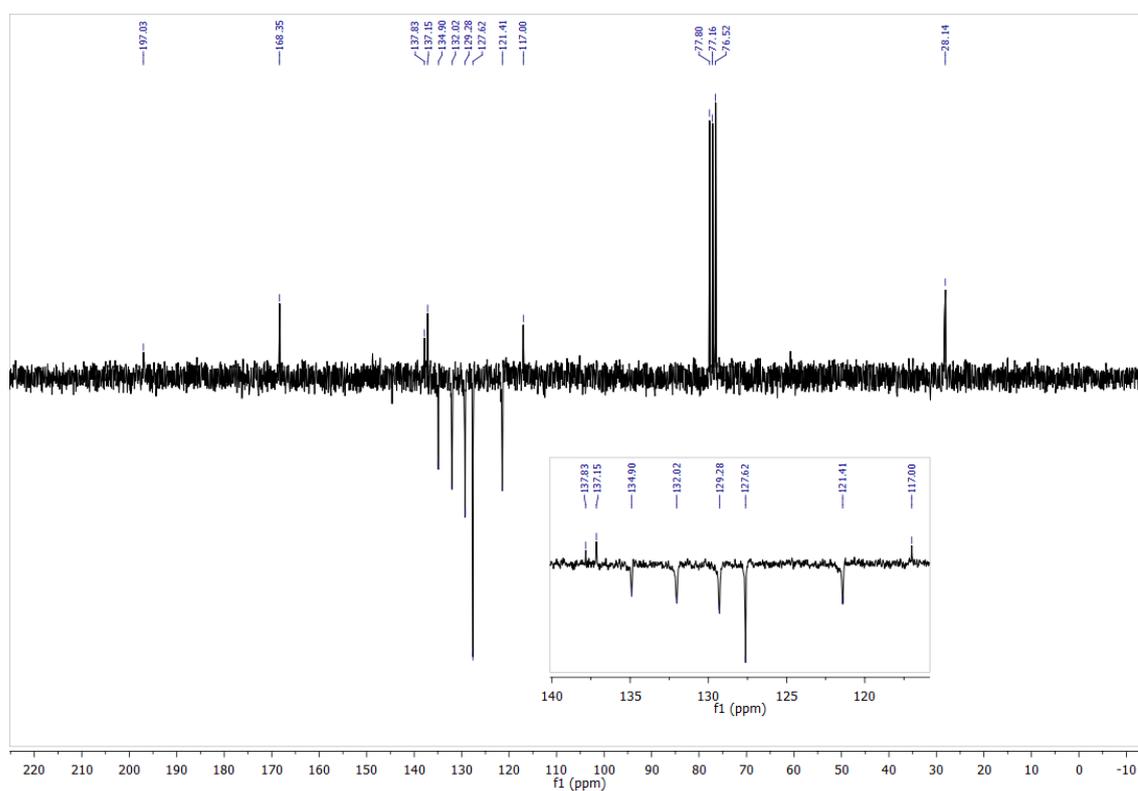


Figura 83 - Espectro de Infravermelho (ATR) *N*-(4-clorofenil)benzoselenoglicamicida (HSe6)

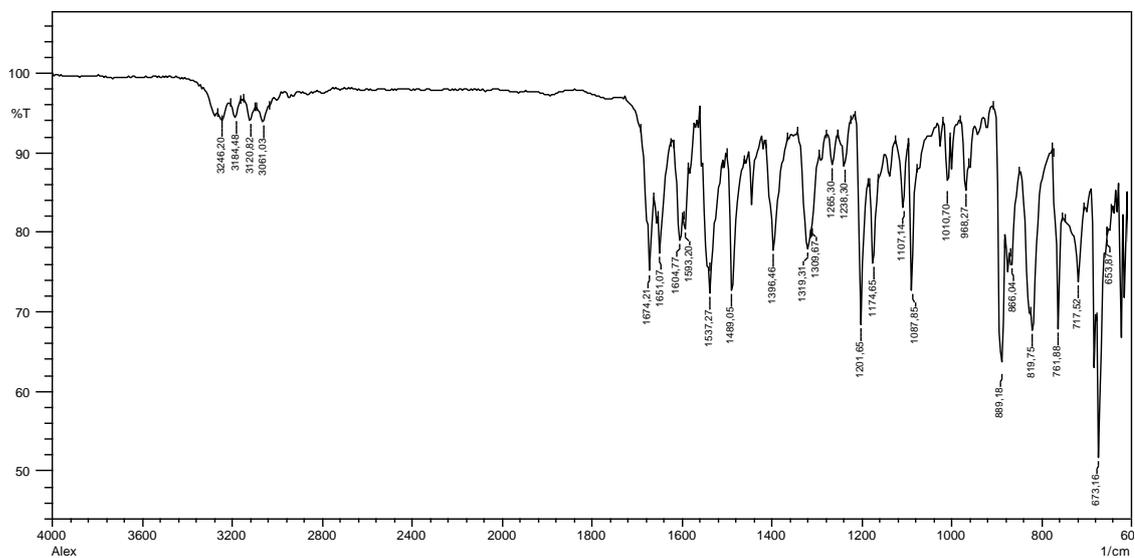


Figura 84 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) *N*-(4-clorofenil)benzoselenoglicamicida (HSe6)

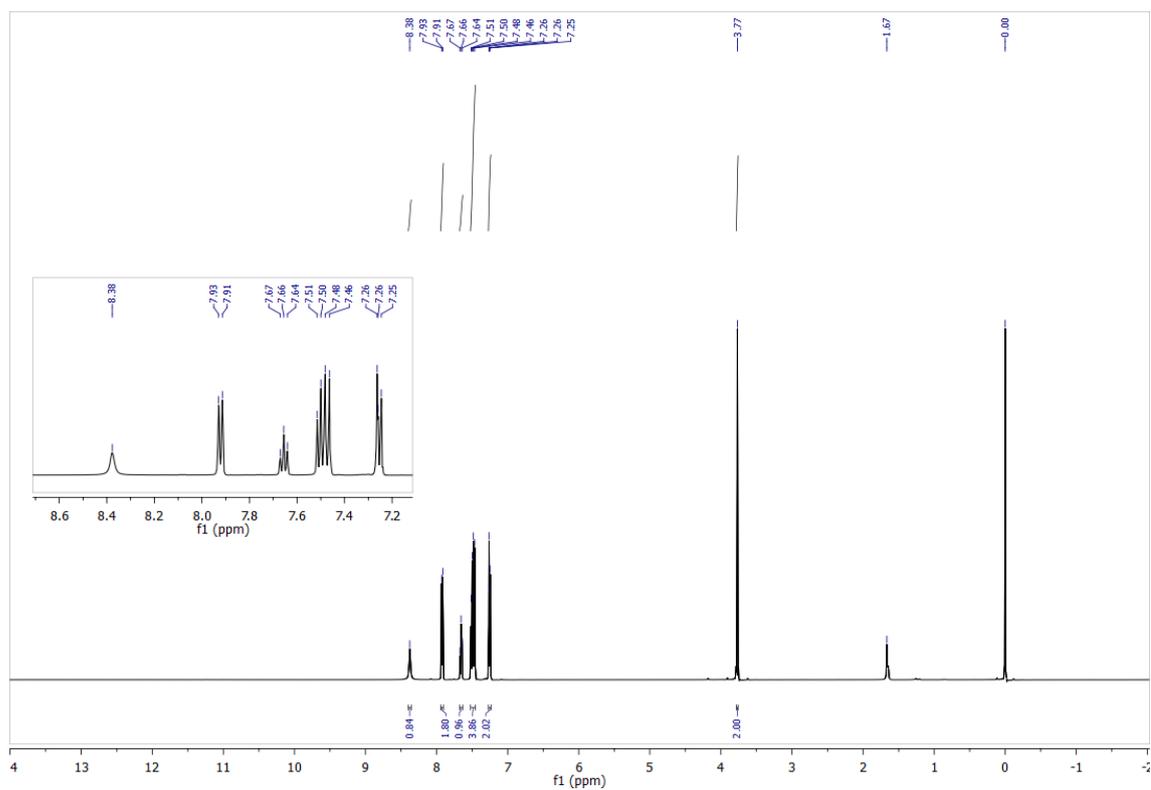


Figura 85 - Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) *N*-(4-clorofenil)benzoselenoglicamicida (HSe6)

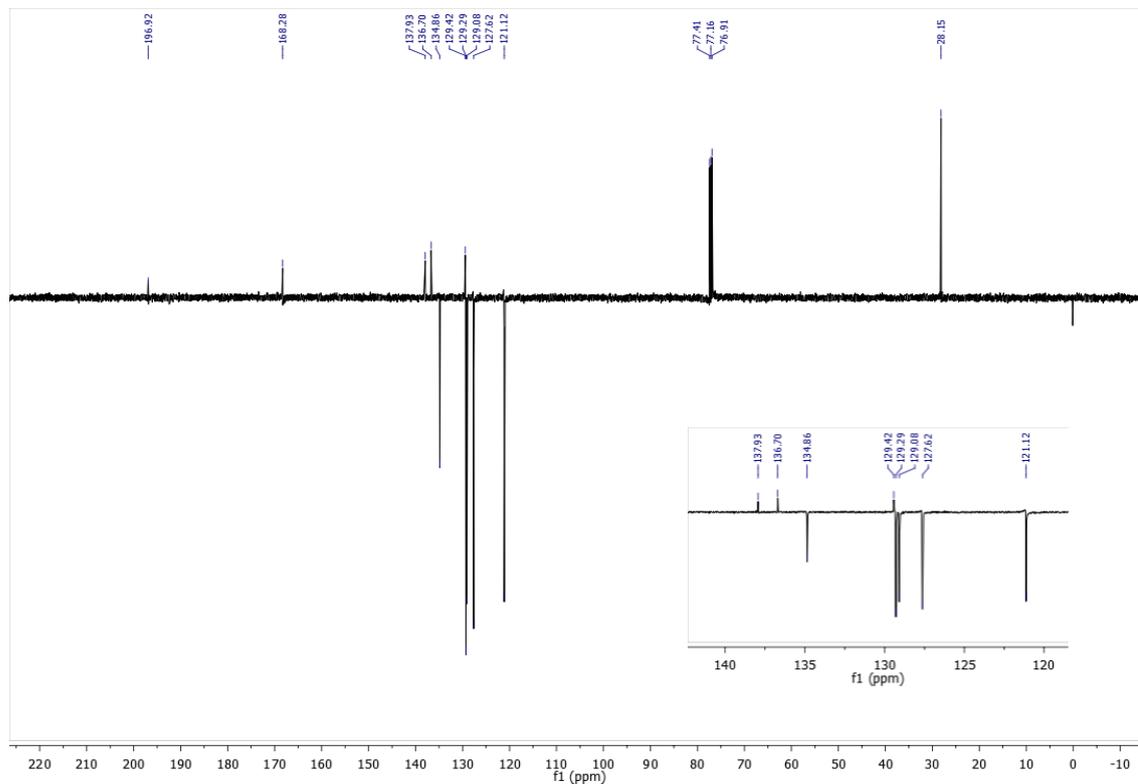


Figura 86 - Espectro de Infravermelho (ATR) *N*-(4-isopropilfenil)benzoselenoglicamicida (HSe7)

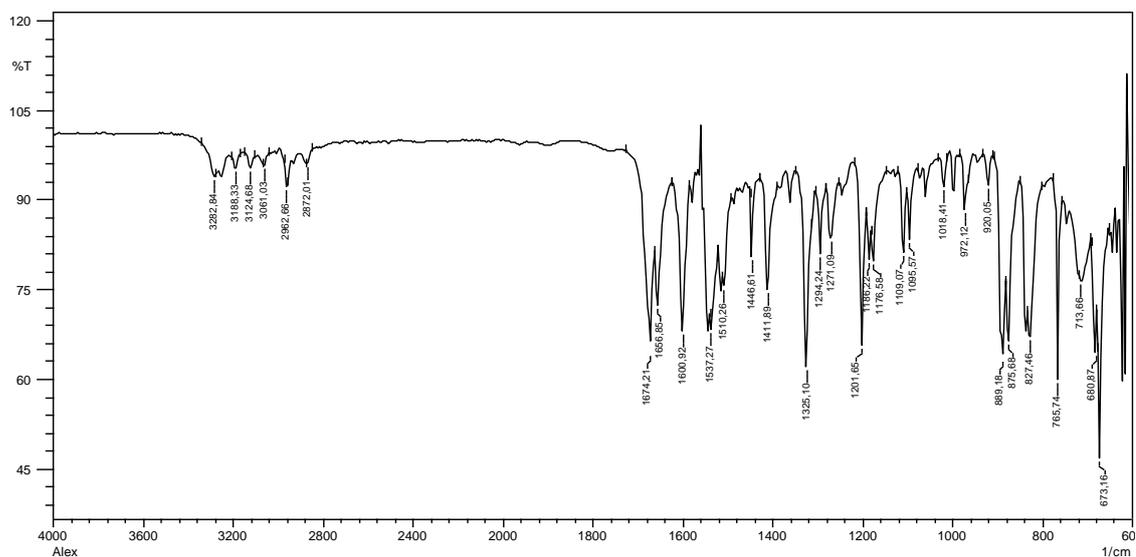


Figura 87 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) *N*-(4-isopropilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe7)

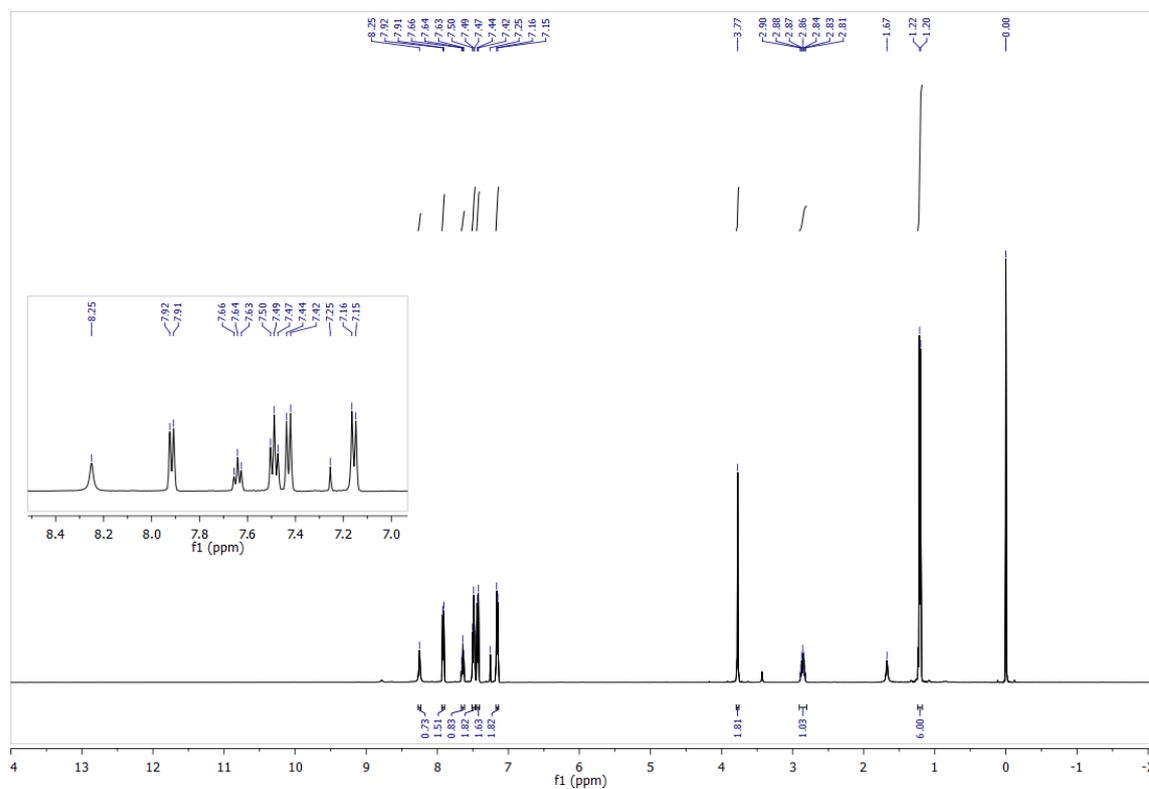


Figura 88 - Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) *N*-(4-isopropilfenil)benzoselenoglicamicamida (HSe7)

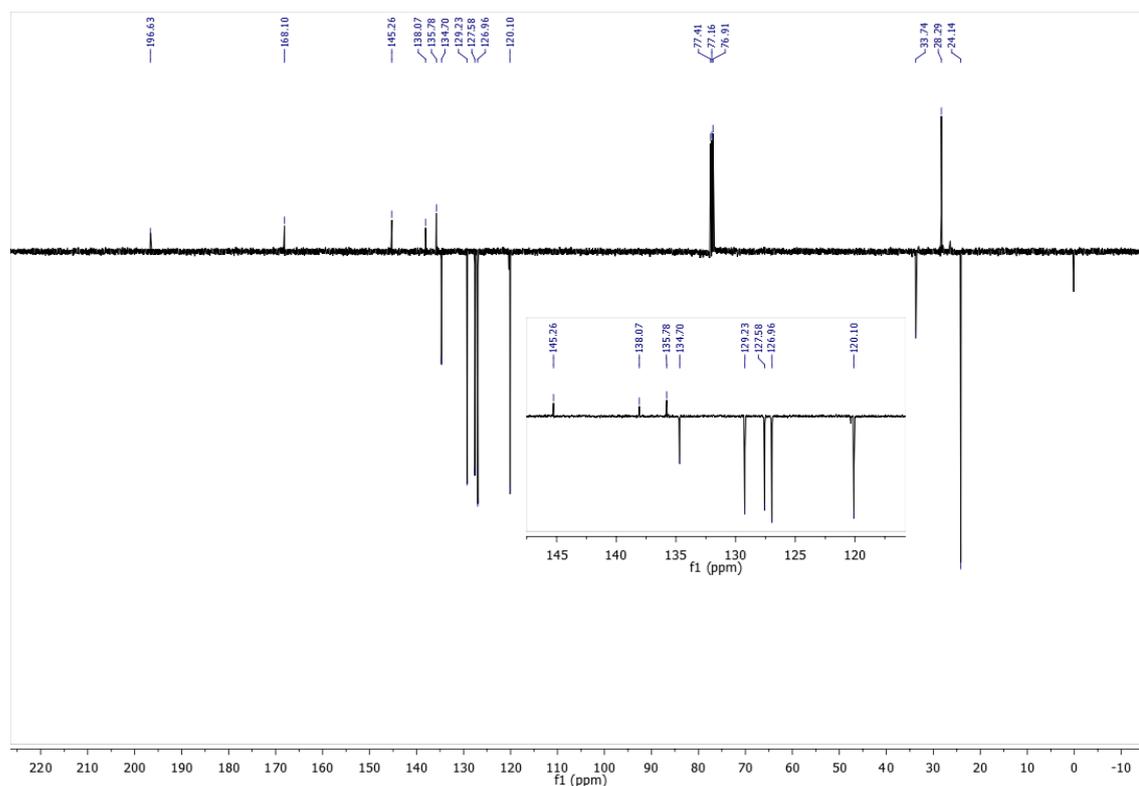


Figura 89 - Espectro de infravermelho (ATR) *N*-(4-metoxifenil)benzoselenoglicamicida (HSe8)

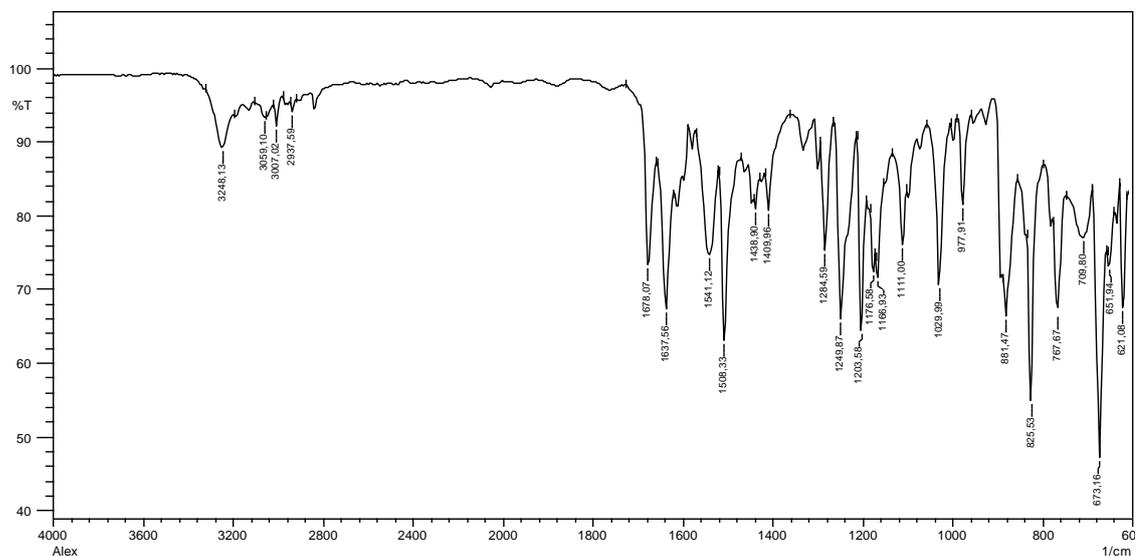


Figura 90 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) *N*-(4-metoxifenil)benzoselenoglicamicida (HSe8)

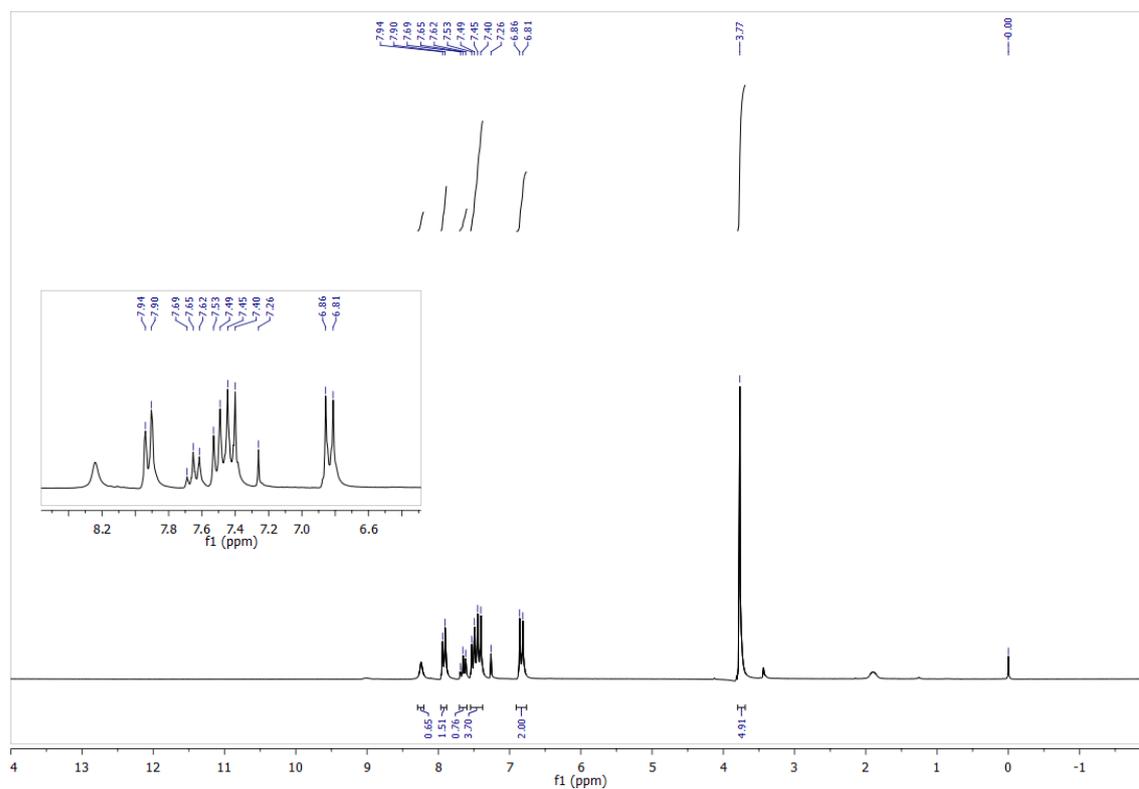


Figura 91 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) *N*-(4-metoxifenil)benzoselenoglicamicida (HSe8)

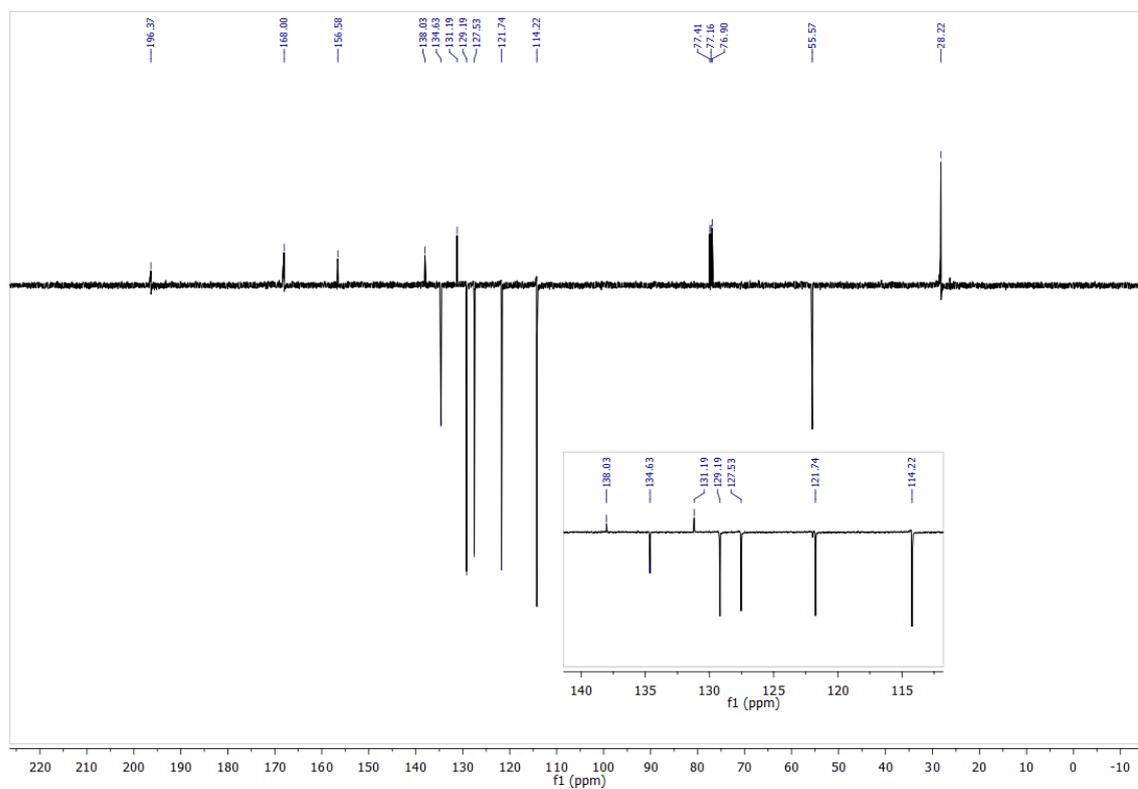


Figura 92 - Espectro de infravermelho (ATR) da *N*-(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicamicida (HSe9)

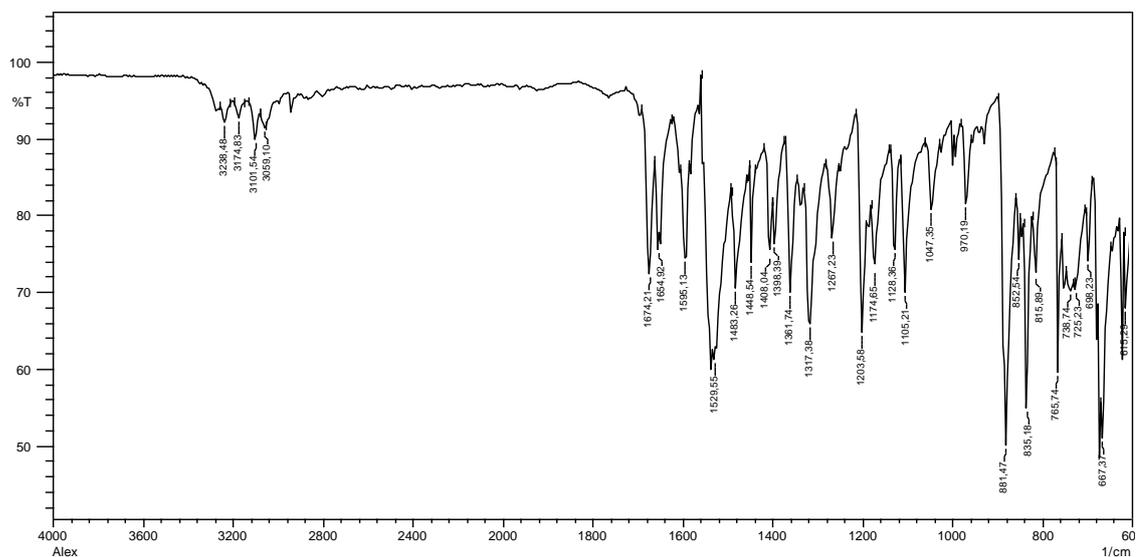


Figura 93 - Espectro de RMN ^1H de (500 MHz, DMSO) da *N*-(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe9)

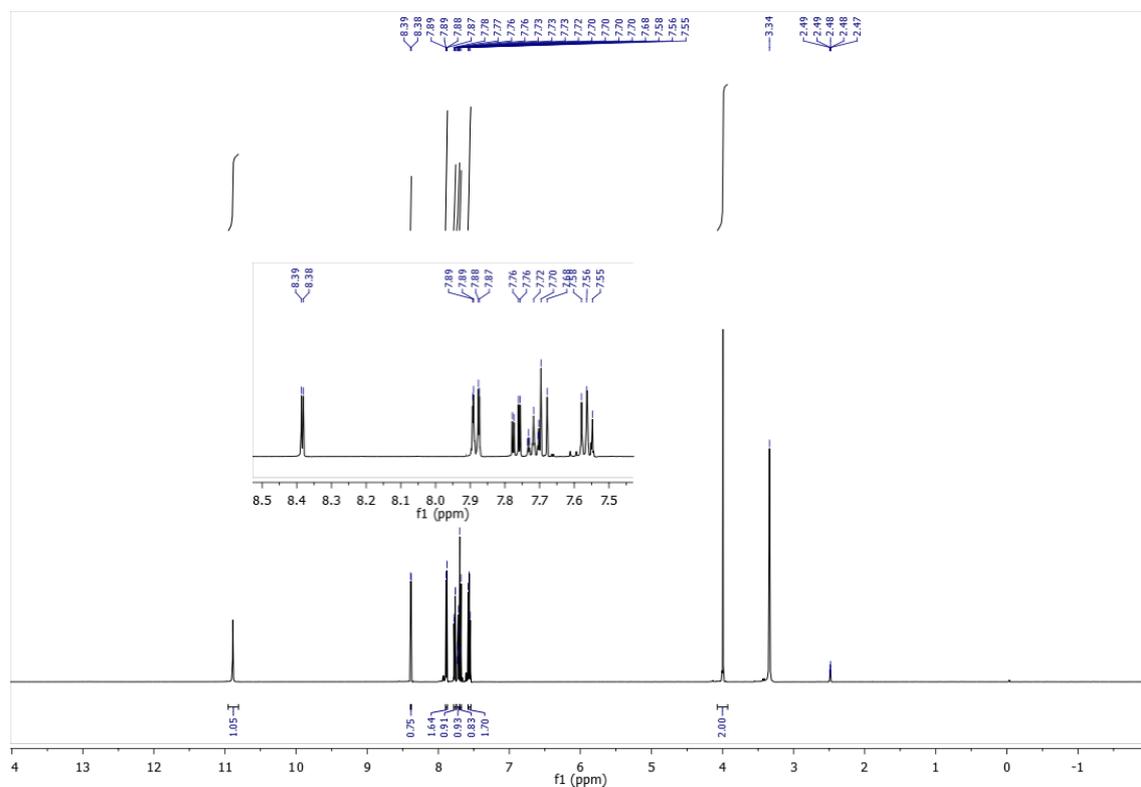


Figura 94 - Espectro de RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO) da *N*-(4-cloro-3-nitrofenil)benzoselenoglicamicamida (HSe9)

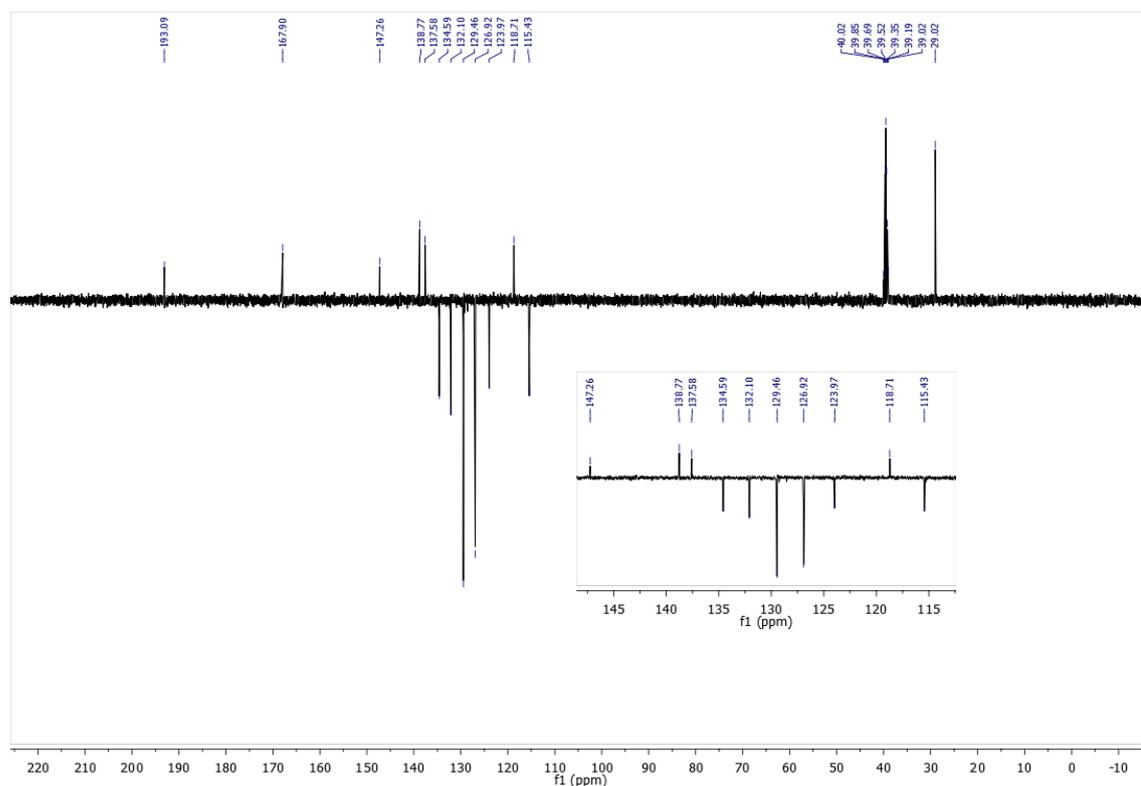


Figura 95 - Espectro de Infravermelho (ATR) da *N*-fenil-4-clorobenzoselenoglicamicida (HSe10)

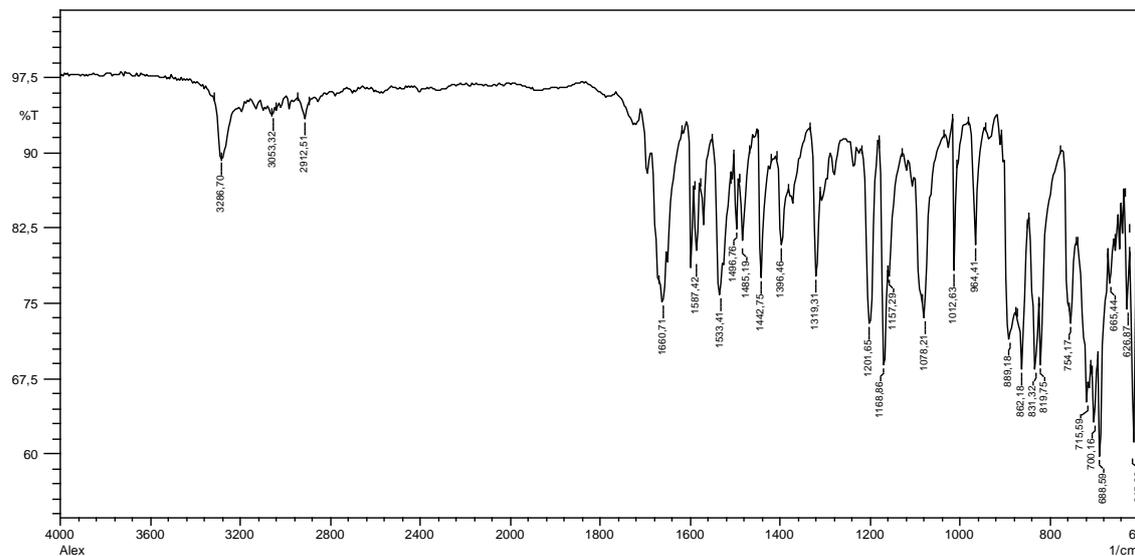


Figura 96 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-fenil-4-clorobenzoselenoglicamicida (HSe10)

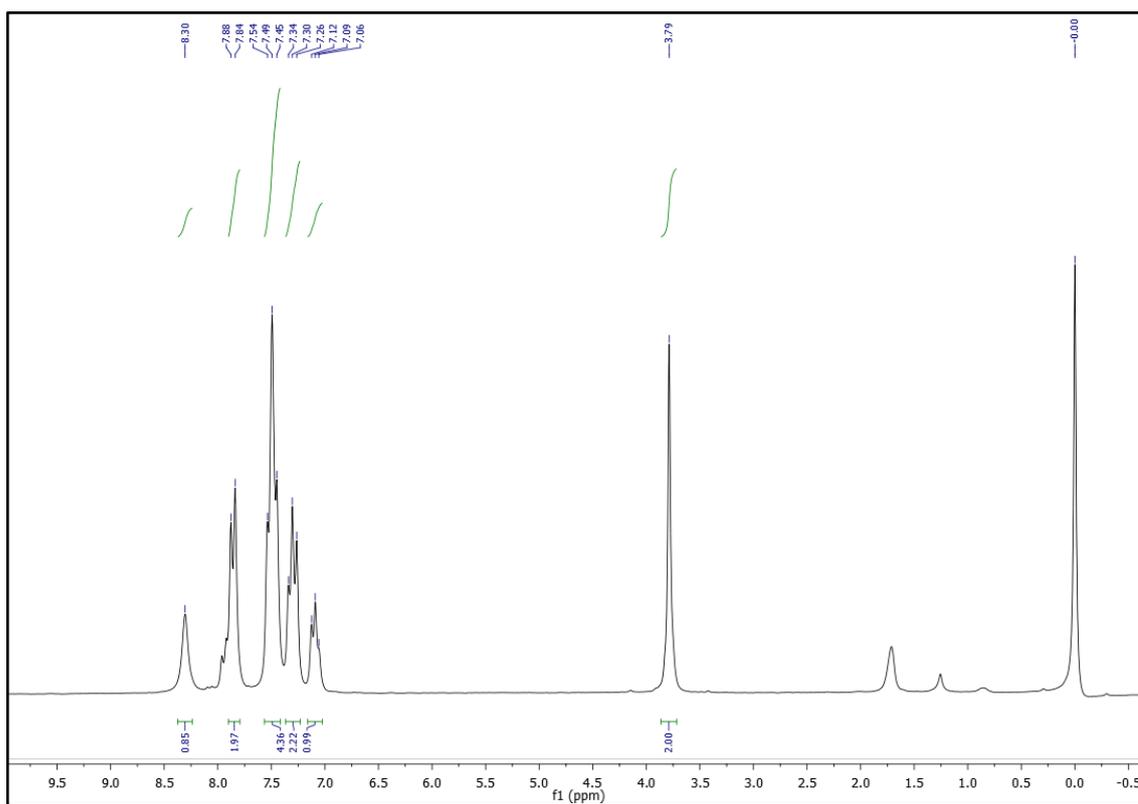


Figura 97 - Espectro de Infravermelho (KBr) da *N*-(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicamicida (HSe11)

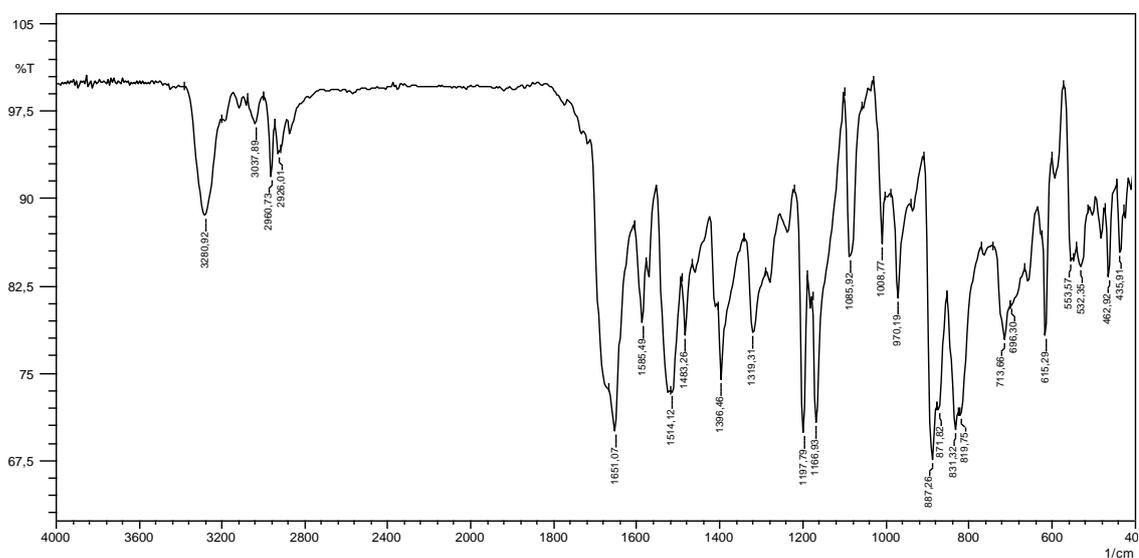


Figura 98 - Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicamicida (HSe11)

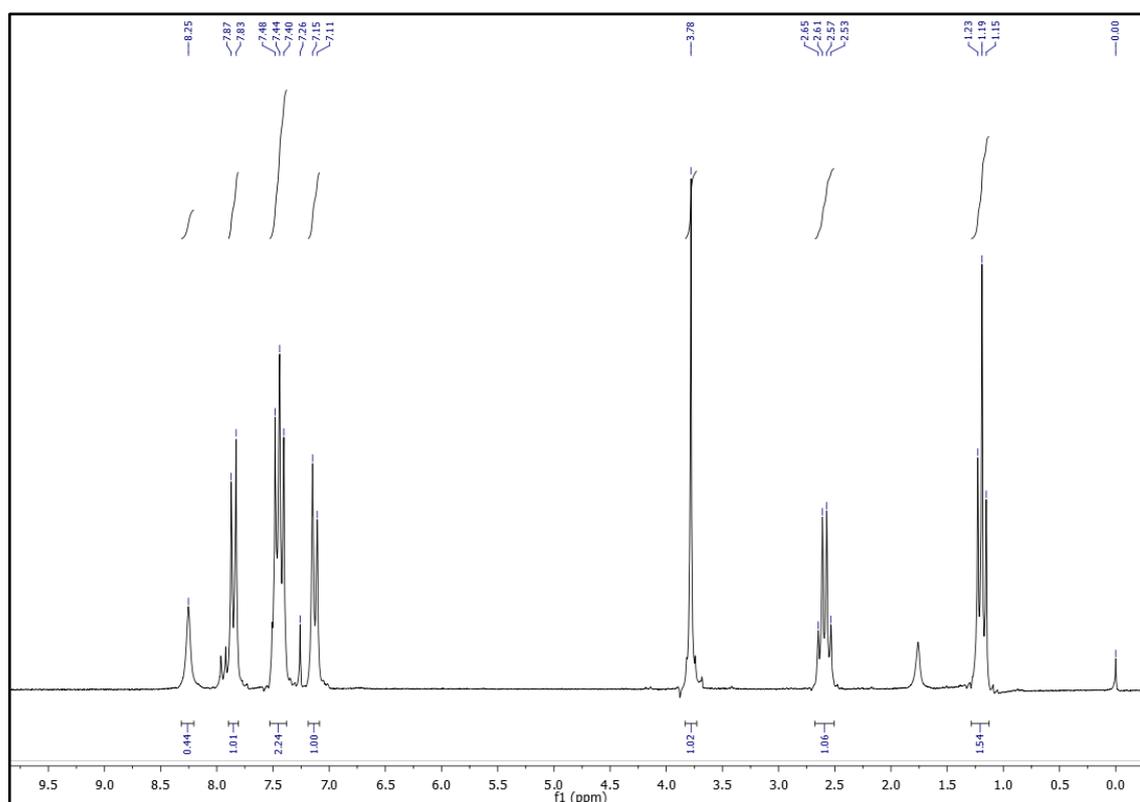


Figura 99 - Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) da *N*-(4-etilfenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe11)

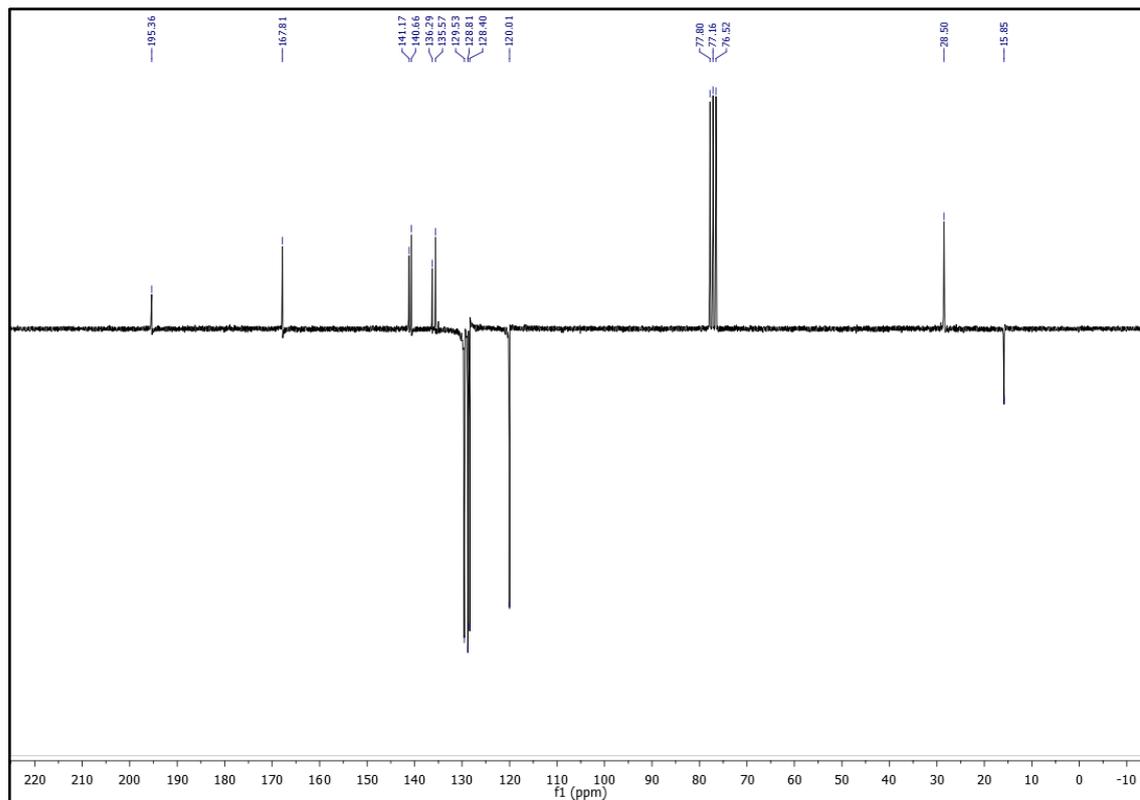


Figura 100 - Espectro de Infravermelho (KBr) da *N*-(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe12)

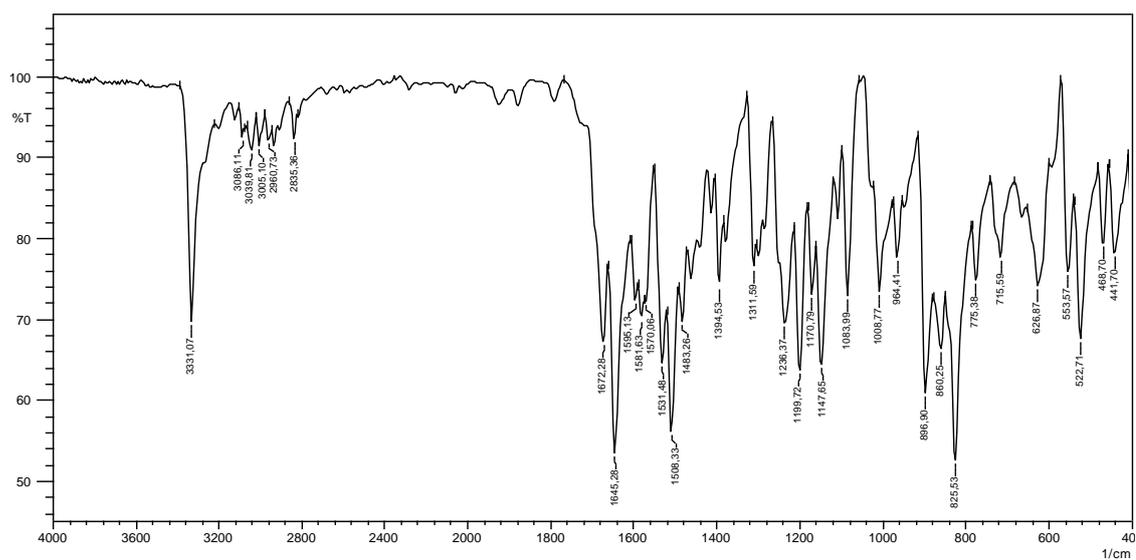


Figura 101 - Espectro de RMN ^1H de (400 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe12)

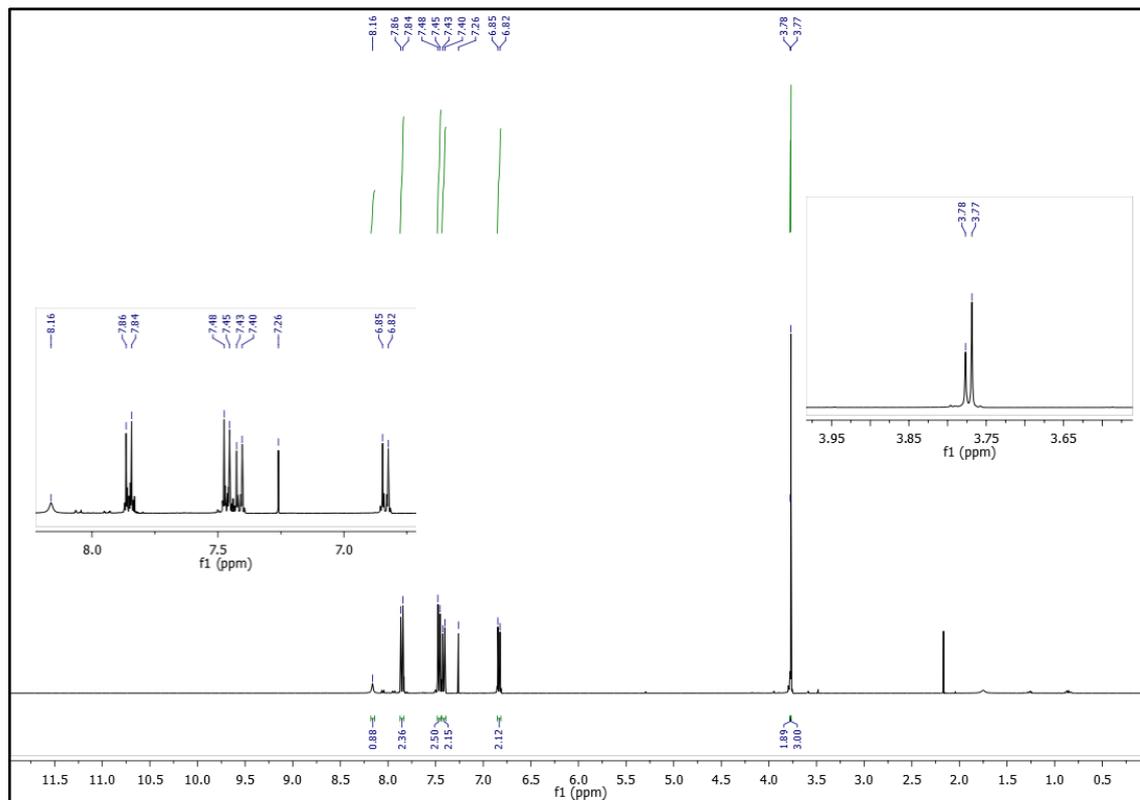


Figura 102 - Espectro de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metoxifenil)-4-clorobenzoselenoglicamicamida (HSe12)

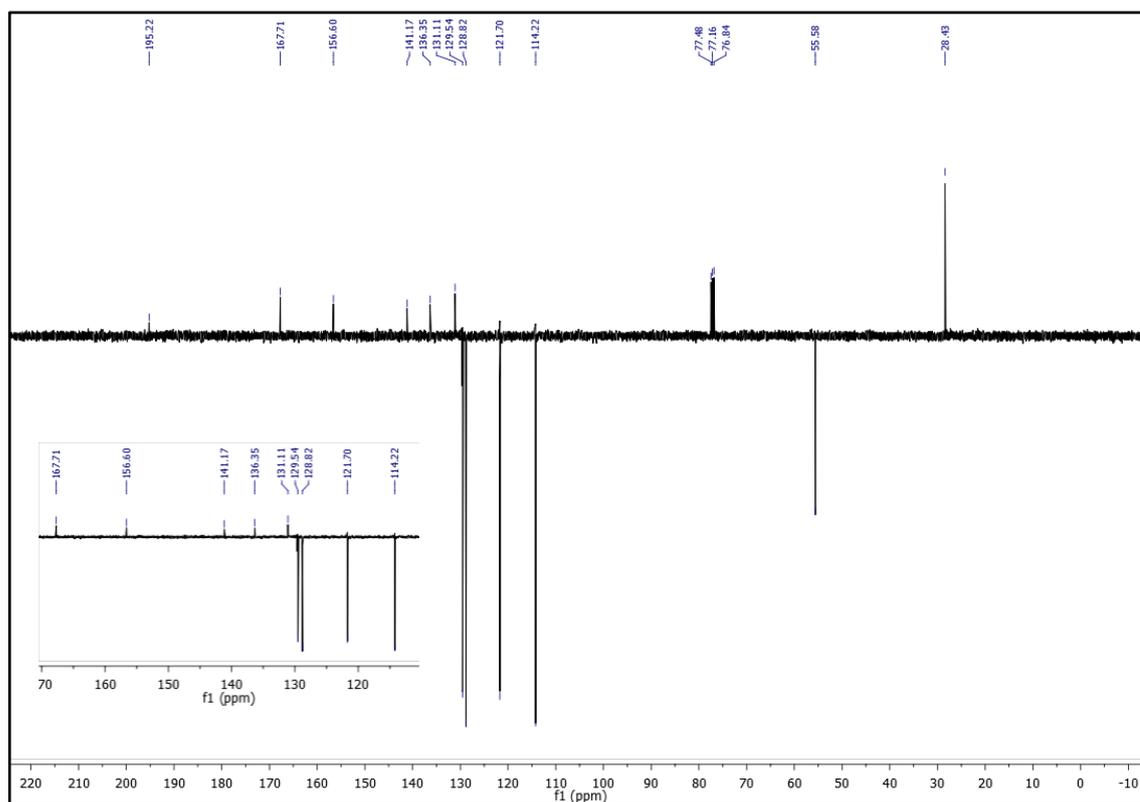


Figura 103 - Aceito do Artigo

Short Report

<http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180148>

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 00, No. 00, 1-10, 2018
Printed in Brazil - ©2018 Sociedade Brasileira de Química

**Synthesis, *in silico* Study and Antimicrobial Evaluation of New Selenoglycolicamides**

**Helivaldo D. S. Souza,^a Roxana P. F. de Sousa,^a Bruno F. Lira,^a Raquel F. Vilela,^a
Nathalie H. P. B. Borges,^b José P. de Siqueira-Junior,^b Edeltrudes O. Lima,^c
Jeane U. G. Jardim,^c Gracielle A. T. da Silva,^c José M. Barbosa-Filho^c and
Petrônio F. de Athayde-Filho^{*a}**

^aDepartamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

^bDepartamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba,
58051-970 João Pessoa-PB, Brazil

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba,
58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

Nine new compounds derived from selenoglycolic acid were synthesized, and their structures were fully characterized by elemental analysis, infrared (IR), ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR). The compounds were evaluated in an *in silico* study and showed strong to moderate antibacterial activity against several strains of *Staphylococcus aureus*. In particular, three compounds exhibited excellent antibacterial activity, with minimum inhibitory concentrations (MICs) between 16 and 64 µg mL⁻¹. Furthermore, two of the nine compounds showed antifungal activity, with MIC of 1024 and 512 µg mL⁻¹. *In silico* studies of the parameters of Lipinski's rule of five indicate that these compounds have potential to be new drug candidates.

Keywords: selenoglycolic acid, selenoglycolicamides, antibacterial activity, antifungal activity