

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

ESTUDO DA SÍNTESE; ESPECTROS I.V. E ATIVIDADE FAR-
MACOBIOLÓGICA DE 1-ACIL-4-ARIL-TIOSEMICARBAZIDAS E
TRIAZÓIS 3,4,5-TRISSUBSTITUÍDOS

Tese submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para
obtenção do grau de "Mestre em Ciências"

MARIZE TEREZINHA LOPES PEREIRA PERES

FLORIANÓPOLIS
SANTA CATARINA - BRASIL
MARÇO DE 1987

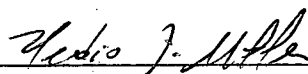
Estudo da síntese; Espectros I.V., Atividade farmacobiológica de l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis 3,4,5-trissubstituídos.

MARIZE TEREZINHA LOPES PEREIRA PERES

Esta tese foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e membros da banca examinadora composta pelos professores:



Prof. Rosendo A. Yunes, Ph.D.
Orientador

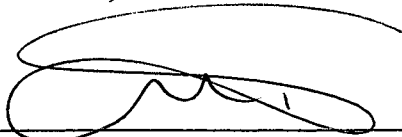


Prof. Hédio Müller, Ph. D.
Coordenador

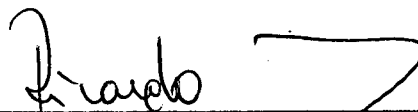
Banca Examinadora:



Prof. Rosendo A. Yunes, Ph.D.



Profa. Maria de Nazaré de M. Sanches, Ph.D.



Prof. Ricardo José Nunes, Ph.D.



Ao meu esposo Dirney e às
nossas filhas Rafaella e Janaina,
pela atenção que não lhes pude de
dicar.

Aos amigos Zezé e Carlos que nos proporcionaram com sua carinhosa acolhida e profunda amizade condições para terminar este trabalho.

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, cujo amor, dedicação e trabalho constantes, foram a base e o estímulo para as minhas conquistas.
- Às minhas irmãs por nossa amizade.
- Ao meu esposo pelo carinho e incentivo.
- Aos meus sogros pela constante preocupação.
- Ao professor Rosendo A. Yunes, por sua orientação, apoio e acima de tudo compreensão durante toda a realização deste trabalho.
- Ao professor Shankar Bennur pelo auxílio nas sínteses.
- Aos professores Maria de Nazaré de Matos Sanchez e Ricardo José Nunes pela compreensão e estímulo.
- Aos colegas do Departamento de Química, Pós-Graduação em Físico-Química e especialmente ao Grupo de Produtos Naturais por terem proporcionado bom ambiente de trabalho e auxiliado em diversas situações.
- Às bibliotecárias, pelo apoio e atenção dispensada.
- Ao colega Luiz Schmidt pela obtenção dos espectros de absorção no infravermelho.
- Ao Hospital Universitário por ter realizado parte do estudo microbiológico e à Dra. Catarina Vandersander, Secretária de Agricultura, por ter cedido o laboratório e auxiliado nos testes com bactérias e fungos.

- Ao departamento de farmacologia, especialmente à Tereza pelos testes farmacológicos.

- Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

- À Capes e Universidade Federal de Santa Catarina pelo auxílio financeiro.

R E S U M O

Foram feitos estudos da síntese, mecanismos de formação, espectros de I.V. e efeito farmacobiológico de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis.

As 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas foram sintetizadas, refluxando-se as acil-hidrazidas apropriadas com p-metoxifenil-isotiocianato em CCl_4 .

Os triazóis foram sintetizados a partir das 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas correspondentes em meio básico (NaOH).

Demonstrou-se que a reação apresenta dois produtos principais: o 3-(n-alkil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol e o 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, cujas proporções dependem das condições de trabalho.

Os compostos foram caracterizados pela análise das bandas de absorção no I.R. dos grupos >C=O , -NH e -N-C=S .

No caso dos triazóis, a presença das bandas de N-H e secundariamente as bandas de -N-C=S torna evidente que os mesmos se encontram na forma de tiocarbonila (C=S) e não de mercapto-derivado (C-SH), no estado cristalino.

Todos os compostos sintetizados foram submetidos a testes microbiológicos e farmacológicos. Perante os fungos e bactérias usados, mostraram-se inativos, o que demonstra que não se pode generalizar, no sentido de que compostos com o grupo -N-C-S apresentam atividade biológica como foi indicado na literatura.

Já, os testes farmacológicos, demonstraram que os compostos p-metoxifenil-propanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-butanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida, promovem redução na atividade locomotora dos camundongos.

O trabalho realizado para avaliar o efeito anticonvulsivante, mostrou que, à medida que aumenta o comprimento da cadeia alquílica, diminui o mesmo. No caso do mecanismo de ação, ser pela inibição da AChE, como foi sugerido em outros trabalhos, é óbvio se pensar, que o aumento da cadeia alquílica, diminui (possivelmente por efeito estérico) a força de interação entre a enzima e a 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazida. Novos estudos deverão confirmar o mecanismo de ação e a explicação deste comportamento.

A B S T R A C T

The synthesis, mechanism of formation, I.R. spectra and pharmacobiological effects of 1-acyl-4-aryl-thiosemicarbazides and triazoles have been studied.

The 1-acyl-4-aryl-thiosemicarbazides were synthesized from acylhydrazides and p-methoxyphenyl isothiocyanates. The triazoles were prepared from 1-acyl-4-arylthiosemicarbazides in caustic soda solution.

It has been observed that this reaction gives two principal products: 3-(n-alkyl)-4-(p-methoxyphenyl)-5-mercapto-1,2,4-triazole and 3-(p-methoxyanilyl)-4-(p-methoxyphenyl)-5-mercapto-1,2,4-triazole. The proportion of these products depends on the experimental conditions.

The compounds were characterized by analysis of the infrared absorption bands of $>C=O$, NH and $-N-C=S$ groups. The triazoles showed N-H and $-N-\overset{|}{C}=S$ bands indicating that the structure has the thione form (C=S) in the crystalline state.

All the compounds were screened against bacteria and fungus and showed no significant activity.

In this way, the assumption that all the compounds that contain the moiety $-N-\overset{|}{C}=S$ are actives fails.

Pharmacological experiments showed that p-methoxyphenyl-propionyl-thiosemicarbazides, p-methoxyphenyl-butanoyl-thiosemicarbazides, p-methoxyphenyl-hexadecanoyl-thiosemicarbazides reduced the mobility of rats.

Thiosemicarbazides shown anticonvulsant activity. This activity decreased when the length of the alkyl chain increases.

If the mechanism of this activity is by acetyl cholinesterase (AChE) inhibition it is possible to suggest that the increase of the alkyl chain should decrease the interaction between the thiosemicarbazides and the enzyme by steric effects. New studies should be performed to confirm this assumption.

Í N D I C E G E R A L

CAPÍTULO I

| | <u>Pág.</u> |
|---|-------------|
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 1.1. Objetivos | 01 |
| 1.2. Métodos de Síntese | 02 |
| 1.2.1. Síntese de l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas . | 02 |
| 1.3. Triazóis | 04 |
| 1.3.1. Nomenclatura | 05 |
| 1.3.2. Métodos de Síntese | 06 |
| 1.4. Estudo do espectro de absorção no infravermelho de l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis | 12 |
| 1.4.1. Vibração de estiramento do grupo N-H | 13 |
| 1.4.2. Vibração de estiramento do grupo C=O | 13 |
| 1.4.3. Vibração de estiramento do grupo C=N | 13 |
| 1.4.4. Vibração de estiramento do grupo S-H | 14 |
| 1.4.5. Vibração de estiramento do grupo C=S | 15 |
| 1.5. Atividade farmacobiológica de l-acil-4-aril-tiose micarbazidas e triazóis | 15 |

CAPÍTULO II

| | |
|--|----|
| 2. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS | 19 |
| 2.1. Instrumentação | 19 |
| 2.2. Materiais | 20 |

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| 2.3. Síntese e identificação | 20 |
| 2.3.1. Síntese de p-metoxi-acetanilida | 20 |
| 2.3.2. Síntese de p-metoxi-anilina | 21 |
| 2.3.3. Síntese de p-metoxifenil-ditiocarbamato de amônio | 22 |
| 2.3.4. Reação de obtenção de p-alcoxi-fenil-isoticianá to | 23 |
| 2.3.5. Métodos gerais de obtenção das 1-acil-4-aril- tiosemicarbazidas | 23 |
| 2.3.5.1. Síntese de p-metoxifenil-propanoil -tiosemicarbazida | 25 |
| 2.3.5.2. Síntese de p-metoxifenil-butanoil- tiosemicarbazida | 27 |
| 2.3.5.3. Síntese de p-metoxifenil-nonanoil- tiosemicarbazida | 29 |
| 2.3.5.4. Síntese de p-metoxifenil-undecanoil- tiosemicarbazida | 31 |
| 2.3.5.5. Síntese de p-metoxifenil-tetradecanoil- tiosemicarbazida | 33 |
| 2.3.5.6. Síntese de p-metoxifenil-hexadecanoil- tiosemicarbazida | 35 |
| 2.3.6. Método geral de obtenção de triazóis trissubsti tuidos | 38 |
| 2.3.6.1. Síntese de 3-etil-4-(p-metoxifenil) -5-mercpto-1,2,4-triazol | 39 |
| 2.3.6.2. Síntese de 3-propil-4-(p-metoxifenil) -5-mercpto-1,2,4-triazol | 43 |
| 2.3.6.3. Síntese de 3-decil-4-(p-metoxifenil) -5-mercpto-1,2,4-triazol | 46 |

| | |
|---|----|
| 2.3.6.4. Síntese de 3-tridecil-4-(p-metóxi-fenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol | 50 |
| 2.3.6.5. Síntese de 3-pentadecil-4-(p-metóxi-fenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol | 57 |
| 2.4. Cromatografia | 60 |
| 2.5. Análise dos efeitos farmacológicos | 61 |
| 2.6. Avaliação da atividade microbiológica | 66 |
| 2.6.1. Avaliação da atividade bactericida | 67 |
| 2.6.1.1. preparação dos meios | 67 |
| 2.6.1.2. preparação das sub-culturas | 68 |
| 2.6.1.3. metodologia | 68 |
| 2.6.2. Avaliação da atividade fungicida | 69 |
| 2.6.2.1. preparação do meio | 73 |

CAPÍTULO III

| | |
|--|----|
| 3. DISCUSSÃO | 77 |
| 3.1. Síntese de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis | 77 |
| 3.1.1. Análise dos produtos da reação | 77 |
| 3.2. Estrutura dos produtos obtidos | 79 |
| 3.3. Mecanismos de reação | 81 |
| 3.4. Análise do efeito da concentração de NaOH, temperatura e tempo de refluxo | 84 |
| 3.5. Análise dos espectros de absorção no infravermelho . | 84 |

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| 3.6. Análise dos efeitos farmacobiológicos | 86 |
| 3.6.1. Efeitos farmacológicos | 86 |
| 3.6.2. Efeitos biológicos | 87 |
| 3.7. Conclusão | 89 |
| REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA | 92 |

Í N D I C E D E T A B E L A S

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| TABELA I - Variação percentual obtida na síntese de triazol 3,4,5-trissubstituído, variando o agente desidratante | 08 |
| TABELA II - Dados de absorção no infravermelho de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis 3,4,5-trissubstituídos | 12 |
| TABELA III - Efeito do pré-tratamento (30') com 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas sobre os parâmetros da convulsão eliciada por eletrochoque transcorneal máximo (30 mA, 0,2") | 62 |
| TABELA IV - Efeito do pré-tratamento (30') com 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas sobre a latência para convulsão induzida por pentilenotetrazol 75 mg/kg i.p . | 63 |
| TABELA V - Ambulação em camundongos após a injeção de 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol | 64 |
| TABELA VI - Ambulação em camundongos após a injeção de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas 20 mg/kg i.p.... | 65 |
| TABELA VII - Resultados obtidos dos testes biológicos com as bactérias, P.aeruginosa, P.mirabilis, e com os fungos C.albicans, C.neoformans | 71 |

| | |
|---|----|
| TABELA VIII - Resultados biológicos obtidos com as bactérias S.aureus, P.mirabilis, E.coli, P.aeruginosa ... | 74 |
| TABELA IX - Resultados obtidos com os fungos C.albicans, Levedura, Penicilium sp, S.cerevisae | 75 |

Í N D I C E D E F I G U R A S

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| FIGURA 1 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-propanoil-tiosemicarbazida | 26 |
| FIGURA 2 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-butanoil-tiosemicarbazida | 28 |
| FIGURA 3 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-nonanoil-tiosemicarbazida | 30 |
| FIGURA 4 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-undecanoil-tiosemicarbazida | 32 |
| FIGURA 5 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-tetradecanoil-tiosemicarbazida | 34 |
| FIGURA 6 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metóxi -fenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida | 37 |
| FIGURA 7 - Aparelho de secagem à vácuo de Abderhalden | 39 |
| FIGURA 8 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-etil- 4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol | 41 |
| FIGURA 9 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-tria- zol em $CDCl_3 + (D_3C)_2CO$, 60 MHz | 42 |

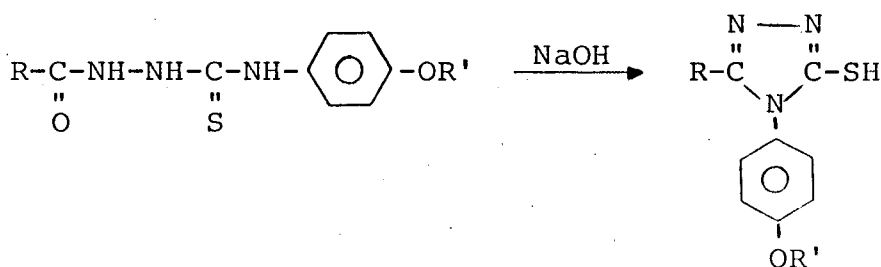
- FIGURA 10 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-propil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol.. 44
- FIGURA 11 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-propil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em $\text{CDCl}_3 + (\text{D}_3\text{C})_2\text{CD}$, 60 MHz 45
- FIGURA 12 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-decil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz 48
- FIGURA 13 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz 49
- FIGURA 14 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol. 51
- FIGURA 15 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol 52
- FIGURA 16 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz 53
- FIGURA 17 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz depois da adição de água deuterada 54

- FIGURA 18 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metóxianilil)-4-(p-metóxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol, em CDCl_3 (5 partes) + MD_3OD (1 parte), 100 MHz 55
- FIGURA 19 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metóxianilil)-4-(p-metóxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 (5 partes) + MD_3OD (1 parte) depois da adição de D_2O 56
- FIGURA 20 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-pentadecil-4-(p-metóxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol 58
- FIGURA 21 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-pentadecil-4-(p-metóxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CCl_4 , 60 MHz 59
- FIGURA 22 - Placa de Petri, com o meio inoculado de bactéria ou fungo e o material a ser testado 69

CAPÍTULO I1. INTRODUÇÃO1.1. OBJETIVOS

Na investigação de reações para obtenção de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e mercapto-triazóis, teve-se como principais objetivos:

a) Sintetizar 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas, e os mercapto triazóis correspondentes, analisando o processo segundo os métodos indicados nos esquemas 1 e 2.

ESQUEMA 1ESQUEMA 2

b) Comparar os espectros de infravermelho de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e mercapto triazóis delas derivados, de terminando bandas características de algumas ligações.

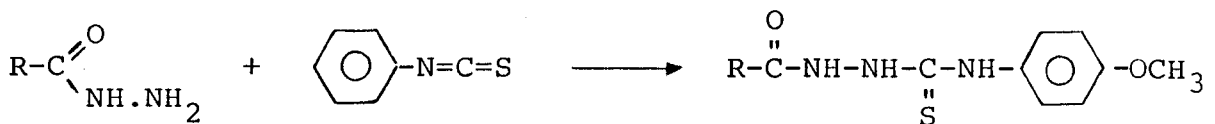
c) Testar as 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e os mercapto-triazóis na farmacologia e microbiologia apoiados no fato de que estes compostos atuam como agentes fungicidas, bactericíd

das, antiviral, antituberculosa, inseticida, herbicida e anticonvulsivante.

1.2. MÉTODOS DE SÍNTESE

1.2.1. Síntese de 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazidas

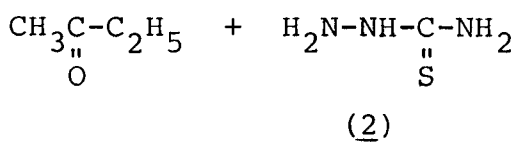
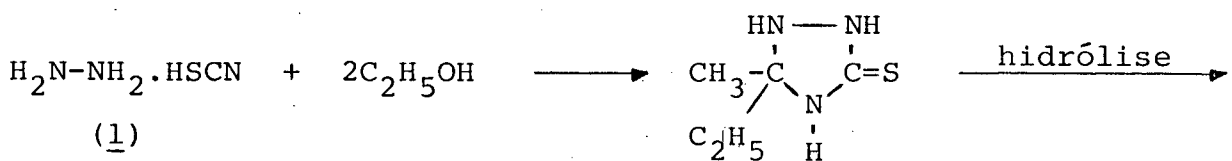
Um dos métodos mais utilizados na preparação de tiosemicarbazidas, talvez o mais importante, é o da reação entre isotiocianatos e hidrazidas ^{(1), (2)} indicado no esquema 3. Esta reação tem sido muito discutida nos últimos anos, principalmente porque constitui um valioso material de partida para a síntese de vários heterocíclicos que tem apresentado inúmeras propriedades farmacobiológicas.



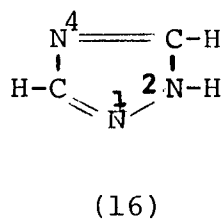
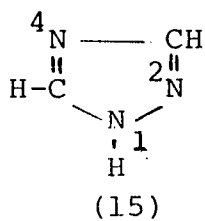
ESQUEMA 3

Além do método descrito acima, muitos outros métodos são utilizados na obtenção das tiosemicarbazidas.

Pesquisadores japoneses ⁽³⁾ obtiveram tiosemicarbazidas ⁽²⁾ da reação de hidrazinas com o ácido isotiocianico ⁽¹⁾ com etanol ou 2-butanol, conforme esquema 4.

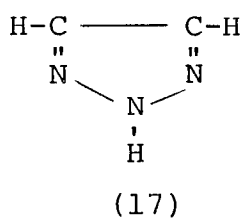


ESQUEMA 4



O nome triazol foi primeiramente sugerido ao sistema (17), por Bladin⁽¹¹⁾ em princípios de 1885.

Todos os triazóis são de origem sintética e não há in formação de que estes anéis existam na natureza.



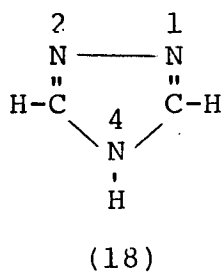
1.3.1. Nomenclatura

Vários métodos de numeração e nomes de sistemas 1,2,4-triazóis são encontrados na literatura.

O primeiro método utilizado está demonstrado no exemplo (15) já indicado acima.

O Ring Index também usa a mesma ordem da numeração do anel. Nos compostos com N-substituintes, temos descrições de 1,2,4-(1H) ou 1,2,4-(4H)-triazóis.

Assim, as fórmulas (15) e (16) são chamados s-triazóis e seus correspondentes derivados de fenil, são chamados de 1-fenil-1,2,4-(1H)-triazol e 4-fenil-1,2,4-(4H) triazol respectivamente, de acordo com as regras de nomenclatura da IUPAC para sistemas heterocíclicos, indicado pelo sistema (18).



A representação mais moderna da estrutura dos 1,2,4-triazóis é em relação ao átomo de hidrogênio do grupo imino, que não está preso a nenhum dos átomos de nitrogênio, mas existindo como uma carga atômica que se encontra em ressonância com o anel.

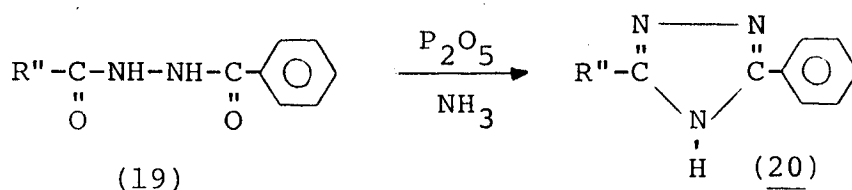
Com esta representação o sistema de nomenclatura descrito acima tornou-se desnecessário, mas pode ser modificado para uma forma mais aceitável.

Em triazóis que contêm o átomo de hidrogênio livre no grupo imino são ainda descritos como antes, mas em triazóis N-substituídos 1H ou 4H não são necessários.

1.3.2. Métodos de Síntese

Na desidratação de s-diacilhidrazinas⁽¹⁰⁾ (19), na presença de amônia obtêm-se 1,2,4-triazóis 3,5-dissubstituídos (20), conforme esquema 9 e na presença de aminas primárias obtêm-se 1,2,4-triazóis 3,4,5-trissubstituídos (21), conforme esquema 10.

Este foi o primeiro método utilizado na obtenção de triazóis com substituintes alquil ou aril na posição 4, e o rendimento da reação vem sendo aumentado com a introdução de agentes desidratantes mais eficientes⁽¹⁰⁾.



ESQUEMA 9

Tabela I - Variação percentual obtida na síntese de triazol 3, 4,5-trissubstituído, variando o agente desidratante.

| R | R' | R'' | Ag. Desidr. | % |
|-----------------|-----------|-----------|-------------|------------|
| C_6H_5- | C_6H_5- | C_6H_5- | A,B,D | 95 (A), 20 |
| $o-CH_3C_6H_4-$ | C_6H_5- | C_6H_5- | A | 88 |
| $p-ClC_6H_5-$ | C_6H_5- | C_6H_5- | A | 88 |
| C_6H_5- | C_6H_5- | CH_3- | B | pobre |
| $p-CH_3C_6H_4-$ | C_6H_5- | C_6H_5- | A,C | 88, pobre |

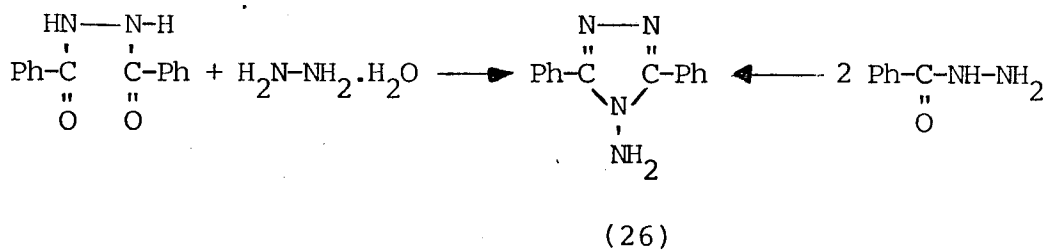
A = Fenilfosfazoanilida

B = Pentóxido de fósforo

C = Cloreto de zinco

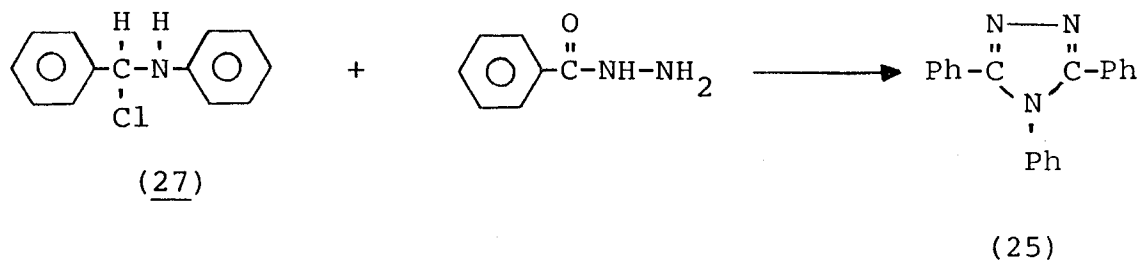
D = Conversão da diacil-hidrazina para dicloroaldazina e reação com anilina.

Da substituição da amina primária, na reação com s-dia-
cilhidrazina, por hidrato de hidrazina e aquecendo-se esta mis-
tura num recipiente fechado, obtém-se 4-amino-3,5-dissubstituí-
do 1,2,4-(4H)-triazol, (26) reação executada por Herbst e col⁽¹⁵⁾,
conforme esquema 12.



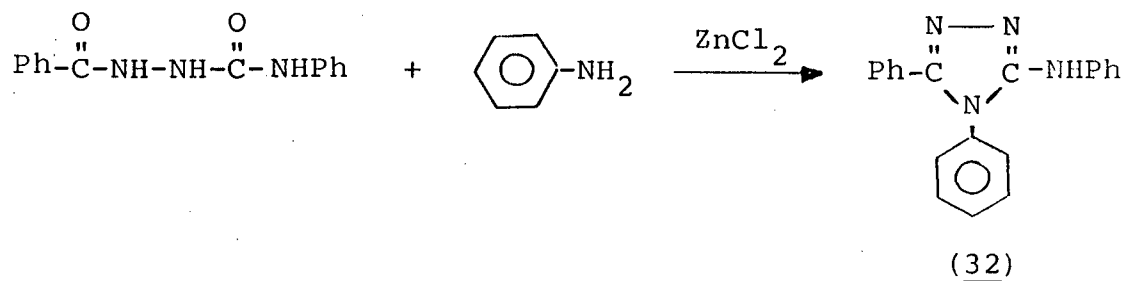
ESQUEMA 12

Uma variação do método acima, foi conseguido por
Busch⁽¹⁶⁾ com a reação de uma cloroimida, tal como, cloreto do
benzilanelina (27) com benzoil-hidrazida para dar 3,4,5-trifenil-
1,2,4-triazol (25), indicado no esquema 13.



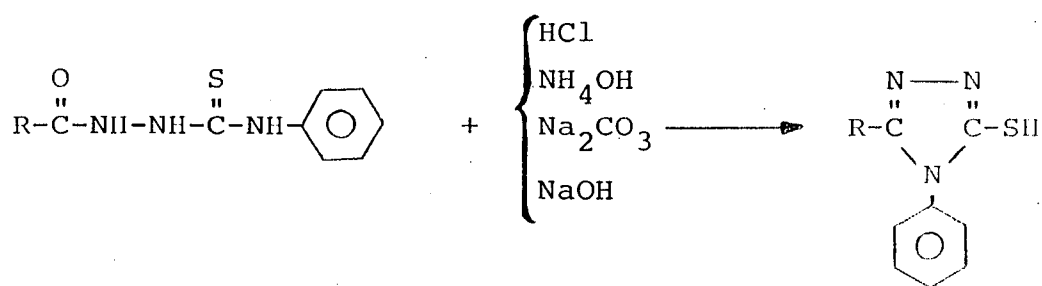
ESQUEMA 13

1,4-dibenzoil-S-metilisotiosemicarbazida, (28) tratada
com hidrato de hidrazina, produziu 4,5-diamino-3-fenil-1,2,4-
(4H)-triazol (29), benzidrazida e um composto de fórmula empíri-
ca $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ON}_5$ segundo Hoggarth⁽¹⁷⁾, conforme esquema 14.



ESQUEMA 16

Al. Silberg e Cosma⁽²⁰⁾ sintetizaram triazóis trissubstituídos tratando tiosemicarbazidas com Na_2CO_3 , HCl , NH_4OH , além do clássico NaOH , conforme esquema 17.



ESQUEMA 17

R = Ph (33), p-Cl-C₆H₄ (34), p-NO₂-C₆H₄ (35), p-OH-C₆H₄ (36), o-Cl-C₆H₄ (37), p-NO₂-O-Cl-C₆H₄ (38).

No presente trabalho, os 3,4,5-trissubstituídos-1,2,4-triazóis foram sintetizados através da ciclização das 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazidas apropriadas na presença de NaOH (meio básico), segundo o método de Hoggarth⁽¹⁾ também utilizado por Bennur e col.⁽²¹⁾, e na presença de HCl (meio ácido) utilizado por Silberg e Cosma⁽²⁰⁾.

1.4. ESTUDO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DE INFRAVERMELHO DE 1-ACIL-4-ARIL-TIOSEMICARBAZIDAS E MERCAPTO-TRIAZÓIS.

Tabela II - Dados de absorção no infravermelho de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis 3,4,5-trissubstituídos

| | 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas | mercapto-triazóis |
|---|---------------------------------|-------------------|
| 1. Frequência de estiramento do grupo N-H | existe | não provável |
| 2. Frequência de estiramento do grupo C=O | existe | não existe |
| 3. Frequência de estiramento do grupo C=N | não provável | existe |
| 4. Frequência de estiramento do grupo S-H | não provável | provável |
| 5. Frequência de estiramento do grupo C=S | provável | não provável |

Fazendo-se um estudo de vários trabalhos relacionados com espectros de absorção de infravermelho de tiosemicarbazidas e triazóis pôde-se fazer os seguintes comentários:

1.4.1. Vibração de estiramento do grupo N-H. \checkmark (N-H)

Wiles e Suprunchuk⁽²²⁾ consideram que o espectro de absorção de infravermelho de tiosemicarbazidas, aldeído-tiosemicarbazonas e N-metil derivados destes compostos apresentam vibração de estiramento do grupo NH_2 na região entre $3370 - 3440\text{cm}^{-1}$ e que a vibração de estiramento do grupo NH ocorre na região de $3120 - 3210\text{cm}^{-1}$.

Para Mashima⁽²³⁾ que fez um estudo detalhado em infravermelho de compostos tais como N-N'-bis-carbohidrazida, semicarbazida, tiosemicarbazida, N-N'-bis-tiocarbohidrazida, acetilsemicarbazida, formil-tiosemicarbazida, acetil-tiosemicarbazida a frequência de estiramento do grupo NH_2 aparece em 3330cm^{-1} aproximadamente; a frequência entre $3112 - 3220\text{cm}^{-1}$ seria da sobreposição das bandas de NH_2 e NH. Segundo Rao e Venkataraghavan⁽²⁴⁾ a vibração de estiramento do grupo-NH, ocorre na região próxima à 3100cm^{-1} , para anéis de 5 membros, como por exemplo o imidazol.

1.4.2. Vibração de estiramento do grupo $>\text{C}=\text{O}$. \checkmark (C=O)

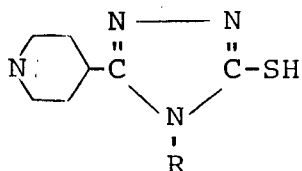
Para os compostos citados anteriormente, Mashima⁽²³⁾ observou que a frequência de estiramento do grupo $>\text{C}=\text{O}$ ocorre na região de $1710 - 1660\text{cm}^{-1}$ aproximadamente.

1.4.3. Vibração de estiramento do grupo C=N. \checkmark (C=N)

Estudos de infravermelho realizados por Dziewōńska⁽²⁵⁾ para compostos cuja estrutura é dada a seguir (39), indicam que

existe uma sobreposição de frequências do grupo C=N com as duplas ligações de C=C aromático na região entre 1609 - 1460 cm^{-1} (1461, 1472, 1480 cm^{-1} bandas fracas; 1498 cm^{-1} banda forte ; 1566, 1576, 1598, 1609 cm^{-1} bandas médias).

Outras frequências indicadas para este grupo são: 1374 cm^{-1} banda fraca; 1405 cm^{-1} banda forte; 1422 cm^{-1} banda média.



R = p-CH₃C₆H₄ (39);

R = m-CH₃C₆H₄ (40);

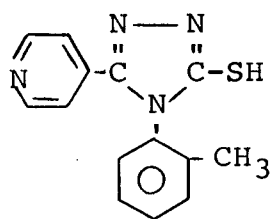
R = o-CH₃C₆H₄ (41);

R = C₆H₄ (42)

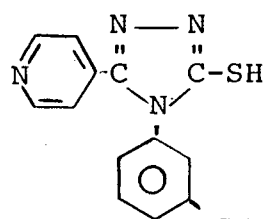
1.4.4. Vibração de estiramento do grupo S-H. $\sqrt{S-H}$

Segundo Bellamy⁽²⁶⁾ a vibração de estiramento do grupo S-H está localizada na região de 2600 - 2550 cm^{-1} aproximadamente e para o grupo S-H livre em 2591 cm^{-1} aproximadamente⁽²⁷⁾.

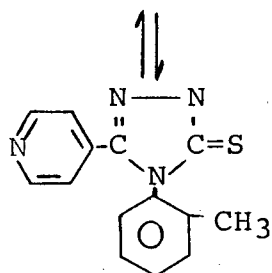
No caso de 3-mercaptop-triazóis, Dziejowska⁽²⁵⁾ considera as frequências de 2416 cm^{-1} (média), 2652 cm^{-1} (média) para (41) = 3-mercaptop-4-(o-tolil)-5-(3- -piridil)-1,2,4-triazol; 2730 cm^{-1} (fraca) para (40) = 3-mercaptop-4-(m-tolil)-5-(3- -piridil)-1,2,4-triazol; 2672 cm^{-1} (fraca), 2780 cm^{-1} (fraca) para (43) = 3-mercaptop-4-(p-tolil)-5-(3- -piridil)-1,2,4-triazol, como devida à ligação NH de tionamidas (-NH-C=S) que existiriam na forma cristalina como é indicado na estrutura (43).



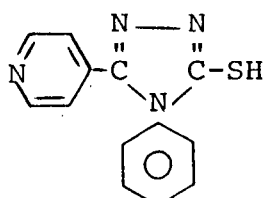
(41)



(40)



(43)



(39)

(39)

1.4.5. Vibração de estiramento do grupo C=S. \checkmark (C=S)

Trabalhos efetuados por Wiles e col.⁽²⁸⁾ e Wiles e Suprunchuk⁽²⁹⁾ mostram que a maior contribuição para o estiramento de C=S está entre $805 - 830 \text{ cm}^{-1}$ em espectros de infravermelho de tiosemicarbazidas.

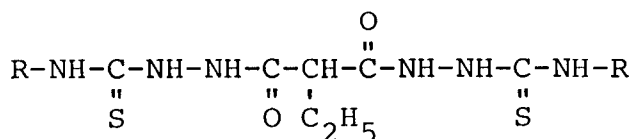
Mashima⁽²³⁾ mostrou que a frequência de estiramento do grupo C=S apresenta-se entre $800 - 860 \text{ cm}^{-1}$.

No entanto, Dziewonska⁽²⁵⁾ considera a frequência de absorção do grupo C=S em $1321 - 1333 \text{ cm}^{-1}$ para mercapto-triazóis.

Rao e Venkataraghavan⁽³⁰⁾ consideram que a frequência de estiramento do grupo C=S ocorre na região de $1140 - 1100 \text{ cm}^{-1}$, embora Dubenko e Pelkis⁽³¹⁾ indicam esta banda na região de $1516 - 1500 \text{ cm}^{-1}$.

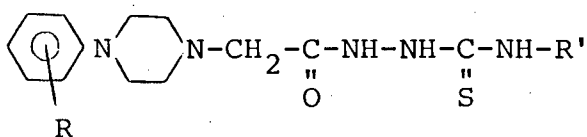
1.5. ATIVIDADE FARMACBIOLÓGICA DE 1-ACIL-4-ARIL-TIOSEMICARBAZIDAS E TRIAZÓIS

Pandey e col.⁽³²⁾ sintetizaram tiosemicarbazidas do tipo:



R = fenil, (44); o-toluil, (45); m-toluil, (46); p-toluil, (47) o-anisol, (48); o-etóxi-fenil, (49); p-cloro-fenil, (50); que foram 100% ativas perante o fungo Bean rust (*Uromyces Phaseoli*).

Segupta e col. (33) constataram que das 18 tiosemicarbazidas por eles sintetizadas, com a estrutura abaixo, 6 mostraram inibição da atividade da acetilcolinesterase (AChE).

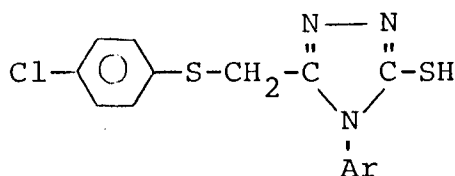


- | | |
|------------------|-------------------|
| (51) R = H | R' = 3-metilfenil |
| (52) R = H | R' = 4-bromofenil |
| (53) R = 3-metil | R' = fenil |
| (54) R = 3-metil | R' = 3-metilfenil |
| (55) R = 3-metil | R' = 4-bromofenil |
| (56) R = 4-metil | R' = 2-metilfenil |

Isto é de grande interesse, pois sabe-se que os anti-convulsivantes inibem esta enzima.

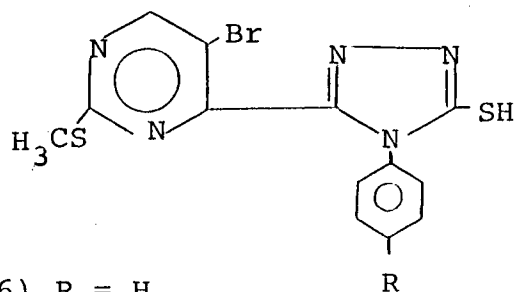
Recentes estudos efetuados por Sing e col. (34) indicaram a atividade anticonvulsivante de algumas tiosemicarbazidas e suas capacidades para inibir o NAD e posteriormente a Acetilcolinesterase (AChE).

Bahadur e col. (35) sintetizaram triazóis, cuja estrutura está indicada a seguir, que foram ativos perante o Raniket disease virus (RDV).



Ar = fenil, (57); 4-CH₃-C₆H₄- , (58); 2-o-CH₃C₆H₄- , (59);
 4-o-CH₃C₆H₄- , (60); 2-o-C₂H₅C₆H₄ , (61); 4-o-C₂H₅C₆H₄- ,
 (62); 3-Cl-C₆H₄- , (63); 4-Cl-C₆H₄- , (64); 4-Br-C₆H₄- (65).

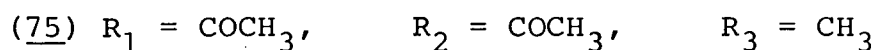
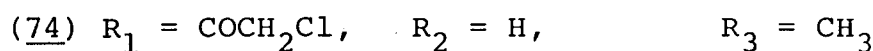
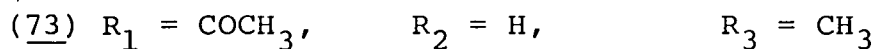
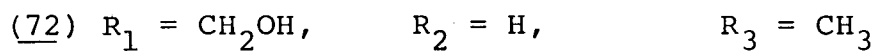
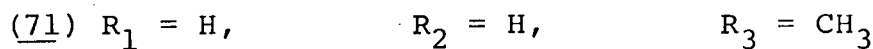
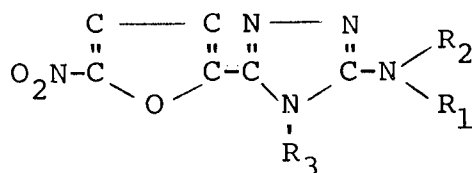
Bennur e col. (21) prepararam triazóis, cuja estrutura está dada abaixo, que mostraram-se ativos perante *Stafilococcus aureus*, *Escheriquia coli*, *Candida albicans*, *Criptococcus neofor-*
mans.



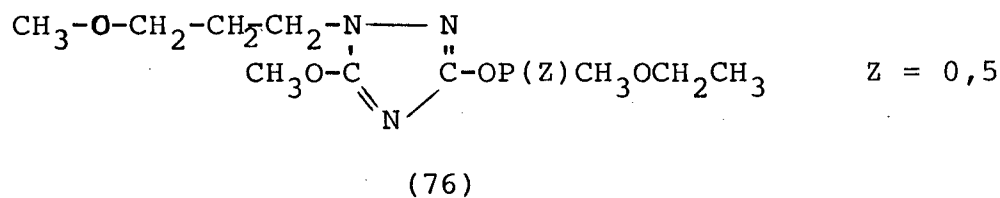
- (66) R = H
 (67) R = Br
 (68) R = CH₃
 (69) R = OCH₃
 (70) R = OC₂H₅

A atividade máxima observada, foi quando R = H.

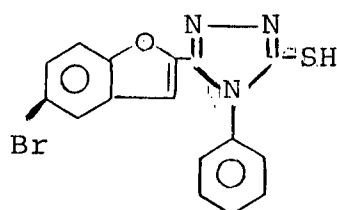
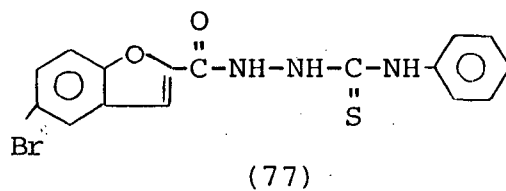
Estudos recentes feitos por Akerblon e col. (36) com nitrofuril derivados de 1,2,4-triazóis, cuja estrutura está mostra da a seguir, têm mostrado atividade bactericida em tratamento de infecções urinárias.



Gsell e Meyer⁽³⁷⁾ sintetizaram derivados de triazóis (76) e verificaram que os mesmos apresentavam atividade inseticida, acaricida e nematocida.



Também Maheswari e col.⁽³⁸⁾ sintetizaram triazóis a partir de tiosemicarbazidas (77) refluxando as mesmas com NaOH 4% e obtendo (78). Atividade antitubercular e fungicida foi observada para alguns compostos.



CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

2.1. INSTRUMENTAÇÃO

Os espectros de infravermelho (IV) foram efetuados em espectrofotômetro Perkin Elmer modelo 720.

Todos os espectros foram obtidos em fase sólida, 2 a 3% de amostra em KBr. As pastilhas foram preparadas por meio de uma prensa Perkin Elmer, segundo as técnicas descritas por Hannah e Swinehart⁽⁴⁰⁾.

Na identificação dos compostos usou-se também o método de ressonância magnética nuclear. (RMN).

Os espectros foram obtidos em CDCl_3 e CCl_4 e MD_3OD em aparelho Varian modelo EM-360, 60 MHz, efetuados no instituto de Química (USP) e em aparelho Varian modelo XL 100, 100 MHz efetuado no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (UFRJ), ambos utilizando como padrão interno de referências o tetrametilsilano (TMS).

As amostras orgânicas foram secadas em pistola de secagem (aparelho de secagem de Abderhalden, vide fig. 7) p.39.

As análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinadas em aparelho Perkin Elmer modelo 240, também no Instituto das Químicas (USP).

Os pontos de fusão foram determinados em um calorímetro diferencial de varredura, modelo DSC-2, sendo que a temperatura máxima possível de se determinar foi de 200°C , motivo pelo qual não determinou-se alguns p.f.

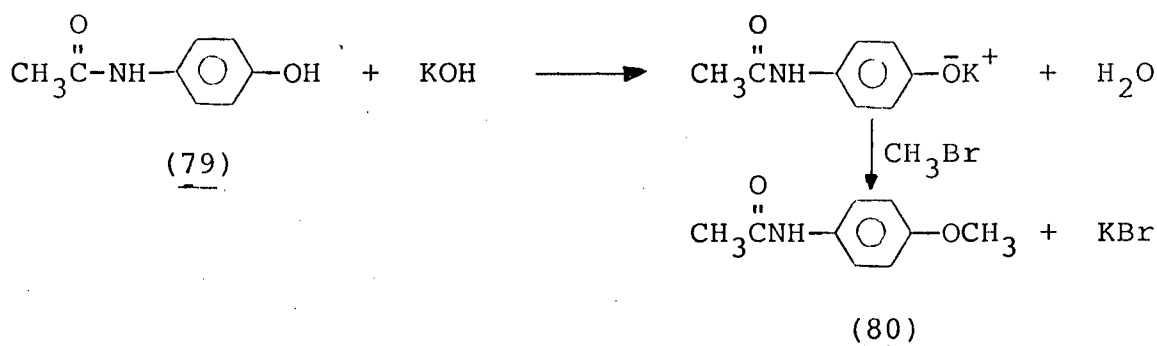
2.2. MATERIAIS

Os compostos p-hidroxi-acetanilida, brometo de metila, benzeno, brometo de potássio, éter dietílico, hidrazina hidratada e tetracloreto de carbono foram adquiridos da Merck (Rio de Janeiro) com pureza considerada satisfatória.

Os compostos hidróxido de sódio e potássio, dissulfeto de carbono, nitrato de chumbo, e todos os ésteres (exceto o hexadecanoato de metila), utilizados nas sínteses das tiosemicarbazidas foram adquiridos da Reagen (Rio de Janeiro), também de pureza satisfatória.

2.3. SÍNTESE E IDENTIFICAÇÃO

2.3.1. Síntese de p-metoxi-acetanilida



ESQUEMA 18

Método

Em um balão de 250 ml de fundo redondo de três bocas e quipado com um funil de adição e um condensador de refluxo, foram introduzidos 0.1 mol de p-hidróxiacetanilida e 75 ml de etanol com agitação magnética. A mistura foi aquecida, quando então foram adicionados 0,125 moles de KOH dissolvido em um mínimo de

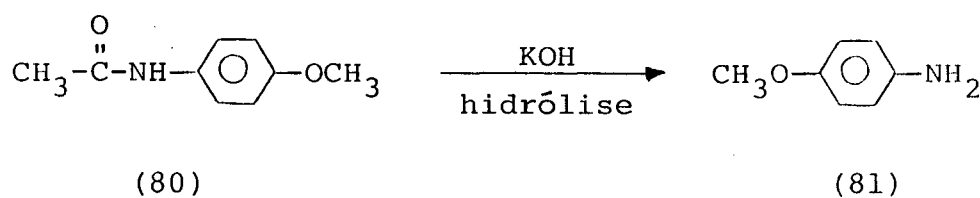
água. Juntou-se então, 0,11 moles de brometo de metila dissolvido em 25 ml de etanol, através de um funil de adição. Uma vez adicionados todos os reagentes, mantém-se a mistura reacional em refluxo por aproximadamente uma hora. Em seguida, evapora-se o etanol em rotavapor e verte-se a solução sobre 200 ml de água, para remover o KBr formado no meio. Resfria-se a mistura na geladeira - por aproximadamente 12 horas.

O sólido obtido é filtrado a vácuo e lavado com água até o filtrado apresentar pH neutro. Após, é recristalizado em metanol e secado em estufa, a 50°C por 4-6 horas aproximadamente.

A pureza do composto foi confirmada por cromatografia de camada delgada (CCD).

O ponto de fusão da p-metoxi-acetanilida (80) foi de 131,1°C (literatura, 130-2°C). O rendimento da reação foi de 82%.

2.3.2. Síntese de p-metóxi-anilina



ESQUEMA 19

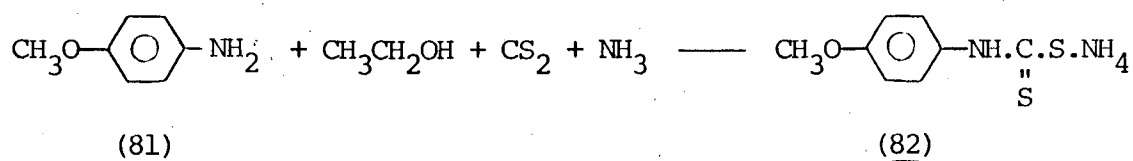
Método

Em um balão de 250 ml, fundo redondo, equipado com condensador de refluxo, funil de adição e agitador magnético, foram adicionados 0.05 moles de p-metóxiacetanilida dissolvida em 50ml de etanol. A mistura foi aquecida até 50°C, por 5 horas. Durante o refluxo, adicionou-se 20 ml de KOH 20 N, através do funil de

adição. A p-metóxi-anilina foi extraída com benzeno e posteriormente com éter etílico, o qual foi secado com KOH. O benzeno e o éter etílico foram eliminados em rotavapor, para obter-se somente a p-metóxi-anilina. A p-metóxi-anilina foi destilada à pressão reduzida, mostrando na CCD apenas um produto.

O ponto de ebulição do p-metóxi-anilina (81) foi de 241,5°C (literatura 240 - 243°C); O rendimento da reação foi de 72%.

2.3.3. Síntese de p-metoxifenil-ditiocarbamato de amônio



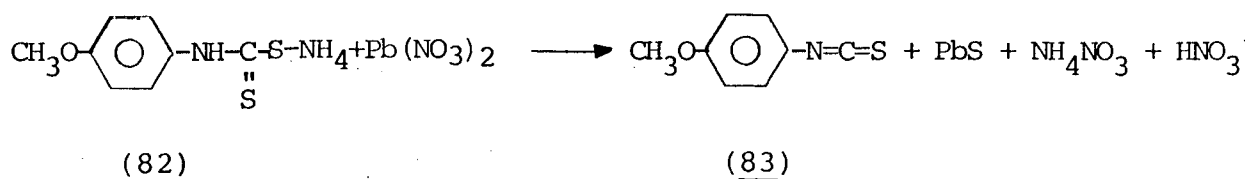
ESQUEMA 20

Método

Em um balão de 2000 ml foram colocados 0,26 moles de p-metoxianilina com 40 ml de etanol. Adicionou-se 24 ml de CS₂ com agitação vigorosa, e em banho de gelo, para manter a mistura reacional a 10°C aproximadamente. Juntou-se então, cautelosamente durante 30 min, 41 ml de NH₃. A mistura reacional repousou por 12 horas na geladeira e o precipitado de cor amarela, foi filtrado e lavado com éter por várias vezes.

O p-metoxifenil-ditiocarbamato de amônio (82), foi usado para a reação posterior, em seguida, por se tratar de um composto bastante instável.

2.3.4. Reação de obtenção de p-metoxifenil-isotiocianato



ESQUEMA 21

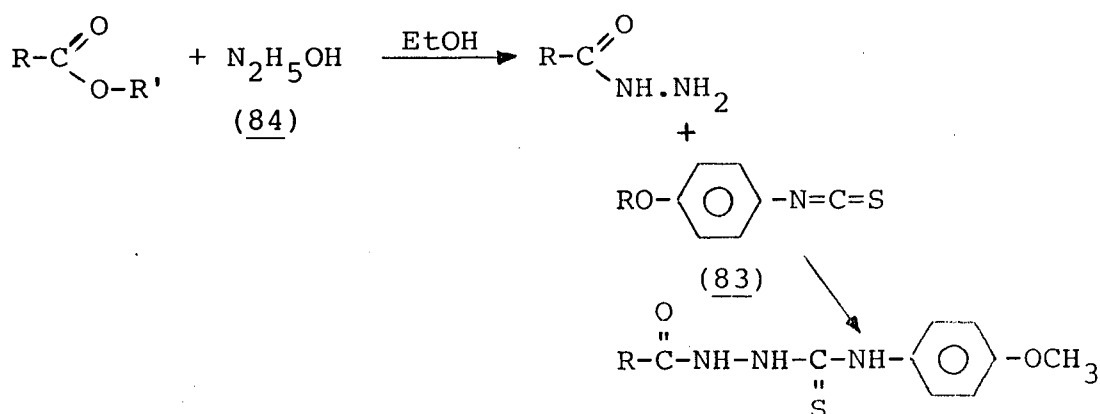
Método

Em um balão de 2000 ml, dissolveu-se o p-metoxifenil-ditiocarbamato de amônio em aproximadamente 1 litro de água destilada. Adicionou-se lentamente e com agitação freqüente uma solução de nitrato de chumbo (87 gr de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em 175 ml de água destilada). Fez-se então destilação por arraste com vapor, da qual se obteve o produto, juntamente com água. O p-metoxifenil-isotiocianato foi extraído com éter etílico e evaporado em rotavapor.

A cromatografia em camada delgada, acusou a formação de uma mancha.

O ponto de ebulição foi de 280,5 - 281,5°C (literatura 280 - 81°C) e o rendimento da reação foi de 70%.

2.3.5. Métodos gerais de obtenção das l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas.



ESQUEMA 22

Método

As sínteses das 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas, foram realizadas segundo o esquema 22.

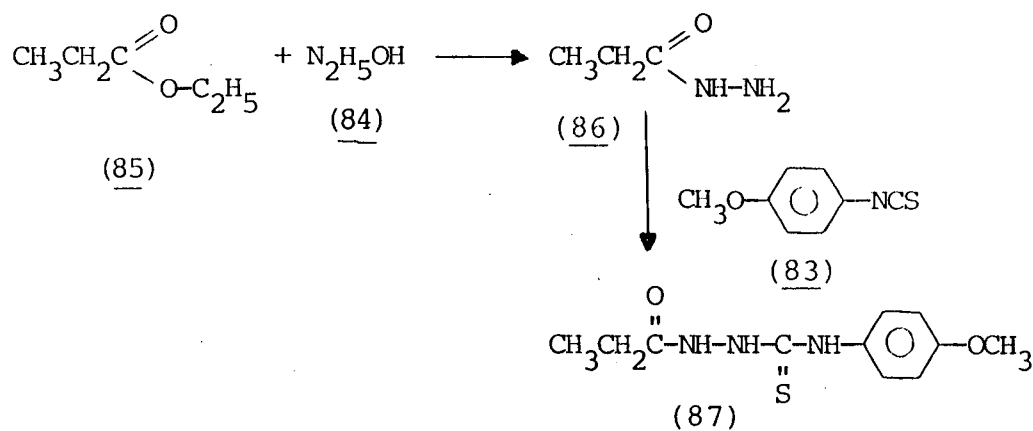
Em um balão de 250 ml com três bocas, equipado de condensador de refluxo e funil de adição, foram colocados 0.02 moles de hidrazina hidratada (84) com 0.02 moles de éster apropriado. A mistura reacional foi refluxada por 12-14 horas aproximadamente. Após refluxo, foi deixada em repouso, na geladeira, por 2 horas aproximadamente. O solvente foi eliminado em rotavapor.

A acil-hidrazida (produto da reação entre o éster e a hidrazina) foi destilada à pressão reduzida, ou recristalizada em metanol, caso se apresentasse líquida ou sólida.

Em seguida, a acil-hidrazida foi colocada em um balão de 250 ml equipado de condensador de refluxo com 40 ml de CCl_4 . Após refluxo de 15 min. colocou-se 0,02 moles de p-metoxifenil-isotiocianato (83) dissolvido em 50 ml de CCl_4 . A mistura foi refluxada por 2-3 horas. Após o refluxo foi deixada em repouso na geladeira por 2 horas. A 1-acil-4-aril-tiosemicarbazida foi filtrada e lavada várias vezes com etanol.

Após 2 a 3 recristalizações em metanol, obteve-se o produto puro.

As seguintes tiosemicarbazidas foram obtidas pelos métodos descritos acima:

2.3.5.1. Síntese de p-metoxifenil-propanoil-tiosemicarbazida.ESQUEMA 23

O produto apresenta fórmula molecular $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_3\text{S}$ e peso molecular igual a 253.

O ponto de fusão foi 174,5 - 176°C. O rendimento da reação foi de 78,3% .

O espectro de absorção no infravermelho (fig.1) apresentou duas bandas em 3260 cm^{-1} e 3160 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramentos de NH; em 1680 cm^{-1} uma banda correspondente à carbonila e em 845 cm^{-1} uma banda provável para a tiocarbonila.

A existência de um único produto foi confirmada pela CCD analítica, a qual acusou uma mancha.

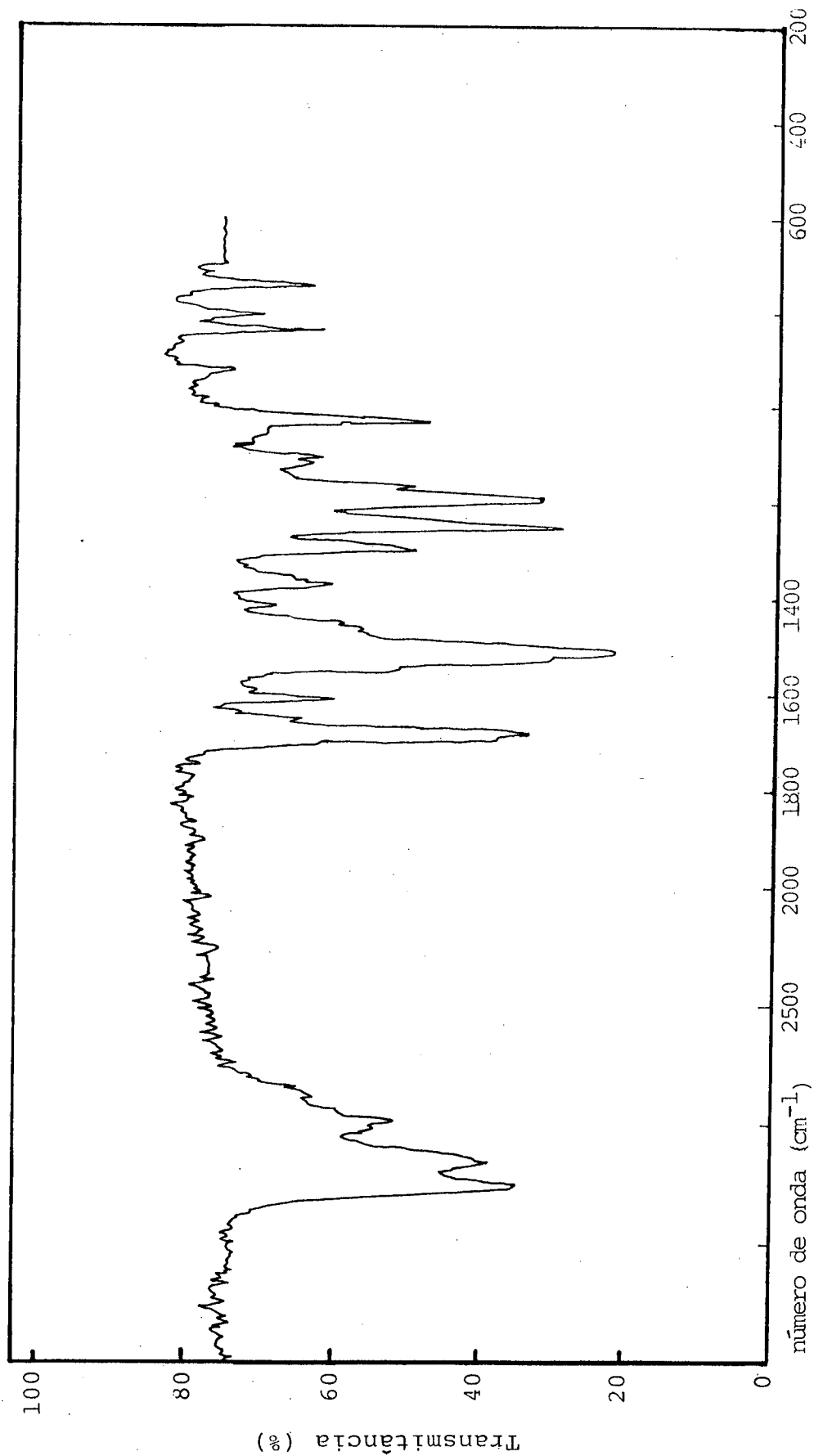
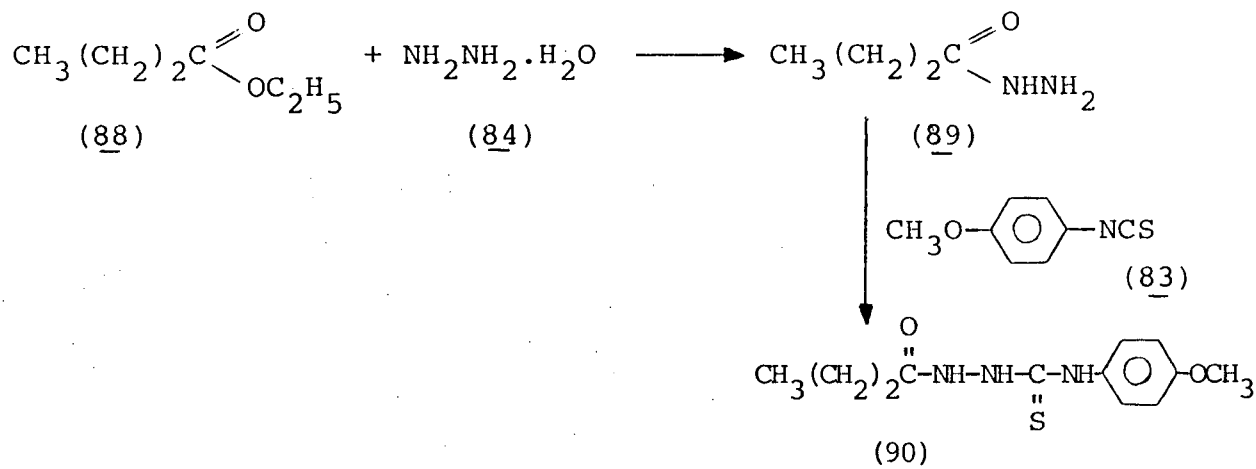


FIGURA 1 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-propionil-tiossemicarbazida.

2.3.5.2. Síntese de p-metoxifenil-butanoil-tiosemicarbazida.



ESQUEMA 24

Método

O produto (90) apresenta fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_3\text{S}$ e peso molecular igual a 267.

O ponto de fusão foi 173,49°C (produto novo) e o rendimento da reação foi de 75%.

A cromatografia em camada delgada revelou uma única mancha.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.2) apresentou duas bandas em 3165 cm^{-1} e 3280 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de NH, em 1639 cm^{-1} uma banda referente à carbonila (C=O) e em 830 cm^{-1} uma banda provável referente à tiocarbanila (C=S)

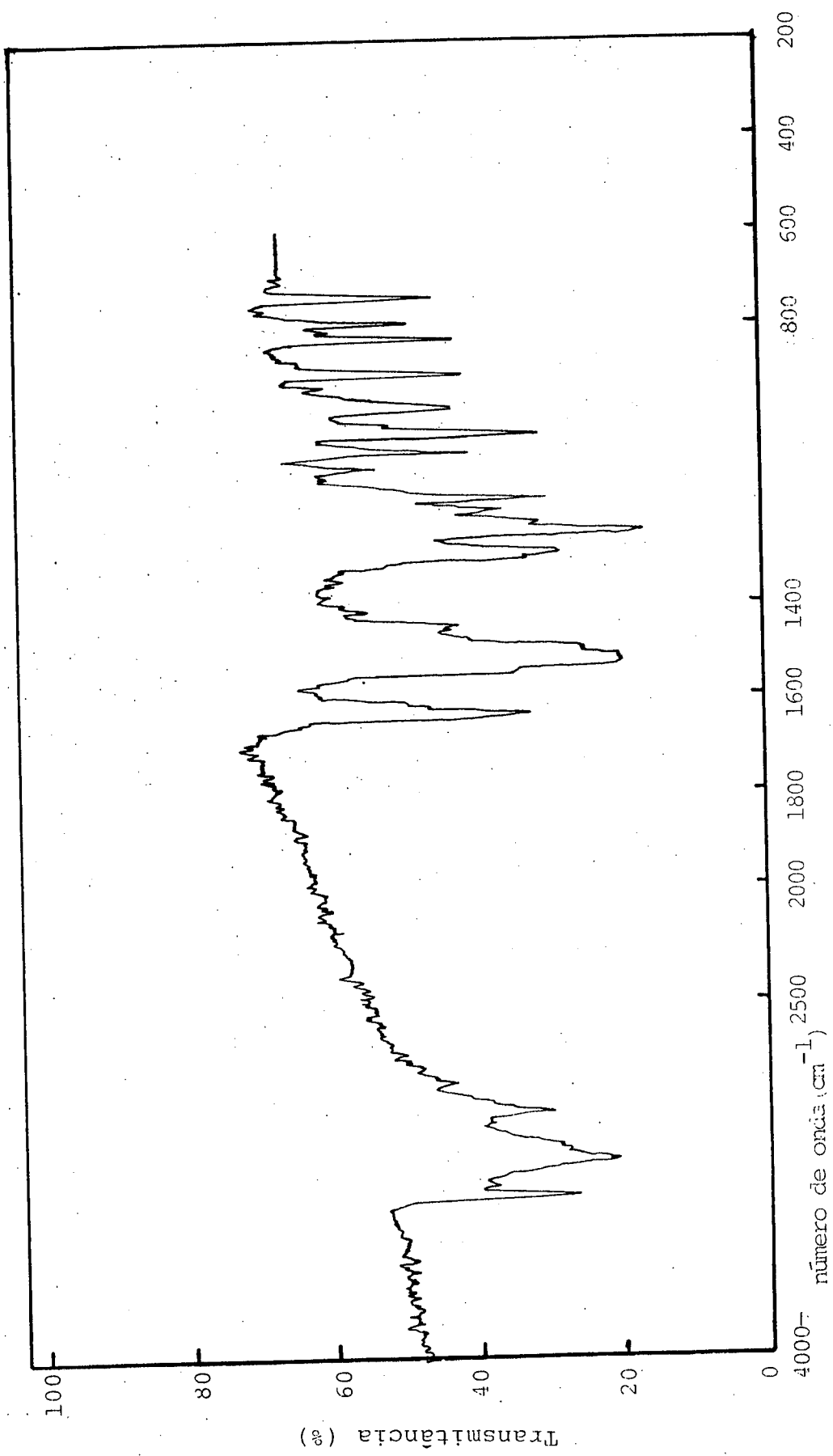
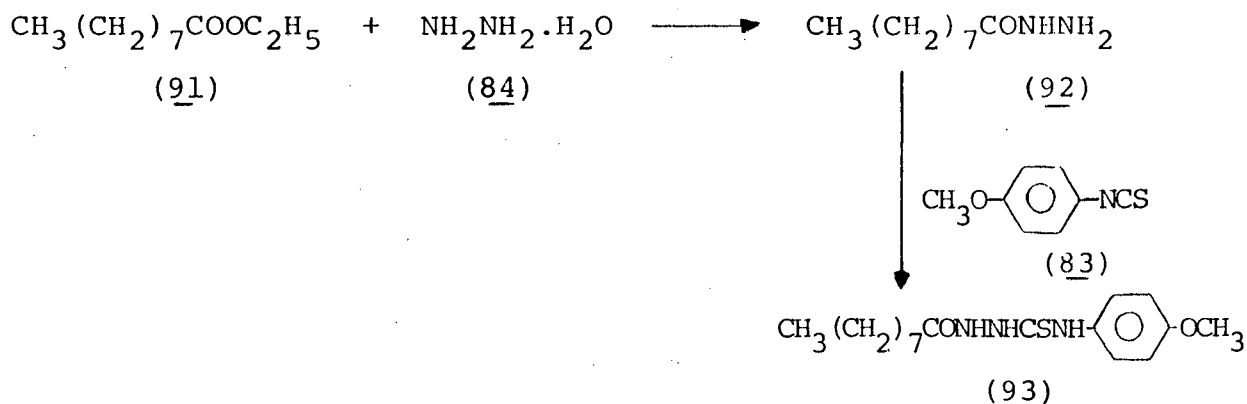


FIGURA 2 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-butanoil-tiosemicarbazida.

2.3.5.3. Síntese de p-metoxifenil-nonanoil-tiosemicarbazida



ESQUEMA 25

Método

O produto (93) apresenta fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_3\text{S}$ e peso molecular 337.

O ponto de fusão foi 145,3 - 146,5°C (composto novo) e o rendimento da reação foi 80,4%.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.3) apresentou três bandas em 3170 cm^{-1} , 3270 cm^{-1} e 3310 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de NH, em 1635 cm^{-1} uma banda referente à carbonila (C=O) e em 832 cm^{-1} uma banda provável referente à tio-carbonila (C=S).

A cromatografia em camada delgada revelou uma única mancha.

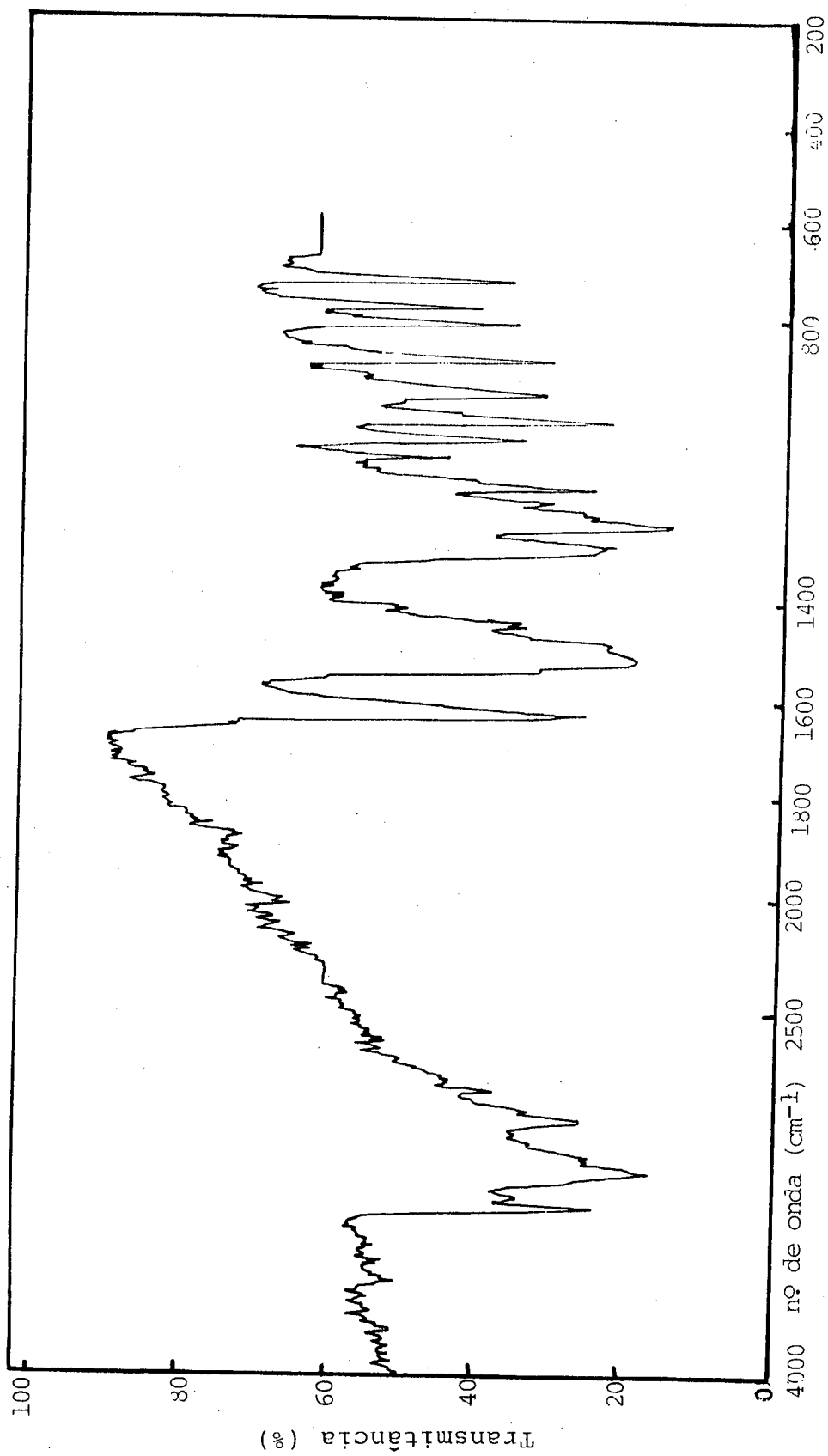
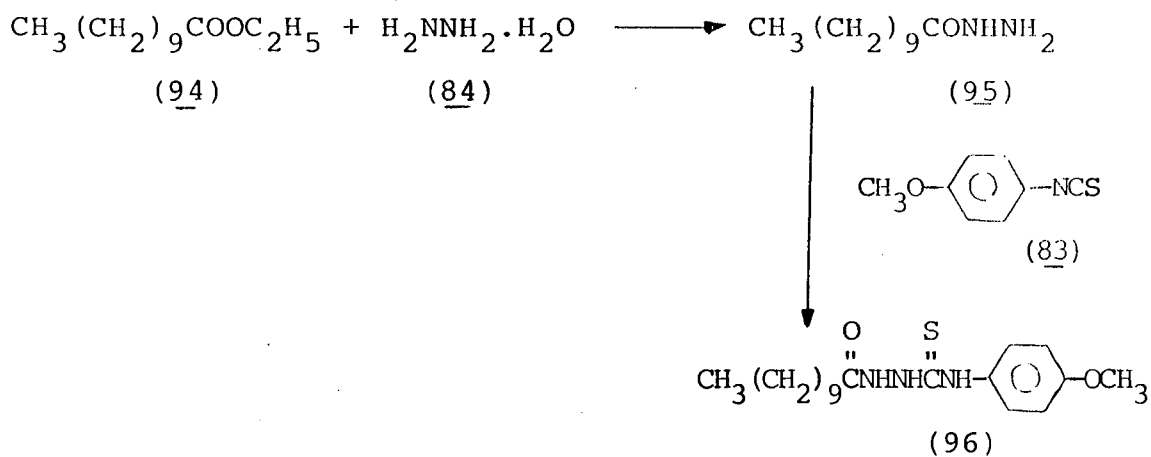


FIGURA 3 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-monoal-tiosemicarbazida.

2.3.5.4. Síntese de p-metoxifenil-undecanoil-tiosemicarbazidaESQUEMA 26Método

O produto (96) apresenta fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{O}_2\text{N}_3\text{S}$ e peso molecular 356.

O ponto de fusão foi de $148,8^\circ\text{C}$ e o rendimento da reação foi 80,5%.

A cromatografia em camada delgada acusou uma única mancha.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.4) apresentou duas bandas em 3310 cm^{-1} e 3175 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de NH; em 1640 cm^{-1} uma banda correspondente à carbonila (C=O) e em 830 cm^{-1} uma banda provável, correspondente à tio carbonila (C=S).

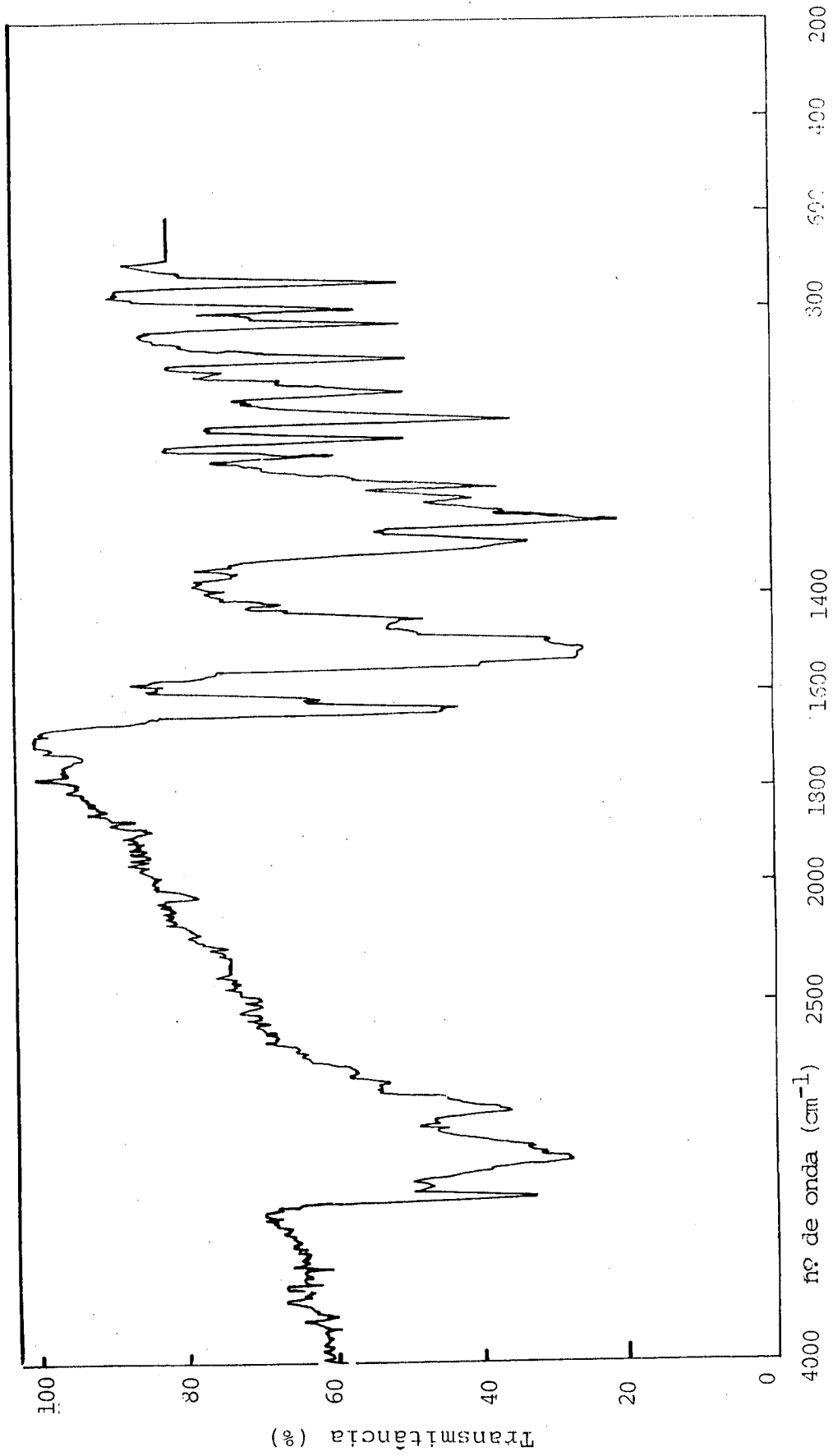


FIGURA 4 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-undecanoil-tiosemicarbazida.

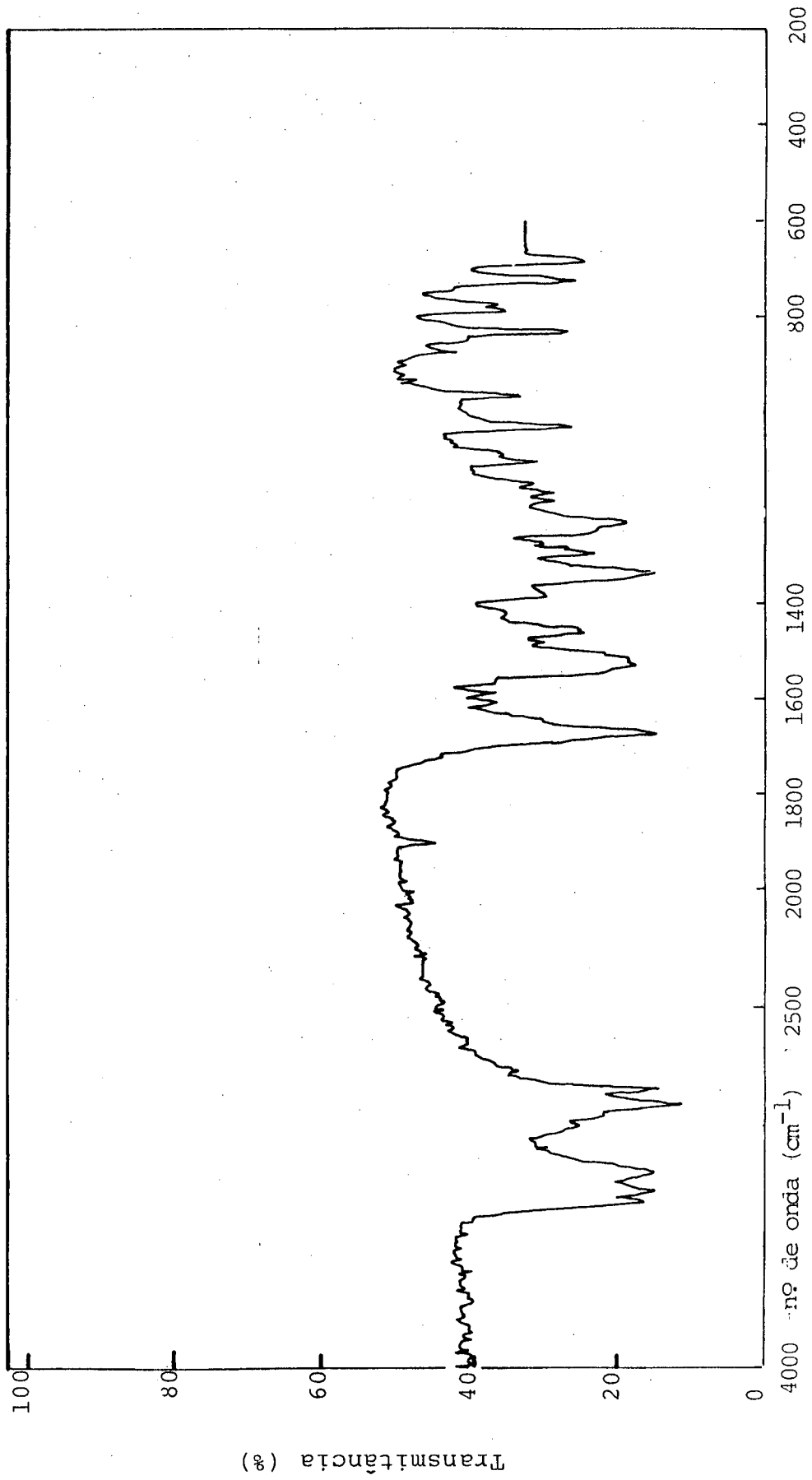
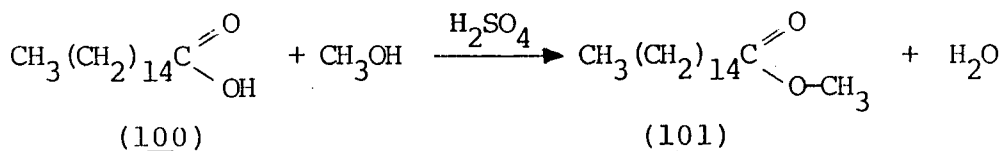


FIGURA 5 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-tetradecanoil-tiosemicarbazida.

2.3.5.6. Síntese de p-metoxifenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida

Para sintetizar a tiosemicarbazida foi necessário sintetizar o respectivo éster ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOCH}_3$)



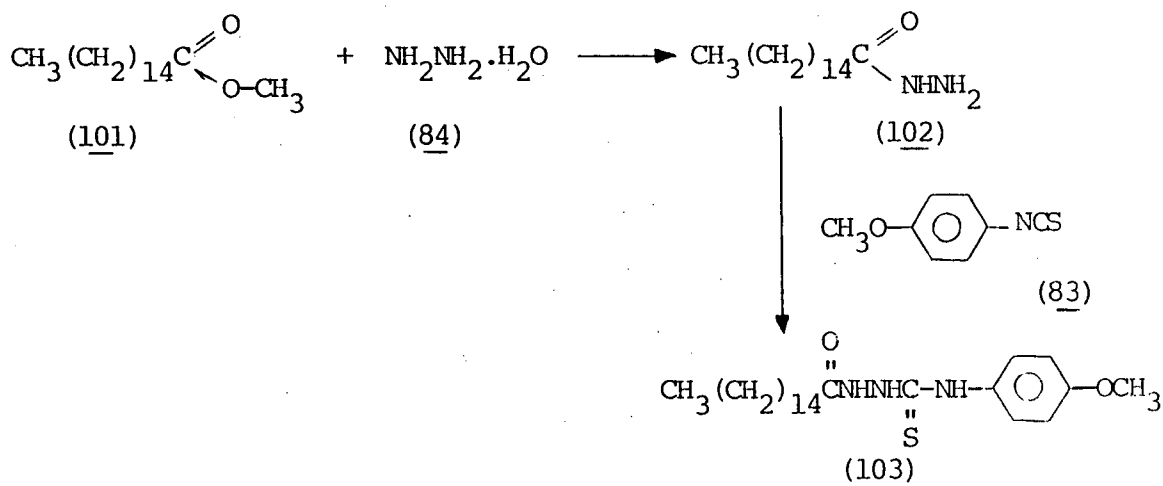
Método

Colocou-se em um balão de fundo redondo de 500 ml provido de um condensador e de agitação magnética 0,5 moles do ácido correspondente (palmítico) e 300 ml de metanol.

Adicionou-se vagarosamente e com agitação 20 ml de ácido sulfúrico. Refluxou-se a mistura reacional durante 3 horas.

Eliminou-se o metanol em rotavapor e adicionou-se bicarbonato de sódio dissolvido num mínimo de água para extrair o excesso de ácido. Para isolar o éster, fez-se uma extração em funil de separação com éter etílico.

Para reter a água, foram adicionadas algumas pastilhas de hidróxido de sódio. Finalmente, destilou-se o éter etílico; para purificar o éster fez-se uma destilação fracionada.



O produto (103) apresenta fórmula molecular $C_{24}H_{41}O_2N_3S$ e peso molecular 435.

O ponto de fusão foi de $124,8^{\circ}C$ (composto novo) e o rendimento da reação foi 88%.

A cromatografia em camada delgada acusou uma única mancha.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.6) apresentou três bandas em 3200 cm^{-1} , 3310 cm^{-1} e 3286 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de NH, em 1680 cm^{-1} uma banda correspondente à carbonila (C=O) e em 840 cm^{-1} uma banda correspondente à tio-carbonila (C=S).

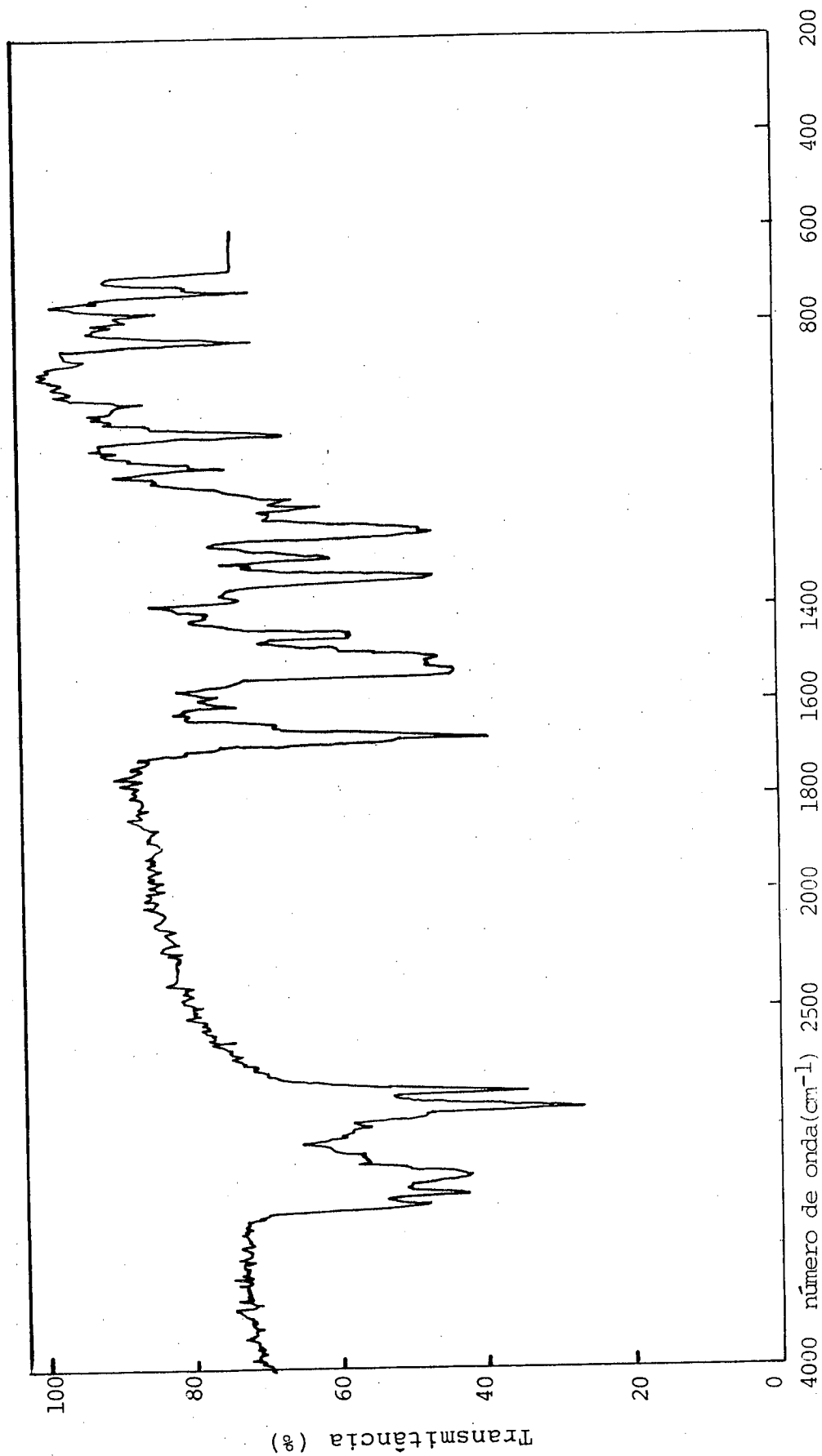
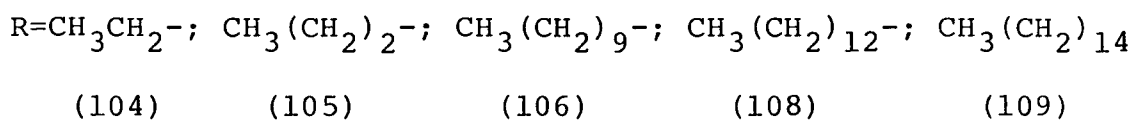
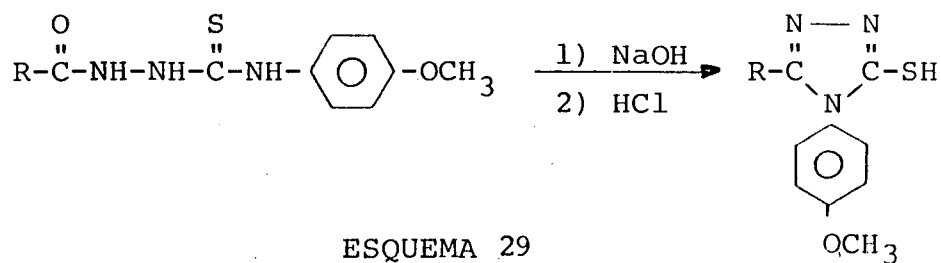


FIGURA 6 - Espectro de absorção no infravermelho de p-metoxifenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida.

2.3.6. Método geral de obtenção de triazóis trissubstituídos

Em um balão de fundo redondo de 125 ml equipado com um condensador de refluxo, foram colocados 0,01 mol da 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazida e 10 ml de NaOH de concentração que variam de 3%, 5%, 8%, 10% e 15%. A mistura foi refluxada por duas horas. Em seguida foi resfriada e acidificada com HCl 10% ocasião na qual se formou um precipitado levemente colorido, de odor característico. A mistura foi deixada em repouso por duas horas na geladeira e posteriormente filtrada e lavada repetidas vezes com água destilada.

O composto puro, foi isolado por cromatografia de camada delgada preparativa e recristalizada em etanol. Após, foi secado em pistola de secagem (aparelho de secagem a vácuo de Abderhalden, fig.7).

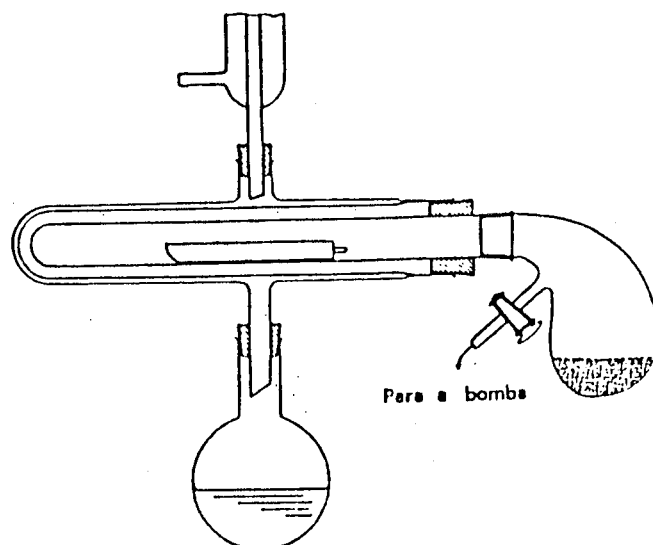
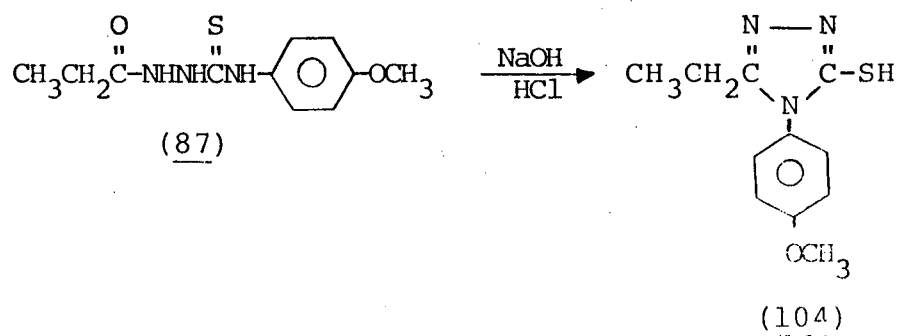


Fig.7

Os seguintes triazóis foram obtidos pelo método descrito na página anterior.

2.3.6.1. Síntese de 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol



O composto (104) tem fórmula molecular $C_{11}H_{13}ON_3S$ e peso molecular 235. O ponto de fusão foi de 189 - 191 °C (composto novo). O rendimento da reação foi 66,4% (1,56 g). A análise elemental experimental foi: C, 55,8%; H, 5,6%; N, 17,3% e calculada C, 56%; H, 5,5%; N, 17,8%.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.8) apresentou em 3110 cm^{-1} uma banda correspondente a vibração de estiramento de NH, em $1420 - 1610\text{ cm}^{-1}$ bandas correspondentes à vibração de estiramento de C=N e C=C; em 1260 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de Ar-O-C, em 835 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de -C=S.

O espectro RMN (fig.9) revelou quatro regiões de absorção: em 1,16δ um triplete correspondente ao grupo metila; em 2,52δ um quadruplete correspondente ao grupo metileno; em 3,83δ um singlete correspondente ao grupo metoxi; em 7,0 - 7,35δ um multiplete correspondente ao anel aromático p-substituído.

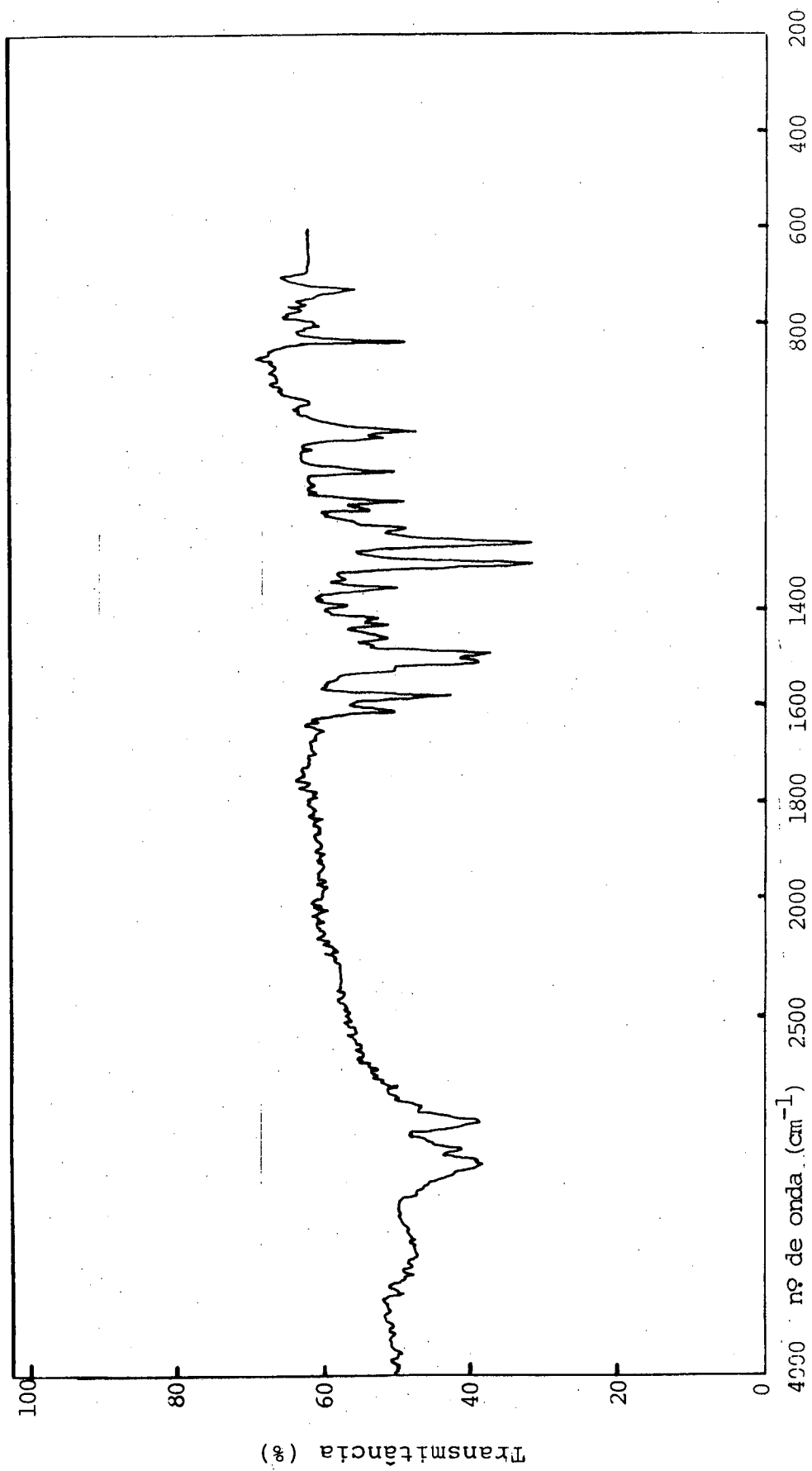


FIGURA 8 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol.

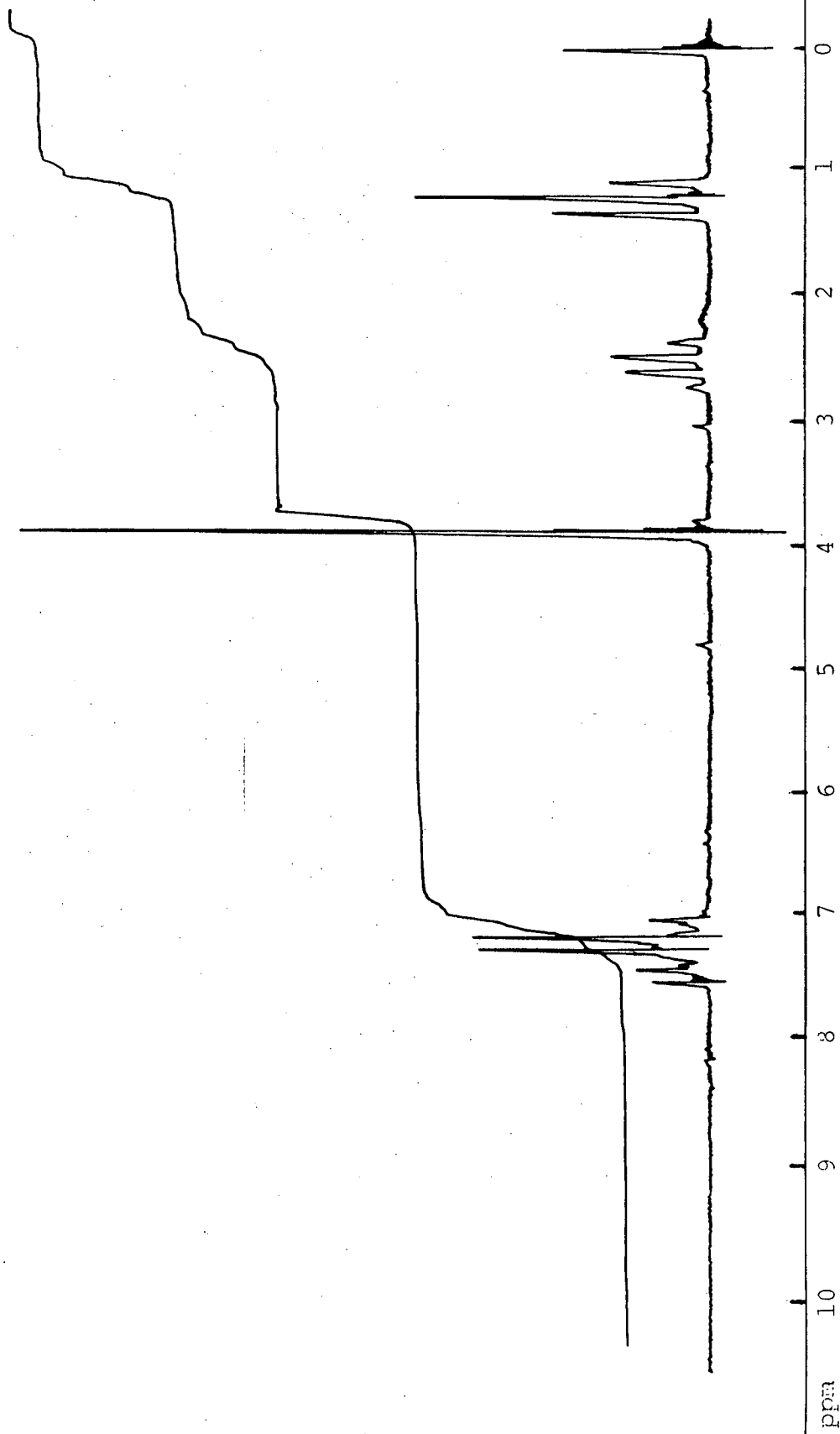
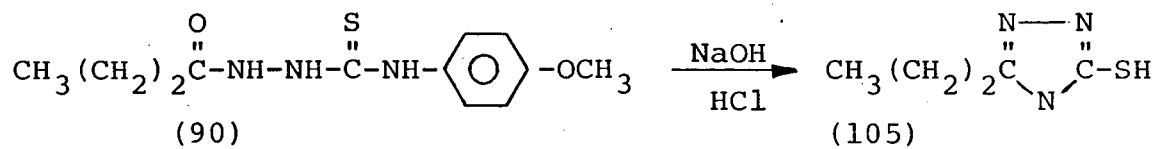


FIGURA 9 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol em $\text{CDCl}_3 + (\text{D}_3\text{C})_2\text{CO}$, 60 MHz

2.3.6.2. Síntese de 3-propil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol



ESQUEMA 30.

O composto (105) tem fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ON}_3\text{S}$ e peso molecular 249. O ponto de fusão obtido foi de 168-169, 5°C (composto novo). O rendimento da reação foi 78,7% (1,96 g). A análise elementar experimental foi: C, 54,3%; H, 5,8% e N, 16,6% e a calculada C, 57,8%; H, 6%; N, 16,8%.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.10) apresentou bandas em 1410-1610 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de C=N e C=C, em 1250 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de Ar-O-C, em 830 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento de C=S, em 3100 cm^{-1} banda correspondente à vibração de estiramento de NH.

O espectro RMN (fig.11) revelou: em 0,80δ um triplete - correspondente ao grupo metila; em 1,50δ um multiplete correspondente ao grupo (CH_2) ligado ao grupo metila; em 2,48δ um triplete correspondente ao grupo metileno ligado ao anel; em 3,85δ um singlete referente ao grupo metoxi; em 6,9-7,4δ um multiplete referente ao anel aromático p-substituído.

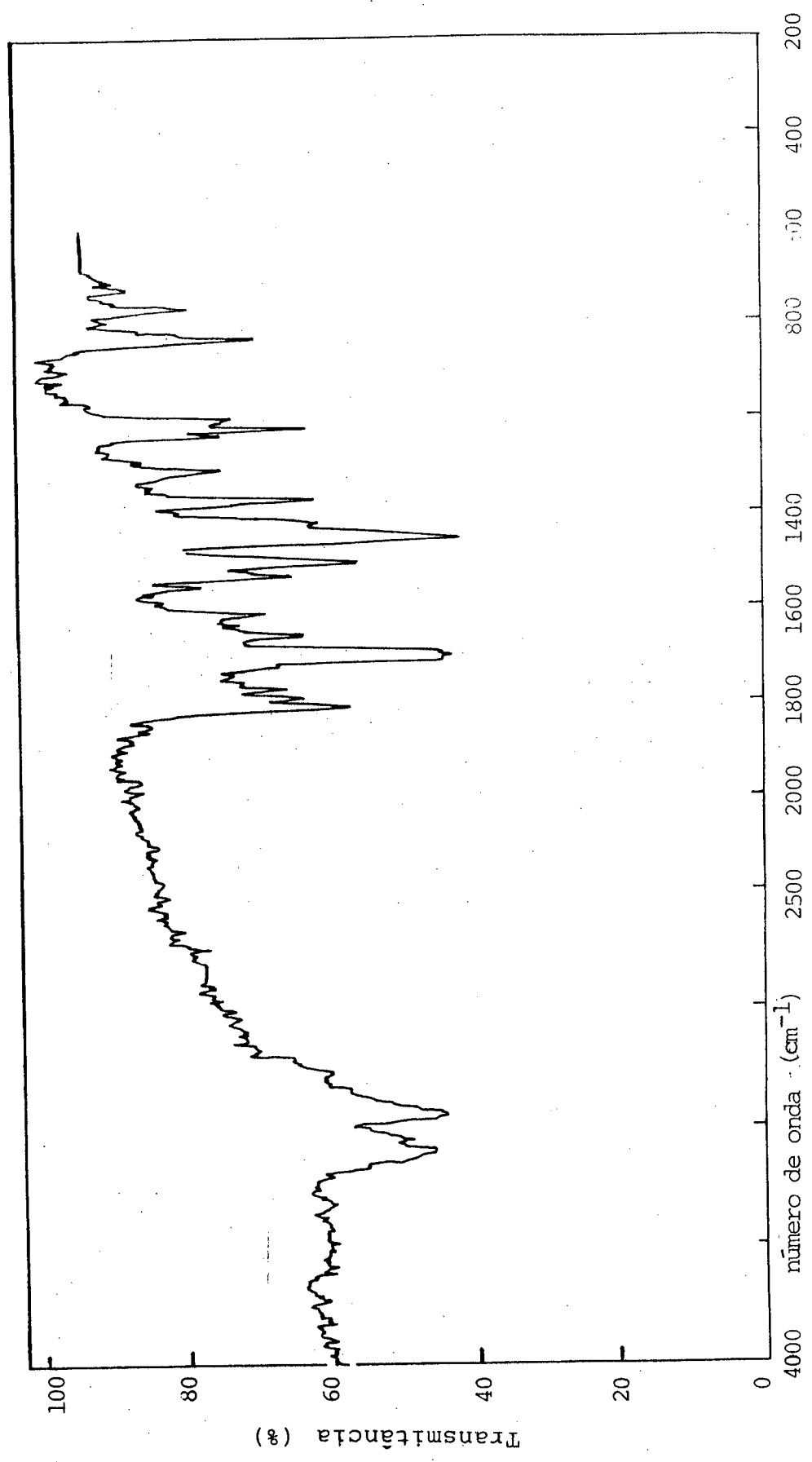
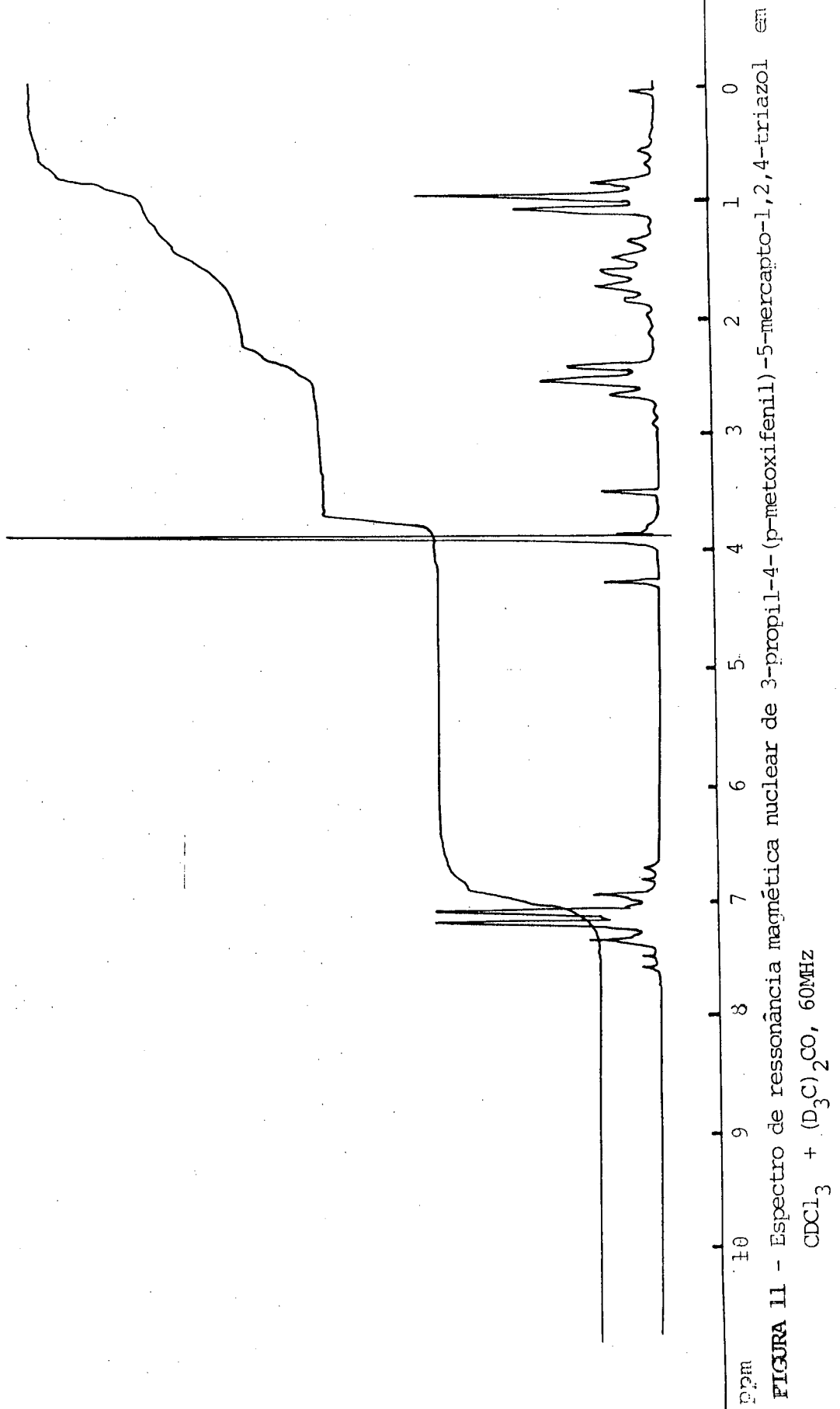
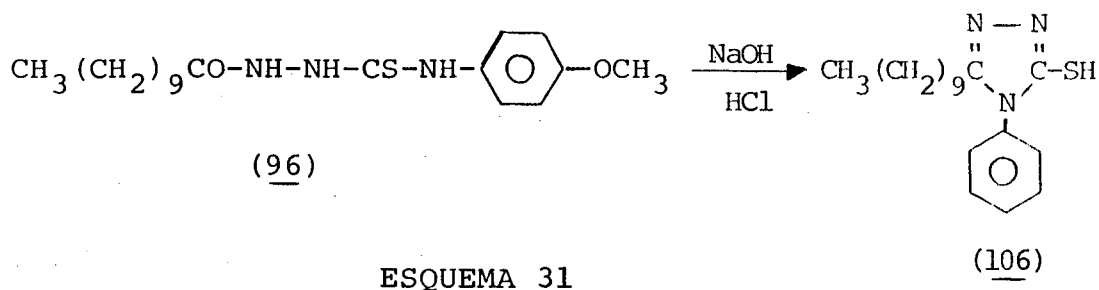


FIGURA 10 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-propil-4-(p-metoxifenil)-5-tetrazol-1,2,4-triazol



2.3.6.3. Síntese de 3-decil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol



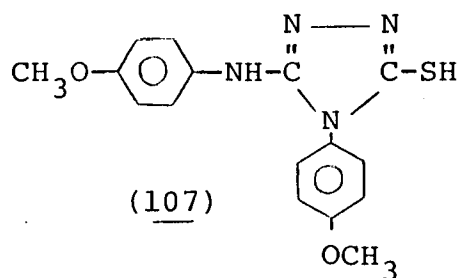
O composto (106) apresenta fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{ON}_3\text{S}$ e peso molecular 347. O rendimento da reação foi de 72,6% (2,52 g).

O espectro de absorção no infravermelho, apresentou bandas em $1420\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$ correspondente à vibração de estiramento de C=N, C=C, em 1240 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de Ar-O-C, em 840 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de C=S, em 3100 cm^{-1} banda correspondente à vibração de estiramento de NH.

O espectro RMN (fig.12) revelou: em $0,85\delta$ um triplete correspondente ao grupo metila; em $1,30\delta$ um multiplete correspondente aos grupos $(\text{CH}_2)_n$; em $2,30\delta$ um triplete correspondente ao grupo metileno ligado ao anel; em $3,85\delta$ um singlete correspondente ao anel aromático p-substituído.

Com a cromatografia em camada delgada pôde-se observar que apareciam duas manchas.

Através da cromatografia de camada delgada preparativa pôde-se separar dois compostos: um, cuja estrutura está indicado pelo composto (106) e outro cuja estrutura provável seria



O composto (107) tem fórmula molecular $C_{16}H_{16}O_2N_4S$ e peso molecular 328. O rendimento da reação foi de 35% aproximadamente.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.15) apresentou bandas em, 3110 cm^{-1} e 3310 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de NH, em $1410 - 1610\text{ cm}^{-1}$ bandas correspondentes à vibração de estiramento correspondentes à C=N e C=C; em 1250 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de Ar-O-C ; em 835 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de C=S.

O espectro de RMN (fig.13) revelou duas regiões de absorção: uma em 6,85δ dois multipletes correspondentes aos anéis aromáticos, e outra em 3,78 e 3,95δ , dois singletes correspondentes aos grupos metoxi.

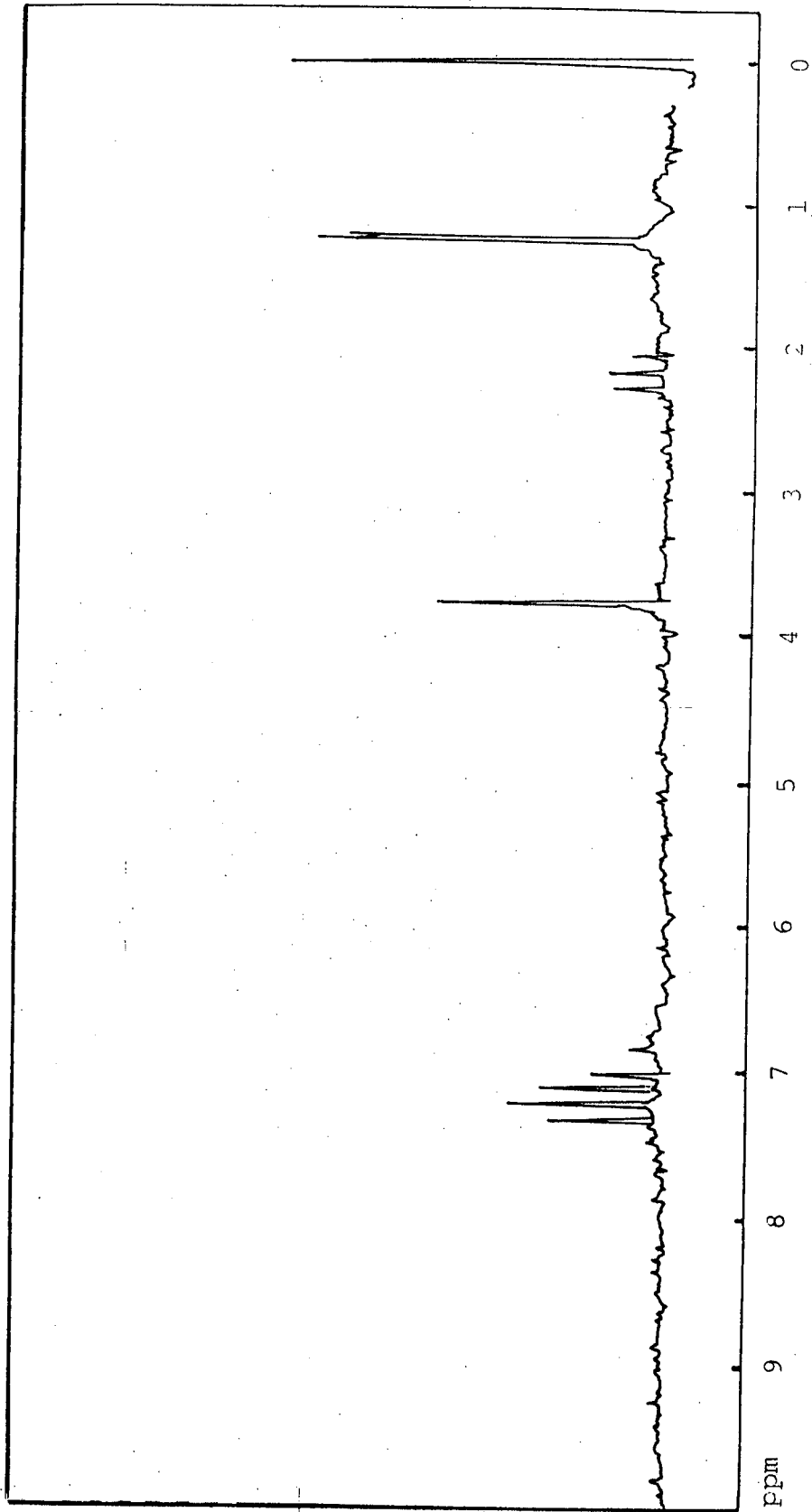


FIGURA 12 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-decil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz

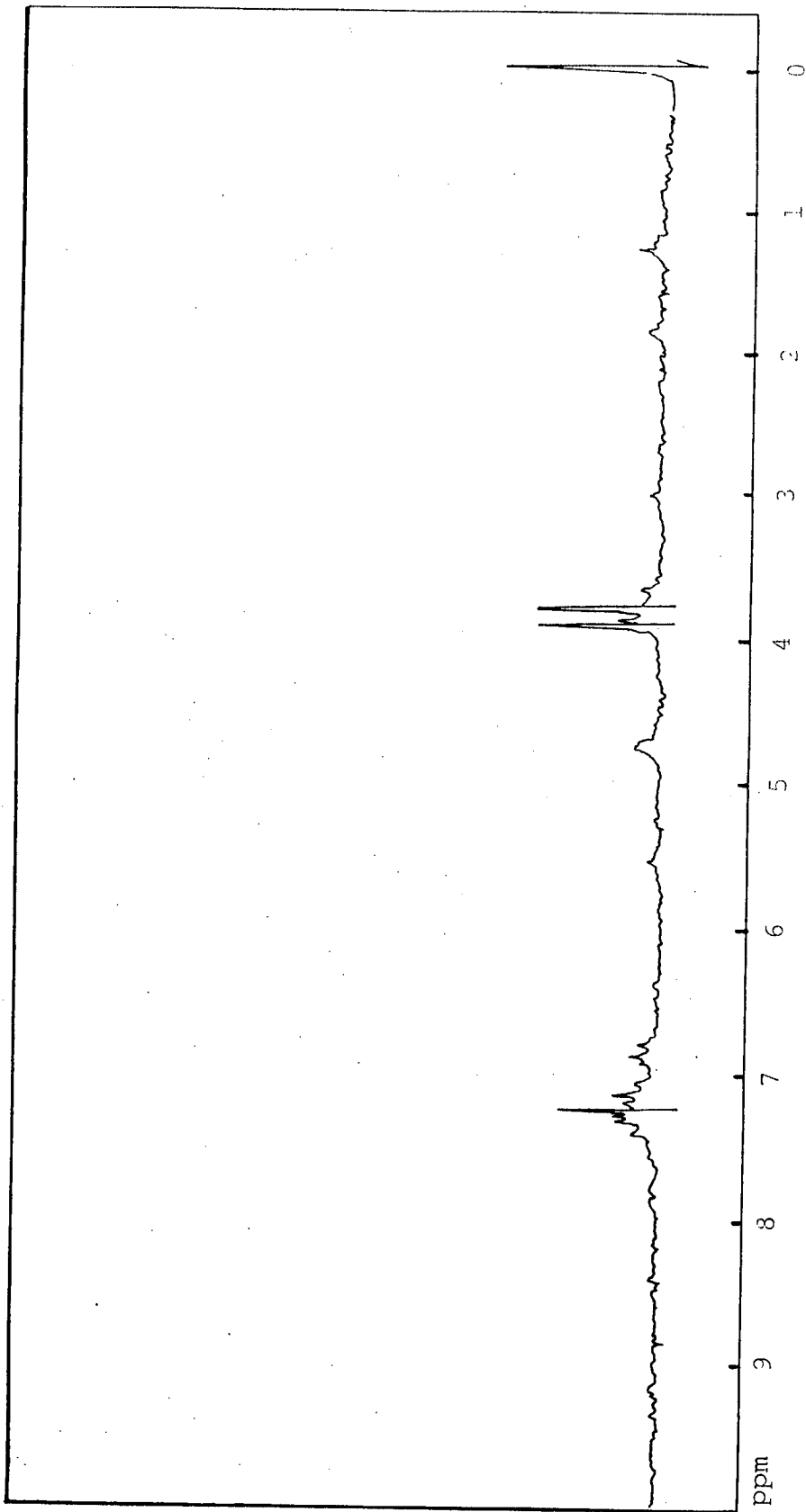
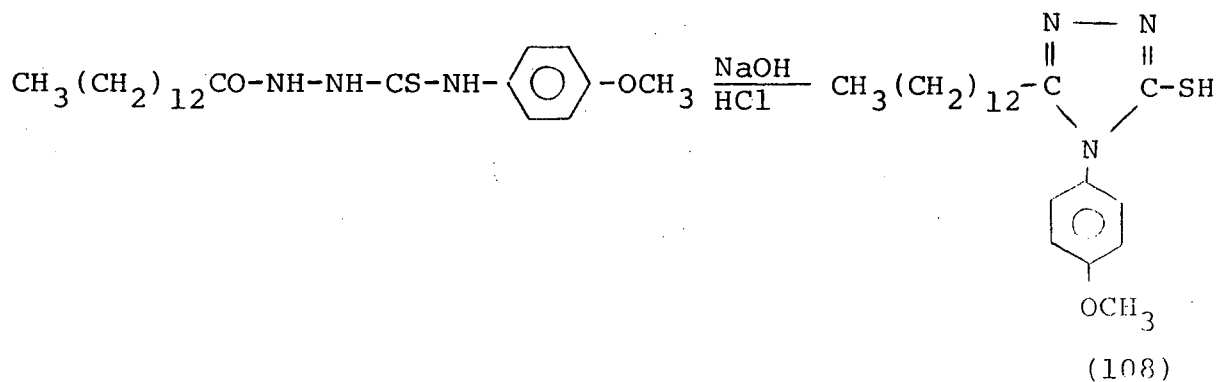


FIGURA 13 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metoxi-anilil)-4-(p-metoxifenil)-5-(mercapto-1,2,4-triazol) em DCl_3 , 100 MHz.

2.3.6.4. Síntese de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol



ESQUEMA 32

O composto (108) tem fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{ON}_3\text{S}$ e peso molecular 389. O rendimento da reação foi de 81,08%.

O espectro de absorção no infravermelho (fig. 14) apresentou bandas em 1420-1610 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento de C=N e C=C, em 1260 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de Ar-O-C, em 835 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de C=S, em 3100 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de N-H.

O espectro de RNM revelou: em 0,85 um triplete referente ao grupo metil; em 1,25 um multiplete correspondente ao grupo $(\text{CH}_2)_n$; em 2,50 um triplete referente ao grupo metileno, ligado ao anel; em 3,85 um singlete referente ao grupo metoxi, e em 6,9-7,25 um multiplete referente ao anel aromático p-substituído.

Após a cromatografia de camada delgada preparativa pôde-se isolar também dois compostos (108) e (107) cujo infravermelho e RNM já foram comentados na páginas 46 e 47.

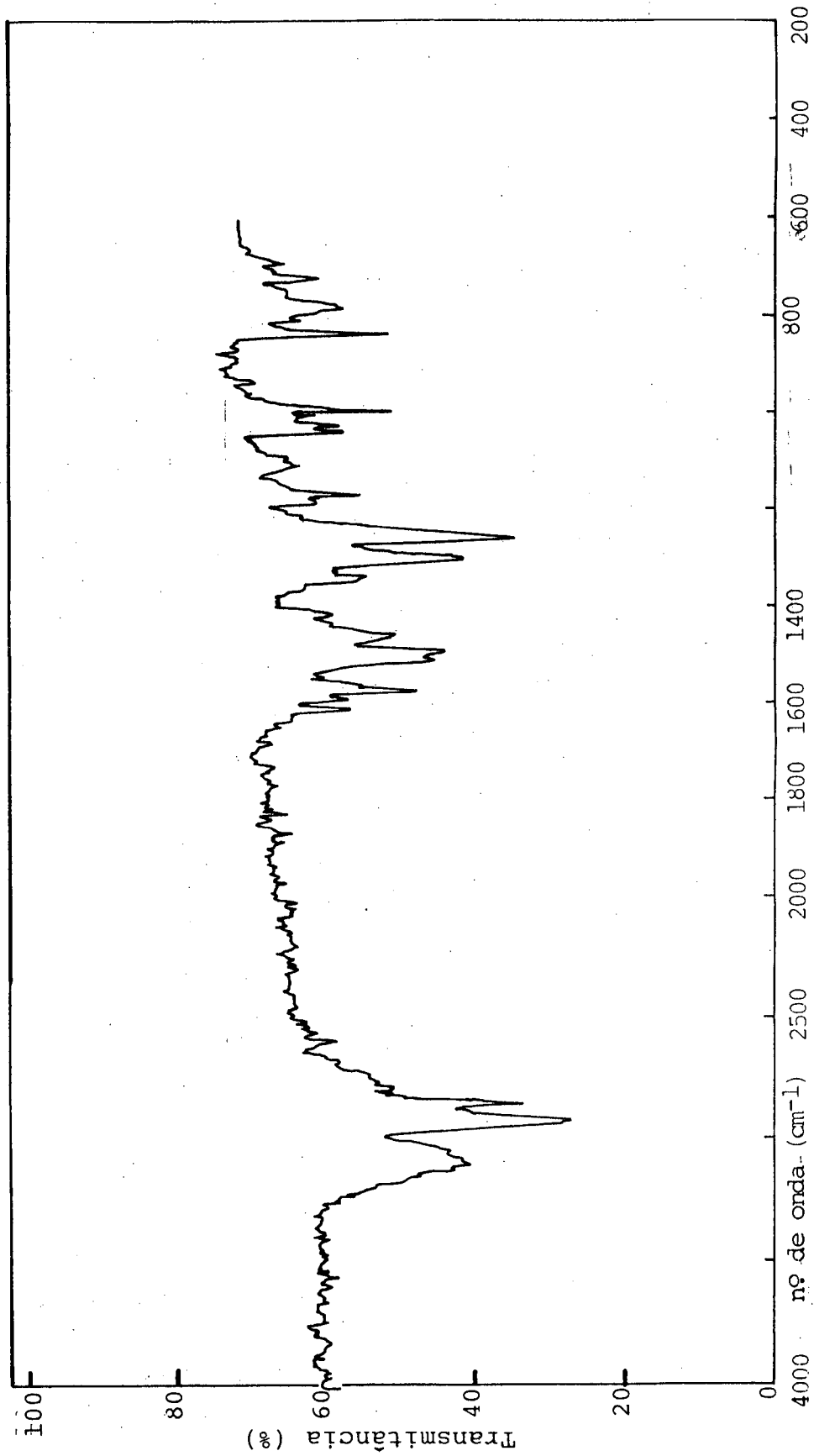


FIGURA 14 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol

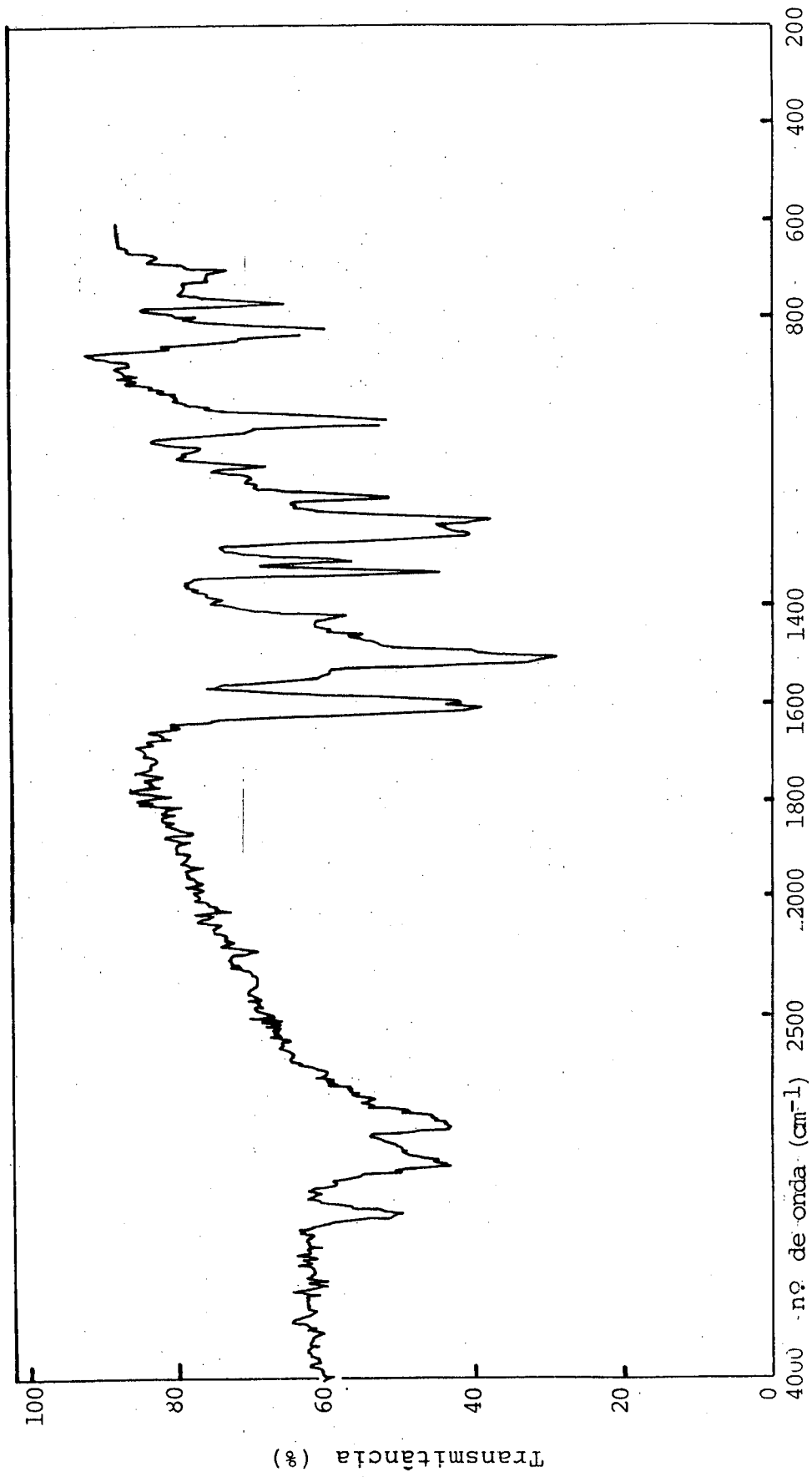


FIGURA 15 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol.

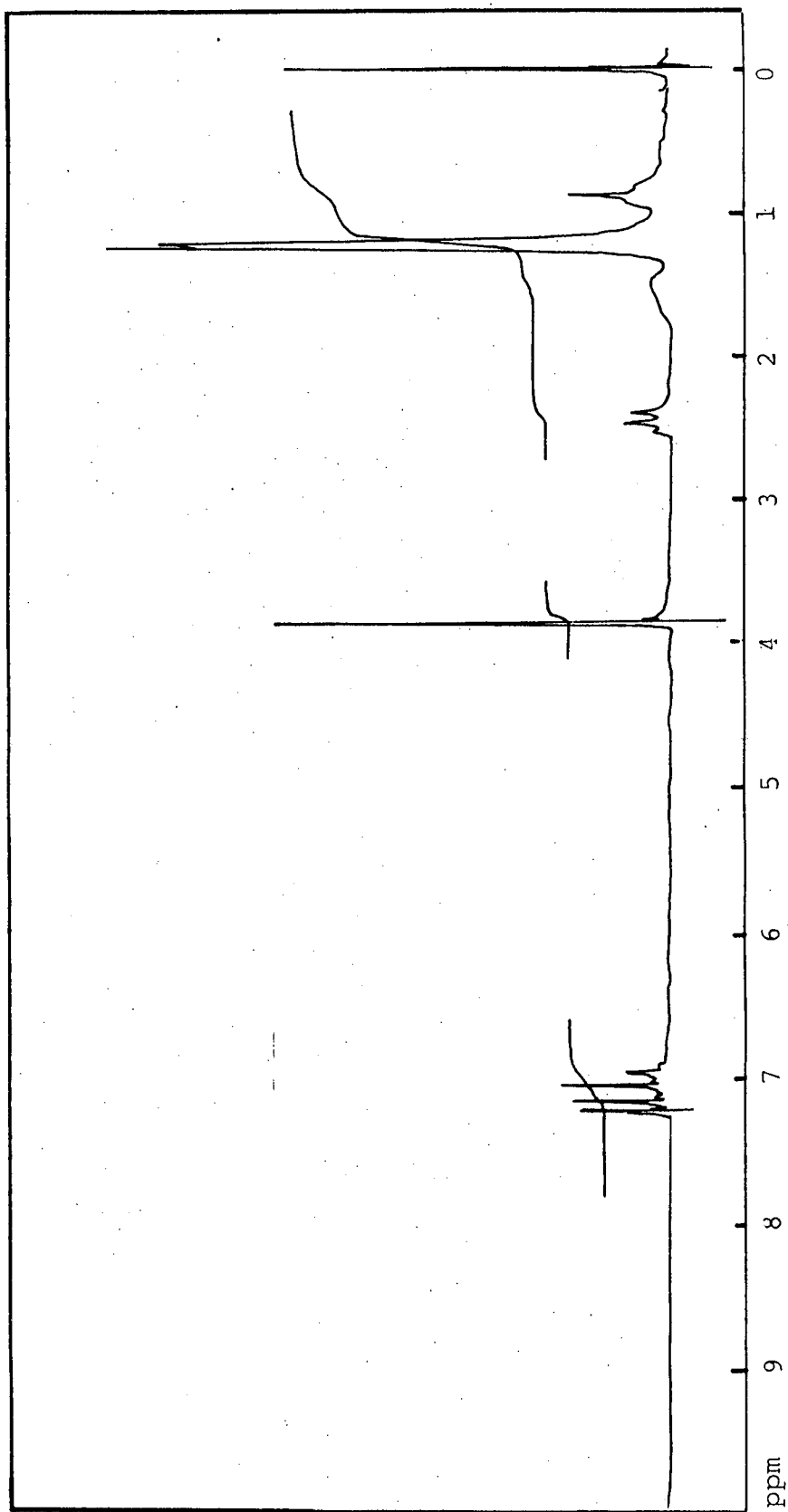


FIGURA 16 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl_3 , 100 MHz

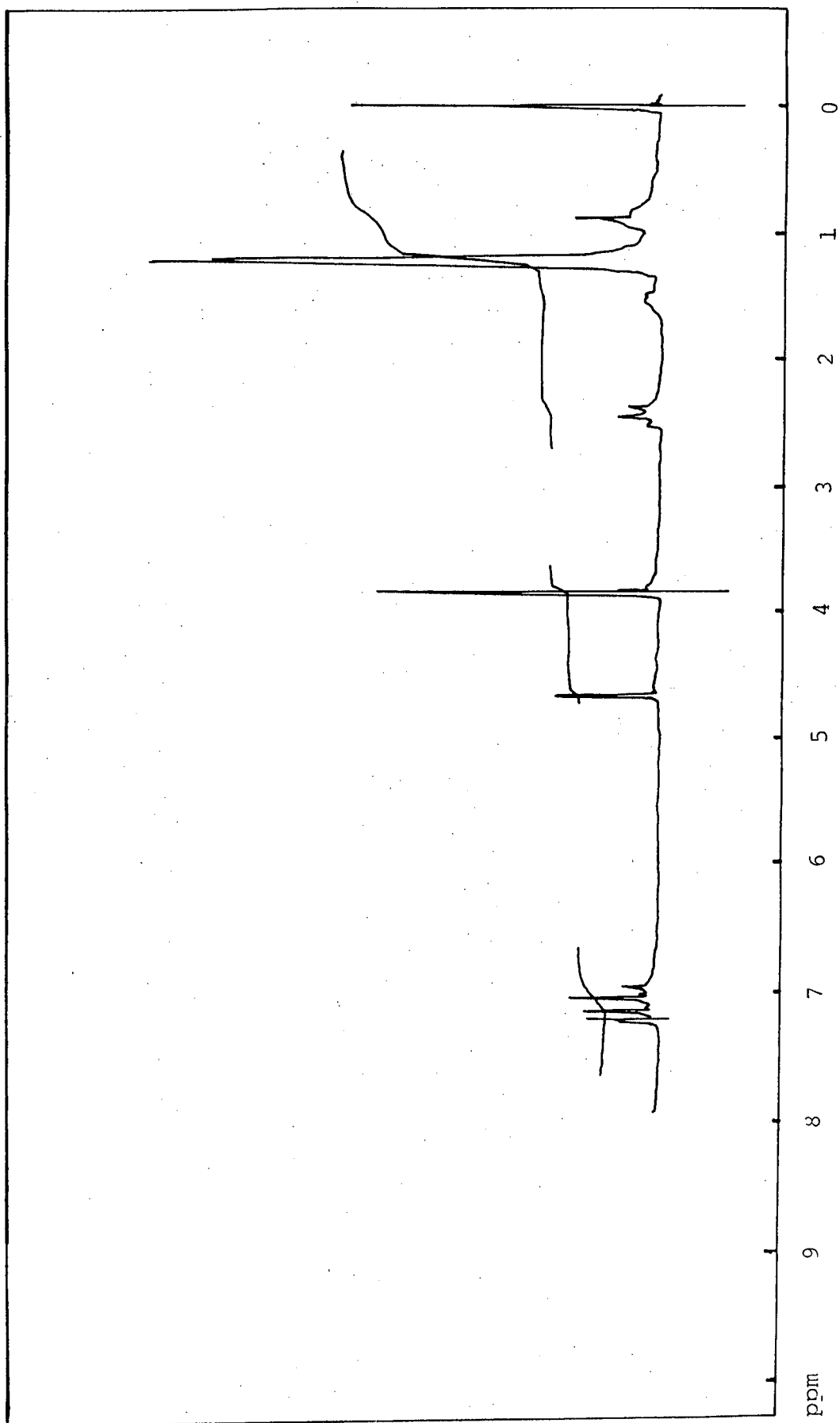


FIGURA 17 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptop-1,2,4-triazol em CDCl₃ , 100 MHz depois da adição de água deuturada.

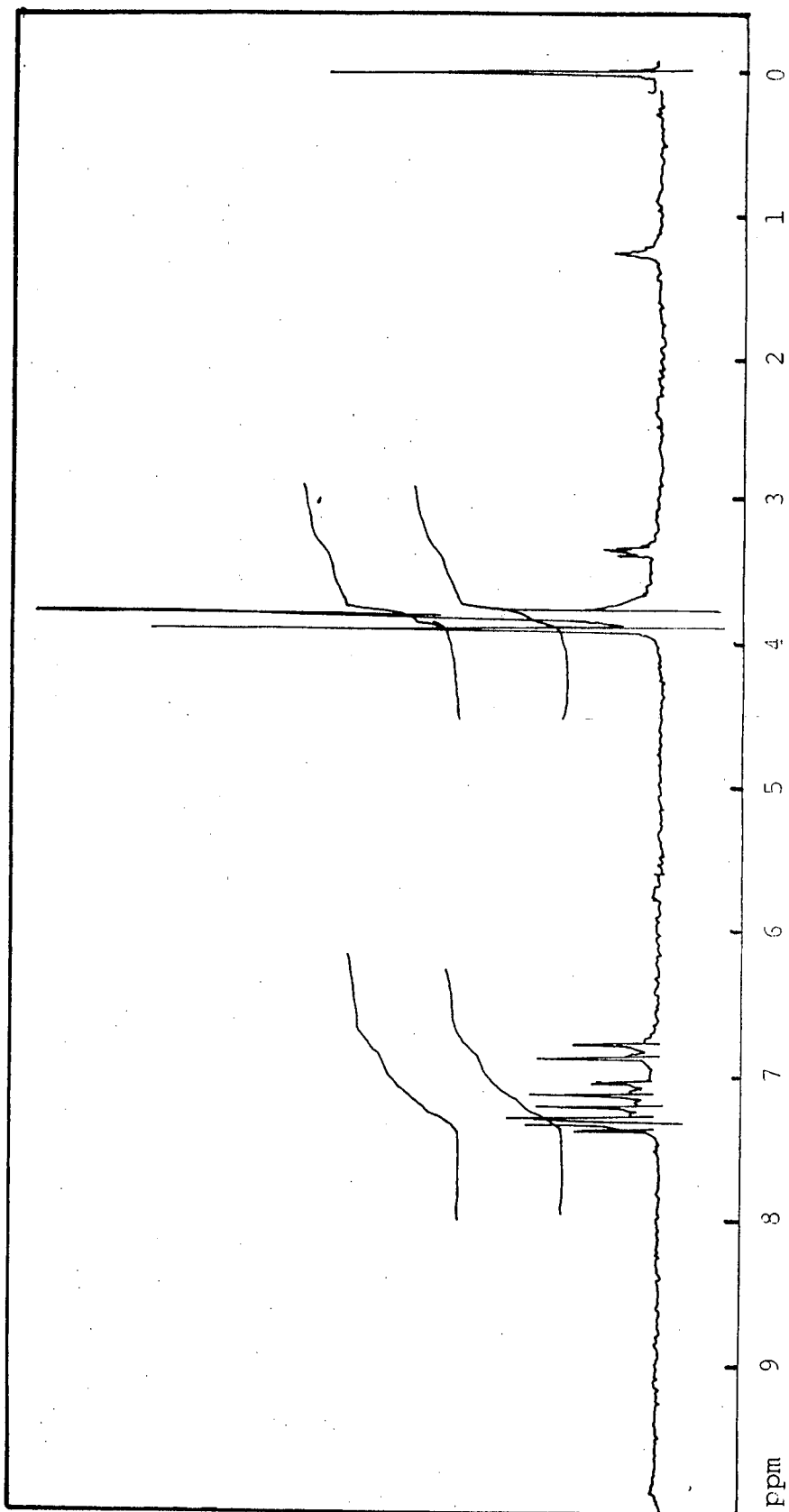


FIGURA 18 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, em CDCl₃ (5 partes) + ND₃OD (1 parte), 100 MHz.

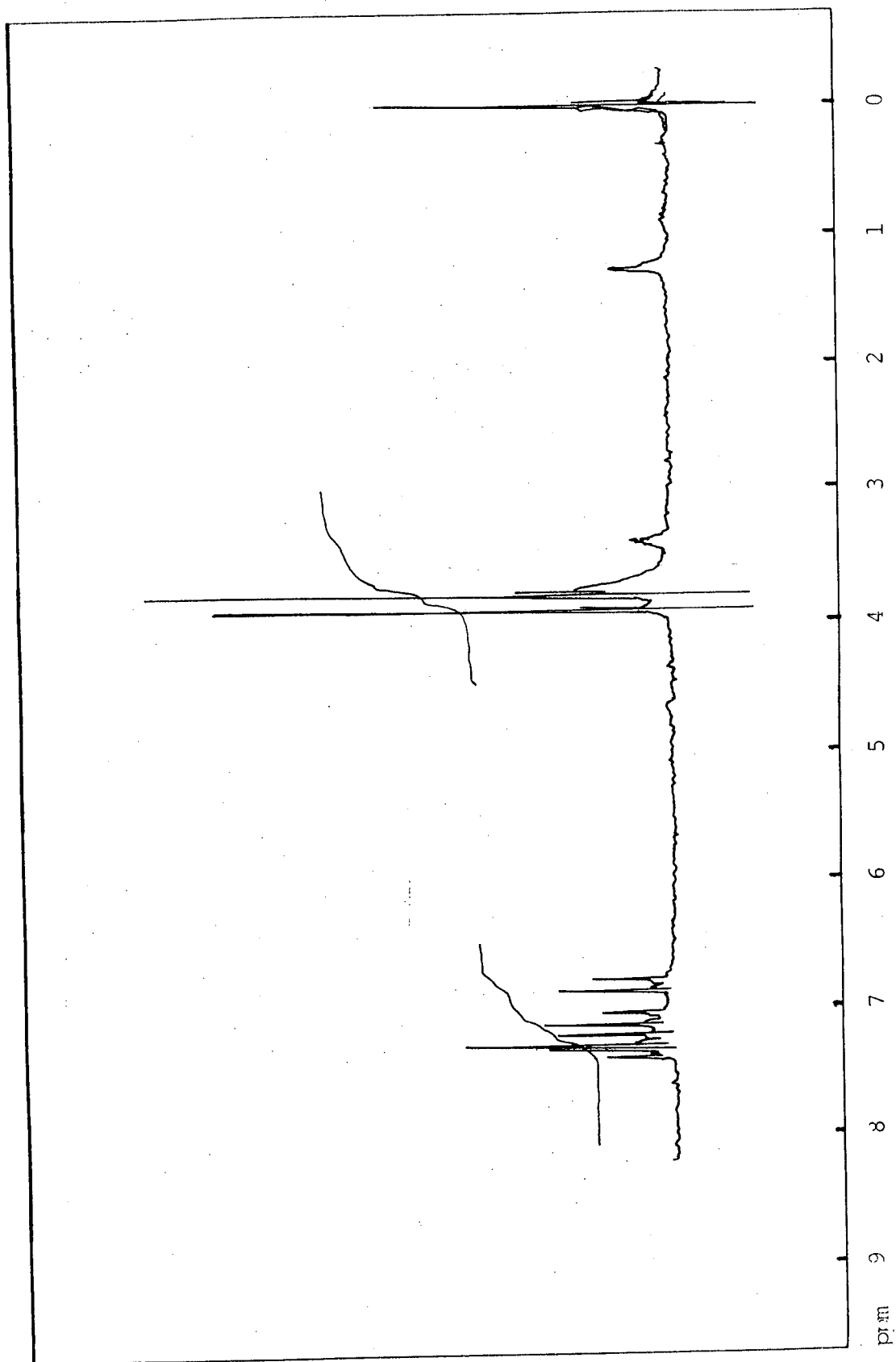
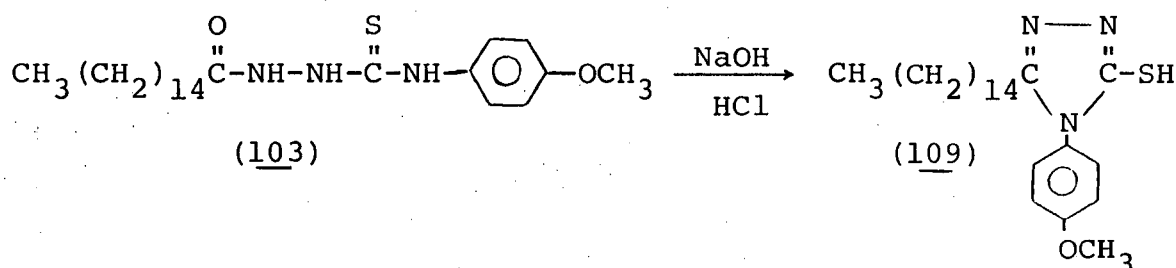


FIGURA 19 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol em $CDCl_3$ (5 partes) + MD_3OD (1 parte) depois da adição de D_2O

2.3.6.5. Síntese de 3-(pentadecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol



ESQUEMA 33

O composto (109) tem fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{ON}_3\text{S}$ e peso molecular 417. O ponto de fusão foi $87,2^\circ\text{C}$ e o rendimento da reação de 64,26%. A análise elementar experimental foi: C, 69,61% ; H, 9,51% ; N, 10,44% e a calculada C, 69,06% ; H, 9,35% ; N, 10,07%.

O espectro de absorção no infravermelho (fig.20) em $1420-1610\text{ cm}^{-1}$ apresentou bandas correspondentes à vibração de estiramento de C=N e C=C; em 1260 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de Ar-O-C, em 835 cm^{-1} uma banda correspondente à vibração de estiramento de $-\overset{\text{I}}{\text{C}}=\text{S}$; em 3100 cm^{-1} banda correspondente à vibração de estiramento de N-H.

O espectro RMN (fig.21) revelou: em $0,85\delta$ um triplete correspondente ao grupo metila; em $1,25\delta$ um multiplete correspondente ao grupo $(\text{CH}_2)_n$; em $2,35\delta$ um triplete correspondente ao grupo metileno, ligado ao anel; em $3,85\delta$ um singlete correspondente ao grupo metoxi; em $6,85-7,35\delta$ um multiplete correspondente ao anel aromático p-substituído.

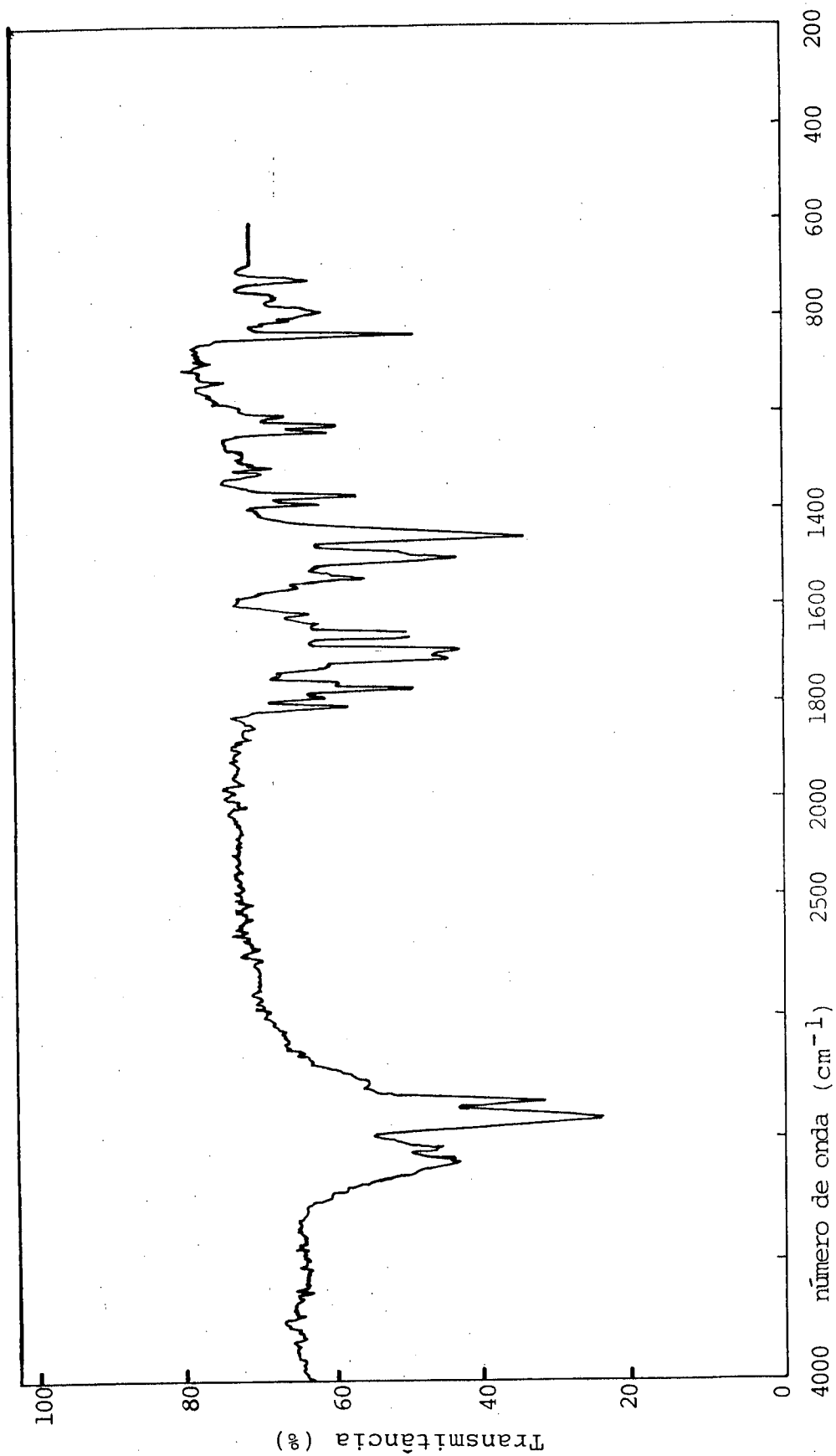


FIGURA 20 - Espectro de absorção no infravermelho de 3-pentadecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercaptopentadecil-1,2,4-triazol.

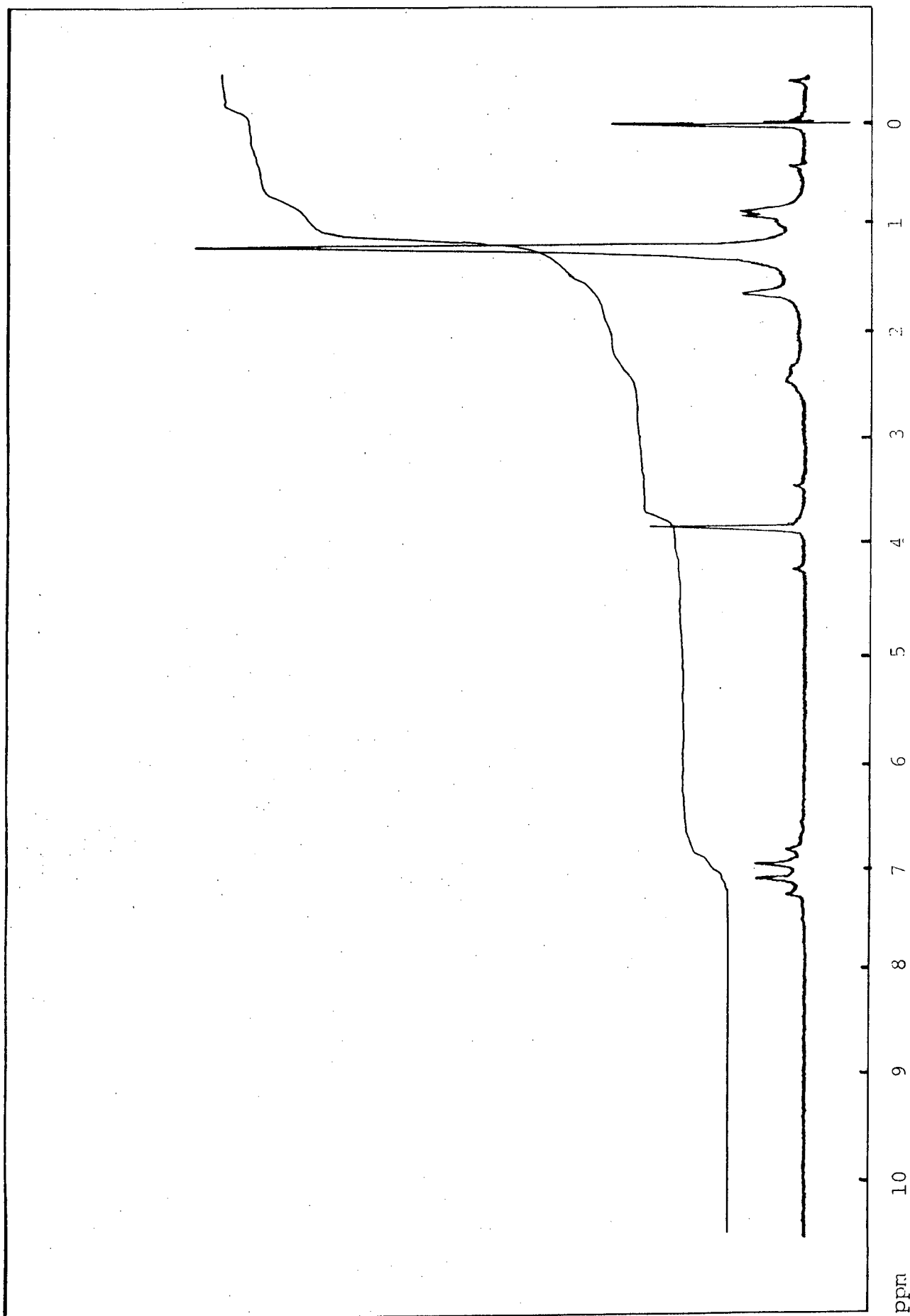


FIGURA 21 - Espectro de ressonância magnética nuclear de 3-pentadecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol em CCl_4 , 60 MHz.

2.4. CROMATOGRAFIA

A purificação dos compostos foi feita em grande parte, através do método de cromatografia de camada delgada preparativa.

A fase móvel empregada para a eluição das cromatografias de camada delgada constitui-se dos seguintes solventes: tolueno, acetato de etila, éter-di-isopropílico, ácido acético, sendo as separações monitoradas através de análise por cromatografia de camada delgada analítica.

O método de análise de cromatografia em camada delgada foi utilizada com os seguintes objetivos:

- i) identificação qualitativa de produtos obtidos nas reações.
- ii) controle do aparecimento dos produtos das reações e o desaparecimento dos reagentes.

As placas de cromatografia de camada delgada preparativa foram preparadas segundo instruções do fabricante: suspende-se 200 gr. de sílica-gel 60 PF₂₅₄₊₃₆₆ artigo Merck nº 7748 dentro de um balão de fundo chato de dois litros com aproximadamente 480 ml de água destilada com agitação vigorosa, deixando-se esta suspensão em repouso por uma hora.

Após o repouso, com o auxílio de um espalhador Desaga⁽³⁹⁾, a suspensão foi espalhada rapidamente sobre as placas de vidro 20x20 cm previamente limpas e desengorduradas, numa espessura de aproximadamente 1,8 mm após a secagem.

As placas foram deixadas dois dias à temperatura ambiente, livres de vapores tóxicos, correntes de ar, para secagem e subsequentemente ativadas por 2 horas a 120°C em estufa.

As amostras foram convenientemente dissolvidas numa mistura de solventes apropriados e aplicadas a uma distância de 2 cm da extremidade inferior da placa na forma de uma faixa estreita através de uma drenagem contínua da solução com o auxílio de um tubo capilar.

A eluição foi feita em uma cuba de vidro com tampa esmerilhada para placas de 20x20 cm utilizando uma fase móvel apropriada: acetato de etila 20 ml, éter di-isopropílico 20 ml, ácido acético 0,5 ml para tiosemicarbazidas e 60 ml de tolueno e 40 ml de acetato de etila para triazóis.

Após a eluição, as manchas foram recortadas sob a orientação de uma lâmpada de ultra-violeta, raspadas da placa e recuperadas em metanol ou metanol-clorofórmio.

2.5. ANÁLISE DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS

Entre as diversas metodologias empregadas para o estudo de novas drogas em animais temos, inicialmente, testes gerais como o que avalia a atividade motora dos camundongos em caixas de movimentação espontânea com feixes de células fotoelétricas, especialmente para drogas que atuam sobre o sistema nervoso central (S.N.C) (47)

Os resultados obtidos estão indicados nas tabelas que se seguem:

Tabela III - Efeito do Pré-tratamento (30') com 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas sobre os parâmetros da convulsão eliciada por eletrochoque transcorneal máximo (30 mA, 0,2")

| Parâmetros (segundos) | C O M P O S T O | | | | | (N) | |
|--------------------------|-----------------|-----|--------------|-------------|--------------|--------------|---|
| | Controle | 87 | 90 | 93 | 96 | | |
| Tempo de fusão (TF) | 1,20 ± 0,18 | O** | 1,20 ± 0,34 | 2,00 ± 0,63 | 1,40 ± 0,22 | 1,40 ± 0,30 | 5 |
| Tempo de extensão (TE) | 14,00 ± 2,71 | O** | 4,80 ± 2,65* | 9,60 ± 2,21 | 12,40 ± 1,32 | 12,5 ± 1,70 | 5 |
| TE/TF | 13,10 ± 3,14 | O** | 4,80 ± 2,65 | 5,17 ± 1,98 | 9,90 ± 1,88 | 11,50 ± 2,10 | 5 |

(N) = Número de animais

* = Estatisticamente significativa (teste "t" de student; p<0,05)

** = Estatisticamente significativa (teste "t" de student; p<0,01)

Tabela IV - Efeito do Prê-tratamento (30') com 1-acil-4-artil-tiosemicarbazidas sobre a latência para convulsão induzida por pentilenotetrazol 75 mf/kg i.p.

| Composto | Latência (segundos) |
|----------|---------------------|
| controle | 979,0 ± 290,3 |
| (87) | 1800,00* |
| (90) | 1.377,0 ± 423,0 |
| (93) | 950,0 ± 399,75 |
| (96) | 903,7 ± 449,3 |
| (103) | 796,0 ± 434,4 |

* Estatisticamente significante ($p < 0,05$), teste "t" de student não pareado.

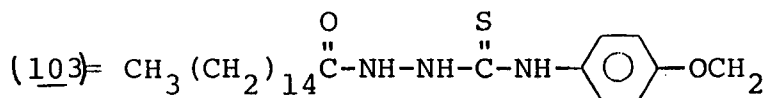
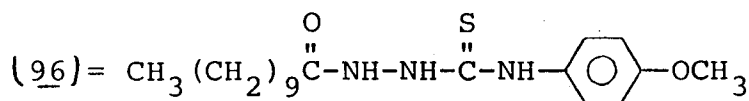
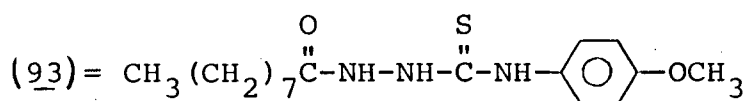
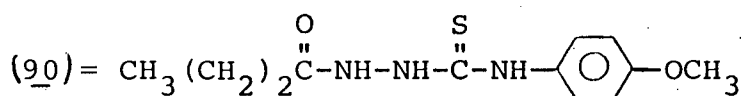
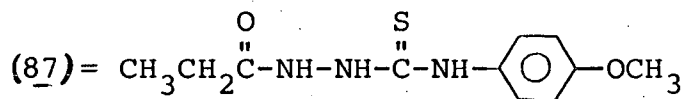


Tabela V - Ambulação em camundongo após a injeção de 3-(etil)-4-(p-metóxi-fenil)-5-(mercapto)-1,2,4-triazol (104).

| Dose | TEMPO (MINUTOS) | | | | Total |
|--------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | 15' | 30' | 45' | 60' | |
| 0 (controle) | 183,6 ± 32,3 | 132,6 ± 27,2 | 108,3 ± 18,8 | 104,4 ± 27,5 | 528,8 ± 73,4 |
| 10 ⁻⁵ M | 194,3 ± 27,1 | 101,5 ± 24,5 | 116,2 ± 55,4 | 125,5 ± 26,9 | 537,5 ± 123,2 |
| 10 ⁻⁴ M | 228,0 ± 41,4 | 110,0 ± 27,8 | 97,8 ± 23,7 | 112,2 ± 32,3 | 548,0 ± 112,4 |

Tabela VI - Ambulação em camundongos após a injeção de l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas
20 mg/kg i.p.

| Droga | TEMPO (MINUTOS) | | | | | N |
|----------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|--|---|
| | 15 | 30 | 45 | 60 | | |
| Controle | 221,38 ± 29,9 | 204,63 ± 59,66 | 227,00 ± 62,24 | 190,88 ± 70,02 | | 5 |
| 87 | 14,00 ± 7,29** | 12,40 ± 11,89* | 13,60 ± 13,58* | 12,00 ± 11,98 | | 5 |
| 90 | 235,00 ± 47,53 | 111,20 ± 32,43 | 108,80 ± 38,15 | 56,20 ± 19,28 | | 5 |
| 93 | 206,60 ± 50,79 | 129,20 ± 16,12* | 42,00 ± 28,08 | 53,20 ± 22,05 | | 5 |
| 96 | 171,80 ± 49,80 | 93,00 ± 32,76 | 51,60 ± 28,30 | 73,40 ± 31,90 | | 5 |
| 103 | 110,67 ± 26,59* | 143,67 ± 41,06 | 150,00 ± 45,28 | 155,33 ± 51,82 | | 5 |

Os valores estão expressos com média ± erro padrão

N = número de animais por tratamento

* difere estatisticamente do grupo controle, teste "t" de student não pareado (p<0,05)

** difere estatisticamente do grupo controle, teste "t" de student não pareado (p<0,01)

2.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA

As quatro espécies testadas neste trabalho foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário.

As bactérias testadas foram Pseudomonas aeruginosa e Proteus mirabilis baseado no fato de que estas representam os microorganismos gram negativos e por serem comuns e patogênicas ao ser humano.

A pseudomonas aeruginosa, é por sua vez um bacilo pio-ciânico encontrado comumente em feridas supuradas - (pus azul), em infecções piogênicas do trato urinário, em casos de otite externa ou média, de lesões oculares, etc... Pode também causar meningite e septicemia, particularmente em criança ou em adultos debilitados e em pacientes irradiados ou tratados com drogas neo-plásicas⁴².

O Proteus clássicos (Proteus vulgaris, Proteus mirabilis) predominantes no Brasil são germes de putrefação e encontram-se não só em fezes e águas de esgotos, como em carnes putrefeitas, feridas supuradas, etc.⁴²

As duas culturas de fungos testadas foram Candida albicans e Cryptococcus neoformans, os quais também causam doença em seres humanos.

A Candida albicans é segundo alguns micologistas, a única espécie patogênica que causa candidoses superficiais (do tipo cutânea, ungueal e periungueal, e das mucosas) e candidoses profundas, as quais se localizam no interior dos órgãos.

O Cryptococcus neoformans é um cogumelo saprófito amplamente disperso no solo contaminado por fezes de aves, particularmente as do pombo.

Além do homem, várias espécies de animais domésticos e silvestres podem apresentar infecções espontâneas. Em vida parasitária pode ser encontrado no tecido nervoso, nas meninges, no líquido, no parênquima pulmonar, nos gânglios linfáticos e nos tecidos dos tegumentos cutâneo e mucoso⁴².

2.6.1. Avaliação da Atividade Bactericida

Para testar os compostos foram novamente usadas as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis* pelo método dos discos.

O material usado está relacionado abaixo:

- 1) Ágar simples
- 2) Ágar sangue
- 3) Placa de Petri esterilizada (diâmetro = 10 cm)
- 4) Alça de platina
- 5) Tubos de ensaio esterilizados (20x20 e 12x180 mm)
- 6) Solução dos compostos a serem testadas, na concentração de 10^{-2} M
- 7) Discos de papel esterilizados (diâmetro = 2,5 cm)

2.6.1.1. Preparação dos meios

1) Ágar simples:

O ágar simples foi preparado dissolvendo-se peptona(1%) extrato de carne (0,5%), NaCl (0,5%) em água destilada ajustando-se o pH a 7,4 - 7,6 com uma solução de NaOH (40%).

Essa solução foi filtrada e o ágar foi adicionado(1,5-2%), esterilizada em autoclave por 20 min. e 15lb. de pressão. Pos

teriormente foram secadas com ar quente.

2) Ágar-sangue:

A 100 ml de ágar simples, fundido e resfriado a cerca de 45 - 50°C, adiciona-se 5 -10 ml de sangue desfibrinado (estéril) de cavalo, carneiro ou coelho. Mistura-se bem e distribui-se em placas de Petri. As placas não semeadas são colocadas durante 24 horas em estufa a 37°C para comprovar a esterilidade.

2.6.1.2. Preparação das sub-culturas

Um dia anterior ao teste, a inoculação dos microorganismos (*Pseudomonas aeruginosa* e *Proteus mirabilis*) é feita em tubos esterilizados com caldo nutriente e incubados a 37°C por 18 - 24 horas.

Os tubos de ensaio para teste foram esterilizados em autoclave a 15 lb de pressão por 20 minutos.

2.6.1.3. Metodologia

Nas placas de Petri, contendo o ágar-sangue faz-se a semeadura dos microorganismos tomando-se as devidas precauções:

- a) semear ao abrigo de correntes de ar
- b) em ambiente o mais possível livre de contaminação, de preferência em câmara asséptica
- c) nunca deixar aberto o tubo de cultura
- d) flambar sempre a alça de platina.

Depois disso, coloca-se os discos de papel esteriliza-

dos para colocar o composto a ser testado.

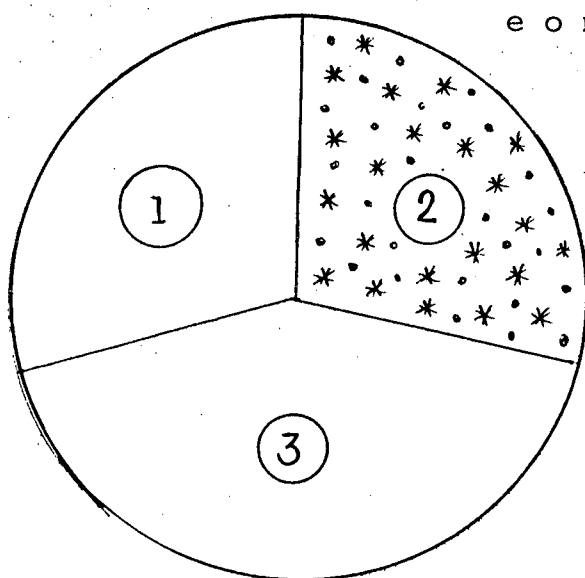
A quantidade a ser adicionada a cada disco é de 0,1 ml de concentração 10^{-2} M.

Então, as placas são colocadas em incubadora a 37°C por 24 - 72 horas para posteriormente serem feitas as leituras.

A existência de inibição é observada pelos halos, os quais são medidos em milímetros.

A N,N,dimetilformamida foi usada como solvente para controle, já que esta não apresenta atividade sobre estes organismos.

Figura 22 - Placa de Petri, inoculada de bactéria ou fungo e o material a ser testado.



1) solvente (N,N,DMF)

2) e 3) compostos a serem testados

* meio (ágar-sangue)

. bactéria ou fungo

2.6.2. Avaliação da atividade fungicida

Os dois fungos testados foram *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*.

O material e método utilizado para avaliar a atividade fungicida dos compostos em teste, foram os mesmos, já descritos para o teste de bactérias.

Neste caso, o meio utilizado foi o ágar-sabouraud.

O ágar-sabouraud foi preparado dissolvendo-se 1 g de pep

tona bacteriológica, 4 g de destrose e 2 g de ágar em 100 ml de água destilada. Cada um dos compostos testados (10 mg) foi dissolvido ou suspenso em 1 ml de etileno-glicol.

A quantidade adicionada ao disco foi de 0,1 ml a uma concentração de 10^{-2} M.

As placas foram colocadas em incubadora a 37°C por 24 a 48 horas.

A extensão do halo de inibição foi medida em 24-48 horas. O etileno-glicol foi usado como solvente controle, já que o mesmo não tem efeito sobre os fungos empregados.

Os resultados da atividade bactericida e fungicida são dados na tabela VII, p.71.

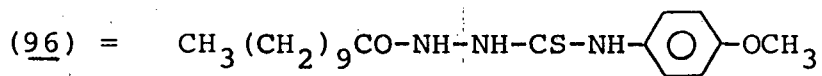
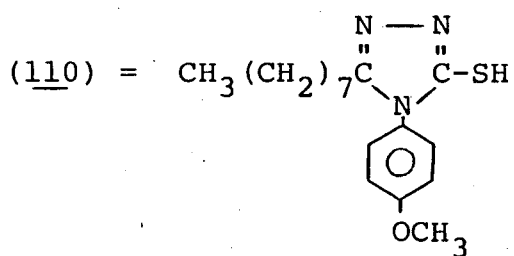
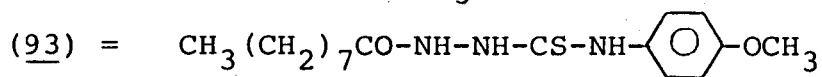
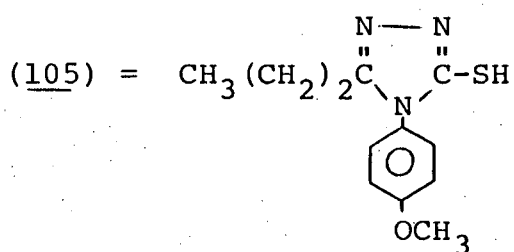
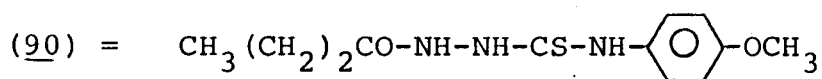
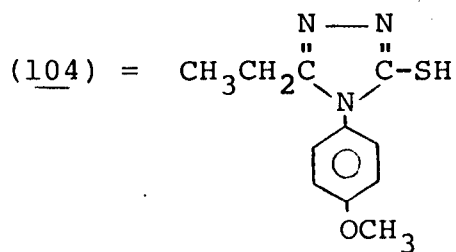
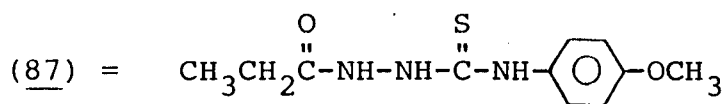
Tabela VII - Resultados obtidos dos testes biológicos com as bactérias, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e com os fungos *C. albicans* e *C. neoformans*.

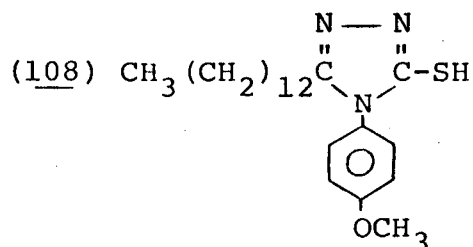
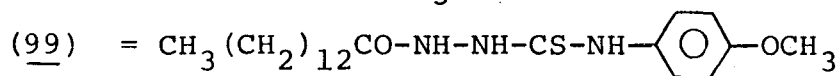
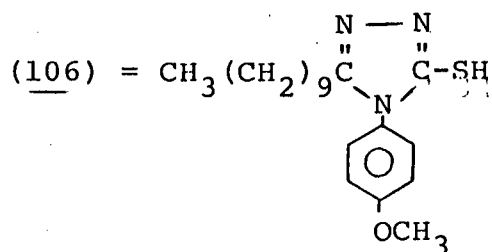
| Bactérias Fungos | TEMPO: LEITURA (HORAS) | | | | | | | | | | | |
|---------------------|---------------------------|----|----|----------------------|----|----|---------------------|----|----|----------------------------|----|----|
| | Pseudomonas Aeruginosa | | | Proteus mirabilis | | | Candida albicans | | | Cryptococcus neóformans | | |
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| Leitura (hs) | | | | | | | | | | | | |
| Compostos | | | | | | | | | | | | |
| 87 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 104 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 90 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 105 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 93 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 110 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 96 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 106 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 99 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 108 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Legenda:

(-) resistência

(+) sensibilidade





Dos compostos testados, nenhum deles apresentou atividade bactericida ou fungicida, todos eles se mostraram inativos.

Outros testes também foram efetuados no laboratório de microbiologia da secretaria da Agricultura. Os meios utilizados foram ágar-sabouraud para fungos e ágar-caldo de carne enriquecido com cérebro e coração.

2.6.2.1. Preparação do meio

Caldo de carne enriquecido

A 100 ml de ágar simples, adiciona-se 18,5 g de cérebro e coração, 500 ml de água destilada. Mistura-se bem e distribui-se 6 ml em cada tubo de ensaio e estereliza-se a 120°C durante 15 minutos.

A metodologia utilizada para os testes foi a mesma utilizada pelo Hospital Universitário, já descrita anteriormente

Os resultados estão descritos na tabela VIII, p.74.

Tabela VIII - Resultados biológicos obtidos com as bacterias
S. aureus, P. mirabilis, E. coli e P. aeruginosa.

| Bactérias | TEMPO: LEITURA (HORAS) | | | | | | | | | | | |
|-----------|------------------------|----|----|-------------------|----|----|------------------|----|----|------------------------|----|----|
| | Stafilococcus aureus | | | Proteus mirabilis | | | Escherichia coli | | | Pseudomonas aeruginosa | | |
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| 87 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 90 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 93 | 3 | 3 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 96 | 3 | 3 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 99 | 1 | 1 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 103 | 3 | 3 | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Legenda:

(-) Resistência

(+) Sensibilidade

0 halo de inibição foi medido em milímetros.

* Para cada resultado positivo, repetiu-se três vezes o mesmo teste.

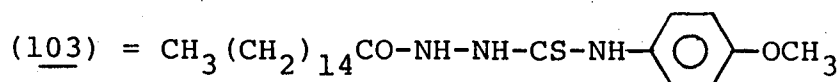
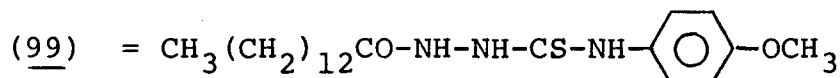
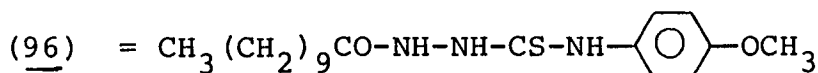
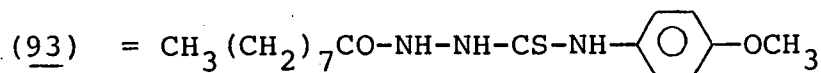
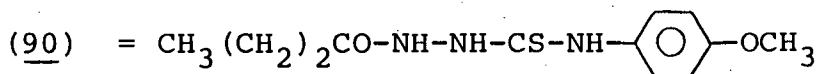
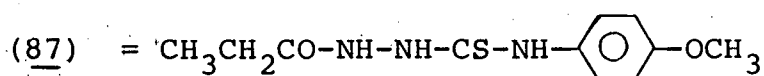


Tabela IX - Resultados obtidos com os fungos *C. albicans*, *Levedura*, *Penicilium sp*, *S. cerevisiae*.

| Fungos | TEMPO: LEITURA (HORAS) | | | | | | | | | | | |
|--------|------------------------|----|----|----------|----|----|------------------|----|----|--------------------------|----|----|
| | Candida sp | | | Levedura | | | Penicilium sp | | | Sacaromices cerevisae | | |
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| 87 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 90 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 93 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 96 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 99 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 103 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Legenda:

(-) resistência

(+) sensibilidade

Dos compostos testados os números (93), (96), (99), (103) apresentaram halos de inibição de 1 mm a 4 mm sobre o *Stafilococcus aureus*.

Embora tenha existido o halo de inibição, segundo Bier⁽⁴²⁾, a bactéria é resistente à droga:

| | |
|-----------------------|------------------------|
| halo >15 mm | altamente sensível |
| halo entre 10 e 15 mm | moderadamente sensível |
| halo <10 mm | resistente |

Os demais compostos se mostravam inativos perante as bactérias e fungos testados.

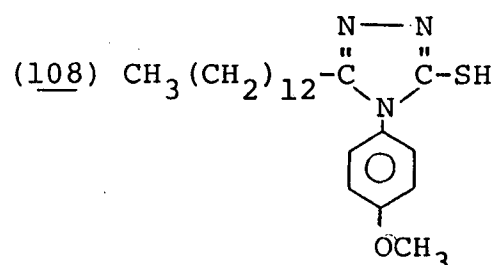
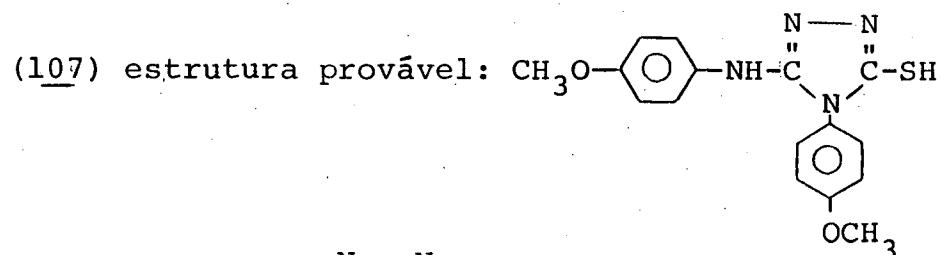
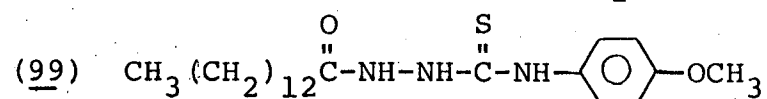
CAPÍTULO III

3. DISCUSSÃO3.1. SÍNTESE DE 1-ACIL-4-ARIL-TIOSEMICARBAZIDAS E TRIAZOIS3.1.1. Análise dos produtos da reação

Embora nenhum autor tenha mencionado que a síntese para obtenção de triazóis conduz a mais de um produto, pôde-se comprovar através de nossas sínteses que a reação leva à provavelmente três produtos, dos quais dois aparecem em maior quantidade, sendo o terceiro em quantidade praticamente desprezível.

Isto foi determinado cromatograficamente para os compostos que tínhamos em maior quantidade.

Utilizando-se o sistema de solventes acetato de etila 20 ml, éter di-isopropílico 25 ml, ácido acético 0,5 ml, pôde-se determinar os seguintes R_f dos compostos abaixo:

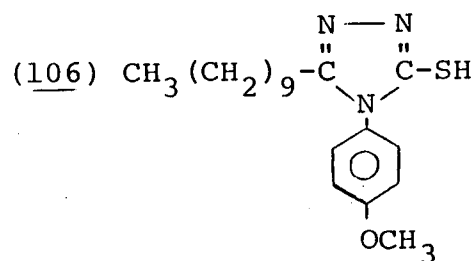
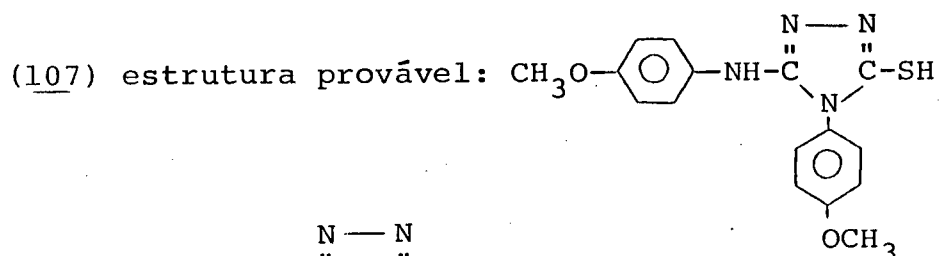
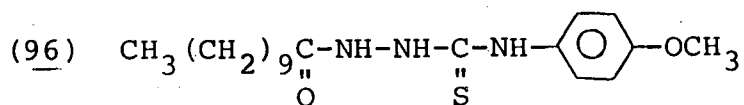


$$R_f(99) = 0,63$$

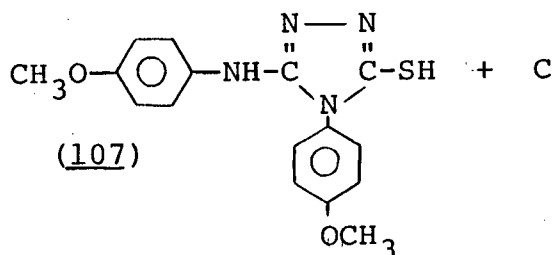
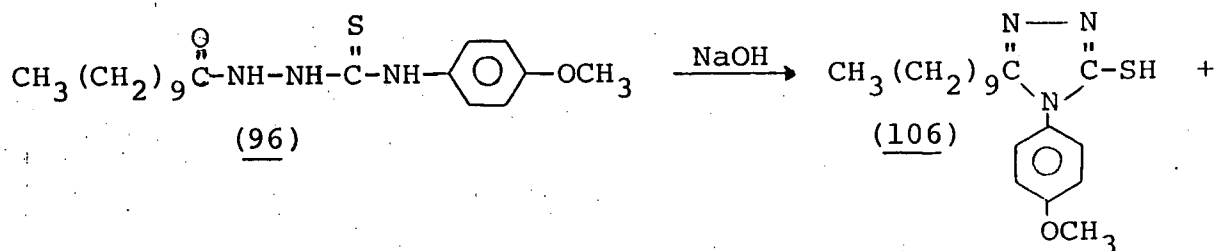
$$R_f(107) = 0,72$$

$$R_f(108) = 0,83$$

Utilizando-se o mesmo sistema de solventes os valores de R_f dos compostos (96), (107) e (106) são respectivamente: 0,60; 0,72 e 0,79.



Na cromatografia de camada delgada preparativa para:



obteve-se os seguintes R_{fs} :

$$R_{f(106)} = 0,52$$

$$R_{f(107)} = 0,35$$

$$R_{f(c)} = 0,11$$

onde c é o terceiro produto da reação para obtenção do triazol , o qual aparecia em quantidade extremamente pequena , não sendo possível isolá-lo para determinar sua possível estrutura.

O sistema de solventes utilizado foi: Tolueno: Acetato de etila (1:1).

Para conseguirmos os compostos (106) e (107) puros precisou-se fazer duas a três cromatografias de camada delgada preparativa.

Através da cromatografia de camada delgada observou-se - que à medida que aumentávamos a concentração de base (NaOH), aumentava também a proporção de formação do composto (107).

Assim, quando trabalhávamos com concentrações de base mais baixa, favorecíamos a formação dos compostos: (106) e (108), embora ainda aparecesse o composto (107).

3.2. ESTRUTURA DOS PRODUTOS OBTIDOS

Analisando-se os espectros de ressonância magnética nuclear, infravermelho e dados da análise elementar, já incluídos na parte experimental, pode-se concluir que os triazóis que eram um dos objetivos de nosso trabalho de síntese foram realmente obtidos pela primeira vez.

Analisando-se os dados da análise elementar pode-se obser

var que as percentagens experimentais correspondem razoavelmente bem aos valores teóricos.

Do mesmo modo, para os espectros de infravermelho que apresentam bandas características de C=N, Ar-O-C, etc.

Porém o principal fundamento analítico para a previsão das estruturas são os picos obtidos nos espectros de ressonância magnética nuclear: um triplete em 1,16 δ correspondente ao grupo metila; um quadruplete em 2,52 δ correspondente ao grupo metileno, em 3,83 δ um singlete correspondente ao grupo metoxi aromático, um multiplete entre 7,0 δ e 7,53 δ correspondente ao anel aromático p-substituído para o composto (104). Por diversos motivos alheios a nossa vontade, não foi possível conseguir a análise elementar e o espectro de massa do composto 3-p-metoxianilil-4-p-metoxifenil-5-mercapto-1,2,4-triazol (107). Por este motivo o único fundamento que permite sugerir uma estrutura para o composto (107) é o espectro de ressonância magnética nuclear. Desta forma, analisando o espectro de RMN do composto derivado da p-metoxifenil-tetradecanoil-tiosemicarbazida (99) pode-se observar fundamentalmente dois grupos fenilas substituídos na região de 6,8 δ e 7,2 δ e dois grupos metoxi na região de 3,7 δ e 3,9 δ que são característicos de grupos metoxi em anéis aromáticos.

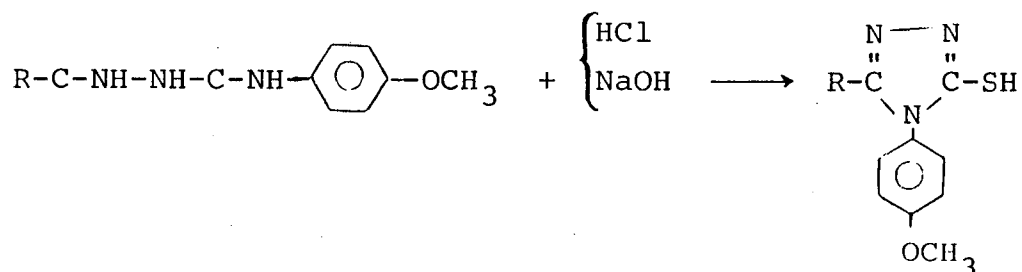
Um outro fundamento é a possibilidade de um mecanismo de reação que conduz ao produto indicado, no item 3.3

A respeito das 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazidas há dois argumentos que sugerem fortemente serem os compostos esperados; primeiramente, pela análise dos espectros de infravermelho cujas bandas são características para os grupos mais importantes da molécula como C=O, NH, Ar-O-C, C=S, etc, e segundo seria

a obtenção do triazol correspondente, que confirma a estrutura deste reagente segundo os métodos empregados.

3.3. MECANISMOS DE REAÇÃO

A reação de síntese de triazol está representada pela equação abaixo:



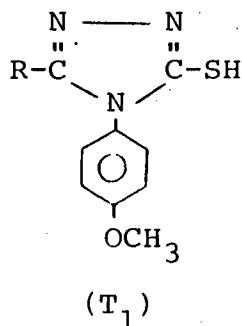
R = CH₃CH₂- (104), CH₃(CH₂)₂- (105), CH₃(CH₂)₇ (110), CH₃(CH₂)₉- (106), CH₃(CH₂)₁₂- (108), CH₃(CH₂)₁₄- (109).

Através de cromatografia de camada delgada pôde-se observar que tanto com NaOH como com HCl apareciam mais de um produto, aparentemente três.

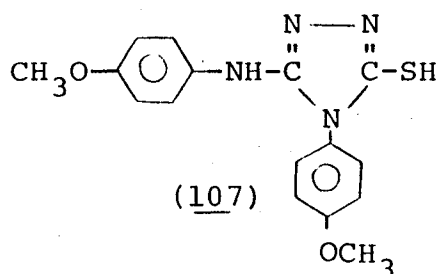
Por cromatografia de camada delgada preparativa foram isolados dois produtos fundamentais, ou seja, os que apareciam em maior quantidade.

Destes dois produtos pôde-se concluir que:

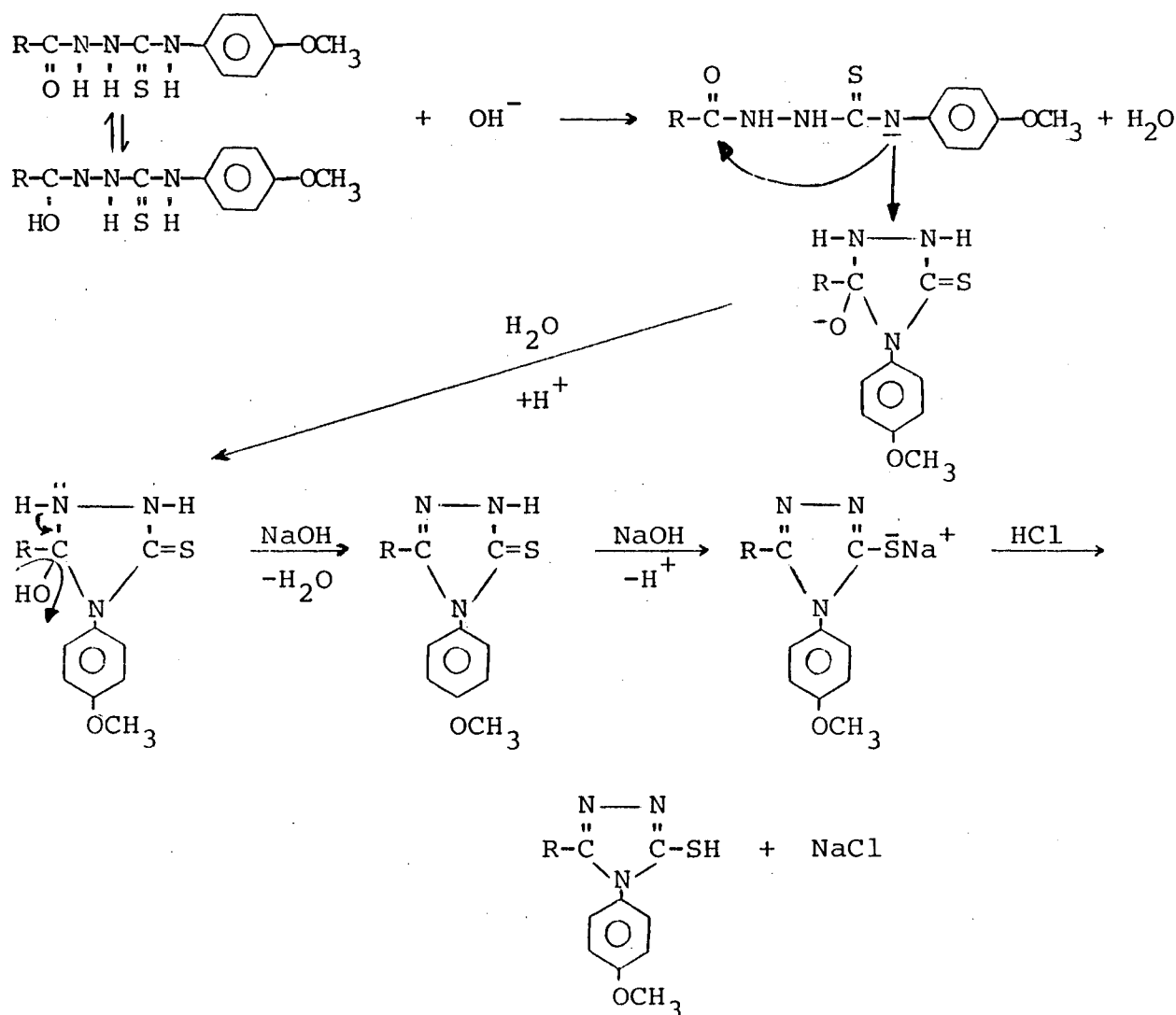
a) Um é o mercapto-triazol, cuja estrutura está indicada abaixo, e foi representada por T₁.



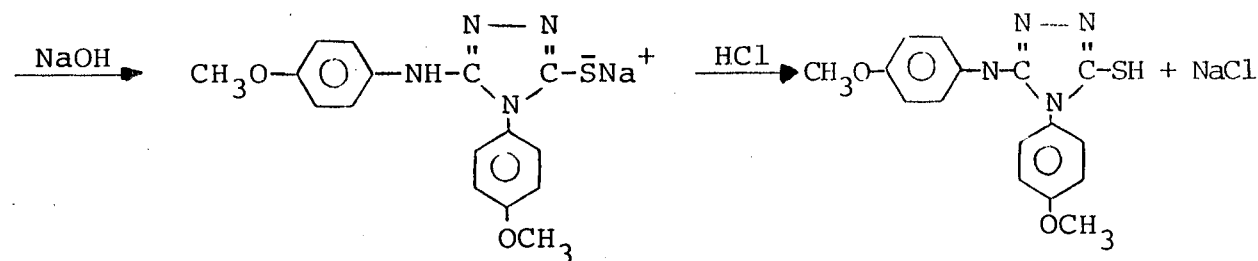
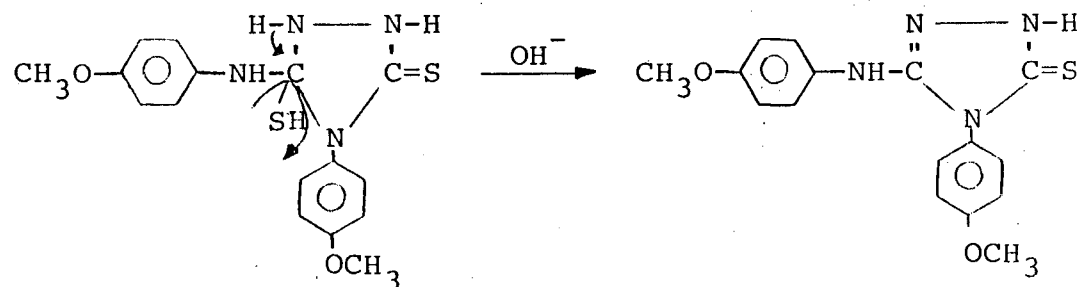
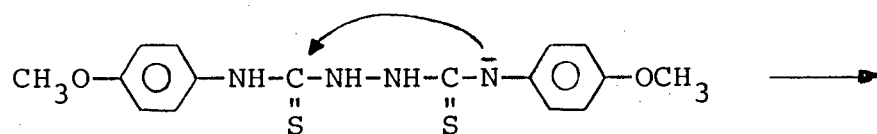
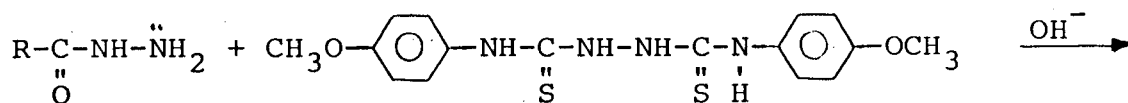
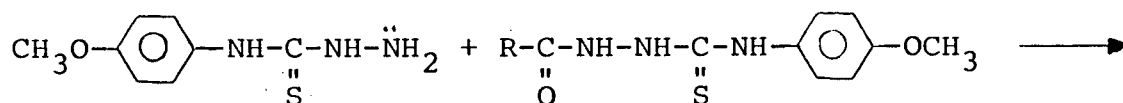
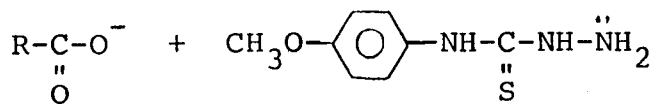
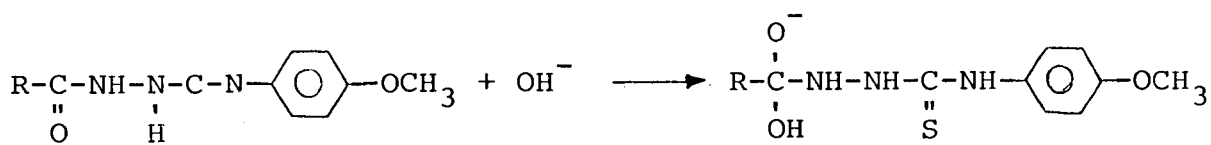
b) O segundo (107), pode também ser um mercapto triazol, porém de fórmula estrutural diferente. Esta fórmula foi deduzida somente pela análise do espectro de ressonância magnética nuclear. Não foi possível se obter espectros de massa e análise elementar.



O mecanismo sugerido segundo os métodos empregados em meio básico para a formação de T_1 seria:



O mecanismo provável para a formação de (107) seria:



3.4. ANÁLISE DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE NaOH, TEMPERATURA, E TEMPO DE REFLUXO.

A reação da 1-acil-4-aril-tiosemicarbazida com base - foi estudada a várias concentrações de base (3%, 5%, 8%, 10% , 15%), de temperatura (80°C, 100°C, 130°C aproximadamente), e de tempo de refluxo (1 hora, 2 horas, 4 horas).

Fez-se também a síntese com HCl conc. como catalizador obtendo-se resultados semelhantes aos realizados com NaOH 10%.

Destas sínteses pôde-se observar que, à medida que diminuíamos a concentração de base, aumentava a formação de T₁ (p.81), embora ainda se formasse pequena quantidade de (107).

Variando a temperatura e o tempo de refluxo, nenhuma mudança ocorria em relação à proporção de formação de T₁ e (107).

Assim, podemos concluir que o aumento da concentração de NaOH favorecia o mecanismo para a formação do composto (107).

3.5. ANÁLISE DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO

É interessante a análise dos espectros de infravermelho deste grupo de compostos principalmente no que se refere à existência da função tionila (C=S) ou sua forma tautomérica C-SH tanto em 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas como em triazóis.

No entanto faremos uma breve análise de algumas das principais bandas de absorção:

1) Grupo C=O: A absorção do grupo carbonila tal como está indicado no trabalho de Mashima⁽²³⁾, apresenta uma banda forte na região entre 1640 -1670 cm⁻¹.

2) Grupos NH- : As bandas correspondentes a estes grupos foram estudadas por Wiles e Suprunchuk⁽²²⁾ e por Mashima⁽²³⁾.

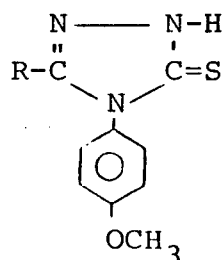
Em nosso caso as 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas apresentam três bandas entre 3310 - 3100 cm^{-1} aproximadamente que podem ser atribuídas às ligações N-H existentes nas mesmas. No caso dos triazóis será analisado posteriormente.

3) Grupo S-H: Deveria apresentar uma deformação axial na região de 2500 - 2600 cm^{-1} (26,27).

No caso dos triazóis não foram observadas bandas definidas nesta região.

4) Grupo C=S: É muito importante saber se os triazóis apresentam, no estado cristalino, a estrutura de tionila (C=S) como foi observado em mercapto-aromáticos⁽⁴¹⁾ e em outros triazóis⁽²⁵⁾. Neste caso, é evidente nos triazóis a existência de uma banda em aproximadamente 3110 - 3120 cm^{-1} que pode ser atribuída à presença do grupo N-H. Por outro lado, a comparação dos espectros de 1-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e triazóis correspondentes leva a observar que existem bandas que correspondem a C=S e a N-C=S que aparecem igualmente nos dois casos. Assim a banda entre 840 - 845 cm^{-1} indicada como a mais importante absorção do grupo C=S por Wiles e Suprunchuk⁽²²⁾ aparece nos dois tipos de compostos. No entanto, sabemos que uma absorção significativa ocorre na região de 800 - 860 cm^{-1} que pode ser atribuída a compostos aromáticos 1-4-substituídos como também existe em nosso caso. As bandas que envolvem vibrações do grupo N-C=S que foram indicadas nas regiões de 1570-1395 cm^{-1} e 1140-940 cm^{-1} (23,24) podem ser atribuídas às bandas em 1069-1080 cm^{-1} , 1300 cm^{-1} apro

ximadamente 1500 cm^{-1} nestes compostos. Desta forma, a presença das bandas de N-H e das bandas do grupo N-C=S levam a sugerir - que tanto as l-acil-4-aril-tiosemicarbazidas e mais sugestivamente os triazóis estudados apresentam no estado cristalino a estrutura de tionila, (C=S) como está indicado na estrutura abaixo:



3.6. ANÁLISE DOS EFEITOS FARMACBIOLÓGICOS

3.6.1. Análise dos efeitos farmacológicos

Os campos sintéticos avaliados por este teste mostraram que os compostos (87), (90) e (103) promoviam redução na atividade locomotora dos animais, sendo esta depressão evidente para o composto (87). Por outro lado, o composto triazólico (104), levou a uma ligeira exacerbação na atividade dos animais no mesmo teste (não significativa estatisticamente).

Quando um composto apresenta atividade depressora em testes gerais, direciona-se os estudos para alguns testes específicos que avaliem melhor essa atividade, como as metodologias convulsivas para determinar uma possível atividade anticonvulsivante da droga depressora. Dentre os métodos que induzem convulsão (excesso de excitação no S.N.C), classicamente emprega-se uma metodologia que induz convulsão quimicamente, o pentilenote

trazol (PTZ), e outra elétrica, o eletrochoque transcorneal máximo (ECMAX). Em geral, drogas efetivas contra as convulsões por PTZ são terapêuticamente efetivas também nas epilepsias do tipo "pequeno mal", ao passo que as efetivas no EMAX são indicadas na clínica para epilepsias "grande Mal" (47).

Das drogas testadas são anti-convulsivantes por PTZ o composto (90) que protegeu parcialmente os animais. No entanto, o composto (87) protegeu totalmente. Com respeito ao EMAX, o composto (87) protegeu totalmente os animais das convulsões induzidas por essa metodologia.

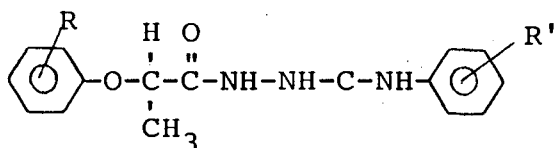
Assim seria de interesse os estudos com o composto (87) e talvez com o composto (90), aumentando-se o número de animais por grupo e ampliando-se o número de testes farmacológicos.

Analisando as tabelas III, IV e VI (pp. 62, 63 e 65) pode-se concluir que a medida que se aumenta o comprimento do radical alquila ligado ao grupo carbonila da l-acil-aril-tiosemicarbazida, ou seja, a medida que aumenta a lipofilicidade da molécula, o efeito anticonvulsivante diminui. No caso do mecanismo de ação ser pela inibição da acetilcolinesterase (AChE) devemos pensar que o aumento do comprimento do grupo alquila (não polar) diminui, possivelmente por efeito estérico, a força de interação entre a enzima e a l-acil-4-aril-tiosemicarbazida.

No entanto, novos estudos deverão determinar os mecanismos de ação que permitam explicar este comportamento.

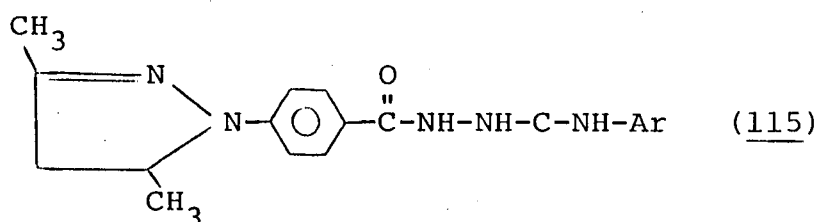
3.6.2. Análise dos Efeitos Biológicos

Todos os compostos sintetizados foram testados para uma possível atividade bactericida e fungicida, já que Bahel⁽⁴⁴⁾ sintetizou compostos cuja estrutura está representada abaixo, que se mostraram ativos perante os fungos *A. brassicae* e *H. oryzae*.

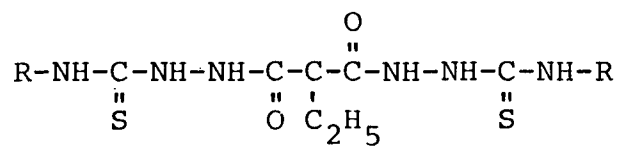


| | | |
|----------|---|------------------------------|
| R = 2-Cl | e | R' = H (111) |
| R = 2-Cl | e | R' = 4-Cl (112) |
| R = 2-Cl | e | R' = 2-CH ₃ (113) |
| R = 2-Cl | e | R' = 4-CH ₃ (114) |

Joshi e Nadkarny⁽⁴⁵⁾ testaram compostos (cuja estrutura) está indicada abaixo, que se mostraram ativos perante *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.



Pandey e col.⁽³²⁾ sintetizaram tiosemicarbazidas (cuja estrutura está indicada a seguir) que foram ativas perante os fungos, Bean rust (*Uromyces phaseoli*), *Pythium*, *Rhizoctonia solani*. Nossos resultados foram todos negativos, o que mostra que não se pode generalizar no sentido de que, compostos que contêm o grupo N-C-S são biologicamente ativos tal como sugerem Suman e Bahel⁽⁴³⁾.



R = fenil (116), o-toluil (117), m-toluil (118), o-anisol (119), o-etóxi-fenil (120), p-cloro-fenil (121).

3.7. CONCLUSÃO

Estudou-se em nosso trabalho a síntese de p-metoxifenil-propanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-butanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-nonail-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-undecanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-tetradecanoil-tiosemicarbazida, p-metoxifenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida empregando-se o método de Hogarth⁽¹⁾ e 3-etil-4-(p-metóxi-fenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, 3-propil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, 3-octil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, 3-tridecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol, 3-pentadecil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol a partir das 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazidas apropriadas em meio básico e meio ácido.

As principais conclusões obtidas em nosso trabalho são:

1) A síntese de 1-acil-4-aryl-tiosemicarbazidas a partir de acil-hidrazidas e aril-isotiocianatos, mostrou ser razoável e não apresentou problemas de consideração, confirmando ser um bom material de partida para a síntese de heterocíclicos.

2) A síntese de triazóis a partir das 1-acil-4-tiosemicarbazidas correspondentes, apresentou a formação de ao menos três produtos, dos quais dois aparecem em maiores proporções, o qual difere do indicado pela literatura. Um dos produtos é o 3-(n-alquil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol e o outro é 3-(p-metoxianilil)-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol.

A determinação da estrutura do composto (107) foi reali

zada somente por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e por considerações do mecanismo provável da reação.

3) A análise dos espectros de I.V. destes compostos - que foram pela primeira vez sintetizados, permite determinar bandas características correspondentes aos grupos C=O, N-H e fundamentalmente $\overset{|}{\text{N}}-\overset{|}{\text{C}}-\overset{|}{\text{S}}$.

No caso dos triazóis é importante salientar que a estrutura cristalina dos mesmos, apresenta segundo os dados de I.V., a forma de tiocarbonila (C=S) e não de mercapto-derivado (C-SH).

4) Todos os compostos sintetizados foram submetidos a testes microbiológicos para uma possível atividade bactericida e fungicida considerando-se que compostos semelhantes são ativos contra *Stafilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Cândida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, ranikhet disease virus, *Uromyces phaseoli*, *Phytium*, e outros.

Os resultados foram todos negativos mostrando que não se pode generalizar no sentido de que estruturas que contêm o grupo $\overset{|}{\text{N}}-\overset{|}{\text{C}}-\overset{|}{\text{S}}$ são biologicamente ativos, tal como sugerem Suman e Bahel⁽⁴³⁾.

Finalmente foram feitos testes farmacológicos com camundongos, os quais apresentaram uma redução na atividade locomotora. Aplicou-se dois tipos de testes para estudo do efeito anticonvulsivante: quimicamente, por PTZ e elétricamente por EMAX.

Os compostos p-metoxifenil-propanoil-tiosemicarbazidas (87), p-metoxifenil-butanoil-tiosemicarbazida (90), p-metoxifenil-hexadecanoil-tiosemicarbazida (103), promovem redução

na atividade locomotora dos camundongos. Contrariamente, o 3-etil-4-(p-metoxifenil)-5-mercapto-1,2,4-triazol (104) produz um ligeiro aumento.

Todas as tiosemicarbazidas apresentaram uma certa atividade anticonvulsivante. Analisando a correlação entre estrutura e atividade farmacológica pode-se observar que à medida que aumenta o comprimento do grupo alquílico pela adição de unidades metilênicas (-CH₂-) o efeito anticonvulsivante diminui.

Considerando que o efeito anticonvulsivante pode ser devido à inibição da acetilcolinesterase (AChE) é lógico pensar que possivelmente o aumento do comprimento do grupo alquílico, pelo efeito estérico, deve afetar a interação entre a enzima e a 1-acil-4-aril-tiosemicarbazida. No entanto, novos estudos deverão ser realizados para confirmar o mecanismo de ação e as causas dos efeitos estruturais indicados.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

01. HOGGARTH, E. Compounds related to thiosemicarbazides. Part II. 1-Benzoylthiosemicarbazides. J. Chem. Soc., 1163-7, 1949.
02. REID, D.H. Organic compounds of sulphur, selenium, telurium; a review of the literature published between april 1969 and march 1972/1970 and 1972. London, Chemical Society - Burlington house, c 1970/c 1973. v. 1,2.
03. ARAI, I.; SATOH, I.; MURAMATSU, I. & HAGITANI, A. Reactions of hydrazinium thiocyanate with alcohols. Bull. Chem. Soc. Japan. 48:2739, 1969.
04. RABINOWTZ, J.; CHANG, S.; HAYES, J.M. & WOELLER, F. Studies on the formation and transformation of esters. On the reaction of isothiocyanates and phenyl isocyanate with hydrazinoethanol and hydrazinoethyl hydrogen sulfate. J.Org.Chem., 34:372-6, 1969.
05. ANTHONY, U.; LARSEN, C. & NIELSEN, Per. H. Derivatives of hydrazine. II. 1-(N,N-dialkyl thiocarbazoyl, imidazoles and related compounds. Magnetic nonequivalence in the ^1H NMR. Signals of the diisopropylamino group. Acta Chem. Scand. 23(4): 1231-47, 1969.
06. PARANJPE, M.G. & DESPHANDE, P.H. Preparation of 4-aryl- 1,4-diarylthiosemicarbazides. Indian J. Chem. 7:186-7, 1969.

07. KURZER, F. Heterocyclic compounds from urea derivatives. Part XX. Adducts from carbonohydrazides and aroyl isothiocyanates and their cyclisation. J. Chem. Soc. (C). 2927-31, 1971.
08. KURZER, F. Heterocyclic compounds from urea derivatives. Part XXI. Adducts from thiocarbonohydrazides and aroyl isothiocyanates and their cyclisation. J. Chem. Soc. (C). 2932-38, 1971.
09. SCHWARZ, I. & JUST, H. (Patente). VEB Berlin-Chemie. Fr. 2 097 737, Cl c 07 c, a7 april 1972. 5pp.
10. POTTS, K.T. The chemistry of 1,2,4-triazoles. Chem. Reviews, 87-127, 1961.
11. BLADIN, J. A. Ber., 18:1544, 1885.
12. BUSCH, M. J. prakt. Chem. 89:552, 1914.
13. KLINGSBERG, E. Preparation of triaryl-s-triazoles from diaroylhydrazines. J. Org. Chem. 23:1086-7, 1958.
14. KLINGSBERG, E. Synthesis of **carboxylic acid hydrazides** and s-triazoles of the **antraquinone** series. J. Amer. Chem. Soc. 80:5786-9, 1958.
15. HERBST, R.M. & GARRISON, J.A. Studies on the formation of 4-aminotriazole derivatives from acyl hydrazides. J. Org. Chem. 18:872-7, 1953.
16. BUSCH, M. & SCHNEIDER, C. Hydrazidines. J. prakt. Chem. 89: 310-23, 1914.

17. HOGGARTH, E. Compounds related to thiosemicarbazides. Part VI. Further routes to 4:5-diamino-3-phenyl-4:1:2-triazole and related compounds. J. Chem. Soc. 1579-82, 1950.
18. MEYER, R. Substituted Triazoles. Chem. Abstracts.27:4541 , 1933.
19. DUTTA, S.; BIJAN, P. Das; BIRENDRA, K.P. et alii. 3-substituted amino-4-5-disubstituted-1,2,4-4H-triazole and aldehyde from 1-acylsemicarbazide. J. Org. Chem. 32:8558-60 , 1967.
20. SILBERG, Al. & COSMA, N. Asupra unor aditii la senevoli.II. Aditia unor aril-hidrazide la fenilsenevol si compartarea produsilor astfel obtinuti. Studii Cercetari. Chim. 10: 151-61, 1959.
21. BENNUR, S.C. & JIGAJINI, V.B. et alii. Synthesis of 2-methylthio-5-bromo-pyrimidine-4-carboxylic acid thiosemicarbazides, 3-pyrimidil-1,2,4-(4H)-triazoles and 2-aril amino-1,3 4-thiadiazoles. Rev. Roum. de Chimie.21(5):757-62, 1976.
22. WILLES, D.M. & SUPRUNCHUK, T. The infrared absorption spectra of thiosemicarbazides and related compounds: NH_2 and NH vibrations. Can. J. Chem. 47(6):1087-90, 1969.
23. MASHIMA, M. The infrared absorption spectra of $(\text{NH}_2\text{CONH-})_2$, NH_2CONH_2 , $(\text{NH}_2\text{CSNH-})_2$ and $\text{NH}_2\text{CSNHNH}_2$. Bull. Chem. Soc. Japan. 37: 974-84, 1964.

24. RAO, C.N.R. & VENKATARAGHAVAN, R. Contribution to the infra
red spectra of five-membered N- and N,S-heterocyclic com-
pounds. Can. J. Chem. 42:43-6, 1969.
25. DZIEWÓNSKA, M. Infrared spectra of some 3,4,5-substituted de
rivatives of 1,2,4-triazoles. Spectrochim. Acta. 23(A) :
1195-204, 1967.
26. BELLAMY, L.J. Advances in infrared group frequencies. 1.ed.
London, methuen, 1958.
- 27 BELLAMY, L.J. The infrared spectra of complexes molecules .
3.ed. New York, Halsted Press-Wiley, 1975.
28. WILLES, D.M.; GINGRAS, B.A. & SUPRUNCHUK, T. The C=S stret
ching vibration in the infrared spectra of some thiose-mi
carbazines. Can. J. Chem. 45:469-73, 1967.
29. WILLES, D.M. & SUPRUNCHUK, T. The C=S stretching vibration
in the infrared spectra of some thiosemicarbazones.II. Al
dehyde thiosemicarbazones containing aromatic groups.
Can. J. Chem. 45:2258-63, 1967.
30. RAO, C.N.R. & VENKATHARAGAVAN, R. The C=S stretching frequen
cy and the "N-C=S bands" in the infrared. Spectroch.Acta,
18:541-7, 1962.
31. DUBENKO, R.G. & PELKIS, P.S. Derivatives of 1,6-diphenylhy-
drazodithiocarboxamide. Zh. Obshch. Khim 33(7):2220-3 ,
1963.

32. PANDEY, H.N.; MISHRA, L. & VISNU, J. New thiosemicarbazides as potential fungicides. J. Agric. Biol. Chem. 41:(3)603-4, 1977.
33. SENGUPTA, A. & AGARWAL, K.C. Synthesis of substituted piperazinyl semicarbazides and thiosemicarbazide: as possible acetyl cholinesterase (AChE) inhibitors. J. Indian.Chem. Soc. 54:961-4, 1977.
34. SINGH, H.A. & NAGER, S. et alii. Paper presented in 170th Amer. Chem. Soc. Nat. Meetin at Chicago, August, 2429, 1975.
35. BAHADUR, S. & SURENDRA, P.S. Synthesis of some new thiosemicarbazides, thiadiazoles, triazoles, and their derivatives as potential antiviral agents. Arch. Pharm. 315:312-17, 1982.
36. AKERBLON, E.B. & CAMPBELL, D.E.S. Nitrofuryl triazole derivatives as potential urinary tract antibacterial agents. J. Med. Chem. 16:312-8, 1973.
37. GSELL, L. & MEYER, N. (Patente). Ger. Offen. 2, 739, 084, 16 mar 1978. 18 pp.
38. MAHESWARI, G.L. & MASHEH, R.P. et alii. Synthesis of some l-acyl-4-substituted thiosemicarbazides. Curr. Sci. 43(18): 579-80, 1970.

39. STAHL, E. Thin-Layer Chromatography. 2.ed. New York, Springer-Verlag Berlin. Heidelberg, 1969.
40. HANNAH, R.W. & SWINEHART, T.S. Experiments in techniques of infrared spectroscopy. Perkin-Elmer corp., USA, 1972.
41. SPINNER, E. J. Chem. Soc. 1237, 1960.
42. BIER, Otto. Bacteriologia e Imunologia. 15.ed. São Paulo , Edições Melhoramentos, 1970.
43. SUMAN, S.P. & BAHTEL, S.C. Synthesis of 2-aryl-amino-5-aryl/aryloxy methyl-1,3,4-oxadiazoles, 2-aryl-amino-5-aryl/aryloxy methyl-1,3,4-thiadiazoles, N₁-aryl/aryloxy acetyl-3,5-dimethyl pyrazoles and N₁-aryl/aryloxy acetyl-3-methyl-5-pyrazolones as possible fungicides. J. Indian Chem.Soc. 56:374-6, 1979.
44. BAHTEL, S.C. Synthesis of some aryloxypropionyl thiosemicarbazides and related compounds as possible fungicides. J. Indian Chem. Soc. 58:822-3, 1981.
45. JOSHI, N.N. & NADKARNY, V.V. Synthesis of some substituted pyrazoles as possible antibacterial agents. J. Indian. Chem. Soc. 54:1081-3, 1977.
46. MOHAN, C.; SAHARIA, G.C. & SHARMA, R. Studies in heterocyclic compounds. Part XIV. Synthesis and in vitro antimicrobial study of some 3-methyl-5-(p-alkylphenyl)-4-(N-substituted p-sulphamylbenzeneazo) pyrazoles. J. Indian Chem. Soc. 53:827-9, 1976.
47. Burley & FERRENDELLI. Feder. Proc., 43(10):2521-24, 1984.