



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

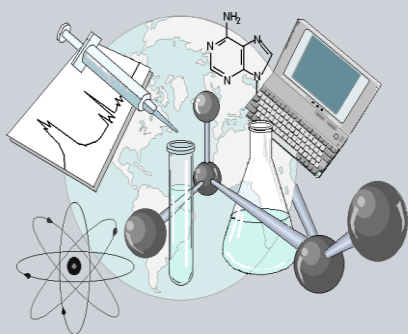
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“SÍNTESE DE DERIVADOS BENZIMIDAZÓLICOS
CONTENDO GRUPOS BENZAMIDAS E N'-ILIDENO-
SUBSTITUÍDO-BENZOIDRAZIDAS LIGADOS NA
POSIÇÃO-2' DO BENZIMIDAZOL COMO NOVOS
POTENCIAIS AGENTES ANTITUMORAIS”**

Dissertação apresentada por
Eduardo Tanabe ao Programa de Pós-
Graduação em Química do
Departamento de Química do Centro
de Ciências Exatas da Universidade
Estadual de Maringá como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Química



**Centro de
Ciências Exatas**

MARINGÁ, AGOSTO/2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE DE DERIVADOS BENZIMIDAZÓLICOS CONTENDO GRUPOS
BENZAMIDAS E N'-ILIDENO-SUBSTITUÍDO-BENZOIDRAZIDAS LIGADOS
NA POSIÇÃO-2' DO BENZIMIDAZOL COMO NOVOS POTENCIAIS
AGENTES ANTITUMORAIS.**

Mestrando: Eduardo Tanabe

Orientador: Prof. Dr. Emerson Meyer

MARINGÁ, AGOSTO DE 2012



Universidade Estadual de Maringá

Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por **Eduardo Tanabe**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 03 de agosto de 2012.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Emerson Meyer
Presidente - DQI/UEM

Prof. Dra. Fernanda Andreia Rosa
Membro - DQI/UEM

Prof. Dr. Luciano Fernandes
Membro - UTFPR

Dedico essa dissertação aos meus pais, que sempre me ajudaram e apoiaram a realizar os meus sonhos, e a minha irmã pelo constante incentivo para os estudos.

E para minha amiga,
amada, minha doce e querida
esposa Liza.

Agradecimentos

- Primeiramente agradeço ao “pssor” Emerson Meyer pela paciência e sensata orientação que me motivou a realizar o doutorado e a “Mom” Natália por sempre estar me apoiando.
- A “pssora” Maria Helena por ter me aceitado como “agregado” do seu laboratório.
- Aos meus amigos de bola Bruno, Gean, Eduardão e Welli que aumentam a qualidade dos nossos jogos com um toque refinado e jogadas de efeito.
- Agradeço e sentirei falta dos amigos do laboratório da “pssora” Maria Helena. A alegria da Camila, a risada estridente do Marcos, a meiguice da Manu, a conversa a 100 dB da Fran, a minha vizinha Ju, ao sapateado do George, a cantoria repentina da Val, a conversa em alta velocidade da Letícia e as ICs Camila, Carlete, Lígia, Beatriz e Pamela.
- Quero agradecer aos auxílios que recebi do Moacir e aos espectros da Ivânia e Ana.
- A todos funcionários da UEM que fazem essa grande Universidade funcionar.

RESUMO

SÍNTESE DE DERIVADOS BENZIMIDAZÓLICOS CONTENDO GRUPOS BENZAMIDAS E *N'*-ILIDENO-SUBSTITUÍDO-BENZOIDRAZIDAS LIGADOS NA POSIÇÃO-2' DO BENZIMIDAZOL COMO NOVOS POTENCIAIS AGENTES ANTITUMORAIS.

Palavras chaves: *Benzimidazol, substituição na posição-2', antitumoral.*

Com base em estudos de atividade antitumoral feitos pelo nosso grupo de pesquisa utilizando β -carbolinas, efetuamos a síntese de derivados benzimidazólicos com os mesmos substituintes dos derivados β -carbolínicos que demonstraram a melhor atividade farmacológica. Como as β -carbolinas, o benzimidazol apresenta-se como um ótimo grupo farmacofórico, sendo utilizado amplamente na química medicinal.

Os derivados sintetizados contendo grupos benzamidas (**28a-g**) e *N'*-ilideno-substituído-benzoidrazida (**32a-f** e **33a-e**) na posição-2' do benzimidazol apresentaram apenas uma pequena atividade antitumoral frente às células de glioma (U251), carcinoma mamário (MCF-7), ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES), renal (786-0), pulmão (NCI-H460), ovário (OVCAR-03), cólon (HT-29) e leucemia (K562), exceto os derivados (E, Z) -*N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2'-(1'-*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**32c**) e o (E, Z) -*N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2'-(6'-metil-1'-*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**33c**), que apresentaram valores de IC₅₀ menores que 10,0 μ M para praticamente todas linhagens de células tumorais. Apesar disso, foi possível tirar algumas conclusões que ajudarão o nosso grupo de pesquisa a nortear as futuras pesquisas que devem ser realizadas para utilizar o benzimidazol como núcleo na busca de novos agentes antitumorais.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES CONTAINING GROUPS BENZAMIDES AND *N'*-YLIDENE-SUBSTITUTED BENZOHYDRAZIDES ATTACHED IN THE POSITION-2' OF THE BENZIMIDAZOLE AS NEW POTENTIAL ANTITUMOR AGENTS.

Keywords: *benzimidazole, substitution at position-2', antitumoral.*

Based on studies of antitumor activity performed by our research group using the β -carboline nucleus, we synthesized a series benzimidazole derivatives bearing the same substituents of β -carboline derivatives which showed the best pharmacological activity. As the β -carbolines, the benzimidazole presents itself as a good pharmacophoric group, being widely used in medicinal chemistry.

The synthesized derivatives containing benzamide group (**28a-g**) and (E, Z)-*N'*-ylidene-substituted benzohydrazide group (**32a-f** e **33a-e**) in the position-2' of the benzimidazole showed poor antitumor activity against glioma cells (U251), breast cancer (MCF-7), ovarian expressing phenotype multiple drugs resistance (NCI-ADR/RES), renal carcinoma (786-0), lung (NCI-H460), human ovarian carcinoma (OVCAR-03) colon (HT-29) and leukemia (K562), with the exception of the derivatives *N'*-(*o*-chloro-benzylidene)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-yl) benzohydrazide (**32c**) and *N'*-(*o*-chlorobenzylidene)-2-(6'-methyl-1'*H*-benzimidazol-2'-yl)benzohydrazide (**33c**), in which both showed IC₅₀ values lower than 10.0 μ M for almost all tumor cell lines. Nevertheless, it was possible to draw some conclusions that will help our group to guide the future researches regarding the use of the benzimidazole nucleus in the search for new antitumor agents.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Câncer.....	1
1.2. Benzimidazol.....	2
1.2.1. Medicamentos contendo benzimidazol.....	3
1.2.2. Metabolismo.....	5
1.2.2.1. Biotransformação no núcleo benzimidazólico.....	6
1.2.3. Metodologia de síntese de benzimidazóis.....	6
1.2.4. Derivados benzimidazólicos com atividade antitumoral.....	9
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivos gerais.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1. Síntese e caracterização de derivados benzimidazólicos.....	15
3.2. Síntese de derivados contendo o grupo benzamida na posição-2' do benzimidazol.....	18
3.3. Síntese de derivados <i>N</i> '-ilideno-substituído-benzimidazida na posição-2' do benzimidazol.....	27
3.4. Avaliação da atividade antiproliferativa contra células tumorais dos derivados sintetizados.....	37
4. CONCLUSÕES	45
5. SEÇÃO EXPERIMENTAL	46
5.1. Instrumentação.....	46
5.2. Materiais.....	46
5.3. Derivados benzimidazólicos.....	47
5.3.1. Ácido 2-(1'- <i>H</i> -benzimidazol-2'-il)benzóico (25).....	47
5.3.2. Benzo-4,5-imidazo[2,1- α]isoindol-11-ona (26).....	48

5.3.3. Procedimento geral para a síntese das 2-(1' <i>H</i> -benzimidazol-2'-il)benzamida (28a-g)	49
5.3.4. 2-(1' <i>H</i> -benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (30a)	51
5.3.5. Procedimento geral para a síntese das <i>N</i> '-substituído-2-(1' <i>H</i> -benzimidazol-2'-il)benzoidrazidas (32a-f).....	52
5.3.6. Procedimento geral para a síntese das <i>N</i> '-substituído-2-(5'(6')-metil-1' <i>H</i> -benzimidazol-2'-il)benzoidrazidas (33a-e)	54
5.4. Ensaio biológico.....	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Estrutura molecular do benzimidazol.</i>	2
Figura 2: <i>Estrutura molecular da vitamina B₁₂.</i>	3
Figura 3: <i>Fármacos antiparasitários.</i>	4
Figura 4: <i>Estruturas moleculares do pró-fármaco omeprazol e a sua forma ativa sulfenamida.</i>	4
Figura 5: <i>Estruturas moleculares da candesartana cilexetila e candesartana...</i>	5
Figura 6: <i>Resumo das fases 1 e 2 da biotransformação hepática.</i>	6
Figura 7: <i>Posição-5 do tiabendazol.</i>	6
Figura 8: <i>Estrutura molecular do carbendazim.</i>	10
Figura 9: <i>Derivados benzimidazólicos sintetizados por Saczewski e colaboradores.</i>	10
Figura 10: <i>Derivados benzimidazólicos sintetizados por Abdel-Mohsen e colaboradores.</i>	11
Figura 11: <i>Composto sintetizado e avaliado por Penning e colaboradores.</i>	12
Figura 12: <i>a) núcleo β-carbolínico e b) benzimidazólico.</i>	13
Figura 13: <i>Benzimidazol contendo grupo benzamida.</i>	13
Figura 14: <i>Benzimidazol contendo N'-ilideno-substituído-benzoidrazida na posição-2'.</i>	14

Figura 15: Espectros de RMN de ^1H (a), de ^{13}C (b) e de IV (c) do 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzóico (25) (DMSO- d_6).....	16
Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (a) e de IV (b) do benzo-4,5-imidazo[2,1- α]isindol-11-ona (26) (CDCl $_3$).....	18
Figura 17: Exemplos de estruturas de derivados β -carbolínicos que apresentaram atividade antitumoral.	19
Figura 18: Espectro de IV (a), RMN de ^{13}C (b) e de ^1H (c) do composto 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N-isopropilbenzamida (28b) (DMSO- d_6).....	22
Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 28e ...	23
Figura 20: Provável ligação de hidrogênio entre hidrogênio benzimidazólico e oxigênio da carbonila no composto 28e	23
Figura 21: Conformação tridimensional do composto 28e (bola cinza: átomo de carbono; branca: hidrogênio; azul: nitrogênio; vermelha: oxigênio).	24
Figura 22: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto 28e . .	24
Figura 23: Espectros de correlação H-H COSY (a) e interação H6-H6'' (linha vermelha) observada no espectro de NOESY (b) do composto 28e (300,06 MHz, DMSO- d_6).	25
Figura 24: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto 28e	26
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H a 25°C (a) RMND de ^1H (b) a 60°C do composto [2-(1'H-benzimidazol-2'-il)fenil](4''-metilpiperazina-1''-il)metanona (28e) (DMSO- d_6).	27

Figura 26: Exemplos de estruturas de derivados β -carbolínicos que apresentaram atividade antitumoral.	28
Figura 27: Espectro de IV (a) e de ^1H (b) do composto 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (30a) (DMSO- d_6).	29
Figura 28: Espectro de RMN de ^1H (a) e de ^{13}C (b) do composto N'-(o-clorobenzilideno)-2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32c) (DMSO- d_6).	33
Figura 29: Espectro de RMN de ^1H (a), de ^{13}C (b) e de correlação C-H HSQC (c) do composto 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N'-benziledenobenzoidrazida (32a) (DMSO- d_6).	34
Figura 30: Espectro de RMN de ^1H (a) e de ^{13}C (b) 2-(6'-metil-1'H-benzimidazol-2'-il)-N'-[(tiofeno-2-il)metileno]benzoidrazida (33e) (DMSO- d_6). ..	34
Figura 31: Espectro de ^1H N'-benzilideno-2-(6'-metil-1H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33a) (DMSO- d_6).	35
Figura 32: Espectro de ^1H N'-benzilideno-2-(6'-metil-1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33a) (DMSO- d_6 + 1 gota de D_2O).	36
Figura 33: Espectro de ^1H N'-benzilideno-2-(6'-metil-1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33a) à 25° C (a), 45° C (b) e à 60° C (c) (DMSO- d_6).	37
Figura 34: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de 28g	38
Figura 35: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de 32c (a) e 33c (b).	39
Figura 36: Derivados benzimidazólicos sintetizados que apresentaram atividade antitumoral.	41

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** *Deslocamento químico dos carbonos do núcleo benzimidazol.....* 21
- Tabela 2:** *Caracterização da porção piperazínica do composto 28e.* 26
- Tabela 3:** *Condição reacional para síntese de derivados N'-ilideno-substituído-benzimidazida na posição-2' do benzimidazol (32a-f).* 30
- Tabela 4:** *Condição reacional para síntese de derivados N'-ilideno-substituído-benzimidazida na posição-2' do benzimidazol (33a-e).* 31
- Tabela 5:** *IC₅₀ (μM) dos derivados benzimidazólicos preparados frente a células tumorais.....* 42
- Tabela 6:** *Tabela com os valores de IC₅₀ (μM) dos derivados benzimidazólicos e os derivados correspondentes β-carbolínicos.* 43

TABELA DE ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
COSY	Correlation Spectroscopy
D	Dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EDC	1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC50	Concentração do fármaco que causa a inibição de 50% do crescimento celular
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Infravermelho
Ki	Constante de inibição
MHz	Mega hertz
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
OMS	Organização Mundial da Saúde
PARP	Poli(ADP-Ribose) Polimerase
pf	Ponto de fusão
q	Quarteto
quint	Quinteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMND	Ressonância magnética nuclear dinâmica

RPMI	Meio de cultura de tecido animal desidratado desenvolvido pelo Instituto Roswell Park Memorial (RPMI)
sext	Sexteto
SFB	Soro fetal bovino inativo
SI	Simpleto largo
SRB	Sulforradamina B
T	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TCA	Ácido tricloroacético
Td	Triplo duplete
W	Watts
Δ	Aquecimento até refluxo
Δ	Deslocamento químico

1. INTRODUÇÃO

1.1. Câncer

Segundo estimativas do INCA haverá cerca de 520 mil novos casos de neoplasias malignas em 2012 e, de acordo com a OMS, em 2010 ela foi a segunda causa de morte por doença no Brasil ^[1,2]. A explicação dessa alta incidência está diretamente relacionada à maior exposição dos indivíduos a fatores de risco. Na década de 1960, epidemiologistas de oncologia diziam que era possível evitar a doença tendo o estilo de vida e um ambiente saudável. Atualmente, sabemos que vários motivos podem desencadear o processo patológico, sendo os principais o tabagismo, obesidade e algumas viroses oncogênicas ^[3].

O câncer, também denominado tumor maligno e neoplasia maligna, é definido como uma massa anormal de células que, apesar de ter cessado o estímulo que o evocou, continua multiplicando-se e invadindo, minando o fornecimento de energia e substratos nutricionais e matando os tecidos normais ^[4,5]. Porém, para tornar-se uma célula cancerígena, ela precisa transpor barreiras que o organismo construiu para o impedimento da formação de tumores. Por isso precisam adquirir, basicamente, seis alterações: ser autossuficiente na produção de sinais de proliferação, insensível aos sinais inibidores de proliferação, apresentar evasão da morte programada (apoptose), sem limite para replicação, indução da angiogênese, e invasão de tecidos (metástase) ^[6].

Apesar dessa enfermidade ter sido descoberta há séculos, atualmente existe apenas cura de alguns cânceres, como linfoma de Hodgkin, ou em casos em que a doença está em estágio inicial de desenvolvimento, ou seja, não houve metástase. Fora esses casos, que é a grande maioria, elas são tratadas com medicamentos paliativos causando sofrimento emocional e físico e muitas vezes o óbito ^[7,8,9]. Além disso, poucos medicamentos possuem índice terapêutico tão estreito com alta probabilidade de ocorrer efeitos adversos, por isso, os antineoplásicos são um dos principais focos de pesquisa para descoberta de novos fármacos no meio acadêmico ^[10,11].

Com o intuito de contribuir na busca de novos medicamentos para o tratamento de neoplasias malignas, propomos várias moléculas derivadas do heterociclo benzimidazol. Este núcleo é um excelente grupo farmacofórico, tendo inclusive gerado várias patentes [12,13,14,15]. Seus derivados apresentam várias atividades biológicas como antifúngica [16], antagonista serotoninérgico [17], inibidor de secreção de ácido gástrico [18], antiparasitário [19], antimicrobiano [20], cardiotônico [21], antimalárico [22] e antitumoral [22,23,24].

1.2. Benzimidazol

O benzimidazol é um composto orgânico bicíclico condensado resultante da fusão do benzeno com o imidazol (Figura 1).

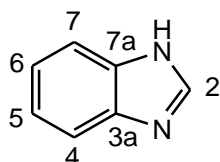


Figura 1: Estrutura molecular do benzimidazol.

Este núcleo é considerado um isóstero de nucleotídeo, devido aos dois anéis fundidos, facilitando assim, em princípio, a interação com biopolímeros, possuindo potencial atividade farmacológica associada à baixa toxicidade [25].

Além disso, ele é encontrado como uma das unidades complexadas ao cobalto da vitamina B₁₂ (Figura 2). Esta coenzima participa em duas reações no metabolismo humano junto com duas enzimas: metionina sintetase e metilmalonil-CoA mutase. A deficiência dessa vitamina pode ocasionar transtornos hematológicos e neurológicos [26,27].

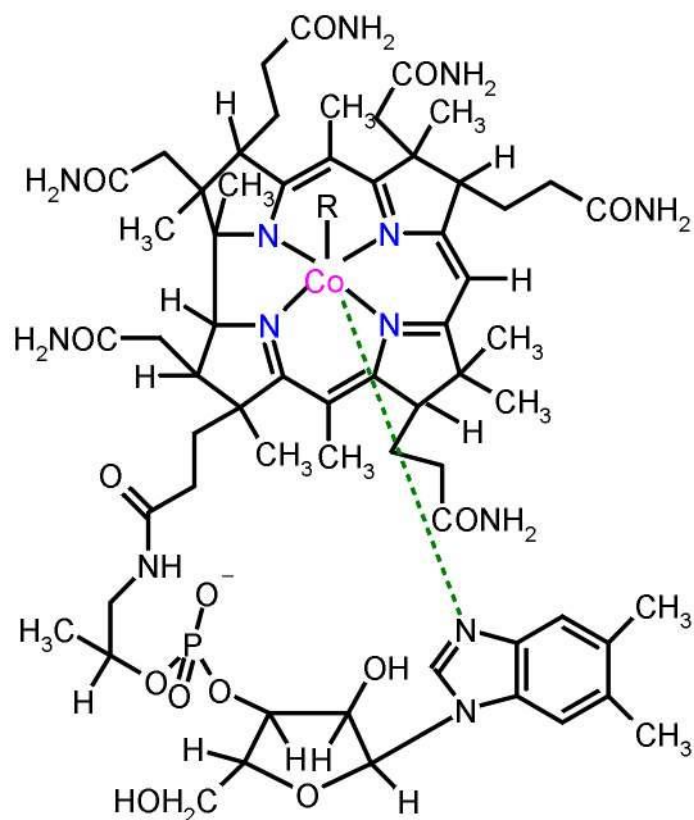


Figura 2: Estrutura molecular da vitamina B₁₂.

1.2.1. Medicamentos contendo benzimidazol

O núcleo benzimidazol faz parte dos princípios ativos de muitos medicamentos distribuídos no mercado mundial. Com os apropriados substituintes, observamos várias aplicações terapêuticas.

O primeiro benzimidazol desenvolvido e licenciado para tratamento humano foi o tiabendazol (Figura 3) em 1962. A partir deste foram desenvolvidos e comercializados mundialmente outros análogos (mebendazol, flubendazol, albendazol e triclabendazol). Exibindo propriedade anti-helmíntica, esses fármacos (Figura 3) inibem a β -tubulina polimerase do parasita, causando problemas na formação de microtúbulos no citoplasma. ^[28,29].

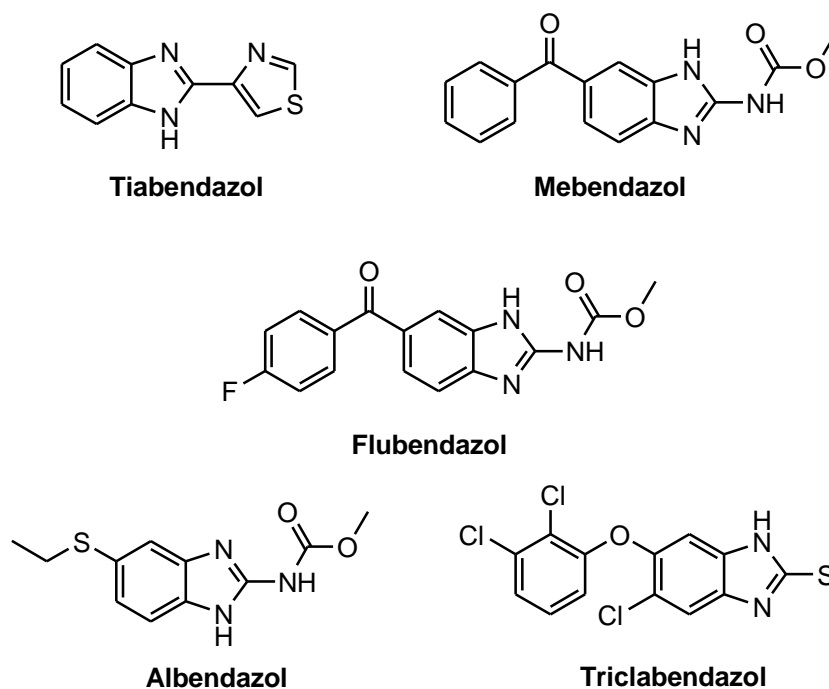


Figura 3: *Fármacos antiparasitários.*

Outro derivado do benzimidazol é o inibidor de prótons gástrico, o omeprazol, que um pró-fármaco da sulfenamida (Figura 4). O omeprazol é convertido rapidamente na sua forma ativa quando o pH está em torno de 5^[30]. A sulfenamida inibe a bomba H⁺/K⁺ ATPase diminuindo a acidez no lúmen do estômago. Ele é utilizado no tratamento de vários problemas gastroenterológicos como úlcera péptica e refluxo gastroesofágicos. A partir deste medicamento originaram-se vários derivados contendo benzimidazol na sua estrutura, como pantoprazol, lanzoprazol e rabeprazol^[31,32].

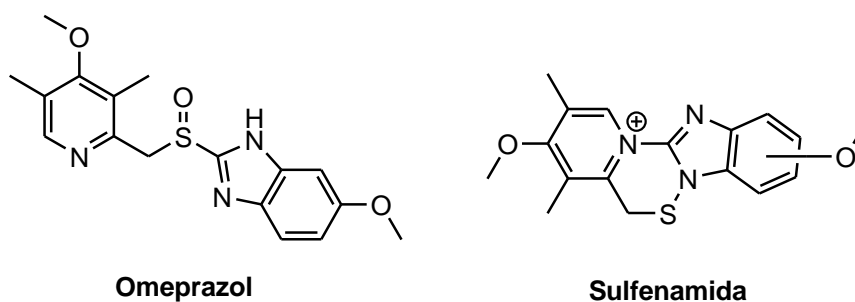


Figura 4: *Estruturas moleculares do pró-fármaco omeprazol e a sua forma ativa sulfenamida.*

A candesartana cilexetila é um pró-fármaco convertido em candesartana (Figura 5) durante a absorção no trato gastrointestinal. A estrutura ativa é uma

excelente antagonista do receptor da angiotensina II do subtipo 1. A Takeda Pharmaceutical Company Limited vende este fármaco em noventa países com uma receita de aproximadamente 1,5 bilhões de dólares, apenas em 2010, sendo um dos principais produtos da empresa [33,34].

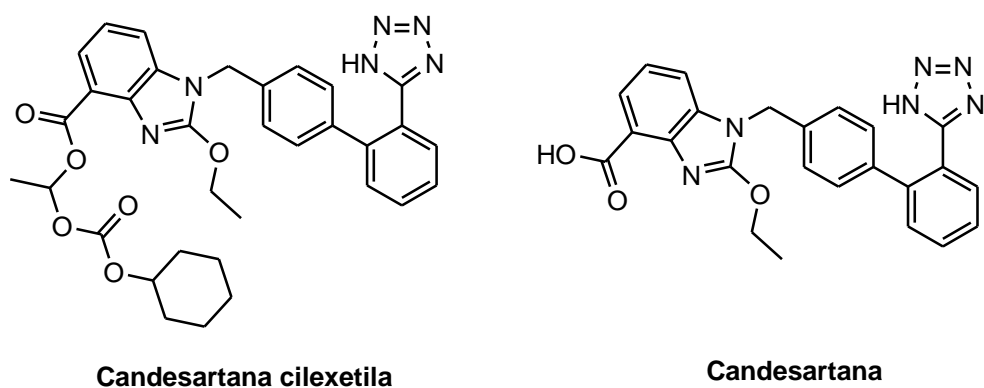


Figura 5: Estruturas moleculares da candesartana cilexetila e candesartana.

1.2.2. Metabolismo

Os seres humanos desenvolveram um processo enzimaticamente catalisado para modificar compostos químicos exógenos. Os fármacos, que fazem parte desses compostos, podem sofrer inativação, ativação ou manter-se ativo após esse processo.

O metabolismo ou biotransformação dos fármacos envolve dois tipos de reações, chamados de Fase 1 e Fase 2. A Fase 1 é representada por reações de oxidações, reduções ou hidrólises, formando produtos reativos e geram às vezes, paradoxalmente, produtos mais tóxicos ou até carcinogênicos. A Fase 2 compreende a etapa de conjugação que envolve reações de glicuronidação, sulfatação, conjugação com glicina, acilação, metilação e a formação de adutos com a glutatona. As duas fases geralmente seguem nessa sequência. A Fase 1 normalmente funcionalizam os compostos exógenos, adicionando hidroxila, por exemplo. Após a funcionalização o grupo adicionado serve de ponto para o ataque para a reação de conjugação (Fase 2), como o glicuronídeo (Figura 6). A intenção final da metabolização dos fármacos é o aumento da hidrossolubilidade para facilitar a eliminação renal [7,35,36].

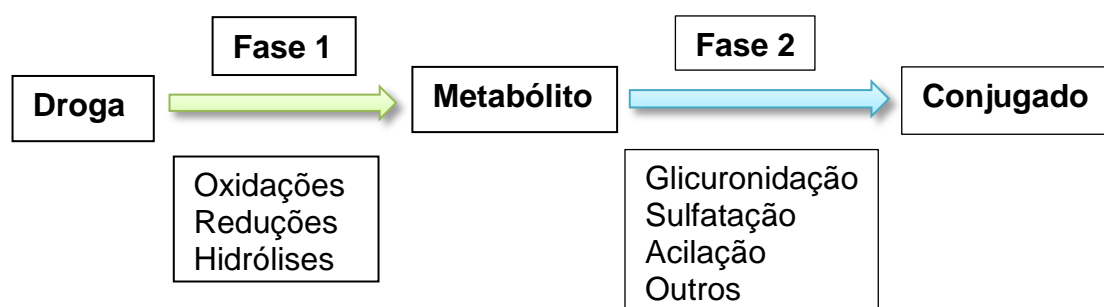


Figura 6: Resumo das fases 1 e 2 da biotransformação hepática.

1.2.2.1. Biotransformação no núcleo benzimidazólico

De acordo com vários estudos de avaliação de biotransformação de moléculas contendo benzimidazol presentes no mercado, o núcleo benzimidazol sofre pouca alteração no metabolismo humano. Medicamentos que contém substituintes no anel benzênico do benzimidazol, como o alendazol, omeprazol e pantoprazol, não sofrem alterações no heterociclo. No entanto, o oposto disso, fármacos como tiabendazol e lansoprazol são hidroxilados, em menor ou maior proporção, pelas isoenzimas do citocromo P450 na posição-5 (Figura 7) e depois conjuga-se com o ácido glicurônico ou sulfatos. Outra possível biotransformação é a metilação do nitrogênio benzimidazólico, como ocorre com o tiabendazol^[37,38,39,40,41].

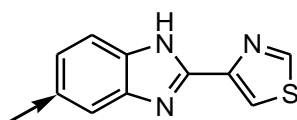
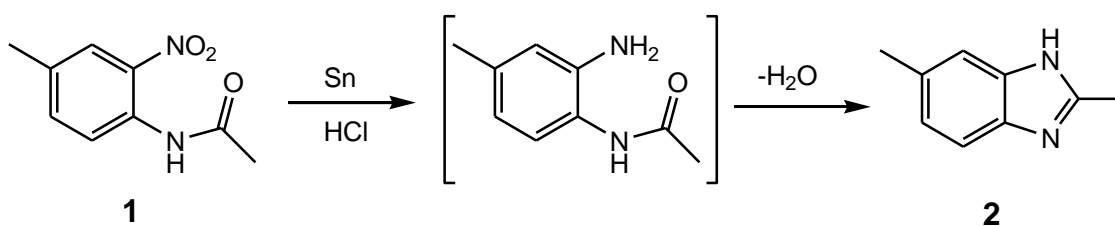


Figura 7: Posição-5 do tiabendazol.

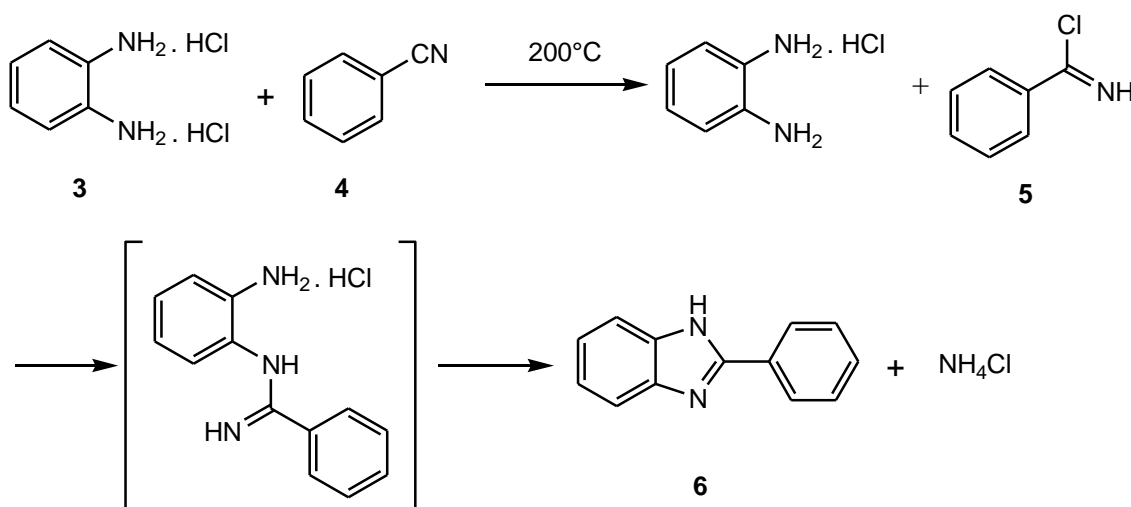
1.2.3. Metodologia de síntese de benzimidazóis

Historicamente, o primeiro a sintetizar um benzimidazol foi Hobrecker em 1872, através da redução da 2-nitro-4-metilacetanilida (1) em meio ácido e utilizando como agente redutor o estanho formando o 2,5-dimetilbenzimidazol (2)^[42], conforme o Esquema 1.



Esquema 1

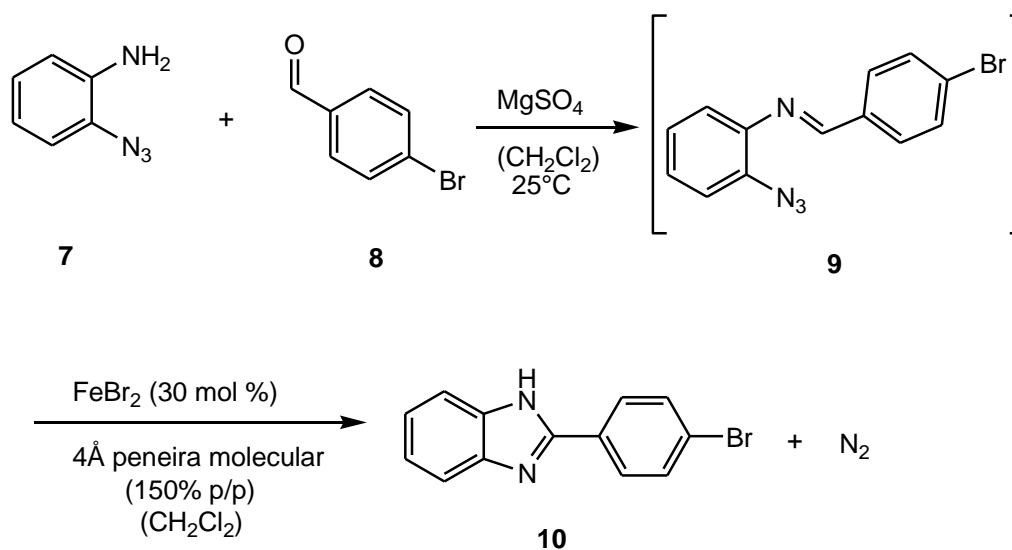
Durante as décadas seguintes foram desenvolvidas várias outras metodologias de síntese deste núcleo ^[43]. Holljes e Wagner ^[44] obtiveram com sucesso o 2-fenil-benzimidazol (**6**) ao reagir benzonitrila (**4**) com cloridrato de o-fenilenodiamina (**3**) com rendimento de 72,4% (Esquema 2). A reação foi realizada em um tubo selado a 200°C por 2 h. Além disso, foi necessário pelo menos quantidade equivalente de ácido, a fonte deste era do cloridrato da o-fenilenodiamina, em relação ao composto com nitrila (**4**). Como proposta de mecanismo, a publicação relatou que há formação *in situ* de um imino cloreto (**5**) que seria atacado pela amina e, posteriormente, ocorre ciclização com eliminação de amônia, formando o produto alvo (**6**) ^[44].



Esquema 2

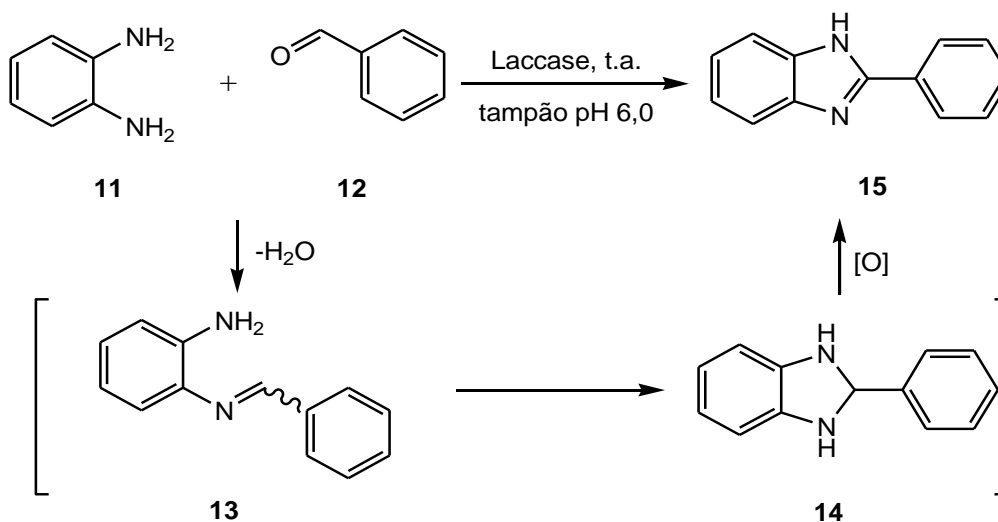
Shen e Driver ^[45] sintetizaram o heterociclo benzimidazol a partir de 2-azida-anilina, aldeído e sulfato de magnésio (Esquema 3). Esta metodologia passa por duas etapas. Na primeira etapa, reagem-se os reagentes **7** e **8** formando um intermediário imínico (**9**). Para a segunda etapa utilizou-se o brometo ferroso como catalisador para promover a ligação C-N, fechando o

anel. A inclusão de peneira molecular aumentou significativamente o rendimento da reação obtendo 94% do produto **10**.



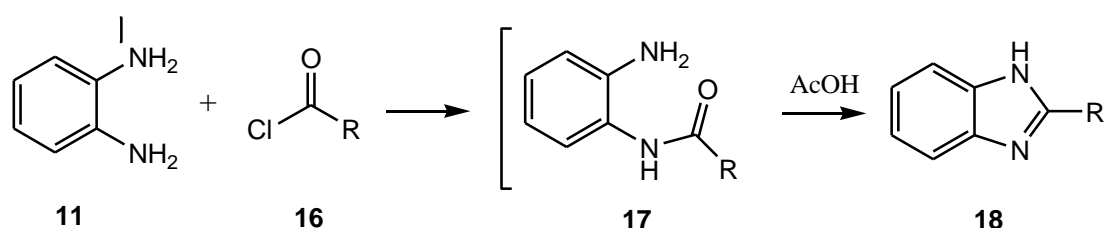
Esquema 3

Outra metodologia para síntese do núcleo benzimidazol é a realizada pelos pesquisadores Beifuss e colaboradores ^[46] utilizando a enzima laccase, que catalisa oxidações seletivas utilizando oxigênio do ar em condições de reações brandas, obtiveram com êxito derivados benzimidazólicos a partir de 1,2-diaminas aromáticas (**11**) com aldeídos aromáticos (**12**). Como para maioria das reações enzimáticas, foi necessário o uso de solução tampão com pH 6,0 em temperatura ambiente por 18h para obter o produto **15** com 74% de rendimento.



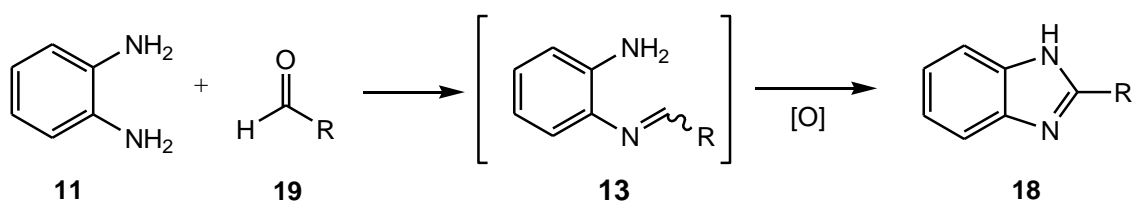
Esquema 4

Além dessas apresentadas, há uma grande variedade de metodologias publicadas na literatura para obtenção do núcleo benzimidazol. No entanto, ao restringirmos publicações encontradas apenas na área da química medicinal, são utilizadas principalmente duas metodologias. A primeira e empregada por nós, baseia-se na reação de ciclocondensação de 1,2-diaminas aromáticas (**11**) com ácidos carboxílicos e derivados (**16**) (haletos de acila e anidridos, principalmente), ocorrendo em duas etapas, formando uma amida intermediária (**17**) e posteriormente a ciclização (**18**) (sob catálise ácida), conforme o Esquema 5^[47,48,49,50].



Esquema 5

O segundo método é uma ciclodesidrogenação oxidativa envolvendo um aldeído (**19**) com as 1,2-diaminas aromáticas (**11**) com auxílio de um agente oxidante como: metabissulfito de sódio, benzoquinona, nitrobenzeno ou ar (Esquema 6)^[22,24,51,52,53].

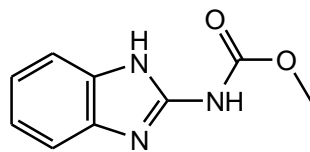


Esquema 6

1.2.4. Derivados benzimidazólicos com atividade antitumoral

Dentre o universo de moléculas benzimidazólicas ativas em estudo, destaca-se o carbendazim (Figura 8) que, apesar de ser utilizado como antifúngico agrícola, é um indutor de apoptose em células cancerígenas, demonstrando atividade frente células tumorais de melanoma ($IC_{50} = 8.5 \mu M$) e

carcinoma de cólon ($IC_{50} = 9.5 \mu M$) com baixa toxicidade. O mesmo encontra-se em fase I de ensaios clínicos ^[54].

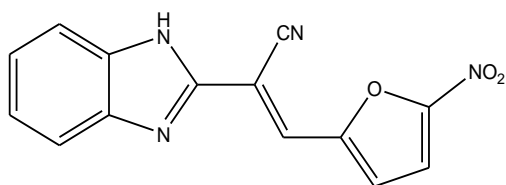


20

Carbendazim

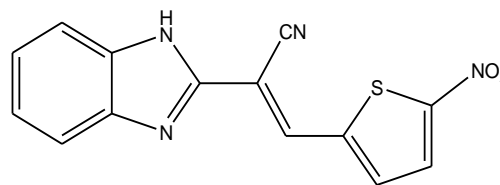
Figura 8: Estrutura molecular do carbendazim.

Saczewski e colaboradores ^[55,56] prepararam uma série de heteroaril-acrilonitrilas ligados ao benzimidazol na posição-2 (**21a-d**) com ótimas atividades antitumorais (Figura 9).



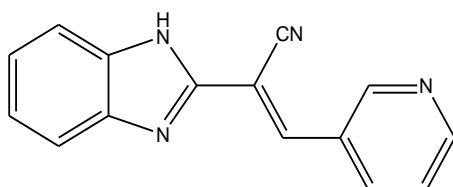
21a

(Câncer cervical, SISO, $IC_{50}=0,33\mu M$)
(Câncer de mama, MCF-7, $IC_{50}=0,65\mu M$)
(Câncer de pâncreas, DAN-G, $IC_{50}=0,69\mu M$)



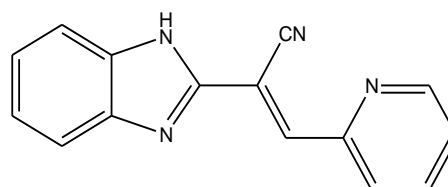
21b

(Câncer cervical, SISO, $IC_{50}=0,31\mu M$)
(Câncer de mama, MCF-7, $IC_{50}=0,16\mu M$)
(Câncer de pâncreas, DAN-G, $IC_{50}=0,32\mu M$)



21c

(Câncer cervical, SISO, $IC_{50}=3,02\mu M$)
(Câncer de mama, MCF-7, $IC_{50}=3,15\mu M$)
(Câncer de pâncreas, DAN-G, $IC_{50}=3,27\mu M$)



21d

(Câncer cervical, SISO, $IC_{50}=1,91\mu M$)
(Câncer de mama, MCF-7, $IC_{50}=8,14\mu M$)
(Câncer de pâncreas, DAN-G, $IC_{50}=3,67\mu M$)

Figura 9: Derivados benzimidazólicos sintetizados por Saczewski e colaboradores.

Em 2010, Abdel-Mohsen e colaboradores ^[57] obtiveram resultados expressivos para atividade antitumoral ao acoplarem na posição-2 do benzimidazol derivados metilpiirimidina (**22a-d**) (Figura 10). Todos os derivados apresentaram valores de IC_{50} abaixo de $1,0 \mu M$.

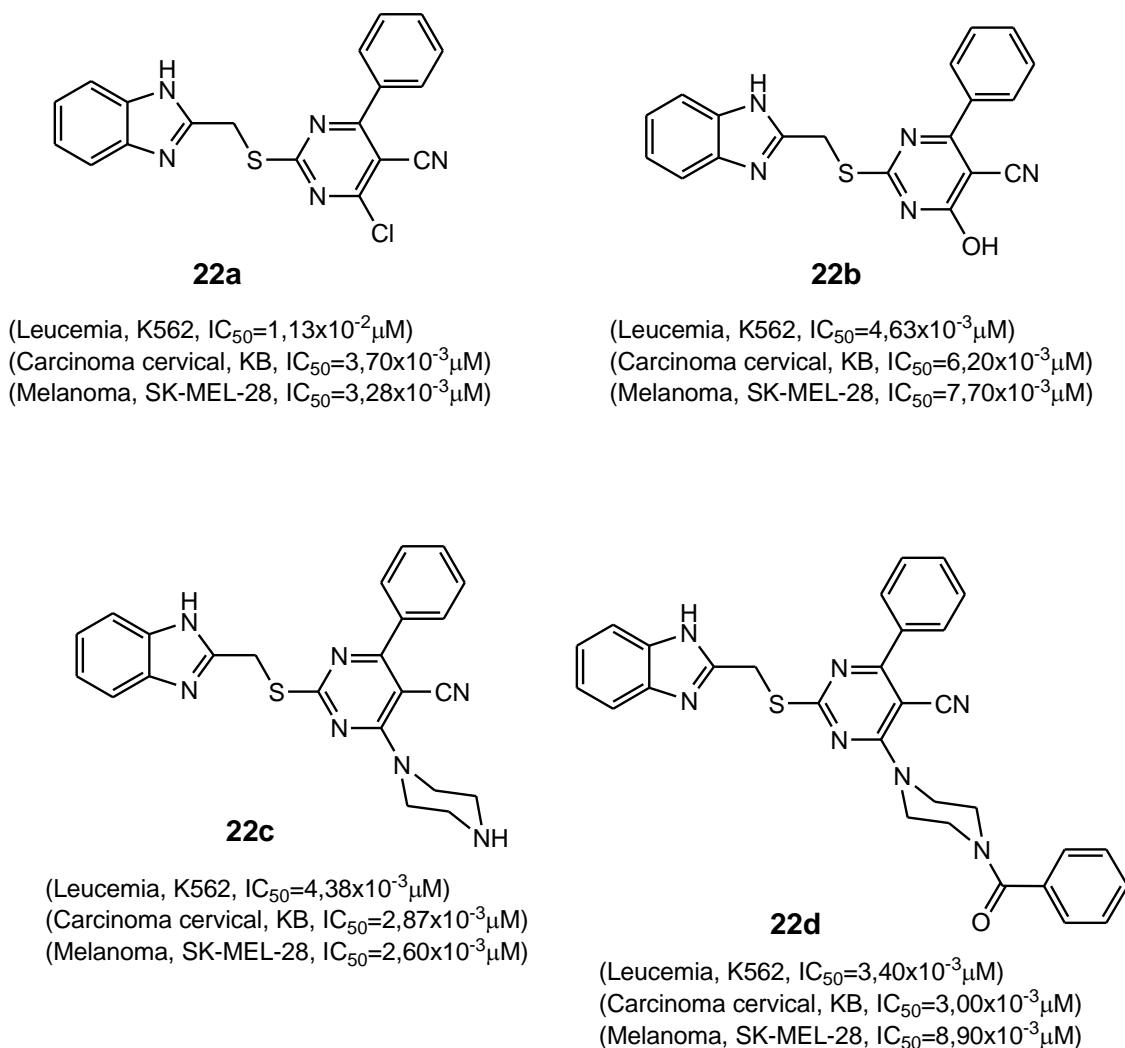


Figura 10: Derivados benzimidazólicos sintetizados por Abdel-Mohsen e colaboradores.

Penning e colaboradores ^[58] relataram que o composto ABT-888 (**23**) (Figura 11) possui K_i de 5nM contra ambas enzimas PARP-1 e PARP-2. Estas enzimas são reparadoras de danos ocorrido no DNA, por isso, ao ser antagonista, irá potencializar o efeito citotóxico de agentes que danificam o DNA. O ABT-888 apresentou significativa eficiência em combinação com uma variedade de agentes citotóxicos (como temozolomida, carboplatina e ciclofosfamida) e atualmente está sendo testado em humanos exibindo excelentes propriedades farmacêuticas e farmacocinéticas.

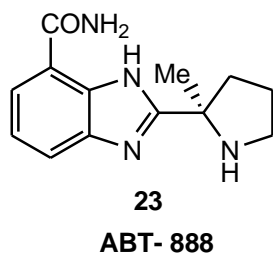


Figura 11: *Composto sintetizado e avaliado por Penning e colaboradores.*

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Aproveitando a potencialidade do núcleo benzimidazólico, resolvemos sintetizar derivados contendo carboxamida e *N'*-benzilidenos carboidrazidas. Pois, β -carbólinas contendo na posição-3 (Figura 12) esses substituintes demonstraram, através de estudos feitos pelo nosso grupo ^[59,60], resultados expressivos para atividade antitumoral.

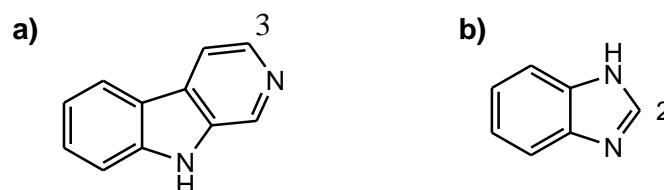


Figura 12: a) núcleo β -carbólico e b) benzimidazólico.

2.2. Objetivos específicos

O trabalho foi conduzido com os objetivos de:

1. Sintetizar derivados contendo o grupo benzamida na posição-2' do benzimidazol (Figura 13);

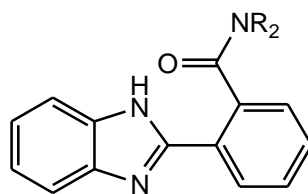


Figura 13: Benzimidazol contendo grupo benzamida.

2. Sintetizar derivados *N'*-ilideno-substituído-benzoidrazida na posição-2' do benzimidazol (Figura 14); e

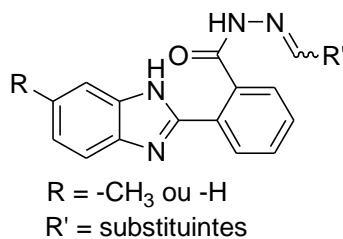


Figura 14: *Benzimidazol contendo N'- ilideno-substituído-benzoidrazida na posição-2'.*

3. Avaliar a potencial atividade antitumoral de todos os derivados preparados.

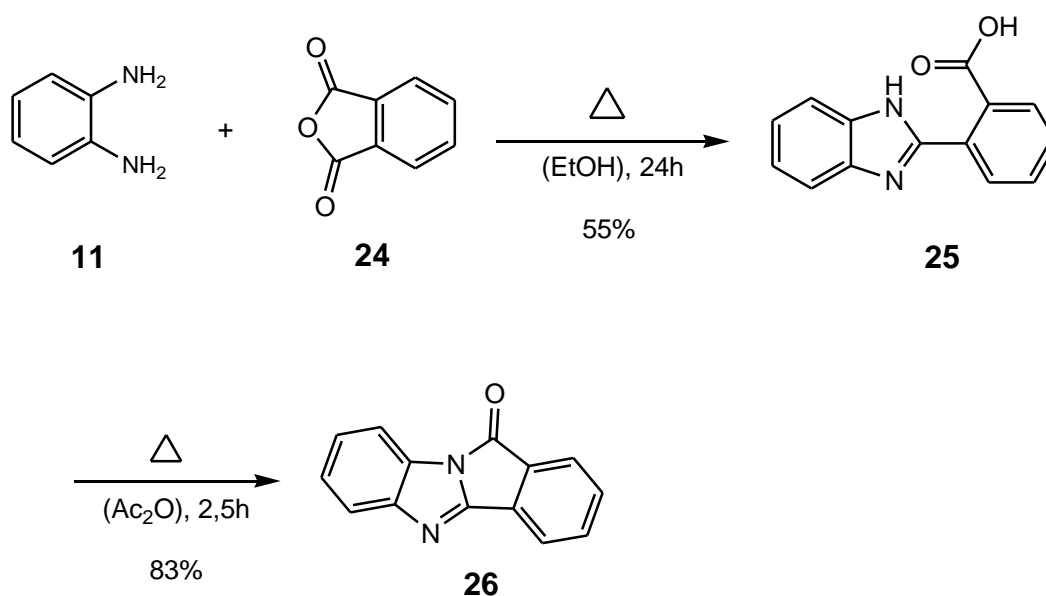
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Síntese e caracterização de derivados benzimidazólicos

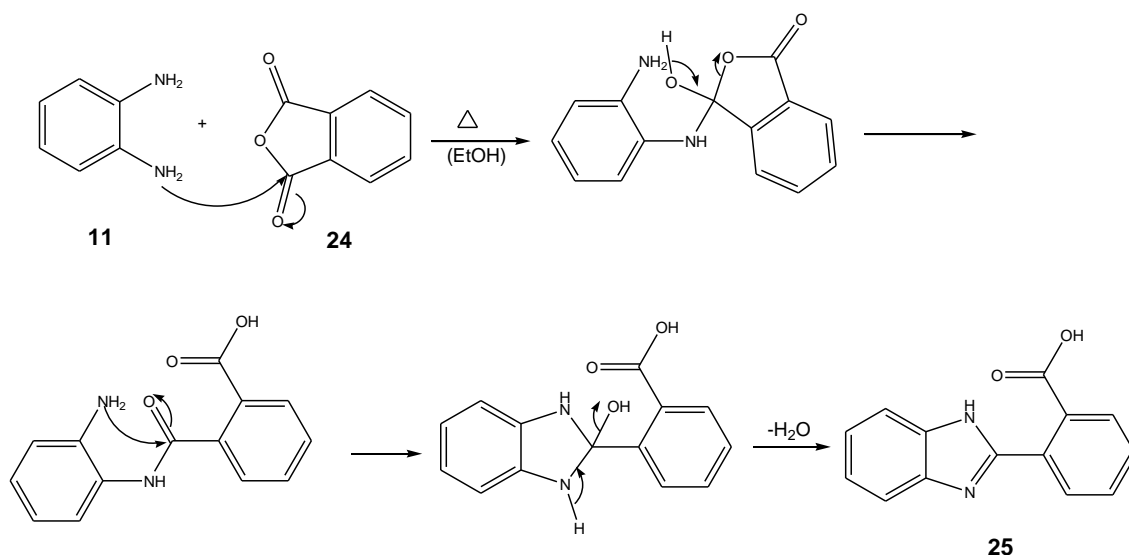
De acordo com a literatura, derivados de benzimidazóis são amplamente utilizados na preparação de moléculas com atividade antitumoral [22,23,24,54,55].

Em face disso, preparamos uma série de novos derivados benzimidazólicos com o intuito de avaliarmos sua potencial atividade farmacológica.

A rota sintética empregada encontra-se ilustrada no Esquema 7 [61].



O tratamento da o-fenilendiamina (**11**) com anidrido ftálico (**24**) em EtOH sob refluxo por 24 horas, forneceu o respectivo benzimidazol (**25**) via ataque nucleofílico da amina do **11** sobre a carbonila do **24** seguida de ciclodesidratação (Esquema 8) com um rendimento de 55%. No espectro de RMN ^1H do **25** (Figura 15a), os hidrogênios dos carbonos aromáticos são observados entre δ 7,20 e 7,86 ppm. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 15b) apresentou um sinal em δ 151,2 ppm que é característico do carbono 2' do núcleo benzimidazólico [48,62]. No espectro de IV observamos uma banda em 734 cm^{-1} referente a anel substituído em orto (Figura 15c).



Esquema 8

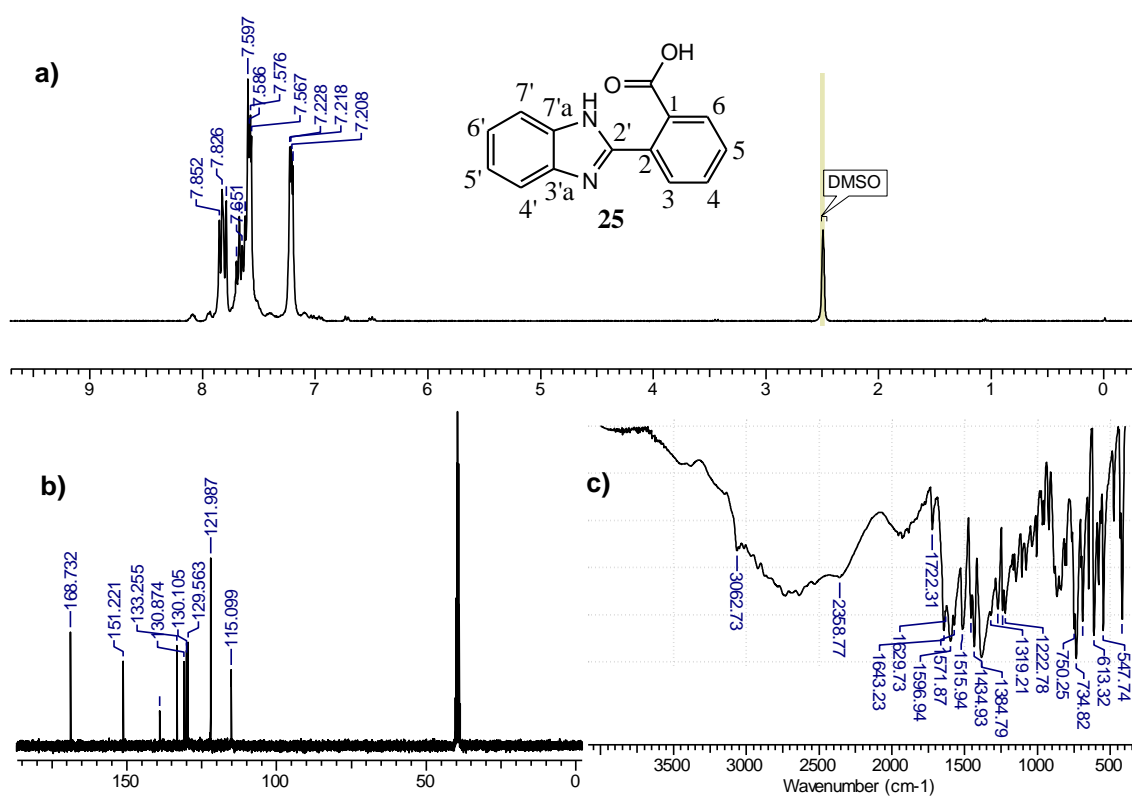
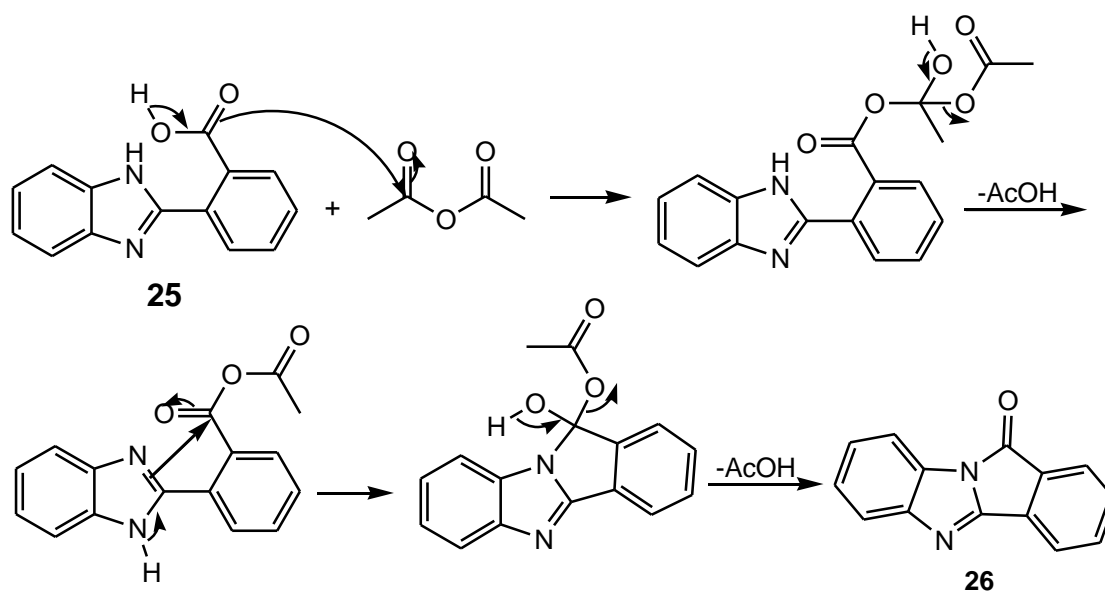


Figura 15: Espectros de RMN de ^1H (a), de ^{13}C (b) e de IV (c) do 2-(1H-benzimidazol-2'-il)benzóico (25) (DMSO-d_6).

Tanto para sintetizar o produto intermediário 2-(1H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida como os derivados contendo o grupo benzamida na posição-2'

do benzimidazol, foi necessário ativar a carbonila do derivado **25**. Por ser um aminoácido, ele não reage diretamente com os reagentes hidrazina e aminas para fornecer os respectivos produtos citados. Além disso, se a carbonila for ativada, o nitrogênio do benzimidazol precisa ser protegido, pois este atacaria a carbonila ativada. Utilizando a metodologia descrita por Meyer^[61] é possível em uma etapa ativar a carbonila do composto **25** e proteger o nitrogênio do benzimidazol, sem precisar desprotegê-lo posteriormente.

Para isso, a partir do composto **25**, obtivemos o derivado **26** pelo tratamento com anidrido acético por 3 h, via ciclodesidratação do tipo 5-exo-trig^[63](Esquema 9) com rendimento de 83%. Analisando-se o espectro de RMN de ¹H (Figura 16a), observamos oito hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos entre δ 7,26 e 7,89 ppm, além disso, no espectro de IV (Figura 16b) observamos a banda da carbonila em 1740 e 1763 cm^{-1} e o desaparecimento da banda de estiramento OH do ácido carboxílico.



Esquema 9

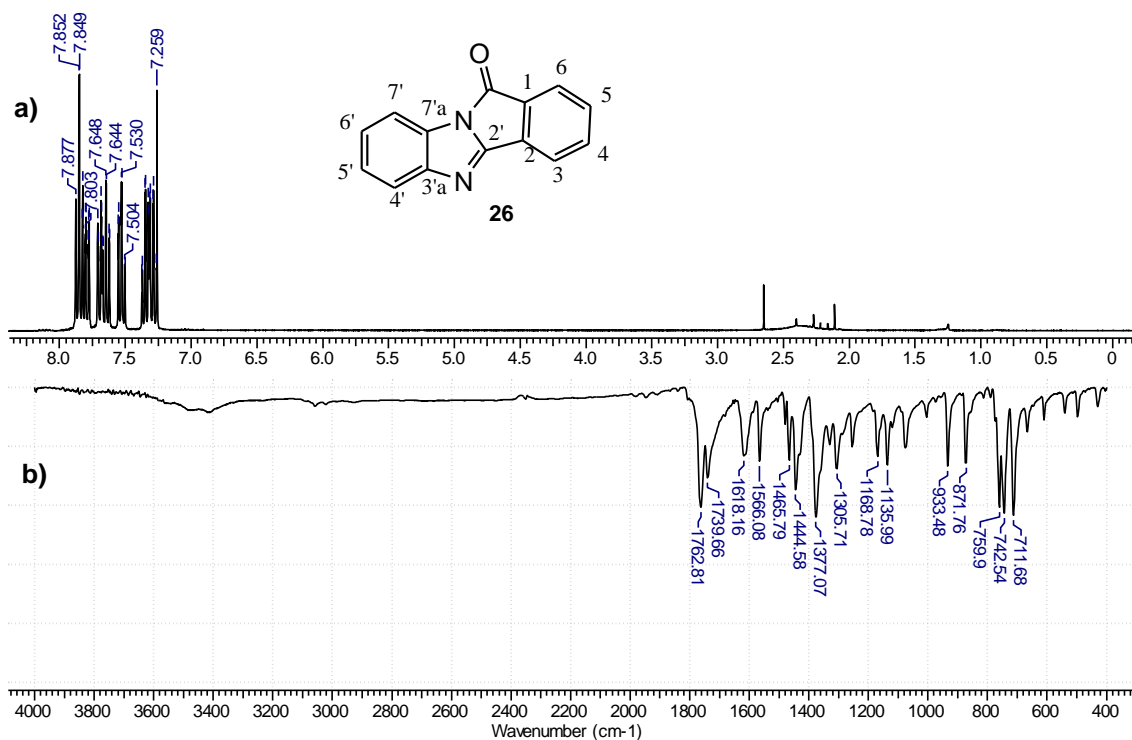
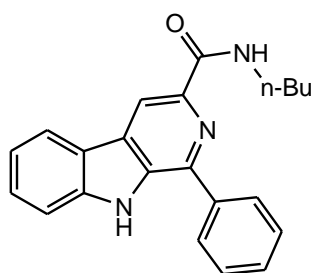


Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (a) e de IV (b) do benzo-4,5-imidazo[2,1- α]isindol-11-ona (**26**) (CDCl_3).

3.2. Síntese de derivados contendo o grupo benzamida na posição-2' do benzimidazol

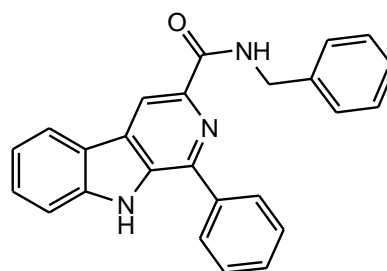
O grupo carboxamida é uma conexão frequentemente utilizada para formar compostos com atividade farmacológica [64,65,66,67]. Doenças como câncer e infecções microbiológicas são tratadas com moléculas contendo este grupo funcional.

O nosso grupo sintetizou uma variedade de derivados β -carbólicos contendo carboxamida (**27a-d**) que possuem expressiva atividade antitumoral [59] (Figura 17). Em face disso, resolvemos sintetizar novos derivados benzimidazólicos contendo amidas em sua estrutura como um modelo inicial de estudo da potencialidade destes compostos como novos fármacos.



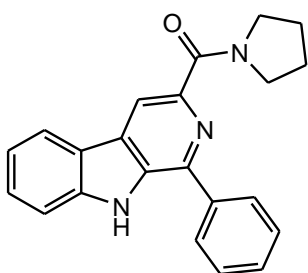
27a

(Câncer de pulmão, NCI-460, $IC_{50}=3,20\mu M$)
 (Câncer de ovário, NCI/ADR, $IC_{50}=4,36\mu M$)



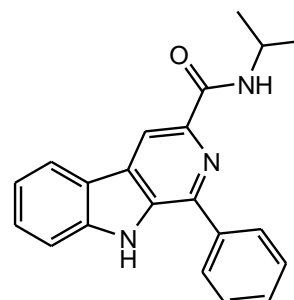
27b

(Câncer de pulmão, NCI-460, $IC_{50}=2,18\mu M$)
 (Câncer de ovário, NCI/ADR, $IC_{50}=4,08\mu M$)



27c

(Câncer de pulmão, NCI-460, $IC_{50}=0,10\mu M$)
 (Câncer de ovário, NCI/ADR, $IC_{50}=26,7\mu M$)

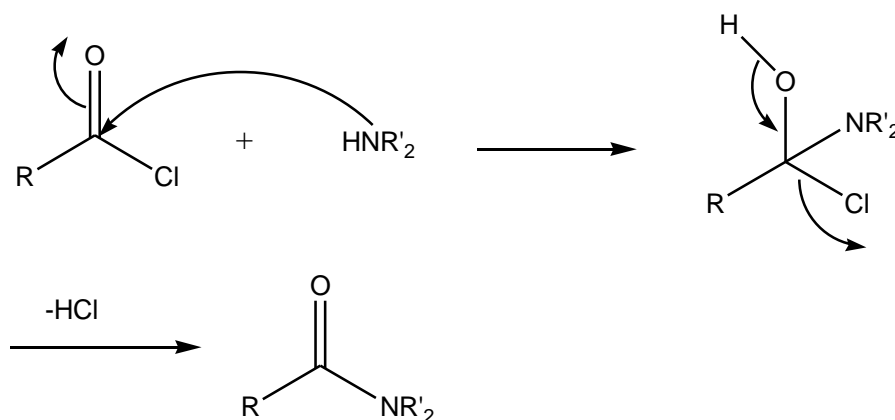


27d

(Câncer de pulmão, NCI-460, $IC_{50}=0,58\mu M$)
 (Câncer de ovário, NCI/ADR, $IC_{50}=5,76\mu M$)

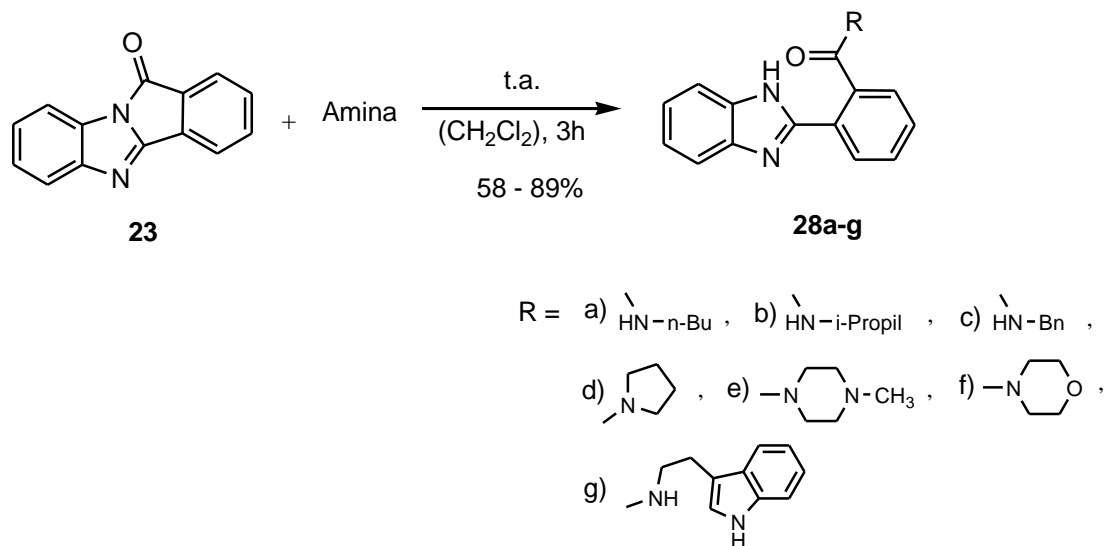
Figura 17: Exemplos de estruturas de derivados β -carbolínicos que apresentaram atividade antitumoral.

Reações envolvendo formações de amidas são geralmente realizadas com carbonila ativada (haletos de acila ou com auxílio de ativantes, como EDC), que são atacadas pelas aminas^[68,69], conforme o mecanismo do Esquema 10.



Esquema 10

A nossa síntese aproveitou o fato da carbonila do composto **26** estar ativada, já que o imidazol é um bom grupo abandonador ^[70]. Desta forma, a reação de **26** com aminas primárias e secundárias, à temperatura ambiente, forneceram as respectivas amidas (**28a-g**) com rendimentos variando de 58% a 89%, conforme o Esquema 11.

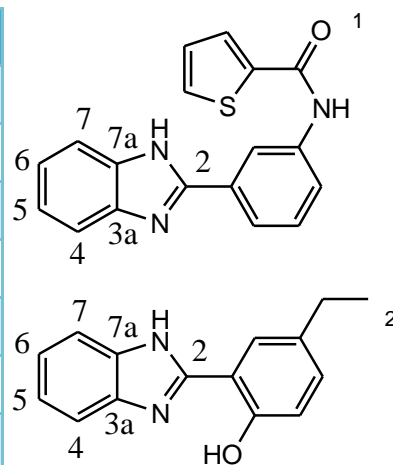


Esquema 11

A confirmação estrutural dos derivados benzimidazólicos **28a-g** foi realizada através de técnicas espectroscópicas. Analisando os espectros de IV de todos os compostos, foi possível observar uma banda em aproximadamente 1630 cm^{-1} , que é compatível com carbonilas de amidas ^[71]. Já no espectro de RMN de ^1H é possível verificar que o hidrogênio ligado ao nitrogênio amídico apresenta desdobramento do sinal compatível, possuindo deslocamentos químicos variando entre δ 8,2 e 9,0 ppm. Por fim, no espectro de RMN de ^{13}C , observamos o pico da carbonila da amida em torno de δ 168,0 ppm e os carbonos do benzimidazol compatíveis com os valores encontrados na literatura ^[48,62] (Tabela 1).

Tabela 1: Deslocamento químico dos carbonos do núcleo benzimidazol.

Posição	¹³ C (Literatura) ¹	¹³ C (Literatura) ²
C2	151,1	152,0
C3a	135,1	137,1
C4	118,9	114,4
C5	122,6	122,4
C6	121,7	122,4
C7	111,4	114,4
C7a	143,8	137,1



¹ Keurulainen e col. [48]

² Sridharan e col. [62]

O derivado **28b**, por exemplo, apresenta na região de IV a banda de estiramento C-O em 1637 cm⁻¹. No espectro de RMN de ¹H o sinal do hidrogênio da amida encontra-se centrado em δ 8,22 ppm na forma de duplete, acoplado com H2'' isopropílico que está centrado em δ 3,99 ppm. Nem sempre todos carbonos do benzimidazol puderam ser observados. No espectro de RMN de ¹³C de **28b**, os únicos carbonos benzimidazólicos que mostraram sinais estão em δ 121,88, 137,76 e 150,77 ppm, semelhante ao deslocamento publicado por Sridharan e col. [62] (Tabela 1), além da carbonila da amida, em 167,85 ppm (Figura 18).

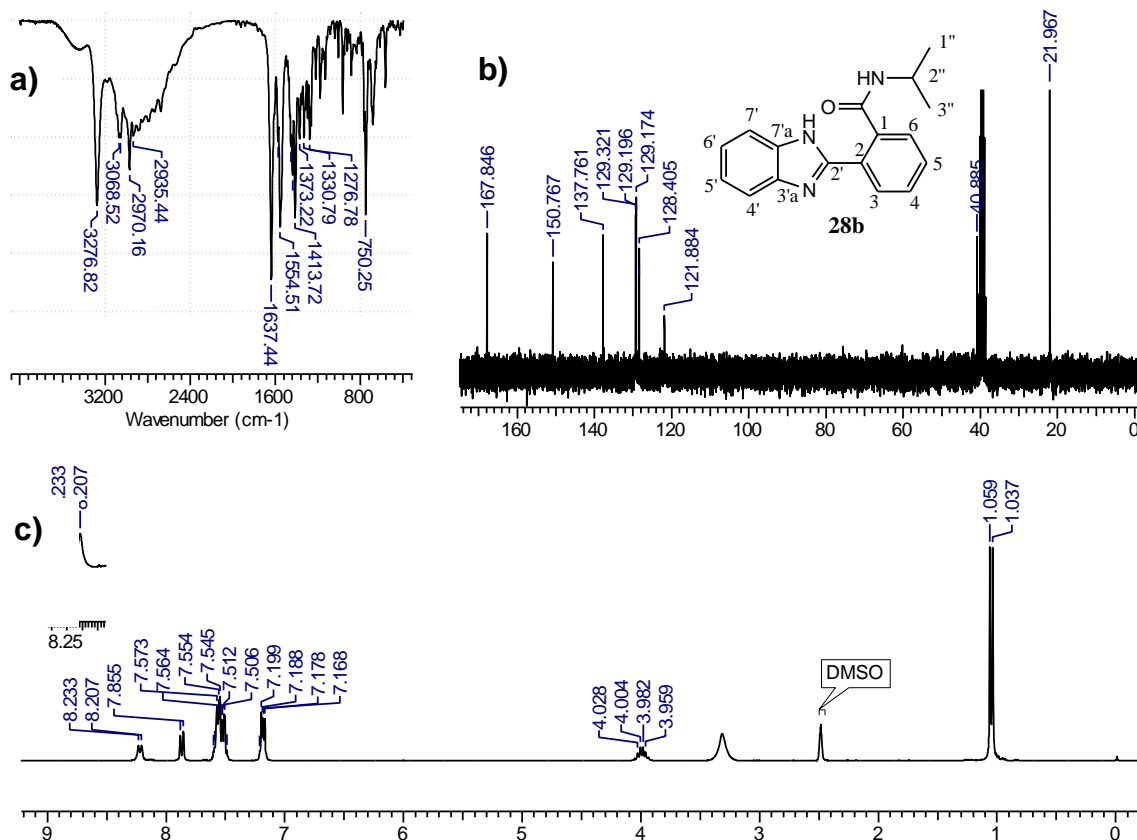


Figura 18: Espectro de IV (a), RMN de ¹³C (b) e de ¹H (c) do composto 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N-isopropilbenzamida (**28b**) (DMSO-d₆).

Entretanto, no espectro de RMN de ¹³C de **28e**, por exemplo, todos os carbonos do benzimidazol possuíam sinais, com os deslocamentos químicos em δ 111,49, 119,02, 121,62, 122,69, 134,71, 143,85 e 149,85 ppm (Figura 19), os quais assemelha-se com a publicação de Keurulainen e col.^[48] (Tabela 1). A causa dessa diferença de deslocamento químico no ¹³C para o mesmo núcleo foi explicada na publicação de Sridharan e col.^[62]. Eles propuseram que benzimidazóis com tautomerismo lento na posição 1' e 3' faz com que os carbonos das posições 3'a, 4', 5', 6', 7' e 7'a tenham ambiente químico diferente detectável no RMN, consequentemente, deslocamento químico diferente. Isso se deve a ligação de hidrogênio intramolecular, portanto, provavelmente, os derivados sintetizados por nós que tiveram deslocamento químico do ¹³C semelhante ao da publicação de Keurulainen^[48] (Tabela 1) no heterociclo benzimidazol (como o **28e**), tiveram ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio do NH benzimidazólico e o oxigênio da

carbonila da amida forte o suficiente para detectar no espectro de ^{13}C (Figura 20).

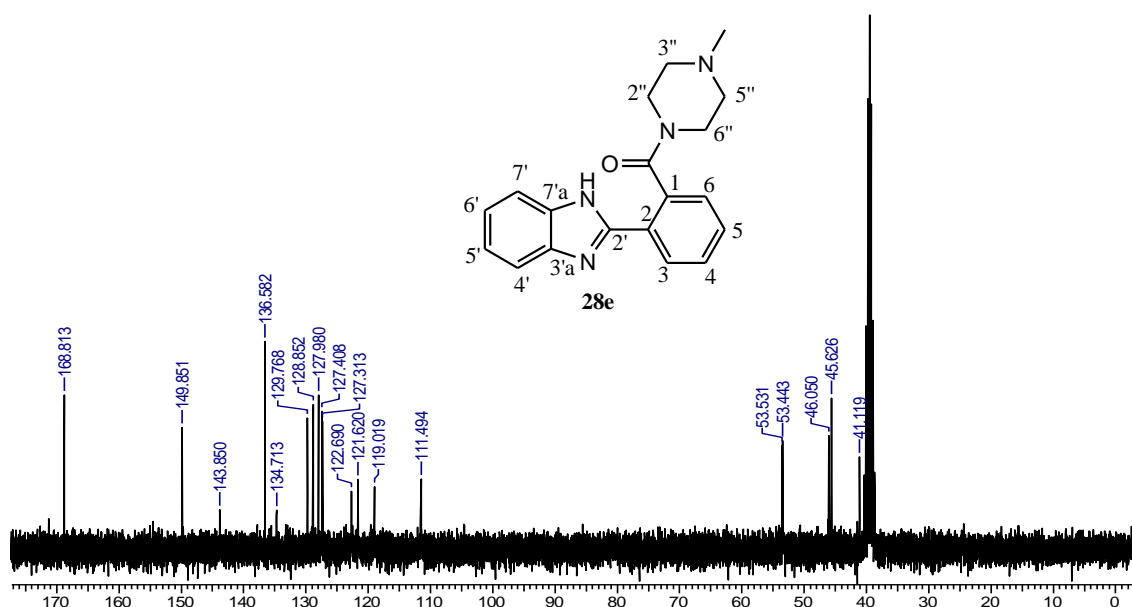


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto **28e**.

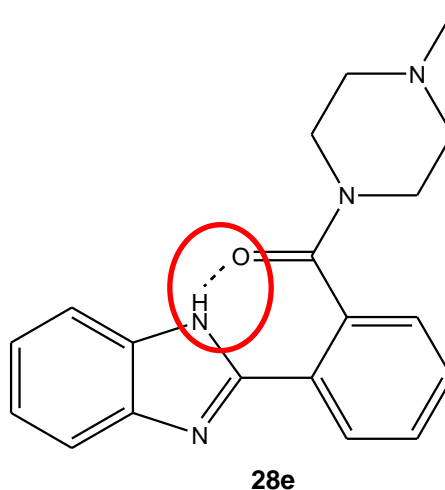


Figura 20: Provável ligação de hidrogênio entre hidrogênio benzimidazólico e oxigênio da carbonila no composto **28e**.

O derivado **28e** foi analisado, com colaboração do prof. Dr. Ernani Abicht Basso e pela mestrandia do curso de química Mariane Cristovão Bagatin da Universidade Estadual de Maringá, que realizaram cálculo de estrutura eletrônica utilizando o pacote de programas Gaussian 09 [72]. Com os

resultados dos cálculos computacionais, determinou-se a conformação de menor energia, apresentado na Figura 21.

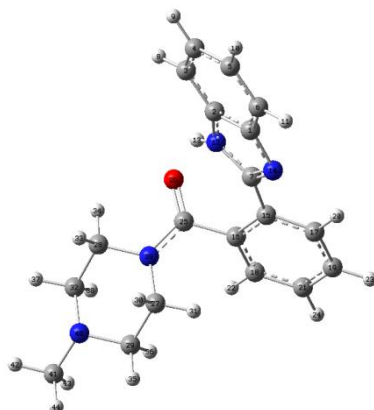


Figura 21: Conformação tridimensional do composto **28e** (bola cinza: átomo de carbono; branca: hidrogênio; azul: nitrogênio; vermelha: oxigênio).

Além disso, resolvemos caracterizar o núcleo piperazínico do composto **28e**, pois, este não apresentou o mesmo perfil dos espectros publicados na literatura, principalmente com diferença entre os deslocamentos químicos dos hidrogênios 3'' e 5'' [67,73]. Os hidrogênios deste heterociclo estão entre 2,02 e 3,62 ppm (Figura 22). No espectro de COSY (Figura 22a) observamos interação 3J entre os hidrogênios metilênicos 2,02 e 3,03 ppm (quadrado amarelo) e outra entre os 2,36 e 3,61 ppm (quadrado vermelho). Utilizando o NOESY 2D (Figura 22b) foi possível observar acoplamento espacial entre H6 e H6'' sugerindo que os hidrogênios metilênicos 3,03 ppm refere-se ao H6''. Assim, com auxílio do espectro de HSQC (Figura 24), atribuímos os sinais de hidrogênio e carbono do núcleo piperazínico do composto **28e** como segue na Tabela 2.

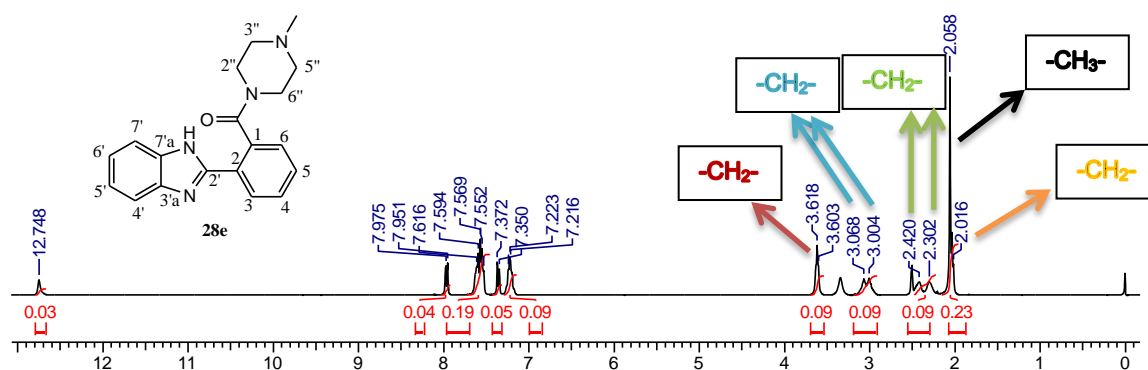


Figura 22: Espectro de RMN 1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **28e**.

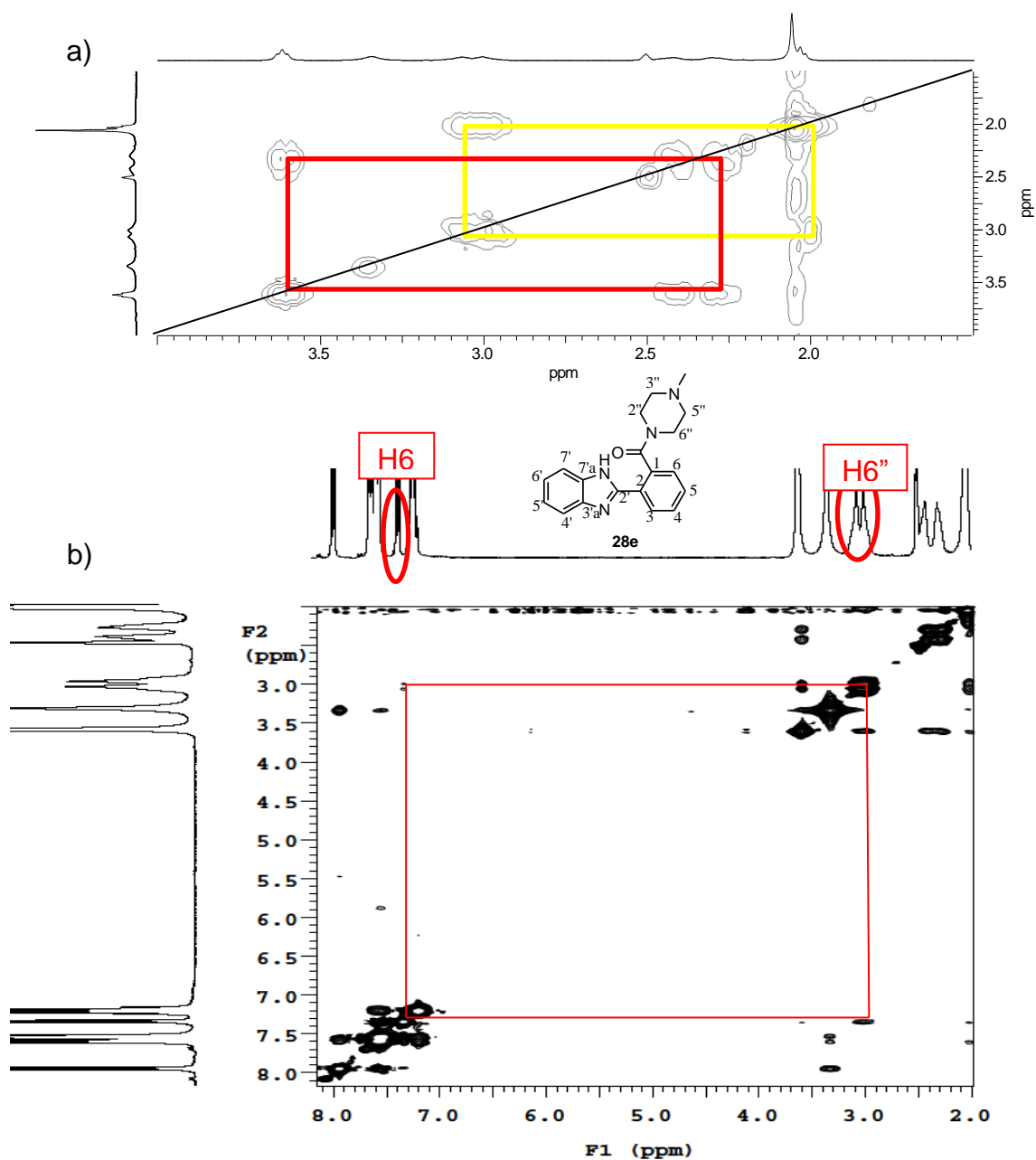


Figura 23: Espectros de correlação H-H COSY (a) e interação H6-H6'' (linha vermelha) observada no espectro de NOESY (b) do composto **28e** (300,06 MHz, DMSO-d₆).

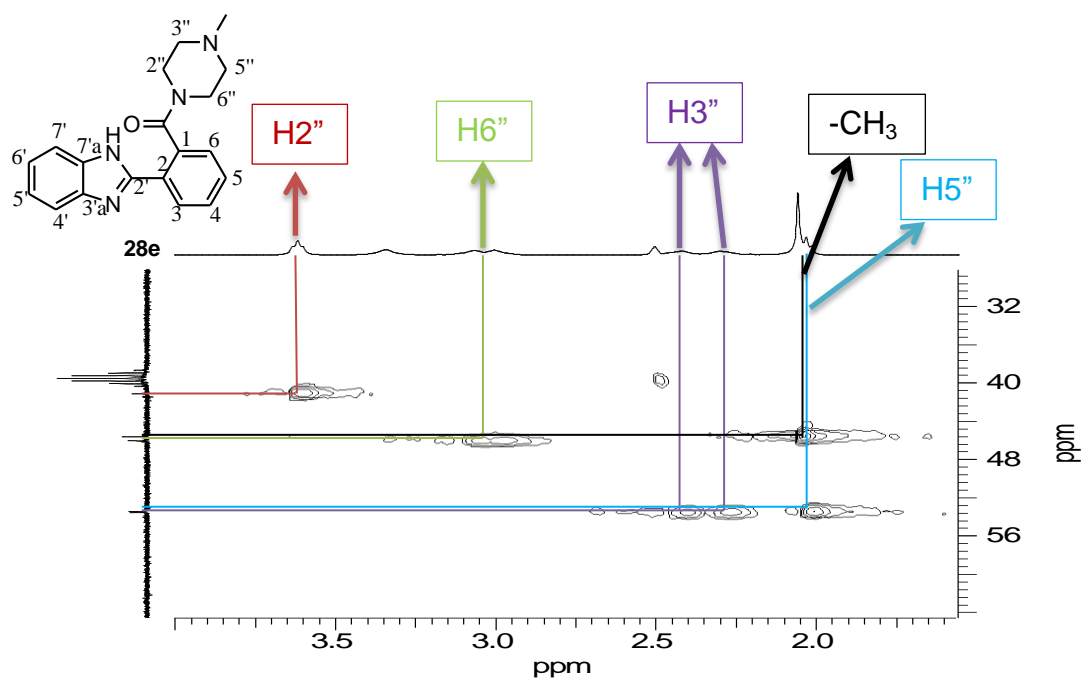
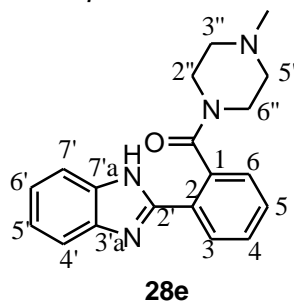


Figura 24: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto **28e**.

Tabela 2: Caracterização da porção piperazínica do composto **28e**.

Posição	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)
2''	3,62 (2H)	41,12
3''	2,30 e 2,42 (2H)	53,53
5''	2,02-2,06 (2H)	53,44
6''	3,03 (2H)	46,05



Outro experimento feito com o **28e** foi espectro de Ressonância Magnética Nuclear Dinâmica (RMND) de ¹H sob aquecimento, com a expectativa de vencer a barreira rotacional da amida [74]. Assim, esperávamos as coalescências dos sinais de hidrogênios H2'' com H6'' e H3'' com H5''. No entanto, mesmo a 60°C (*Figura 25*), temperatura máxima suportada pelo nosso equipamento de RMN, não foi possível observar a coalescência dos picos.

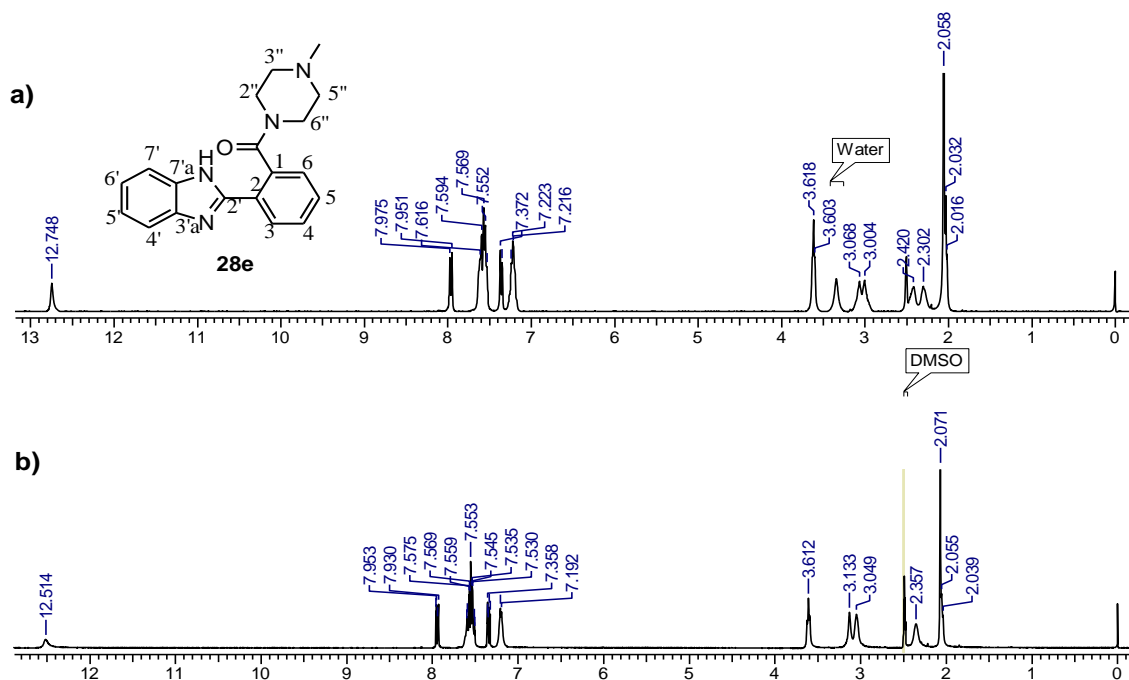
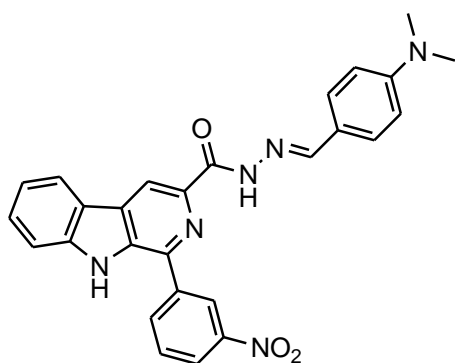


Figura 25: Espectro de RMN de ^1H a 25°C (a) RMND de ^1H (b) a 60°C do composto [2-(1'- H -benzimidazol-2'-il)fenil](4''-metilpiperazina-1''-il)metanona (**28e**) (DMSO-d_6).

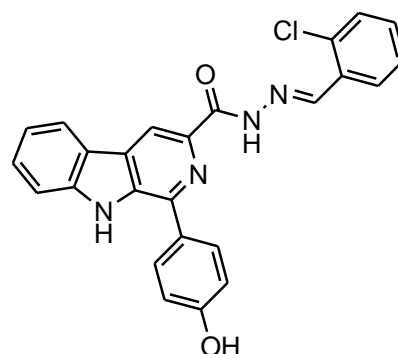
3.3. Síntese de derivados N' -ilideno-substituído-benzimidazida na posição-2' do benzimidazol

O nosso grupo de pesquisa vem realizando estudos com derivados β -carbolínicos N' -benzilidenos carboidrazidas. Uma quantidade considerável desses compostos apresentou sensível atividade antiproliferativa frente a células tumorais (Figura 26) ^[60]. Assim, decidimos sintetizar novos derivados utilizando o núcleo benzimidazólico em lugar do heterociclo β -carbolina, de modo a avaliar o primeiro como um potencial precursor de novos fármacos.



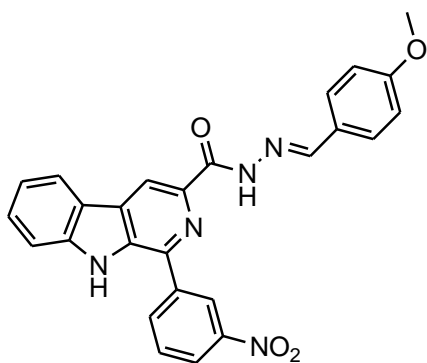
29a

(Câncer de rim, 786-0, $IC_{50}=0,04\mu M$)
 (Câncer de ovário, OVCAR, $IC_{50}=0,19\mu M$)



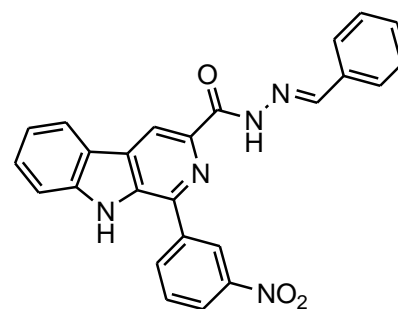
29b

(Câncer de rim, 786-0, $IC_{50}=3,22\mu M$)
 (Câncer de ovário, OVCAR, $IC_{50}=1,83\mu M$)



29c

(Câncer de rim, 786-0, $IC_{50}=0,04\mu M$)
 (Câncer de ovário, OVCAR, $IC_{50}=1,13\mu M$)

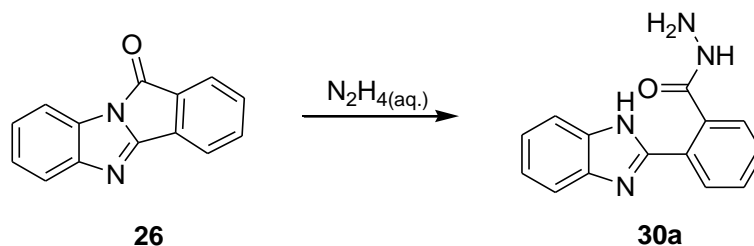


29d

(Câncer de rim, 786-0, $IC_{50}=3,76\mu M$)
 (Câncer de ovário, OVCAR, $IC_{50}=6,14\mu M$)

Figura 26: Exemplos de estruturas de derivados β -carbolínicos que apresentaram atividade antitumoral.

Para isso, o composto **26** foi tratado com uma solução de hidrazina 51% a temperatura ambiente, o que resultou na respectiva hidrazida (**30a**) com rendimento de 86% (Esquema 12). Apesar do reagente não ser solúvel no meio reacional, a reação segue tranquilamente, sendo possível visualizar o consumo do material de partida, pois, o composto **26** que é um sólido fortemente amarelo passa a ser um sólido branco.



Esquema 12

Os espectros no IV e ^1H do derivado **30a** são mostrados na Figura 27. Em relação ao primeiro, as bandas mais importantes são as do estiramento de N-H na região de $3329\text{-}3277\text{ cm}^{-1}$ e C-O de carbonila da hidrazida em 1612 cm^{-1} . Já no espectro de RMN de ^1H é possível observar oito hidrogênios aromáticos, além dos hidrogênios da hidrazida (NH_2) em δ 4,4 ppm.

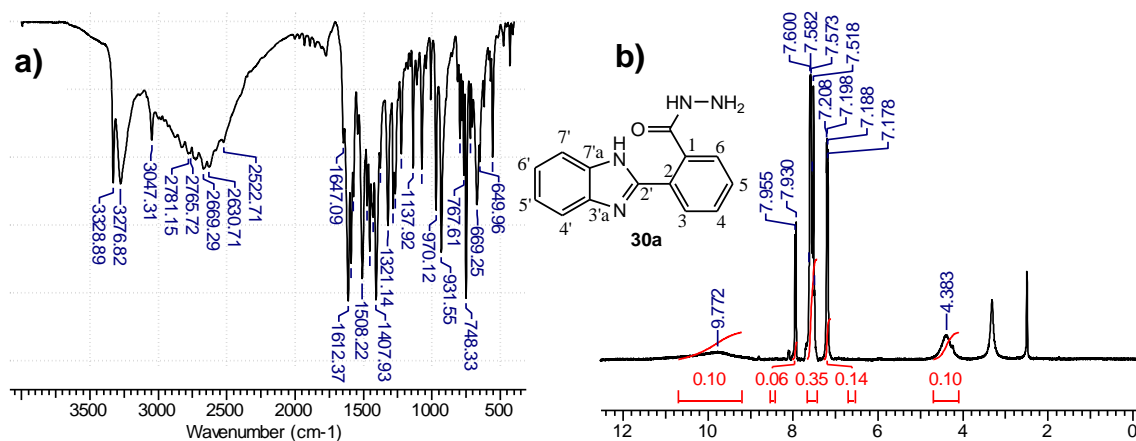
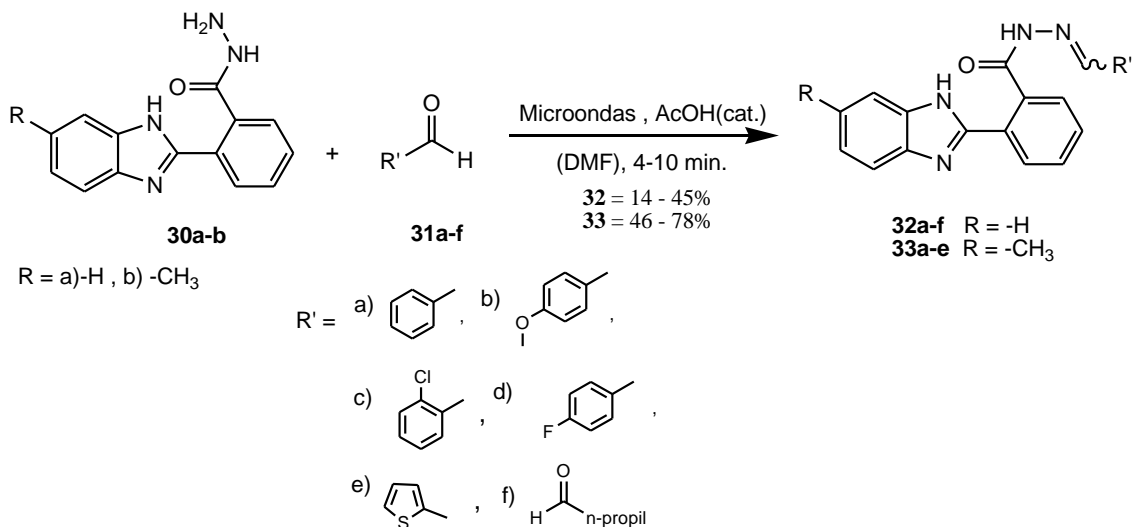


Figura 27: Espectro de IV (a) e de ^1H (b) do composto 2-(1 $^{\text{H}}$ -benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**30a**) (DMSO-d_6).

As moléculas alvo **32a-f** e **33a-e** foram obtidas tratando as hidrazidas **30a-b** com os aldeídos apropriados (**31a-f**) em DMF sob catálise ácida em um microondas doméstico (Esquema 13). A reação foi monitorada a cada 2 minutos via CCD. Apesar de iniciarmos a reação com 1,5 equivalentes de aldeído (**3a-f**), o excesso não foi o suficiente para consumir toda a carboidrazida (**30a-b**). Assim, em todas reações foi necessário adicionar um excesso ainda maior dos aldeídos (de 1,5 a 4,0 equivalentes) para promover o consumo do reagente (**30a-b**). As condições reacionais para obtenção dos derivados *N*'-ilideno-substituído-benzoidrazida na posição-2' do benzimidazol

consta na Tabela 3 e 4. O composto **30b** foi fornecido pelo professor Emerson Meyer da Universidade Estadual de Maringá.



Esquema 13

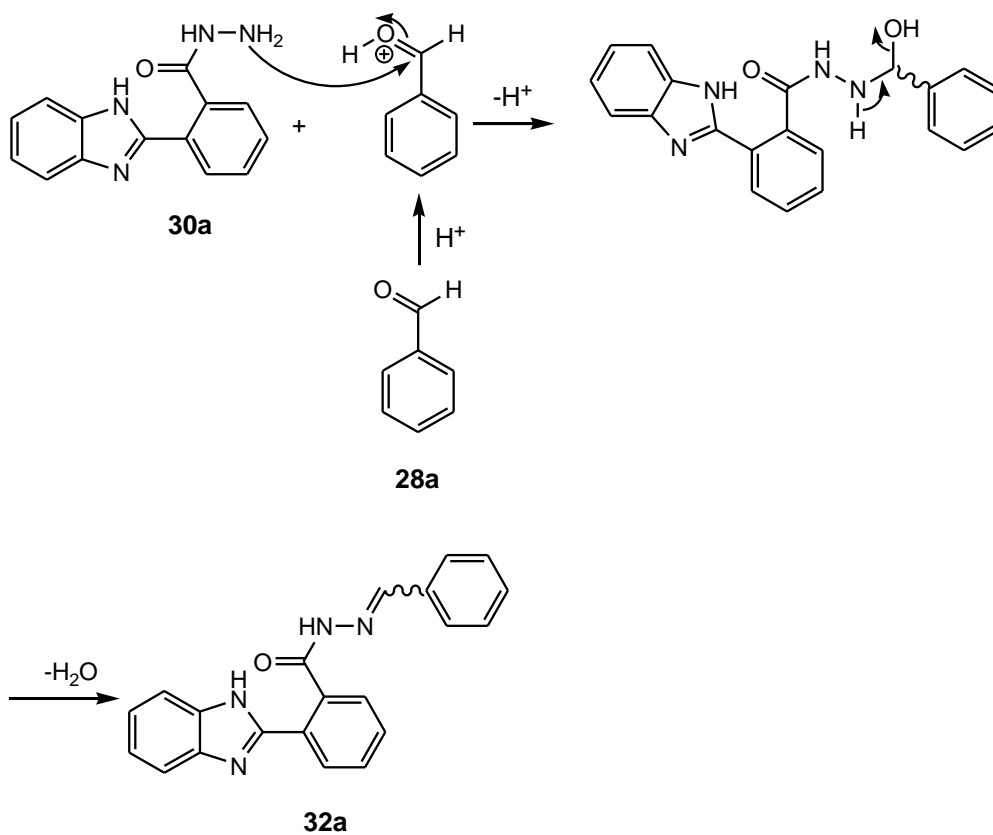
Tabela 3: Condição reacional para síntese de derivados *N'*-ilideno-substituído-benzimidrazida na posição-2' do benzimidazol (**32a-f**).

Composto	Aldeído	Qtde (equiv.)	Tempo (min.)	Rend.
32a	Benzaldeído	2,0	6,0	46%
32b	p-Anisaldeído	3,0	6,0	78%
32c	o-Cloro-benzaldeído	2,5	4,0	76%
32d	p-Flúor-benzaldeído	2,0	4,0	67%
32e	2-tiofeno carboxaldeído	3,5	6,0	62%
32f	n-butanal	1,5	3,0	54%

Tabela 4: Condição reacional para síntese de derivados *N'*-ilideno-substituído-benzimidazida na posição-2' do benzimidazol (**33a-e**).

Composto	Aldeído	Qtde (equiv.)	Tempo (min.)	Rend.
33a	Benzaldeído	2,0	6,0	45%
33b	p-Anisaldeído	4,0	6,0	29%
33c	o-Cloro-benzaldeído	2,5	4,0	24%
33d	p-Flúor-benzaldeído	2,0	4,0	14%
33e	2-tiofeno- carboxaldeído	4,0	8,0	23%

O mecanismo proposto para essa etapa de reação seria uma reação acíclica seguida de eliminação via E₂, conforme o Esquema 14. Como a hidrazida pode atacar tanto a face *Re* como a *Si* da carbonila do aldeído, o produto final da eliminação seria os isômeros.



Esquema 14

As reações foram testadas sem o catalisador (ácido acético) para comparação. Porém, o tempo de reação aumentou significativamente.

Mesmo utilizando técnicas avançadas de análise de RMN, como HSQC, COSY e DEPT ^[71], não foi possível caracterizar os produtos completamente. Isso se deve a duplicidade dos picos devido à formação de isômeros geométricos. Apesar disso, foi possível confirmar que as reações ocorreram, pois, os hidrogênios -NH₂ da hidrazida desapareceram, fato observável no RMN de ¹H, e o pico da carbonila no RMN de ¹³C do material de partida que estava em δ 168,48 ppm deslocou-se para δ 170,0 ppm e δ 164,0 ppm (dois picos devido à formação de isômeros). De acordo com a publicação de Ozkay et al ^[75], moléculas análogas aos compostos **32a-f** e **33a-e** mostram os hidrogênios do benzimidazol, da carboidrazida e da hidrazona em regiões compatíveis com os espectros obtidos por nós. Além disso, apesar de nem sempre serem visíveis, todos apresentam valores dos sinais do núcleo benzimidazólico próximos aos da literatura ^[48,62] (Tabela 1 da seção 5.2.), confirmando a formação dos derivados N'-ilidenos substituídos isoméricos, sem alteração no núcleo benzimidazólico.

Como ilustração, no espectro de RMN de ¹H dos isômeros geométricos **32c** (Figura 28a) observamos os hidrogênios aromáticos como multipletos (12H; δ 7,10 a 8,02 ppm), o hidrogênio benzimidazólico (NH) como dois simpletos (1H; δ 12,70 ppm e δ 12,78 ppm), dois simpletos referentes ao hidrogênio da carboidrazida (1H; δ 11,85 ppm e δ 12,10 ppm) e dois simpletos do hidrogênio da hidrazona (-NH₂-N=CH-; δ 8,12 ppm e δ 8,65 ppm). No espectro de ¹³C (Figura 28b), a carbonila da hidrazida também aparece como dois sinais (C=O; δ 164,89 e δ 170,89 ppm) e o C2' do benzimidazol apresenta sinais, em δ 150,50 ppm e δ 150,66 ppm.

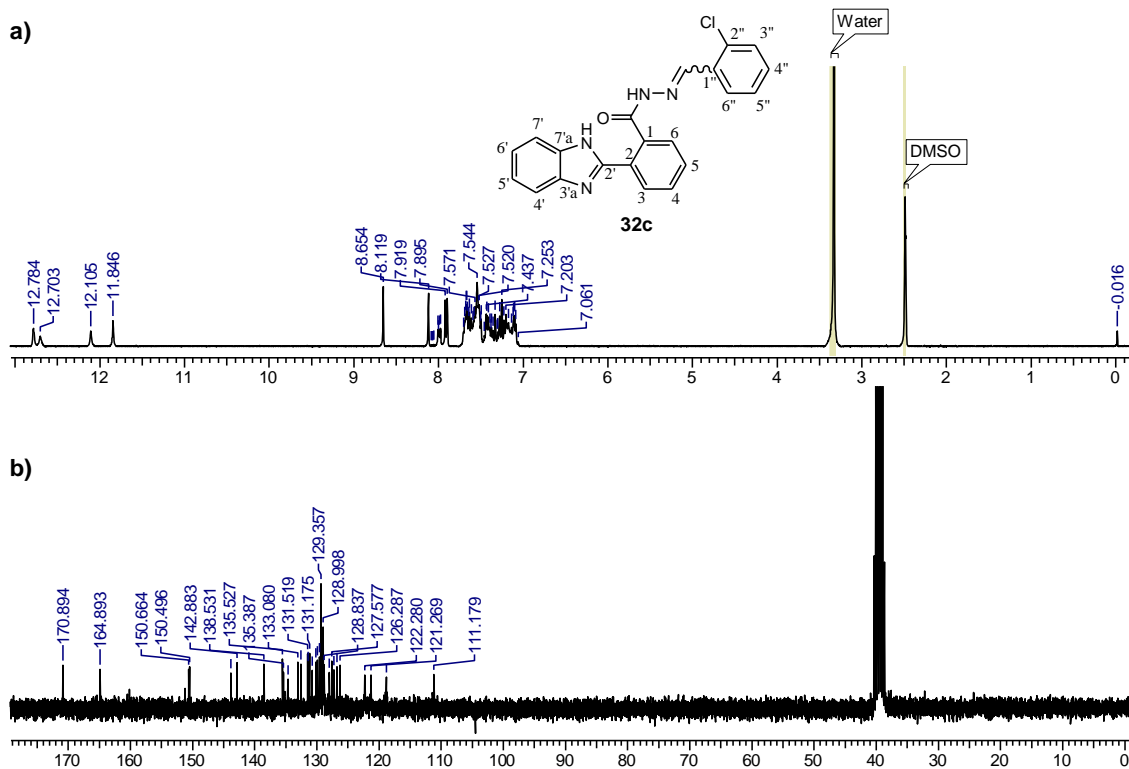


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H (a) e de ^{13}C (b) do composto *N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**32c**) ($\text{DMSO}-d_6$).

Os únicos derivados que não apresentaram esse comportamento no espectro de RMN foram os **32a** e **33e**. No espectro de ^1H do composto **32a** não observamos dois sinais referentes ao hidrogênio da hidrazida, o que evidenciaria a formação de apenas um dos isômeros com simpleto em δ 11,64 ppm (Figura 29a). Porém, concluímos que houve a formação de isômeros em função da presença das duas carbonilas, que estão em δ 164,83 e 170,78 ppm no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 29b). Por sua vez, os carbonos isoméricos da hidrazona ($-\text{NH}=\text{CH}-$) foram observados em δ 142,40 e 146,93 ppm como observamos no espectro de correlação C-H HSQC (Figura 29c).

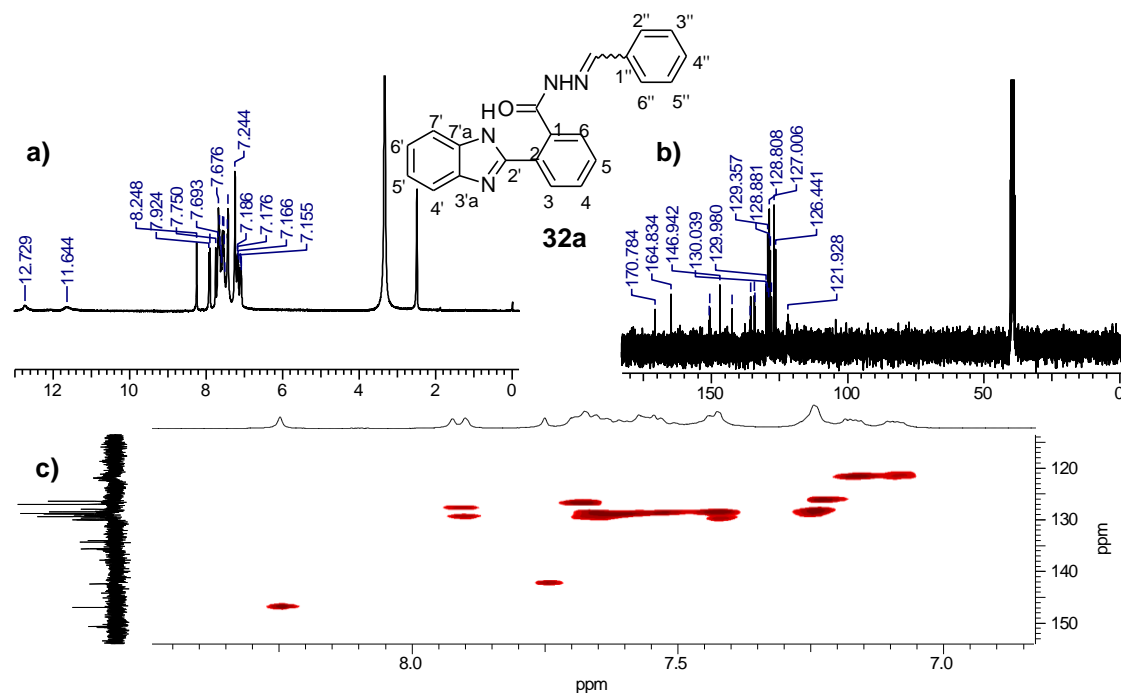


Figura 29: Espectro de RMN de ¹H (a), de ¹³C (b) e de correlação C-H HSQC (c) do composto 2-(1'-H-benzimidazol-2'-il)-N'-benziledenobenzoidrazida (**32a**) (DMSO-d₆).

Para o derivado **33e** a dúvida foi gerada devido à ausência do sinal em torno de δ 170 ppm no espectro de RMN de ¹³C. No entanto, o perfil do espectro de RMN de ¹H é semelhante aos outros derivados obtidos (**33a-d**), inclusive com três sinais no hidrogênio em δ 11,62, 11,63 e 11,84 ppm referente à hidrazida, indicando a formação de isômeros (Figura 30).

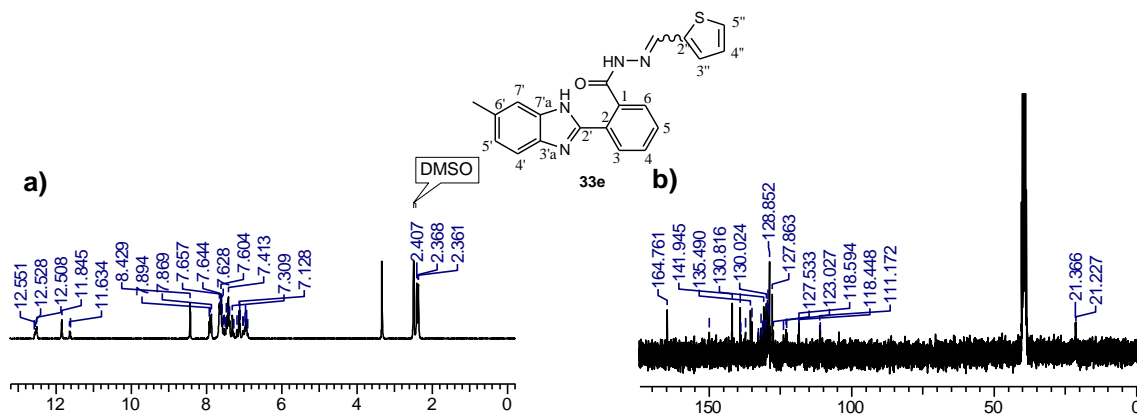


Figura 30: Espectro de RMN de ¹H (a) e de ¹³C (b) 2-(6'-metil-1'-H-benzimidazol-2'-il)-N'-[(tiofeno-2-il)metileno]benzoidrazida (**33e**) (DMSO-d₆).

Os derivados que apresentam o grupo metila na posição-6' (**33a-e**) tiveram multiplicidade dos sinais fora do esperado no espectro de RMN de ^1H . Se avaliarmos o composto **33a**, por exemplo, observamos os hidrogênios da metila da posição-6' como três picos, em δ 2,34, 2,36 e 2,41 ppm, os hidrogênios da hidrazida como três picos em δ 11,65, 11,66 e 11,92 ppm e, por fim, os hidrogênios NH do benzimidazol como quatro picos em δ 12,53, 12,55, 12,61 e 12,64 ppm (Figura 31).

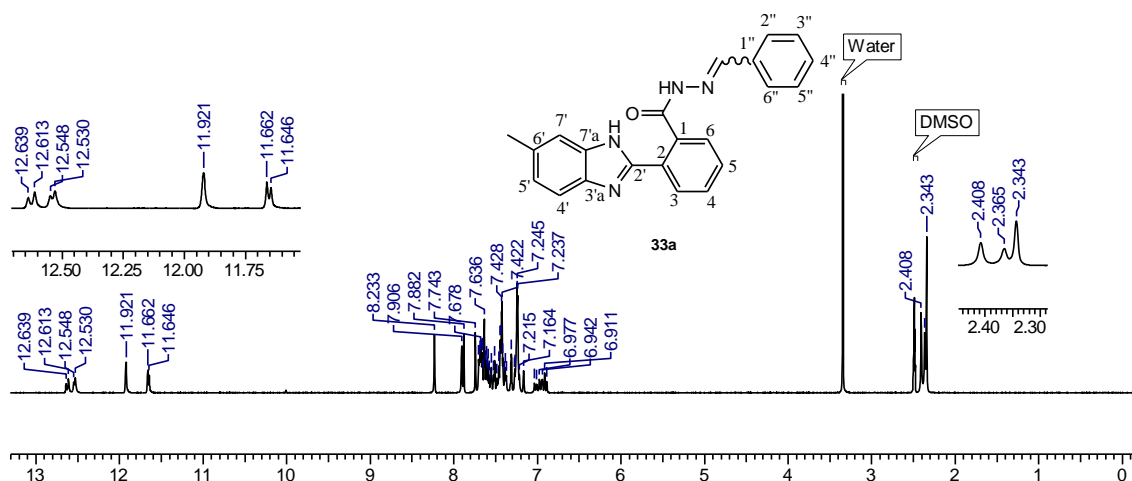


Figura 31: Espectro de ^1H *N'*-benzylideno-2-(6'-metil-1H-benzimidazol-2'-il) benzoidrazida (**33a**) ($\text{DMSO-}d_6$).

Para entendermos esse padrão de comportamento apresentado por esses derivados (**33a-e**) adicionamos uma gota de D_2O para distinguirmos os hidrogênios ácidos (Figura 32), e observamos que apenas os sinais acima de δ 11,65 ppm diminuíram a sua intensidade, portanto, corroborando a afirmação que os únicos hidrogênios ligados a grupos eletronegativos eram os que correspondem aos nitrogênios da hidrazida e do benzimidazol.

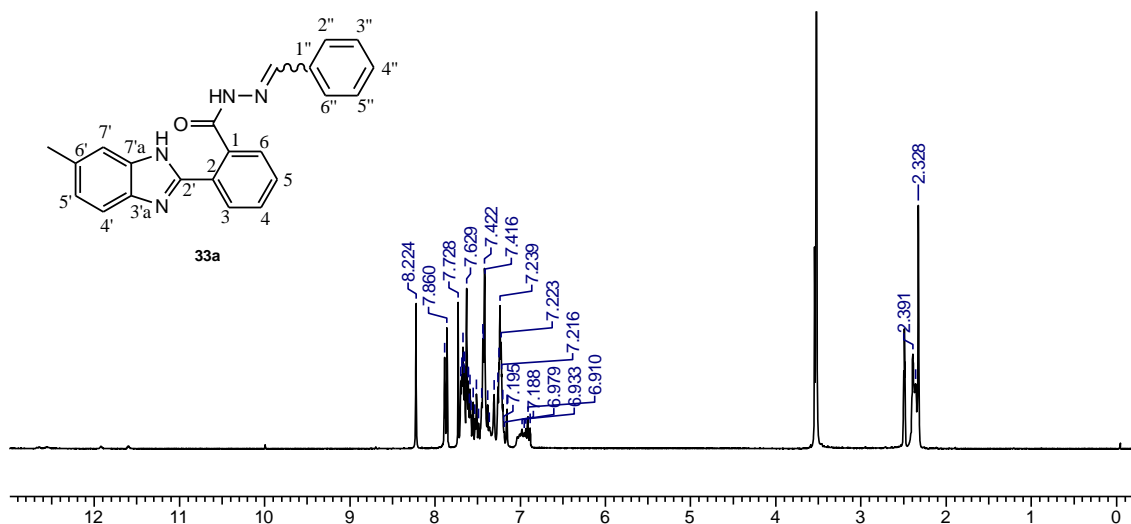


Figura 32: Espectro de ^1H *N'*-benzilideno-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il) benzoidrazida (**33a**) ($\text{DMSO-}d_6$ + 1 gota de D_2O).

Avaliando-se a estrutura, observamos que há tautomerismo no núcleo benzimidazólico (Esquema 15). Isto é confirmado ao obter o espectro de RMND de ^1H a 45°C (Figura 33b), no qual fica nítida a coalescência dos referidos sinais e em 60°C (Figura 33c) formou-se apenas um simpleto metilênico em δ 2,34 ppm, dois simpletos em δ 11,44 e 11,78 ppm, referentes às hidrazidas isoméricas, e um simpleto em δ 12,35 ppm que pertence ao NH benzimidazólico. Portanto, toda multiplicidade no espectro de RMN de ^1H da metila ligada na posição-6, dos hidrogênios benzimidazólicos e da hidrazida foi devida ao tautomerismo dos derivados **33a-e**.



Esquema 15

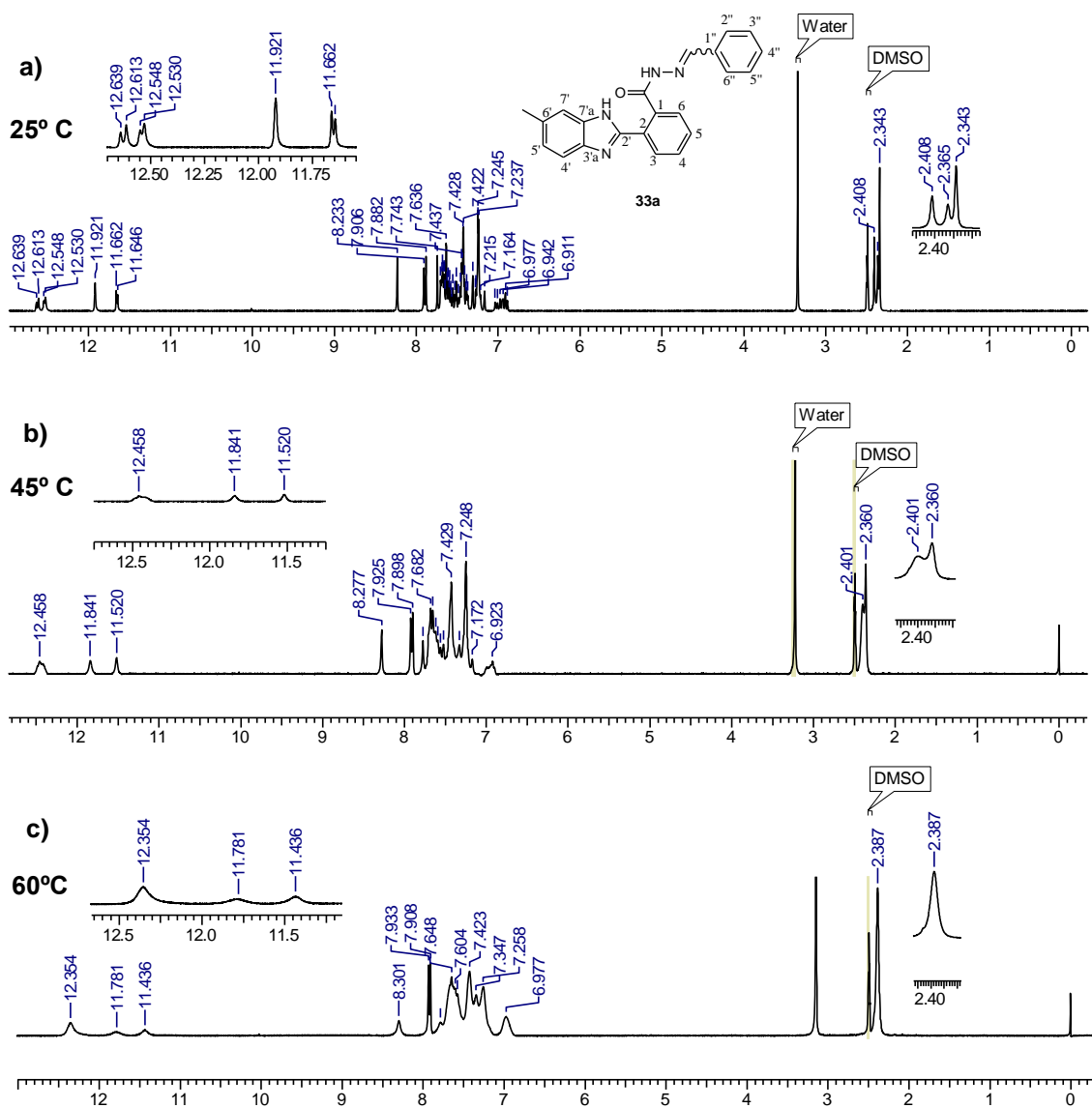


Figura 33: Espectro de ^1H *N'*-benzilideno-2-(6'-metil-1'-H-benzimidazol-2'-il) benzoidrazida (**33a**) à 25° C (a), 45° C (b) e à 60° C (c) (DMSO-d_6).

3.4. Avaliação da atividade antiproliferativa contra células tumorais dos derivados sintetizados

Os derivados benzimidazólicos preparados contendo o grupo benzamida (**28a-g**) e *N'*-ilideno- substituído-benzoidrazida (**32a-f** e **33a-e**) na posição-2' do benzimidazol foram submetidos a testes *in vitro* visando avaliar a atividade citotóxica para as seguintes linhagens de células tumorais humanas: glioma (U251), carcinoma mamário (MCF-7), ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos (NCI-ADR/RES), renal (786-0), pulmão (NCI-H460), ovário

(OVCAR-03), cólon (HT-29) e leucemia (K562). Queratinócitos humanos (HaCaT) foram utilizados para avaliação de citotoxicidade em células normais. A proliferação celular foi determinada utilizando-se o ensaio colorimétrico com sulforrodamina B. A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. As concentrações empregadas variaram entre 0,250-250 µg/mL e a porcentagem de crescimento foi determinada após 48h do tratamento das células. Esses ensaios foram realizados em colaboração com os professores Dr. João Ernesto de Carvalho e Dra. Mary Ann Foglio do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Unicamp.

Os gráficos representados nas Figura 34 e 30 ilustram a curva dose-resposta dos compostos benzimidazólicos que demonstraram maior atividade frente a várias linhagens de células tumorais humanas. Os valores positivos de crescimento celular entre 0 a 100%, em relação ao eixo y, correspondem à atividade citostática, enquanto os valores negativos à atividade citocida.

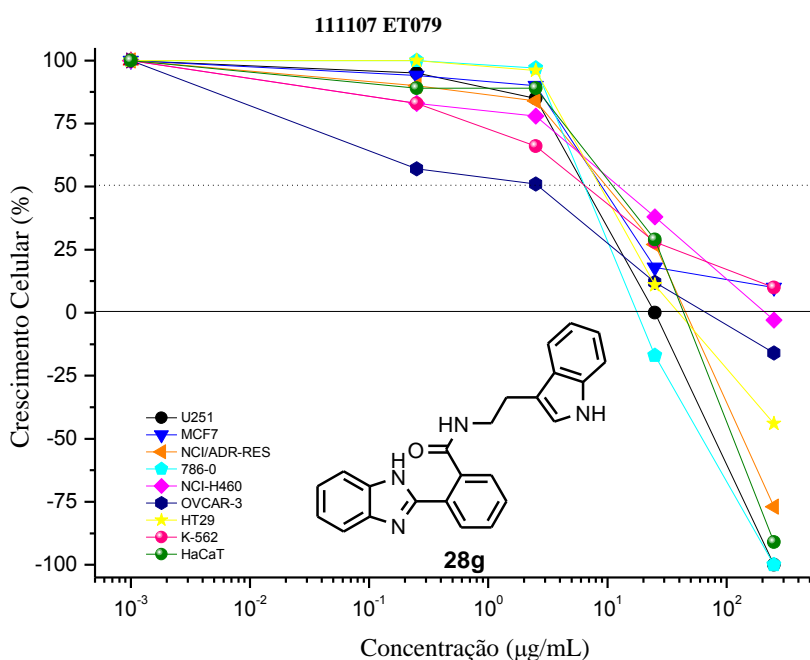


Figura 34: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de **28g**.

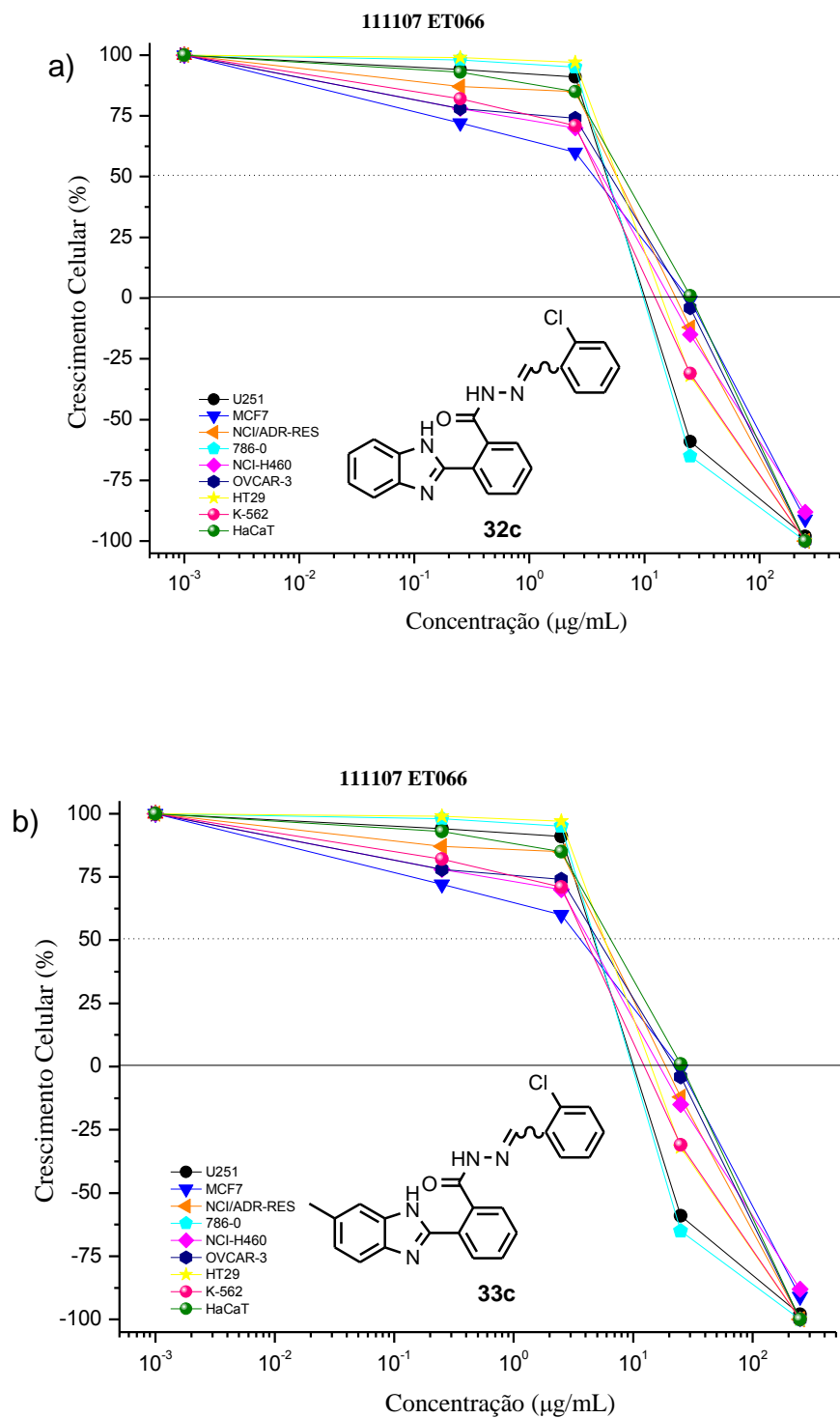


Figura 35: Porcentagem de crescimento de células de câncer humano após 48h na presença de diferentes concentrações de **32c** (a) e **33c** (b).

A partir dos gráficos foi possível calcular o IC_{50} de cada composto. O valor do IC_{50} expressa a concentração necessária para inibir 50% do crescimento de

cada linhagem celular. Moléculas que apresentaram valores de IC₅₀ acima de 100 µM foram consideradas inativas.

Avaliando os resultados (Tabela 5), observamos que a maioria dos derivados de amidas não apresenta atividade antiproliferativa. A exceção fica para os compostos **28d** e **28g** (Figura 36), com o primeiro apresentando atividade frente a células de leucemia e tumor de ovário com IC₅₀ de 11,71 µM e 63,40 µM respectivamente. Já o derivado **28g** apresentou atividade contra todas as linhagens de células tumorais, merecendo destaque a resposta contra o tumor de ovário com IC₅₀ = 2,43 µM.

Os derivados **32a-f** e **33a-e** (Figura 36) demonstraram maior atividade que os outros derivados benzimidazólicos sintetizados. Merecem destaque o *N'*-(*o*-cloro-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**32c**) e o *N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**33c**).

Apesar de haver apenas a inserção de uma metila no anel benzênico do benzimidazol, esses derivados (**33a-e**) (Figura 36) apresentaram uma leve melhora em comparação com os derivados que não possuem esse substituinte (**32a-e**) (Figura 36) na atividade antitumoral frente a praticamente todas as linhagens de células, o que pode indicar que substituintes nesta região da molécula possam ser importantes, devendo futuramente serem avaliados pelo nosso grupo.

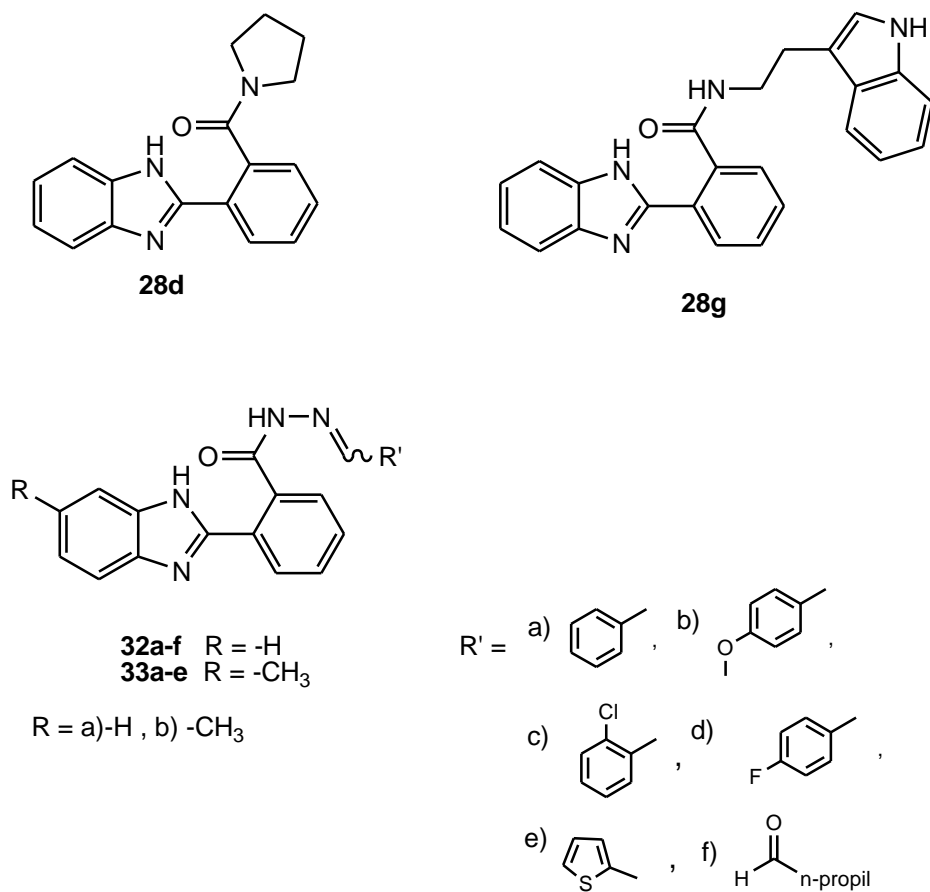


Figura 36: Derivados benzimidazólicos sintetizados que apresentaram atividade antitumoral.

Tabela 5: IC_{50} (μM) dos derivados benzimidazólicos preparados frente a células tumorais.

Células Compostos	GLIOMA (U251)	MAMA (MCF-7)	OVÁRIO RES. (NCI/ADR- RES)	RIM (786-0)	PULMÃO (NCI-H460)	OVÁRIO (OVCAR-3)	CÓLON (HT-29)	LEUCEMIA (K-562)	CÉLULAS NORMAIS (HaCaT)
28a	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
28b	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
28c	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
28d	>100	>100	>100	>100	>100	63,40	>100	11,71	>100
28e	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
28f	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
28g	10,53	25,56	26,51	13,17	28,15	2,37	26,89	15,61	57,74
32a	81,46	93,30	89,26	95,34	79,66	74,61	95,31	74,22	100,64
32b	>100	>100	>100	>100	>100	40,07	>100	41,47	>100
32c	8,73	7,27	8,14	7,17	10,76	7,89	8,73	7,50	12,41
32d	>100	>100	>100	>100	>100	75,65	>100	40,78	>100
32e	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	85,85	>100
32f	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
33a	75,00	83,94	71,30	>100	>100	28,76	>100	0,45	>100
33b	47,55	76,74	66,58	>100	>100	26,14	>100	0,78	>100
33c	7,40	1,73	6,36	13,59	8,22	6,72	7,31	0,32	8,06
33d	20,29	70,59	16,24	>100	>100	8,29	72,60	6,45	92,38
33e	72,54	82,00	33,61	>100	>100	21,55	>100	26,30	>100
Doxorrubicina	0,0672	0,1411	2,1366	0,438	0,0038	0,5218	0,4992	0,0596	0,0606

Tabela 6: Tabela com os valores de IC_{50} (μM) dos derivados benzimidazólicos e os derivados correspondentes β -carbolicínicos.

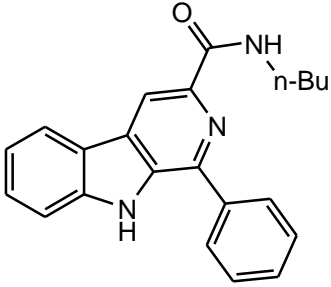
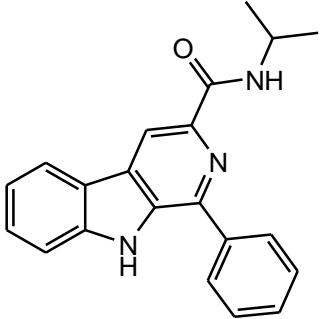
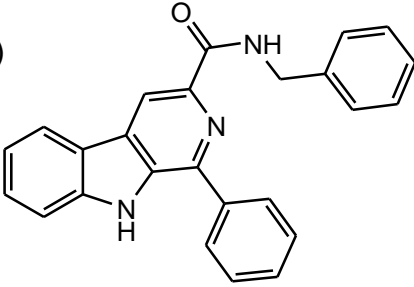
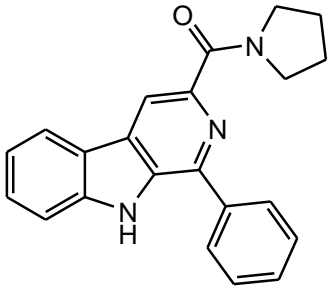
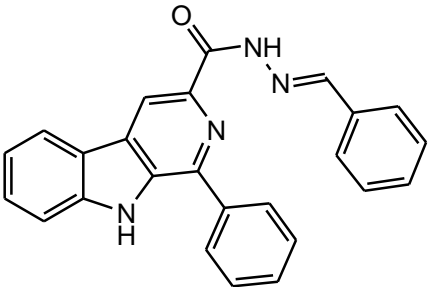
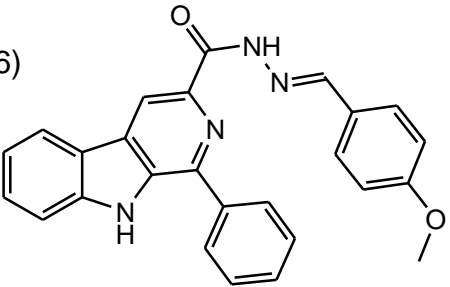
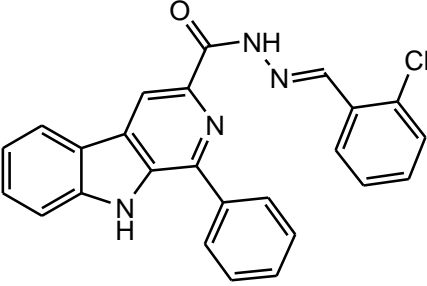
Compostos	Células								
	GLIOMA (U251)	MAMA (MCF-7)	OVÁRIO RES. (NCI/ADR-RES)	RIM (786-0)	PULMÃO (NCI-H460)	OVÁRIO (OVCAR-3)	CÓLON (HT-29)	LEUCEMIA (K-562)	CÉLULAS NORMAIS (HaCaT)
28a	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
C1^a	Na	>100	4,36	13,5	3,20	6,81	7,24	2,19	na
28b	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
C2^a	Na	10,4	5,76	3,98	0,58	10,9	16,8	>100	na
28c	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
C3^a	Na	25,3	40,3	20,6	28,4	>100	>100	0,13	na
28d	>100	>100	>100	>100	>100	63,40	>100	11,71	>100
C4^a	Na	40,5	26,7	96,9	0,10	34,4	24,1	0,20	na
32a	81,46	93,30	89,26	95,34	79,66	74,61	95,31	74,22	100,64
33a	75,00	83,94	71,30	>100	>100	28,76	>100	0,45	>100
C5^b	Na	15,68	4,84	>100	8,49	10,56	>100	79,54	na
32b	>100	>100	>100	>100	>100	40,07	>100	41,47	>100
33b	47,55	76,74	66,58	>100	>100	26,14	>100	0,78	>100
C6^b	Na	11,4	59,38	>100	59,38	10,0	38,50	14,55	na
32c	8,73	7,27	8,14	7,17	10,76	7,89	8,73	7,50	12,41
33c	7,40	1,73	6,36	13,59	8,22	6,72	7,31	0,32	8,06
C7^b	Na	6,13	19,4	2,16	4,57	2,84	1,25	1,45	na

na: teste não avaliados

^a: dados retirados da referência 58, sendo as moléculas C1 à C4 mostradas no Quadro A - 1.

^b: dados retirados da referência 59, sendo as moléculas C5 à C7 mostradas no Quadro A - 1.

Quadro A - 1: Derivados β -carbolínicos utilizados para comparação dos resultados IC_{50} da Tabela A - 2.

<p>C1)</p>  <chem>CCCCNC(=O)c1c2ccccc2c[nH]1</chem>	<p>C2)</p>  <chem>CC(C)NC(=O)c1c2ccccc2c[nH]1</chem>	<p>C3)</p>  <chem>c1ccc(cc1)CNC(=O)c2c3ccccc3c[nH]2</chem>
<p>C4)</p>  <chem>C1CCN1C(=O)c2c3ccccc3c[nH]2</chem>	<p>C5)</p>  <chem>c1ccc(cc1)/C=N/C(=O)c2c3ccccc3c[nH]2</chem>	<p>C6)</p>  <chem>COc1ccc(cc1)/C=N/C(=O)c2c3ccccc3c[nH]2</chem>
<p>C7)</p>  <chem>Clc1cccc(c1)/C=N/C(=O)c2c3ccccc3c[nH]2</chem>		

4. CONCLUSÕES

Uma série de novos derivados benzimidazólicos foi sintetizada e avaliada a sua potencial atividade antiproliferativa frente a células tumorais humanas. Os derivados contendo *N'*-ilidenos-substituídos-benzoidrazidas foram produzidas com êxito utilizando microondas. Com este equipamento foi possível realizar reações que demoravam horas^[60,75] em questões de minutos.

Considerando que compostos com IC₅₀ abaixo de 10,0 µM são bem ativos, dos derivados contendo benzamida na posição 2' (**28a-g**) do benzimidazol apenas o *N*-(2-(1'*H*-indol-2''-il)etil)-2-(1'*H*-benzimidazole-2'-il)benzamida (**28g**) teve boa atividade antitumoral com IC₅₀ = 2,37 µM frente às linhagem de células de tumor de ovário (OVACAR-3).

Os derivados contendo *N'*-ilidenos-substituídos-benzoidrazidas (**32a-f** e **33a-e**) basicamente apresentaram atividade antiproliferativa, porém, vale destacar os derivados *N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazole-2'-il)benzoidrazida (**32c**) e *N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**33c**) que apresentaram boa atividade frente todas linhagens de células tumorais, mas não demonstraram toxicidade seletiva.

Um fato comum dentre todos derivados benzimidazólicos analisados é que os mesmos apresentam atividade contra a linhagem de células de ovários e/ou de leucemia, quando apresentavam atividade antitumoral. Além disso, se compararmos os derivados **32a-f** e **33a-e**, estes contém metil na posição 6' no heterociclo benzimidazol, os últimos apresentaram melhor atividade antitumoral que os primeiros.

Ao compararmos os derivados benzimidazólicos sintetizados e os análogos β-carbolínicos sintetizado por nosso grupo de pesquisa, os últimos apresentaram maior atividade antiproliferativa. Mesmo assim, o heterociclo benzimidazol apresenta grande potencial na busca por novos agentes antitumorais, por isso, ele será explorado para futuras pesquisas no nosso grupo de pesquisa.

5. SEÇÃO EXPERIMENTAL

5.1. Instrumentação

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em um espectrômetro VARIAN modelo Mercury Plus 300, operando a 300,0 MHz para ^1H e 75,5 MHz para ^{13}C , tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos foram obtidos em ppm e os solventes utilizados foram CDCl_3 e DMSO. A interpretação dos dados foi realizada com ajuda da técnica de DEPT, em CH_3/CH = sinal positivo (+), CH_2 = sinal negativo (-), C_0 (não ligado a hidrogênio) = sinal de intensidade zero e técnicas bidimensionais de COSY e HSQC.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em um espectrofotômetro BOMEN, modelo MB-séries, em pastilha de KBr, na região de 400 a 4000 cm^{-1} . Utilizou-se a absorção em 1601 cm^{-1} de um filme de poliestireno como referência.

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho da Micro-Química modelo MQAPF-301.

As reações realizadas no microondas foram efetivadas em um microondas doméstico da marca Consul modelo CMS25ABHNA.

5.2. Materiais

As cromatografias em camada delgada foram realizadas com placas de sílica gel (Kieselgel 60 F 254-Merck), com a observação sendo feita sob luz ultravioleta (254 nm) ou com vapor de iodo.

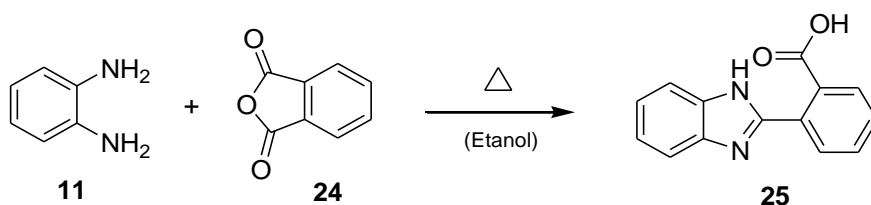
Na síntese dos compostos foram utilizados os seguintes reagentes: o-fenilenodiamina (Aldrich, >98%), anidrido ftálico (Aldrich >99%), anidrido acético (J.T. Baker, 99,8%), hidrazina hidratada 51% (Aldrich), benzaldeído (Acros Organic, 99%), p-anisalaldeído (Aldrich, 98%), o-cloro-benzaldeído (Acros Organics, 99%), p-flúor-benzaldeído (Aldrich, 98%), 2-tiofeno carboxaldeído

(Aldrich, 98%), butanal (Acros Organics, 99%), n-butilamina (Acros Organics, 99,8%), isopropilamina (Acros Organics, 99%), pirrolidina (Aldrich, 99%), benzilamina (Aldrich, 99%), N-metil-piperazina (Acros Organics, >99%), morfolina (Aldrich, 99%), triptamina (Aldrich, 98%) e ácido acético glacial (Nuclear, 99,5%).

5.3. Derivados benzimidazólicos

5.3.1. Ácido 2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzóico (**25**)

Reação:

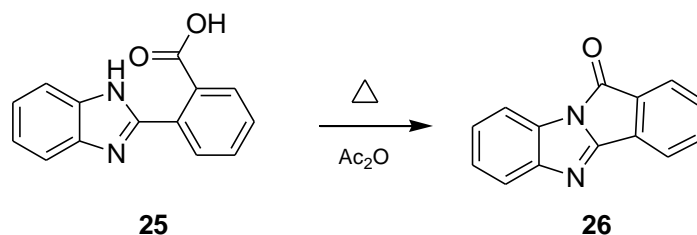


A uma solução de o-fenilenodiamina (**11**) (5,00 g; 46,30 mmol) em etanol (50 mL) adicionou-se anidrido ftálico (**24**) (6,06 g; 40,93 mmol). A mistura foi aquecida sob refluxo por 24 horas, depois resfriada, filtrada, lavada com etanol gelado e seco ao ar gerando no final um sólido branco (**25**).

Rendimento: 55,4%. **pf:** >250°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 3062-2358; 1643; 734. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 7,20-7,23 (m, 2H); 7,57-7,70 (m, 4H); 7,79-7,7,85 (m, 2H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 115,10; 121,99; 129,57; 129,60; 130,05; 130,11; 130,88; 133,26; 138,94; 151,23; 168,74.

5.3.2. Benzo-4,5-imidazo[2,1- α]isoindol-11-ona (**26**)

Reação:

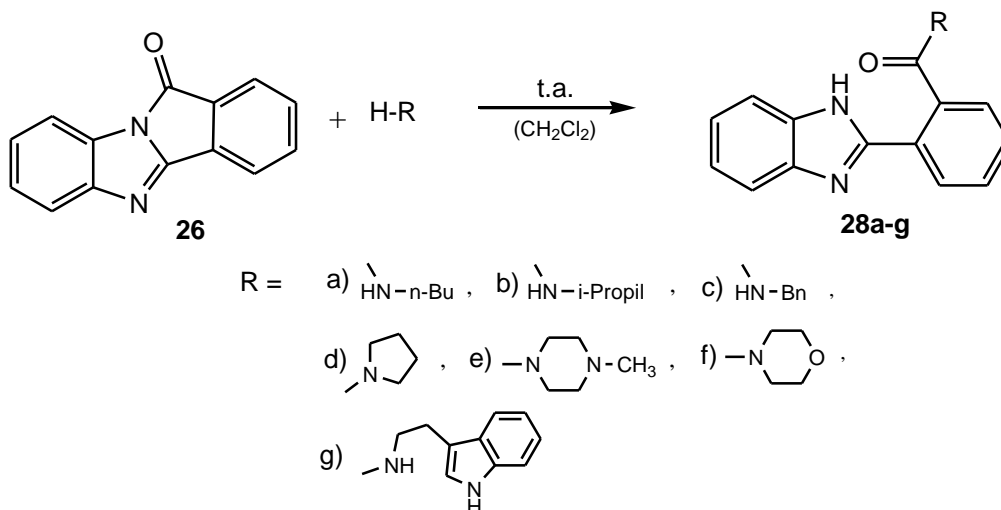


Uma suspensão de ácido 2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzóico (**25**) (2,5 g; 10,5 mmol) em anidrido acético (25 mL) foi aquecida a 110 °C por 3 h (o material entra em solução a 110 °C). A solução foi resfriada, vertida em gelo/H₂O (300 mL), e o sólido que precipitou foi filtrado, lavado abundantemente com água gelada e seco sob vácuo, fornecendo um sólido amarelo (**26**).

Rendimento: 82,9%. **pf:** 205,0-207,5°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1763; 1740; 743. **¹H-RMN (300,06 MHz, CDCl₃):** δ (ppm) 7,28 (ddd, J = 7,65, 7,5 e 1,5Hz, 1H); 7,35 (ddd, J = 7,65, 7,5 e 1,5Hz, 1H); 7,53 (ddd, J = 7,65, 7,5 e 1,2Hz, 1H); 7,65 (ddd, J = 7,35, 7,2 e 1,2Hz, 1H); 7,70 (d, J = 7,5Hz, 1H); 7,79 (d, J = 7,5Hz, 1H); 7,84 (d, J = 7,5Hz, 1H); 7,86 (d, J = 7,5Hz, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, CDCl₃):** δ (ppm) 112,91; 121,48; 122,52; 125,29; 126,07; 126,64; 130,01; 131,82; 132,55; 134,94; 135,26; 149,37.

5.3.3. Procedimento geral para a síntese das 2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzamida (**28a-g**)

Reação:



Para síntese dos derivados **28a-b**, foram misturados 5,0 mL da respectiva amina com o acilimidazol (**26**) (100 mg; 0,45 mol) por 3 h a temperatura ambiente. A mistura muda paulatinamente de cor amarela para branca. A reação foi seca sob vácuo, obtendo em ambos os casos sólidos brancos. Para a síntese dos derivados **28c-f** foram utilizados 1,0 equivalente de **26** para 1,0 equivalente da respectiva amina em 10,0 mL CH_2Cl_2 . Após 3 h de agitação a temperatura ambiente, o solvente foi removido sob vácuo, suspensos em água, postos em repouso por uma noite, filtrados e lavados com água, sendo os produtos obtidos como sólidos brancos. Apenas com o **28g** foi possível, após o término da reação, filtrar-se e lavar-se com CH_2Cl_2 .

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*-butilbenzamida (28a**):** Rendimento: 82,5%. pf: 226,1-227,7°C. IV (filme de KBr, cm^{-1}): 3238; 3049; 2957-2860; 1634; 1537; 1317; 750. $^1\text{H-RMN}$ (300,06 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 0,79 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H); 1,22 (sext, $J = 7,2$ Hz, 2H); 1,40 (quint, $J = 7,2$ Hz, 2H); 3,16 (d, $J = 5,4$ Hz; 2H); 7,18-7,20 (m, 2H); 7,52-7,57 (m, 5H); 7,86 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H); 8,36 (sl, 1H); 12,43 (sl, 1H). $^{13}\text{C-RMN}$ (75,46 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 13,67; 19,53; 30,86; 38,80; 121,82; 128,29; 128,63; 129,23; 129,56; 137,64; 150,82; 168,68.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*-isopropilbenzamida (28b): Rendimento: 88,4%.
pf: >250°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3276; 2970; 1637; 1555; 1331; 750.
¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 1,05 (d, J = 6,6 Hz, 6H); 3,99 (sext,
J = 6,6 Hz, 1H); 7,17-7,21 (m, 2H); 7,49-7,60 (m, 5H); 7,86 (d, J = 6,9 Hz, 1H);
8,22 (d, J = 7,8 Hz, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 21,97;
40,88; 121,88; 128,40; 128,48; 129,17; 129,20; 129,32; 137,76; 150,77; 167,85.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*-benzilbenzamida (28c): Rendimento: 86,0%.
pf: 226,0-228,0°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3296; 1637; 1576; 1313; 740.
¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 4,41 (d, J = 5,7 Hz, 2H); 7,19-7,27
(m, 5H); 7,35-7,38 (m, 2H); 7,51-7,65 (m, 5H); 7,84 (dd, J = 6,9 Hz e 1,2 Hz,
1H); 8,93 (t, J = 5,7 Hz, 1H); 12,54 (s, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ
(ppm) 42,59; 111,52; 118,89; 121,43; 122,36; 126,56; 127,23; 128,05; 128,90;
129,30; 129,41; 129,61; 134,71; 137,60; 139,38; 143,71; 150,91; 168,94.

[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](pirrolidina-1''-il)metanona (28d):
Rendimento: 86,2%. pf: >250°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3142-2874; 1610;
1315; 754. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 1,72 (quint, J = 6,3
Hz, 2H); 1,83 (quint, J = 6,6 Hz, 2H); 3,07 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 3,47 (t, J = 6,6 Hz,
2H); 7,17-7,20 (m, 2H); 7,36-7,39 (m, 1H); 7,50-7,60 (m, 4H); 7,93-7,96 (m,
1H); 12,54 (sl, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 24,16; 25,37;
45,45; 47,76; 126,68; 127,14; 128,13; 128,73; 129,79; 138,07; 150,17; 168,72.

[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](4''-metilpiperazina-1''-il)metanona (28e):
Rendimento: 58,5%. pf: 177,0-179,5 °C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3138-2847;
1599; 1572; 1317; 743. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 2,02-2,06
(m, 5H); 2,30 (sl, 1H); 2,42 (sl, 1H); 3,03 (sl, 1H); 3,07 (sl, 1H); 3,62 (t, J = 4,5
Hz, 2H); 7,20-7,24 (m, 2H); 7,36 (d, J = 6,6 Hz, 1H); 7,53-7,63 (m, 4H); 7,96 (dl,
J = 7,2 Hz, 1H); 12,75 (sl, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm)
41,12; 45,63; 46,05; 53,44; 53,53; 111,49; 119,02; 121,62; 122,69; 127,31;
127,41; 127,98; 128,85; 129,77; 134,71; 136,58; 143,85; 149,85; 168,81.

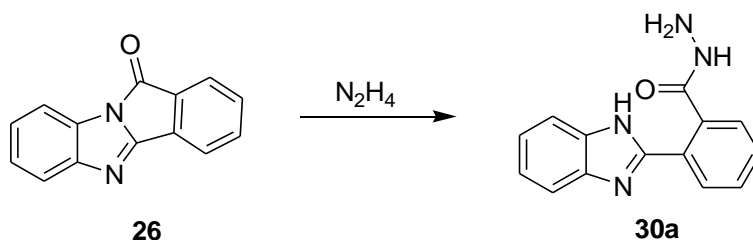
[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](*N*-morfolil)metanona (28f): Rendimento:
61,3%. pf: 186,6-188,4°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3167-2856; 1620; 1568;
1317; 740. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 3,04 (sl, 1H); 3,10 (sl,

1H); 3,39 (s, 2H); 3,63-3,71 (m, 4H); 7,18-7,27 (m, 2H); 7,38 (d, J = 6,0 Hz, 1H); 7,54-7,64 (m, 4H); 7,97 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 12,80 (sl, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 41,76; 46,69; 65,18; 65,44; 111,45; 118,98; 121,68; 122,75; 127,28; 127,39; 127,91; 128,92; 129,77; 134,66; 136,24; 143,80; 149,86; 169,09.

N-[2-(1''H-indol-3''-il)etil]-2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzamida (28g):
Rendimento: 61,3%. **pf:** 231,2-234,1°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 3406; 3385; 1630; 1533; 750. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 2,85-2,90 (m, 2H); 3,42-3,49 (m, 2H); 6,95 (t, J = 7,2Hz, 1H); 7,05 (t, J = 7,2Hz, 1H); 7,15-7,20 (m, 3H); 7,32 (d, J = 7,8Hz, 1H); 7,49-7,61 (m, 6H); 7,89 (d, J = 7,2Hz, 1H); 8,50 (t, J = 5,7Hz, 1H); 10,78 (s, 1H); 12,45 (sl, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 24,74; 40,19; 111,38; 111,95; 118,21; 118,25; 120,92; 122,62; 127,25; 128,35; 128,73; 129,29; 129,39; 129,58; 135,59; 136,24; 137,67; 150,89; 168,84.

5.3.4. 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (30a)

Reação:



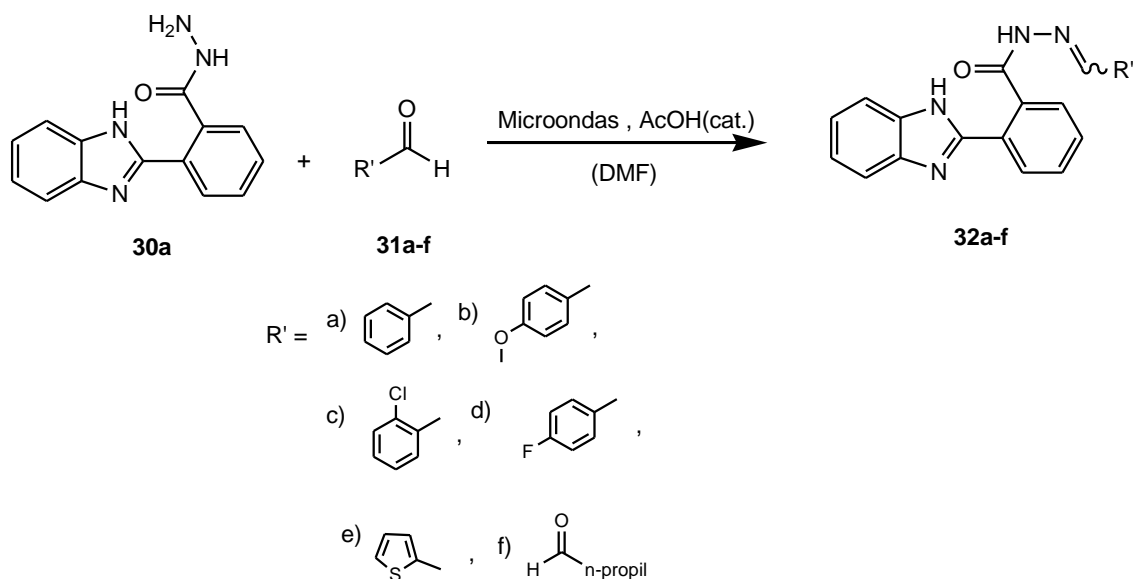
Ao benzo-4,5-imidazo[2,1-*a*]isoindol-11-ona (**26**) (2,34g; 10,63 mmol) foi adicionada hidrazina 51% (40 mL) formando uma suspensão amarela. Este foi agitado por 30 minutos a temperatura ambiente (após aproximadamente 7 minutos de reação a suspensão amarela torna-se uma suspensão branca). O sólido foi filtrado e lavado abundantemente com água e depois seco ao ar.

Rendimento: 86,3%. **pf:** >250°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 3329; 3277; 1612; 1589; 1321; 748. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 4,38 (sl, 2H); 7,18-7,21 (m, 2H); 7,50-7,62 (m, 5H); 7,96 (d, J = 7,5 Hz, 1H); 9,77 (sl, 2H). **¹³C-**

RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 121,89; 128,59; 128,95; 129,25; 129,65; 129,78; 135,44; 150,66; 168,48.

5.3.5. Procedimento geral para a síntese das *N'*-substituído-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazidas (32a-f)

Reação:



A uma solução da 2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**30a**) (100 mg; 0,40 mmol) e o apropriado aldeído (**31a-f**) (entre 2,0 e 3,5 equivalentes) em DMF (5,0 mL) adicionou-se uma gota de ácido acético glacial. Foi colocado no microondas durante 4 a 10 minutos numa potência de aproximadamente 420W não deixando reagir mais do que 2 minutos seguidos. Ao observar-se o consumo total da hidrazida pela CCD (hexano/AcOEt – 3:7), foram adicionados 40,0 mL de água gelada e depois 15,0 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 5,0 % formando um precipitado. Deixou-se em repouso por 20 minutos em banho de gelo e em seguida foi filtrado e lavado com água e, posteriormente, com éter etílico/hexano (1:1).

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N'*-benziledenobenzoidrazida (32a): Rendimento: 46,4%. pf: 158,9-162,4°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 3188; 1653; 744. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 7,08-8,25 (m, 14H); 11,64 (sl, 1H); 12,73 (sl,

1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 121,93; 126,44; 127,00; 127,97; 127,99; 128,48; 128,81; 128,88; 128,92; 129,05; 129,23; 129,31; 129,36; 129,65; 129,98; 130,04; 130,05; 134,02; 134,03; 135,60; 135,61; 135,80; 142,40; 146,94; 150,59; 150,79; 164,83; 170,78.

***N'*-(*p*-metoxi-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32b):**
Rendimento: 78,0%. **pf:** 215,1-216,3°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1657; 1607; 1310; 746. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 3,70 e 3,79 (2 s, 3H); 6,79-8,19 (m, 13H); 11,51 e 11,79 (2 sl, 1H); 12,62 e 12,70 (2 sl, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 55,12; 55,26; 55,36; 111,22; 111,49; 113,96; 114,31; 118,84; 118,95; 121,19; 121,45; 122,19; 122,38; 126,69; 126,84; 128,01; 128,62; 128,87; 129,09; 129,13; 129,35; 129,38; 129,74; 129,99; 134,73; 135,71; 135,97; 142,29; 143,64; 143,86; 146,93; 150,65; 150,88; 160,18; 160,77; 164,64; 170,53.

***N'*-(*o*-cloro-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32c):**
Rendimento: 75,8%. **pf:** > 250°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1667; 1599; 743. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 7,10-8,65 (m, 13H); 11,85 e 12,10 (2 s, 1H); 12,70 e 12,78 (2 sl, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 111,18; 118,85; 121,27; 122,28; 126,29; 126,76; 127,26; 127,58; 127,98; 128,84; 128,90; 129,00; 129,36; 129,56; 129,90; 130,16; 130,76; 130,80; 131,17; 131,39; 131,52; 132,55; 133,08; 134,68; 135,39; 135,53; 138,53; 142,88; 143,82; 150,50; 150,66; 164,89; 170,89.

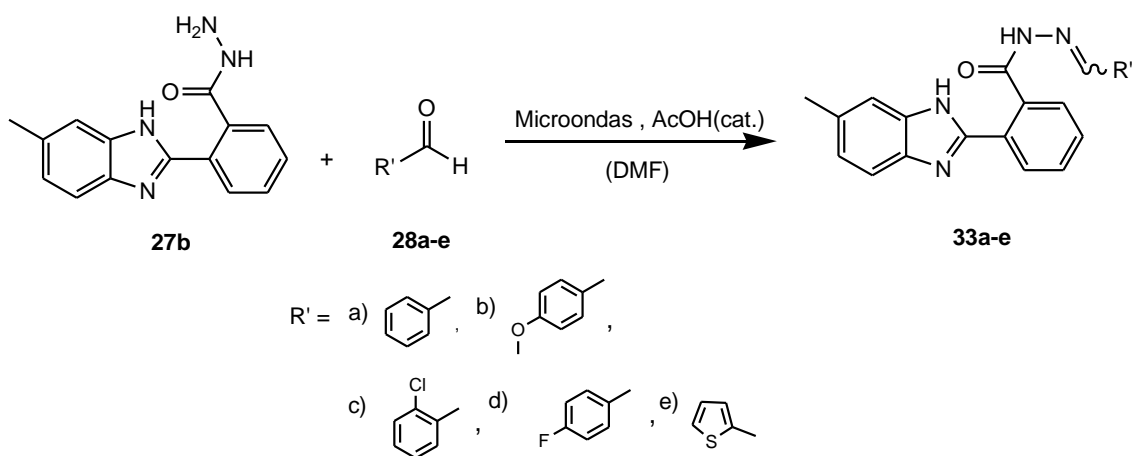
***N'*-(*p*-flúor-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32d):**
Rendimento: 67,2%. **pf:** 169,3-170,2°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1655; 1605; 1313; 737. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 7,06-8,72 (m, 13H); 11,65 e 11,93 (2 s, 1H); 12,66 e 12,73 (2 sl, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 104,52; 111,17; 111,49; 115,48 (d, J_{CF} = 21,9Hz); 115,86 (d, J_{CF} = 21,9Hz); 118,82; 121,19; 121,42; 122,21; 122,42; 128,00; 128,47; 128,59; 128,87; 128,95; 129,10; 129,21; 129,25; 129,32; 129,35; 129,63; 130,05; 130,58; 130,62; 130,90; 130,94; 134,71; 135,58; 135,75; 141,23; 143,81; 145,78; 150,55; 150,80; 162,55 (d, J_{CF} = 246,6Hz); 163,03 (d, J_{CF} = 248,19Hz), 164,83; 170,72.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*'-[(tiofeno-2''-il)metileno]benzoidrazida (32e): Rendimento: 62,0%. pf: 249,8-251,7°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 1657; 1319; 743. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 6,94-8,46 (m, 12H); 11,62 e 11,85 (2 sl, 1H); 12,65 e 12,69 (2 sl, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 111,20; 118,82; 121,19; 122,20; 127,49; 127,82; 128,82; 129,00; 129,16; 129,32; 129,36; 129,63; 130,04; 130,77; 134,70; 135,53; 135,56; 137,37; 138,68; 139,12; 142,05; 150,52; 164,65; 170,53.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*'-butilidenobenzoidrazida (32f): Rendimento: 53,8%. pf: 217,1-218,6°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 2962-2943; 1651; 1589; 1317; 743. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 0,53 e 0,89 (t, J = 7,2Hz, 3H); 0,97 e 1,47 (sext, 7,2Hz, 2H); 1,69 e 2,18 (td, J = 7,5 e 5,4Hz, 2H); 6,94-7,88 (m, 9H); 11,09 e 11,44 (2 s, 1H); 12,56 e 12,59 (2 sl, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 13,16; 13,61; 19,06; 19,35; 33,17; 33,87; 111,16; 111,49; 118,84; 118,89; 121,17; 121,40; 122,14; 122,39; 127,97; 128,75; 128,79; 128,85; 129,01; 129,23; 129,28; 129,30; 129,64; 129,84; 134,67; 134,79; 135,76; 136,00; 143,61; 143,88; 146,52; 150,60; 151,00; 151,36; 164,46; 170,07.

5.3.6. Procedimento geral para a síntese das *N*'-substituído-2-(5'(6')-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazidas (33a-e)

Reação:



A uma mistura de 2-(5'(6')-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (**30b**) (100 mg; 0,38 mmol) e do aldeído apropriado (**31a-e**) (entre 2,0 e 4,0 equivalentes) em DMF (5,0 mL) foi adicionado uma gota de ácido acético glacial. A mesma foi colocada sob microondas durante 4 a 10 minutos, numa potência de aproximadamente 420W. A reação foi acompanhada via CCD a cada 2 minutos. A mistura reacional foi vertida em 40,0 mL de água gelada e deixada em repouso por 20 minutos em gelo. Em seguida foi filtrada, lavada com água e, posteriormente, com éter etílico.

***N'*-benzilideno-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33a):**

Rendimento: 45,2%. **pf:** 209,3-211,5°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1651; 1317. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 2,34, 2,36 e 2,41 (3 s, 3H), 6,88-8,23 (m, 13H); 11,65, 11,66 e 11,92 (3 s, 1H); 12,53; 12,55; 12,61 e 12,64 (4 s, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 21,49; 111,12; 118,65; 118,82; 123,11; 123,33; 123,99; 124,19; 126,67; 127,26; 128,04; 128,74; 129,08; 129,33; 129,50; 129,55; 129,62; 129,72; 130,30; 130,35; 131,81; 134,16; 134,43; 135,02; 135,58; 135,73; 142,71; 147,23; 165,12; 171,04.

***N'*-(*p*-metoxibenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida**

(33b): Rendimento: 29,1%. **pf:** 170,5-172,5°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1657; 1607; 1310. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 2,35, 2,37 e 2,41 (3 s, 3H); 3,71 e 3,79 (2 s, 3H); 6,79-8,17 (m, 12H); 11,51, 11,53 e 11,80 (3 sl, 1H); 12,49, 12,51, 12,57 e 12,60 (4 sl, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 21,51; 55,38; 55,51; 104,78; 111,16; 114,20; 114,56; 118,65; 123,12; 123,97; 124,21; 126,84; 126,98; 128,08; 128,27; 128,93; 129,09; 129,37; 129,40; 129,53; 129,57; 129,81; 130,32; 131,80; 132,80; 135,03; 135,67; 135,86; 142,16; 142,63; 144,79; 147,23; 150,45; 160,43; 161,02; 164,93; 170,77.

***N'*-(*o*-clorobenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida**

(33c): Rendimento: 23,8%. **pf:** 243,7-244,1°C. **IV (filme de KBr, cm⁻¹):** 1657; 756. **¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 2,35, 2,37 e 2,41 (3 s, 3H); 6,89-8,65 (m, 12H); 11,82, 11,84, 12,09 e 12,12 (4 s, 1H); 12,55, 12,58, 12,63 e 12,66 (4 s, 1H). **¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆):** δ (ppm) 21,47; 118,63;

123,15; 126,48; 126,98; 127,50; 127,83; 128,01; 129,03; 129,06; 129,10; 129,12; 129,26; 129,47; 129,51; 129,61; 129,63; 129,66; 129,77; 130,12; 130,43; 131,05; 131,31; 131,64; 131,69; 132,77; 133,30; 135,36; 135,46; 138,76; 143,12; 165,16; 171,11.

***N'*-(*p*-fluorbenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida**

(33d): Rendimento: 13,7%. pf: 172,5-174,0°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 1664; 1602; 1307. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 2,34, 2,37 e 2,41 (3 s, 3H); 6,88-8,23 (m, 12H); 11,64, 11,66, 11,92 e 11,93 (4 s, 1H); 12,52, 12,54, 12,59 e 12,62 (4 s, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 21,47; 115,75 (d, J_{CF} = 22,7Hz); 116,12 (d, J_{CF} = 21,9Hz); 128,07; 128,40; 128,70; 128,82; 129,12; 129,39; 129,50; 129,55; 129,61; 129,72; 130,35; 130,37; 130,73; 130,77; 131,03; 131,08; 135,54; 135,66; 141,55; 146,08; 165,13; 170,97.

2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N'*-[(tiofeno-2''-il)metileno]benzoidrazida

(33e): Rendimento: 22,6%. pf: 175,4-177,4°C. IV (filme de KBr, cm⁻¹): 1657; 1319. ¹H-RMN (300,06 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 2,36, 2,37 e 2,41 (3 s, 3H); 6,90-8,43 (m, 11H); 11,62; 11,63 e 11,84 (3 s, 1H); 12,51, 12,53, 12,55 e 12,57 (4 s, 1H). ¹³C-RMN (75,46 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 21,23; 21,37; 111,00; 111,17; 118,45; 118,59; 122,82; 123,03; 123,91; 127,53; 127,86; 128,85; 129,13; 129,23; 129,36; 129,49; 130,02; 130,40; 130,82; 131,50; 131,78; 132,79; 134,99; 135,49; 137,29; 138,93; 139,18; 141,94; 149,97; 164,76.

5.4. Ensaios biológicos

Atividade anticâncer dos compostos.

A avaliação da atividade anticâncer foi realizada no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP sob responsabilidade dos professores Dr. João Ernesto de Carvalho e Dra. Mary Ann Foglio.

Linhagens de células utilizadas.

As linhagens de células utilizadas na avaliação da atividade anticâncer foram cedidas pelo National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos da América (EUA). Todos os procedimentos foram realizados segundo metodologia descrita por Monks e col. [76]. As culturas de células tumorais humanas utilizadas foram: Glioma (U251), Ovário resistente (NCI-ADR/RES) (linhagem com fenótipo de resistência a múltiplas drogas), Mama (MCF-7), Pulmão (NCI-H460), Rim (786-0), Leucemia (K-562), Ovário (OVCAR-03), Cólon (HT29), sendo que todos os tipos de culturas são aderidas.

As células são mantidas em meio de cultura RPMI-1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino inativo (SFB) e penicilina: estreptomicina (meio PMI/SFB/pen:strep).

Procedimento dos ensaios para a determinação da atividade anticâncer dos compostos.

Foram plaqueados 100 μ L das células tumorais, nas suas respectivas densidades de inoculação, nos compartimento das placas de 96 compartimentos. Estas placas foram incubadas por 24 horas, a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂ e 100% de umidade. Para cada linhagem foi utilizado um número estipulado de placas, além da placa T₀ (placa controle), dependendo da quantidade de células obtidas na contagem.

Diluição das amostras

As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 0,1 g/mL resultando em soluções estoques. Estas soluções foram diluídas 40 vezes em RPMI/SFB/pen:strep. Foram adicionadas 100 μ L da solução dos compostos nos compartimento das placas de 96 compartimentos, exceto na T₀, nas doses de 0,25; 2,5; 25; 250 mg/mL. Neste mesmo momento foi realizada a fixação da placa T₀, determinando-se assim a quantidade de células presentes no momento em que os compostos foram colocados. As demais placas foram incubadas por 48 horas. Após este período, foram realizadas as leituras pelo ensaio do SRB.

Ensaio da Sulforrodamina B (SRB)

As placas de 96 compartimentos foram fixadas com 50 µL de ácido tricloroacético a 50% (TCA) em cada compartimento. Para completar a fixação celular, as placas foram incubadas por 1 hora a 4°C. Após esse tempo, foram submetidas a quatro lavagens consecutivas com água destilada para a remoção dos resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários. Estas placas foram mantidas a temperatura ambiente até a completa secagem. Em seguida, as placas foram coradas pela adição de 50µL/compartimento de SRB a 0,4% (peso/volume), dissolvido em ácido acético a 1%. Estas foram incubadas a 4°C, durante 30 minutos. Após esse período, as placas foram lavadas por 4 vezes consecutivas com uma solução de ácido acético 1%. O resíduo da solução de lavagem foi removido e as placas foram novamente secas à temperatura ambiente. O corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com uma solução de Trizma Base, na concentração de 10 µL e pH 10,5, por 5 minutos em ultrassom. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em 560 nm em um leitor de microplacas.

Análise dos resultados.

Foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos e através das seguintes fórmulas foi determinado o crescimento celular.

Se $T > C$ a substância estimulou o crescimento.

Se $C > T \geq T_0$, a substância foi citostática, $\text{Cresc.(\%)} = 100 * [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

Se $T < T_0$ a substância foi citocida, $\text{Cresc.(\%)} = 100 * [(T - T_0) / (T_0)]$;

Onde: T é a média da absorbância da célula tratada;

C é o controle de célula;

T_0 é o controle das células no dia da adição das substâncias.

Foram gerados gráficos de crescimento (em porcentagem) em função da concentração da amostra testada, para cada uma das linhagens testadas. Uma concentração efetiva denominada IC_{50} (do inglês *growth inhibition*, concentração necessária para que ocorra 50% de crescimento celular) foi

calculada por regressão não linear, tipo sigmoidal, utilizando-se software Origin, versão 8.0.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INCA lança estimativas de câncer 2012 com sete novas localizações de tumores. **Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**, 2011. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2011/inca_lanca_estimativas_de_cancer_2012_com_sete_novas_localizacoes_de_tumores>. Acesso em: 12 dez. 2011.
2. NCD Country Profiles. **World Health Organization**, 2011. Disponível em: <http://www.who.int/nmh/countries/bra_en.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2011.
3. PETO, J. Cancer Epidemiology in the Last Century and the Next Decade. **Nature**, v. 411, p. 390-395, 2001.
4. COTRAN, R. S. et al. **Patologia Estrutural e Funcional**. 5^o. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996.
5. EVAN, G. I.; VOUSDEN, K. H. Proliferation, Cell Cycle and Apoptosis in Cancer. **Nature**, v. 411, p. 342-348, 2001.
6. HANAHAN, D.; WEINGERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, p. 57-70, 2000.
7. SILVA, P. **Farmacologia**. 8^a. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2010.
8. BRASILEIRO, G. F. **Bogliolo Patologia**. 7^a. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2006.
9. KUMAR, V. et al. **Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 8^a. ed. São Paulo: Elsevier Editora Ltda, 2010.
10. FYYE, S. et al. US Academic Drug Discovery. **Nature Reviews**, v. 10, p.

409 e 4010, 2011.

11. BRUNTON, L. L. et al. **Manual de Farmacologia e Terapêutica**. São Paulo: AMGH Editora Ltda, 2010.
12. GIBSON, H. W.; JOIS, Y. H. R. **Formation of Poly(benzimidazole)**. United State Patent 5066773, 10 jun. 1989.
13. KIM, H. J. et al. **Method for Preparing Poly(2,5-benzimidazole)**. United States Patent 7388035, 2008 dez. 17.
14. LESHER, G. N. **5-(Pyridinyl)-1H-benzimidazoles and 1-hydroxy-6-(pyridinyl)-1H-benzimidazoles and Their Cardiotonic Use**. United States Patent 4331671, 09 jan. 1981.
15. NAGASAWA, M. et al. **Benzimidazole Derivatives**. United States Patent 6884810, 17 mar. 2003.
16. BARTLLET, M. S. et al. Antimicrotubule Benzimidazoles Inhibit *In Vitro* Growth of *Pneumocystis carinii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 36, p. 779-782, 1992.
17. FUENTE, T. et al. Benzimidazole Derivatives as New Serotonin 5-HT₆ Receptor Antagonists. Molecular Mechanisms of Receptor Inactivation. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 1357–1369, 2010.
18. SIH, J. C. et al. Studies on (H⁺-K⁺)-ATPase Inhibitors of Gastric Acid Secretion. Prodrugs of 2-[(2-Pyridinylmethyl)sulfinyl]benzimidazole Proton-Pump Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 34, p. 1049-1062, 1991.
19. HAUGWITZ, R. D. et al. Antiparasitic Agents 5. Synthesis and Anthelmintic Activities of Novel 2-Heteroaromatic-Substituted Isothiocyanatobenzoxazoles and Benzothiazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 969-974, 1982.

20. SKEDELJ, V. et al. ATP-Binding Site of Bacterial Enzymes as a Target for Antibacterial Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 915-929, 2011.
21. GUNGOR, T. et al. Cardiotoxic Agents. Synthesis and Cardiovascular Properties of Novel 2-Arylbenzimidazoles and Azabenzimidazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 4455-4463, 1992.
22. CAMACHO, J. et al. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole-5-Carbohydrazide Derivatives as Antimalarial, Cytotoxic and Antitubercular Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 2023-2029, 2011.
23. TONG, Y. et al. Synthesis and Evaluation of a New Generation of Orally Efficacious Benzimidazole-Based. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 6803-6813, 2009.
24. WHITE, A. W. et al. Potentiation of Cytotoxic Drug Activity in Human Tumour Cell Lines, by Amine-Substituted 2-Arylbenzimidazole-4-Carboxamide PARP-1 Inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 2433-2437, 2004.
25. OREN, I. et al. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel 2,5- and /or 6-Substituted Benzoxazole and Benzimidazole Derivatives. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, p. 153-160, 1998.
26. WOLTERS, M.; STROHLE, A.; HAHN, A. Cobalamin: a Critical Vitamin in the Elderly. **Preventive Medicine**, v. 39, p. 1256– 1266, 2004.
27. ANDRES, E. et al. Vitamin B₁₂ (Cobalamin) Deficiency in Elderly Patients. **Canadian Medical Association Journal**, v. 171, p. 251-259, 2004.
28. HORTON, J. Albendazole: a Review of Anthelmintic Efficacy and Safety in Humans. **Parasitology**, v. 121, p. 113-132, 2000.

29. TOCCO, D. J. et al. The Metabolic Fate of Thiabendazole in Sheep. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 399–405, 1964.
30. KROMER, W. et al. Differences in pH-dependent Activation Rates of Substituted Benzimidazoles and Biological *in vitro* Correlates. **Pharmacology**, v. 56, p. 57-70, 1998.
31. THOMSON, A. B. R. Are the Orally Administered Proton Pump Inhibitors Equivalent? A Comparison of Lansoprazole, Omeprazole, Pantoprazole, and Rabeprazole. **Current Gastroenterology Reports**, v. 2, p. 482–49, 2000.
32. KUHNER, T. C. et al. Structure-Activity Relationship of Omeprazole and Analogues as *Helicobacter pylori* Urease Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, p. 4906-4916, 1995.
33. SCHMIDT, B.; SCHIEFFER, B. Angiotensin II AT₁ Receptor Antagonists. Clinical Implications of Active Metabolites. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 2261-2270, 2003.
34. TAKEDA, P. C. L. Core Products. **Takeda Pharmaceutical Company Limited**, 2012. Disponível em: <http://www.takeda.com/about-takeda/product-portfolio/article_73.html>. Acesso em: 05 jan. 2012.
35. RANG, H. P. et al. **Rang & Dale Farmacologia**. 6^a. ed. São Paulo: Elsevier Ltda, 2008.
36. BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. 2^a. ed. São Paulo: Artmed S.A., 2008.
37. VELÍK, J. et al. Benzimidazole Drugs and Modulation of Biotransformation Enzymes. **Research in Veterinary Science**, v. 76, p. 95–108, 2004.
38. GOTTSCHALL, D. W.; THEODORIDES, V. J.; WANG, R. The Metabolism of Benzimidazole Anthelmintics. **Parasitology Today**, v. 6, p. 115-124,

- 1990.
39. COULET, M. et al. Identification of Human and Rabbit Cytochromes P450 1A2 as Major Isoforms Involved in Thiabendazole 5-Hydroxylation. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 12, p. 225-235, 1998.
 40. LITALIEN, C.; THÉORÊT, Y.; FAURE, C. Pharmacokinetics of Proton Pump Inhibitors in Children. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 44, p. 441-466, 2005.
 41. MEYER, A. Interaction of Proton Pump Inhibitors with Cytochromes P450: Consequences for Drug Interactions. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 69, p. 203-209, 1996.
 42. WRIGHT, J. B. The Chemistry of the Benzimidazoles. **Chemical Reviews**, v. 48, p. 397–541, 1951.
 43. PRESTON, P. N. Synthesis, Reactions, and Spectroscopic Properties of Benzimidazoles. **Chemical Reviews**, v. 74, p. 274-314, 1974.
 44. HOLLJES, E. L.; WAGNER, E. C. Some Reactions of Nitriles as Acid Anammonides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 9, p. 31-49, 1944.
 45. SHEN, M.; DRIVER, T. G. Iron(II) Bromide-Catalyzed Synthesis of Benzimidazoles from Aryl Azides. **Organica Letters**, v. 10, p. 3367-3370, 2008.
 46. BEIFUSS, U. et al. A New Laccase-catalyzed Domino Process and its Application to the Efficient Synthesis of 2-aryl-1H-benzimidazoles. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 604-607, 2011.
 47. WATSON, C. et al. Optimisation of a Novel Series of Selective CNS Penetrant CB₂ Agonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 4284–4287, 2011.
 48. KEURULAINEN, L. et al. Design and Synthesis of 2-Arylbenzimidazoles

and Evaluation of Their Inhibitory Effect against *Chlamydia pneumoniae*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 7664–7674, 2010.

49. HUANG, S. T.; HSEIB, I. J.; CHENA, C. Synthesis and Anticancer Evaluation of Bis(Benzimidazoles), Bis(Benzoxazoles), and Benzothiazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 6106–6119, 2006.
50. CHARRIER, J. D. et al. Discovery of Potent and Selective Inhibitors of Ataxia Telangiectasia Mutated and Rad Related (ATR) Protein Kinase as Potential Anticancer Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 2320–2330, 2011.
51. WANG, H. et al. Discovery of (2E)-3-(2-Butyl-1-[2-(diethylamino)ethyl]-1H-benzimidazol-5-yl)-N-hydroxyacrylamide (SB939), an Orally Active Histone Deacetylase Inhibitor with a Superior Preclinical Profile. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 4694–4720, 2011.
52. ABONIA, R. et al. Synthesis of Novel 1,2,5-Trisubstituted Benzimidazoles as Potential Antitumor Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4062-4070, 2011.
53. KHAN, M. T. H. **Bioactive Heterocycles III**. Berlin: Springer-Verlag, v. 9, 2007.
54. HAO, D. et al. Preclinical Antitumor Activity and Pharmacokinetics of Methyl-2-Benzimidazolecarbamate (FB642). **Investigational New Drugs**, v. 20, p. 261–270, 2002.
55. SACZEWSKI, F. et al. Structure-Activity Relationships of Novel Heteroaryl-Acrylonitriles as Cytotoxic and Antibacterial Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1847-1857, 2008.
56. SACZEWSKI, F. et al. Synthesis, X-ray Crystal Structures, Stabilities, and in vitro Cytotoxic Activities of New Heteroarylacrylonitriles. **Journal of**

- Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 3438-3449, 2004.
57. ABDEL-MOHSEN, H. T. et al. Novel Benzimidazole–Pyrimidine Conjugates as Potent Antitumor Agents. **European Journal of Medicinal Chemistry** , v. 45, p. 2336–2344, 2010.
58. PENNING, T. D. et al. Discovery of the Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor 2-[(R)-2-Methylpyrrolidin-2-yl]-1H-Benzimidazole-4-Carboxamide (ABT-888) for the Treatment of Cancer. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 514–523, 2009.
59. TONIN, L. T. D. Síntese e Avaliação da Atividade Antiprotozoário, Antitumoral e Antimicrobiana de 1-Fenilssubstituído- β -Carbolinas Contendo os Grupos N-Alquil-Carboxamida, 1,2,4-Triazol e 1,3,4-Tiadiazol na Posição-3. **Tese de Doutorado em Química Orgânica - Universidade Estadual de Maringá**, Maringá, p. 293, 2009.
60. FORMAGIO, A. S. N. Síntese e Avaliação da Atividade Antiproliferativa, Antiviral e Antimicrobiana de β -Carbolinas contendo diferentes grupos nas posições-1 e -3. **Tese de Doutorado em Química Orgânica – Universidade Estadual de Maringá**, Paraná, p. 291, 2008.
61. MEYER, E. Síntese de Novos Potenciais Antagonistas dos Receptores da Angiotensina II Contendo Unidades Heterocíclicas. **Tese de Doutorado em Química Orgânica - Universidade Federal de Santa Catarina**, Santa Catarina, p. 302, 2003.
62. SRIDHARAN, V. et al. NMR Investigation of Hydrogen Bonding and 1,3-Tautomerism in 2-(2-Hydroxy-5-Substituted-Aryl) Benzimidazoles. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 43, p. 551-556, 2005.
63. SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's Advanced Organic Chemistry: Reaction, Mechanisms and Structure**. 6^a. ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2007.

64. CAPPELLI, A. et al. Structure-Activity Relationships in Carboxamide Derivatives Based on the Targeted Delivery of Radionuclides and Boron Atoms by Means of Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligands. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 3568-3571, 2003.
65. GASPAR, A. et al. Chromone, a Privileged Scaffold for the Development of Monoamine. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 5165-5173, 2011.
66. ONNIS, V. et al. Synthesis and Evaluation of Antitumoral Activity of Ester and Amide Derivatives of 2-Arylamino-6-Trifluoromethyl-3-Pyridinecarboxylic Acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 2367-2378, 2008.
67. VENABLE, J. D. et al. Preparation and Biological Evaluation of Indole, Benzimidazole, and Thienopyrrole Piperazine Carboxamides: Potent Human Histamine Antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, p. 8289-8298, 2005.
68. FELEDZIAK, M. et al. SAR and LC/MS Studies of β -Lactamic Inhibitors of Human Fatty Acid Amide Hydrolase (hFAAH): Evidence of a Nonhydrolytic Process. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 6812-6823, 2011.
69. ILLIG, C. R. et al. Optimization of a Potent Class of Arylamide Colony-Stimulating Factor-1 Receptor Inhibitors Leading to Anti-inflammatory Clinical Candidate 4-Cyano-N-[2-(1-cyclohexen-1-yl)-4-[1-[(dimethylamino)-acetyl]-4-piperidiny]phenyl]-1H-imidazole-2-carboxamide. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 7860-7883, 2011.
70. MUNDY, B. P.; ELLERD, M. G.; FAVALORO, F. G. **Names Reactions and Reagents in Organic Synthesis**. 2^a. ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

71. PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4^a. ed. São Paulo: Cengage Learning Edições Ltda, 2010.
72. FRISCH, M. J. et al. Gaussian 03, Revision D 02, Gaussian Inc., Wallingford CT, 2004.
73. MAHESH, R. et al. Discovery of New Anti-depressants from Structurally Novel 5-HT₃ Receptor Antagonists: Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of 3-ethoxyquinoxalin-2-carboxamides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 1253–1256, 2011.
74. PONTES, R. M. Barreiras Rotacionais em Sistemas Amídicos. Estudo Experimental e Teórico de Congêneros de Carbamatos e Uréias. **Tese de Doutorado em Química Orgânica - Unversidade Estadual de Maringá**, Maringá, p. 192, 2006.
75. OZKAY, Y. et al. Antimicrobial Activity and a SAR Study of Some Novel Benzimidazole. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 3293-3298, 2010.
76. MONKS, A. et al. Feasibility of a High-Flux Anticancer Drug Screen Using a Diverse Panel of Cultured Human Tumor Cell Lines. **Journal National Cancer Institute**, v. 83, p. 757-766, 1991.

ANEXO

LISTA DE FIGURAS DO ANEXO

Figura A - 1: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 25.</i>	1
Figura A - 2: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 25.</i>	2
Figura A - 3: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 25.</i>	2
Figura A - 4: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, CDCl₃) do composto 26.</i>	3
Figura A - 5: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, CDCl₃) do composto 26.</i>	4
Figura A - 6: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 26.</i>	4
Figura A - 7: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, CDCl₃) do composto 26.</i>	5
Figura A - 8: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl₃) do composto 26.</i>	5
Figura A - 9: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28a.</i>	6
Figura A - 10: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 28a.</i>	7
Figura A - 11: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28a.</i>	7
Figura A - 12: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28b.</i>	8
Figura A - 13: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 28b.</i>	9

Figura A - 14: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28b</i>	9
Figura A - 15: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28c</i>	10
Figura A - 16: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 28c</i>	11
Figura A - 17: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28c</i>	11
Figura A - 18: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28d</i>	12
Figura A - 19: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 28d</i>	13
Figura A - 20: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28d</i>	13
Figura A - 21: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28e</i>	14
Figura A - 22: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 28e</i>	15
Figura A - 23: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28e</i>	15
Figura A - 24: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 25e</i>	16
Figura A - 25: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 28e</i>	16
Figura A - 26: <i>Espectro de RMND ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) à 45°C do composto 28e</i>	17

Figura A - 27: Espectro de RMND ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) à 60°C do composto 28e	17
Figura A - 28: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto 28f	18
Figura A - 29: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 28f	19
Figura A - 30: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28f	19
Figura A - 31: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto 28f	20
Figura A - 32: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto 28f	20
Figura A - 33: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto 28g	21
Figura A - 34: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 28g	22
Figura A - 35: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 28g	22
Figura A - 36: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto 30a	23
Figura A - 37: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 30a	24
Figura A - 38: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 30a	24

Figura A - 39: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32a.</i>	25
Figura A - 40: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32a.</i>	26
Figura A - 41: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32a.</i>	26
Figura A - 42: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32a.</i>	27
Figura A - 43: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32a.</i>	27
Figura A - 44: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32b.</i>	28
Figura A - 45: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32b.</i>	29
Figura A - 46: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32b.</i>	29
Figura A - 47: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32b.</i>	30
Figura A - 48: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32b.</i>	30
Figura A - 49: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32c.</i>	31
Figura A - 50: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32c.</i>	32

Figura A - 51: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32c.</i>	32
Figura A - 52: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32c.</i>	33
Figura A - 53: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32c.</i>	33
Figura A - 54: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32d.</i>	34
Figura A - 55: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32d.</i>	35
Figura A - 56: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32d.</i>	35
Figura A - 57: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32d.</i>	36
Figura A - 58: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32d.</i>	36
Figura A - 59: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32e.</i>	37
Figura A - 60: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32e.</i>	38
Figura A - 61: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32e.</i>	38
Figura A - 62: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32e.</i>	39

Figura A - 63: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32e.</i>	39
Figura A - 64: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32f.</i>	40
Figura A - 65: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 32f.</i>	41
Figura A - 66: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32f.</i>	41
Figura A - 67: <i>Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32f.</i>	42
Figura A - 68: <i>Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32f.</i>	42
Figura A - 69: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 30b.</i>	43
Figura A - 70: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 30b.</i>	44
Figura A - 71: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 30b.</i>	44
Figura A - 72: <i>Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 33a.</i>	45
Figura A - 73: <i>Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 33a.</i>	46
Figura A - 74: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33a.</i>	46

Figura A - 75: <i>Espectro de RMND ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) à 45°C do composto 33a</i>	47
Figura A - 76: <i>Espectro de RMND ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) à 60°C do composto 33a</i>	47
Figura A - 77: <i>Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto 33b</i>	48
Figura A - 78: <i>Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33b</i>	49
Figura A - 79: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33b</i>	49
Figura A - 80: <i>Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto 33c</i>	50
Figura A - 81: <i>Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33c</i>	51
Figura A - 82: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33c</i>	51
Figura A - 83: <i>Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto 33d</i>	52
Figura A - 84: <i>Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33d</i>	53
Figura A - 85: <i>Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33d</i>	53
Figura A - 86: <i>Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto 33e</i>	54

Figura A - 87: *Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 33e.*
..... 55

Figura A - 88: *Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33e.* 55

Ácido 2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzóico (25)

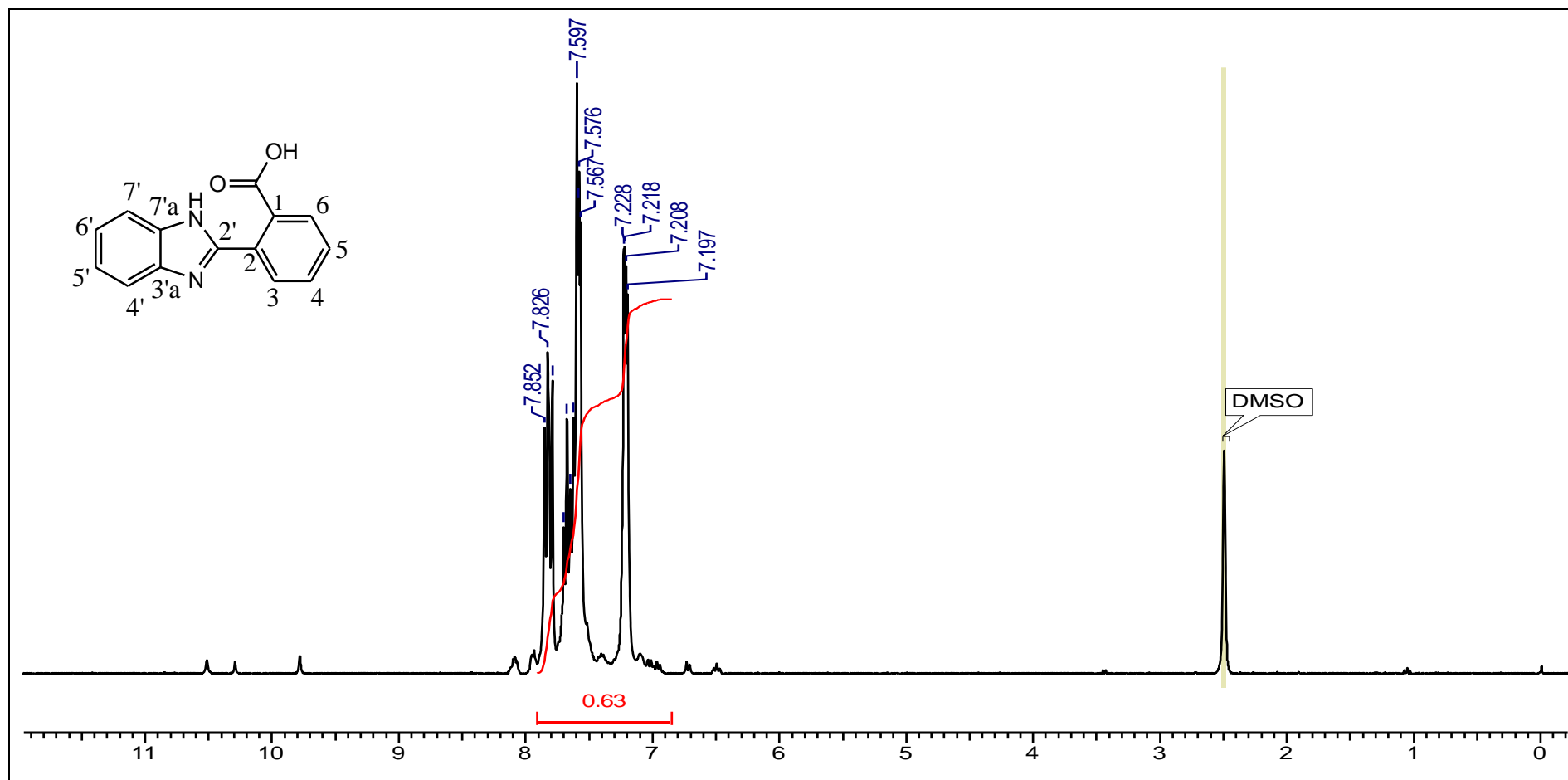


Figura A - 1: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **25**.

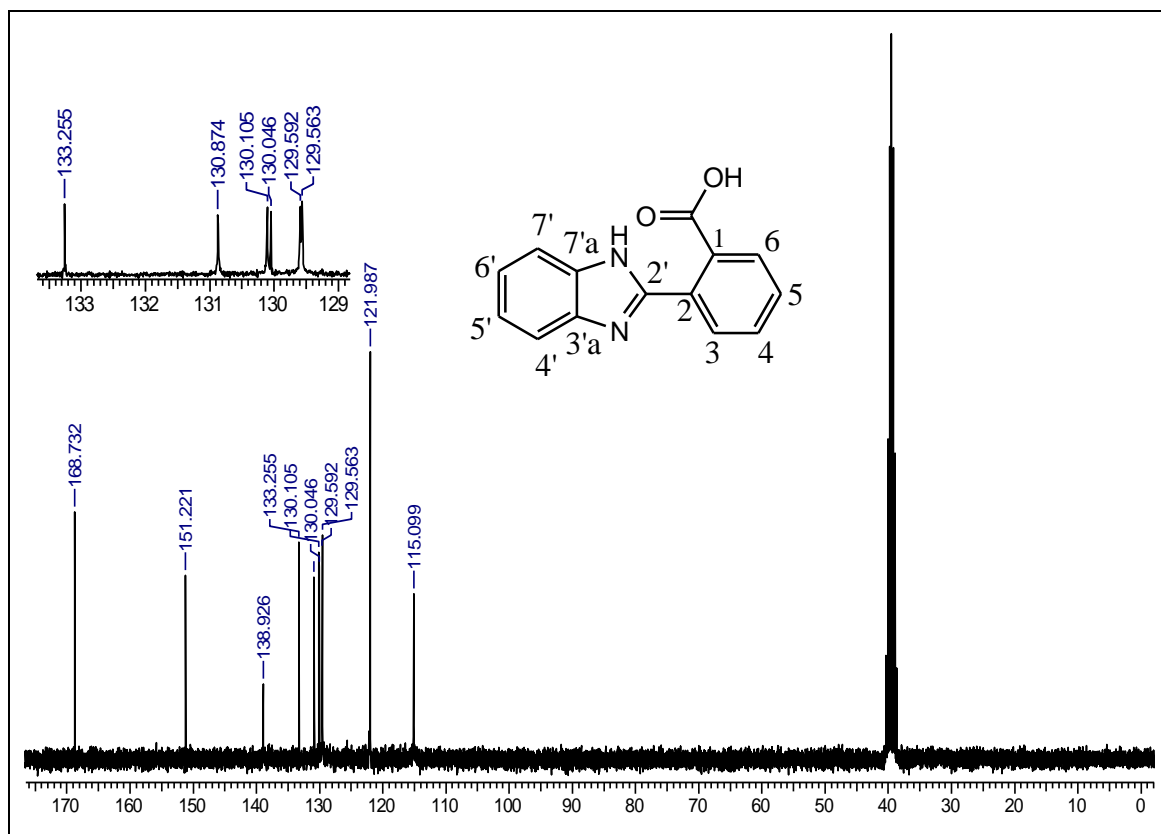


Figura A - 2: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 25.

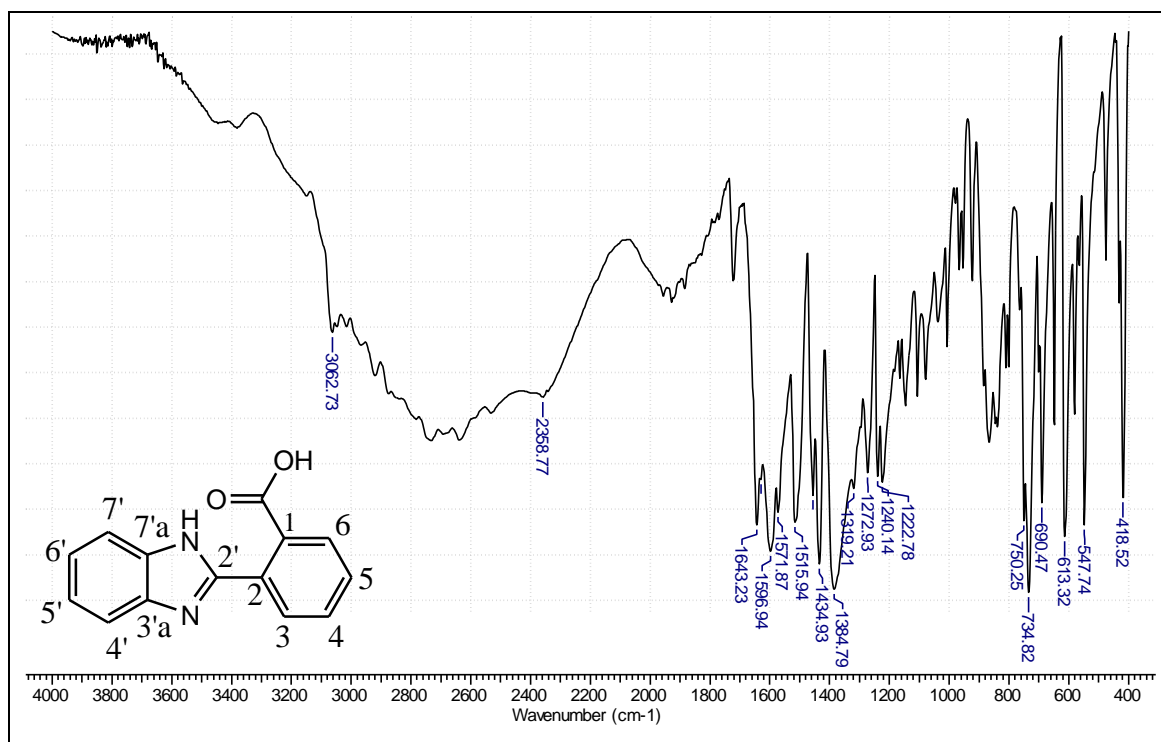


Figura A - 3: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 25.

Benzo-4,5-imidazo[2,1- α]isoindol-11-ona (26)

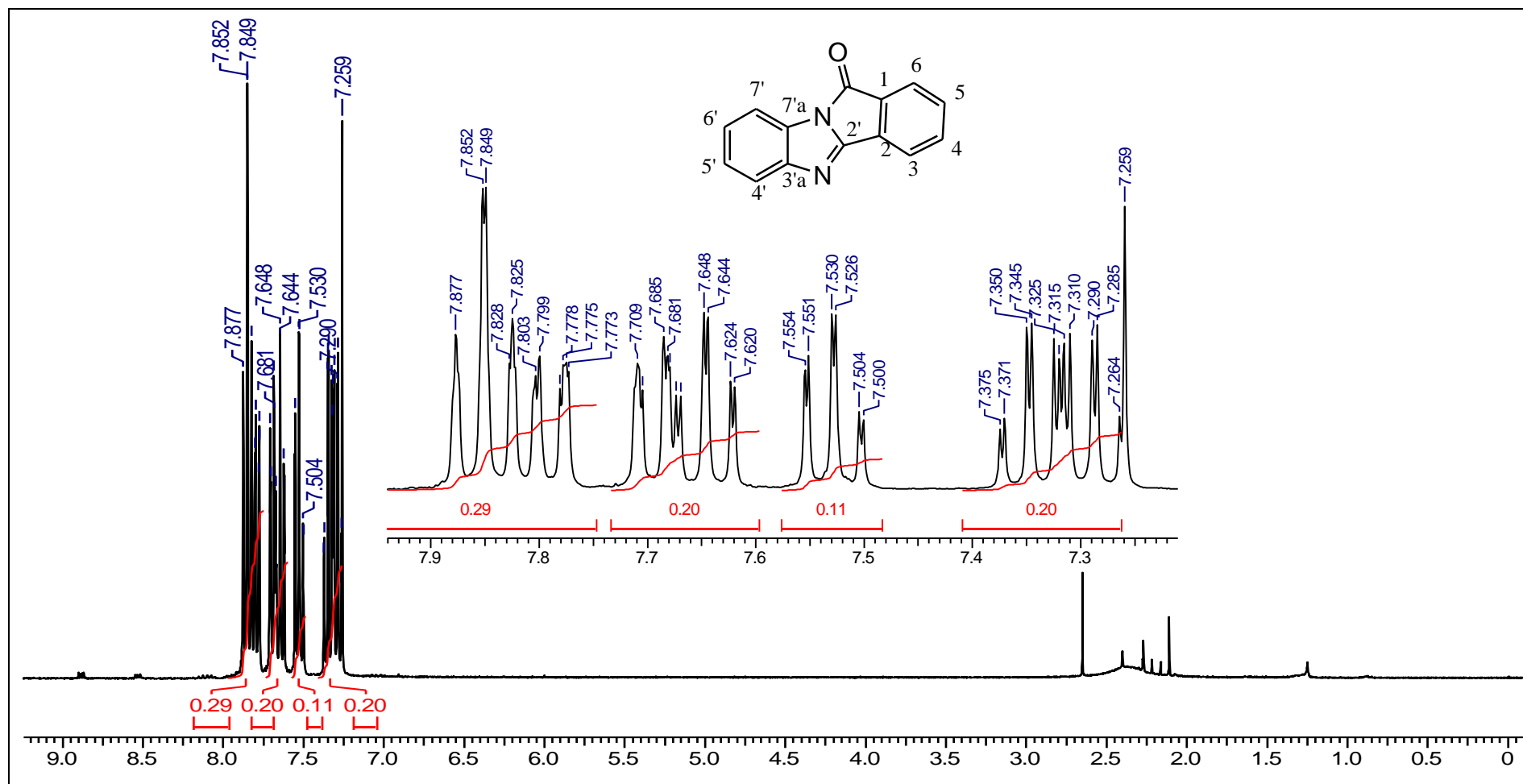


Figura A - 4: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, CDCl_3) do composto 26.

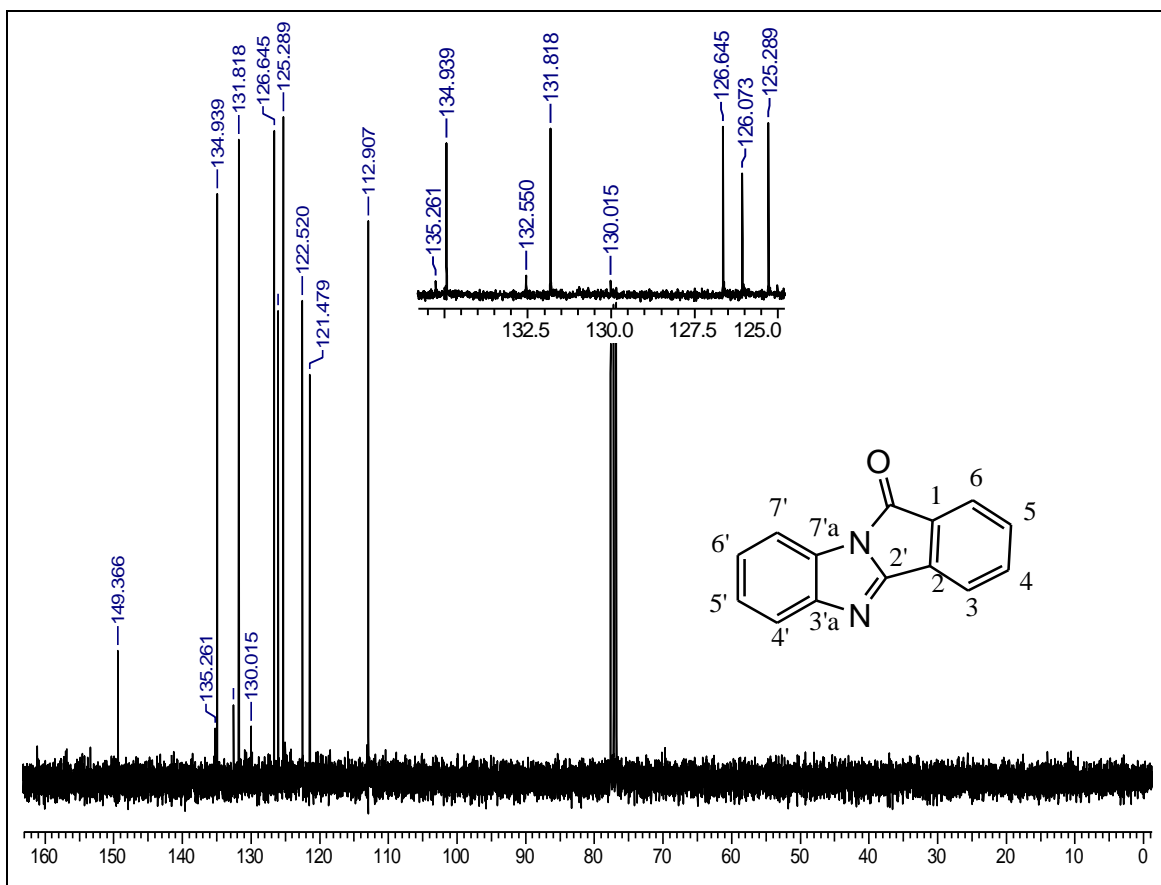


Figura A - 5: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, CDCl_3) do composto 26.

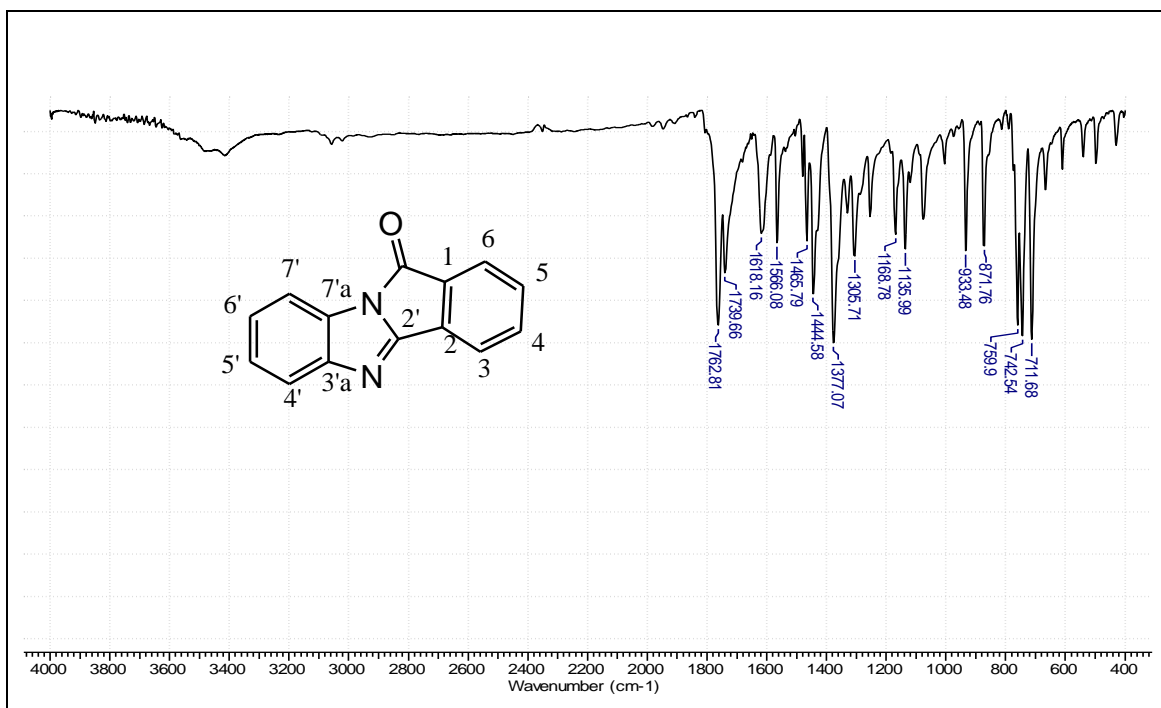


Figura A - 6: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 26.

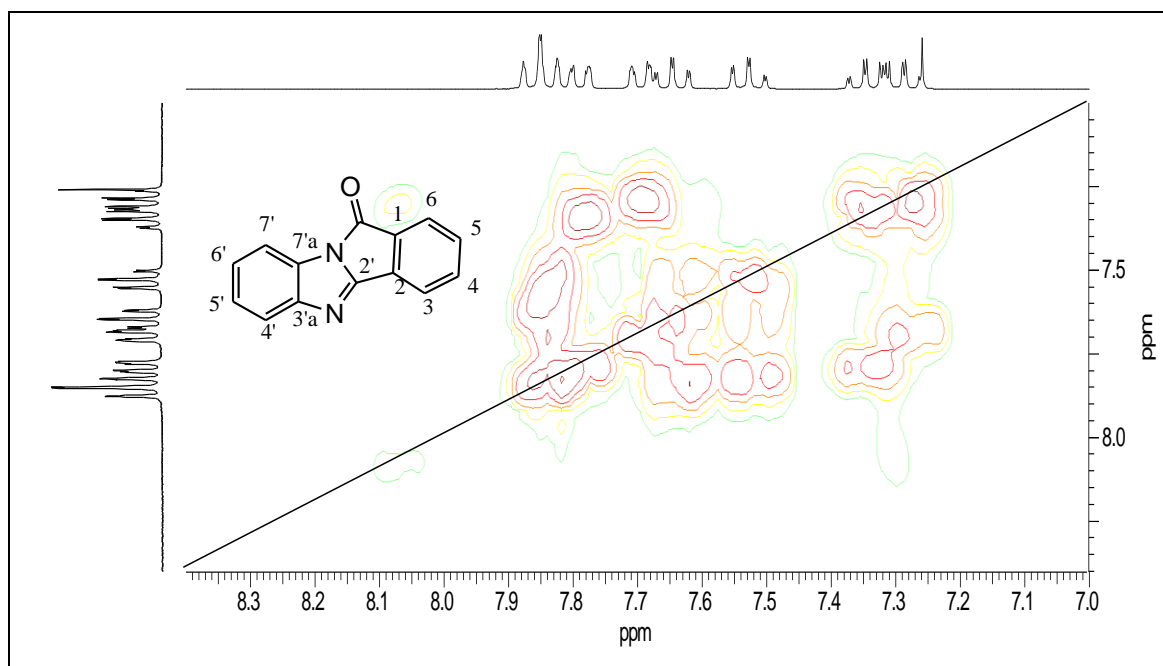


Figura A - 7: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, CDCl_3) do composto **26**.

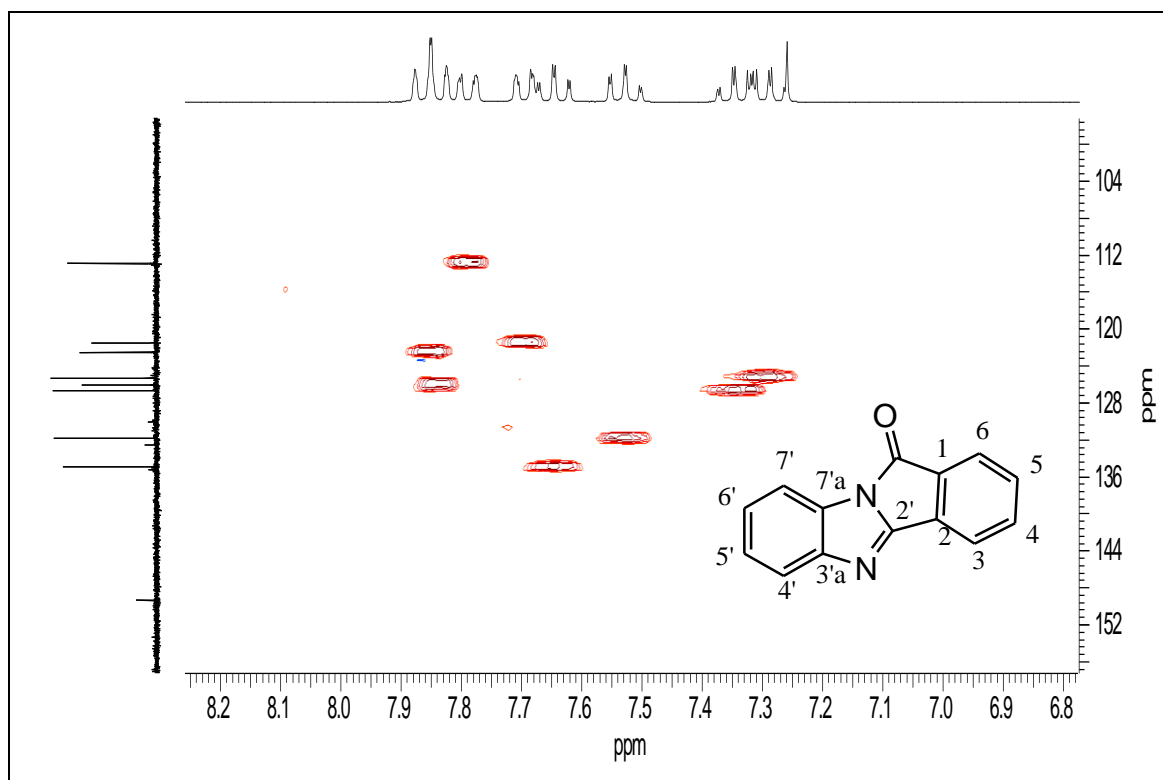


Figura A - 8: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl_3) do composto **26**.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N*-butilbenzamida (28a)

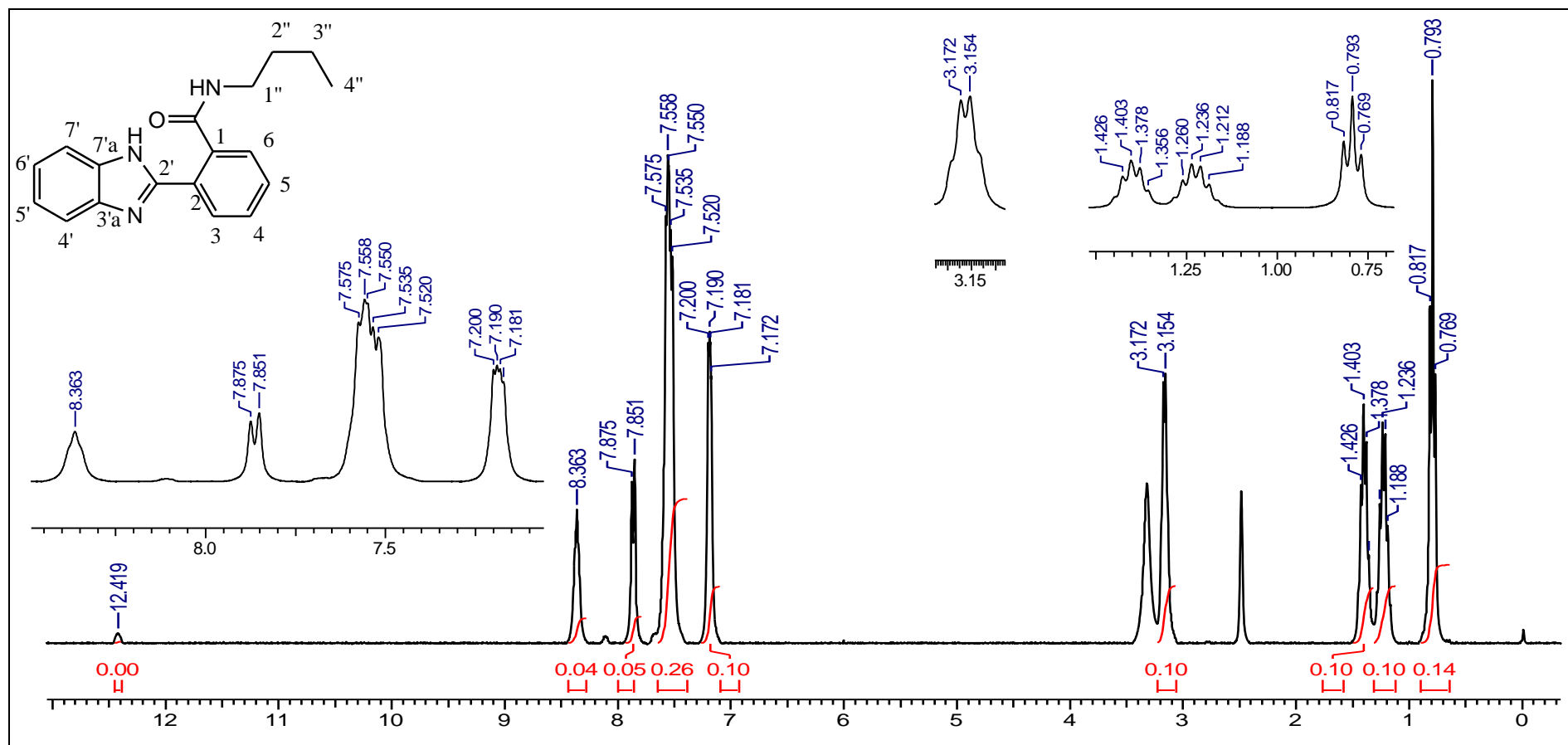


Figura A - 9: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28a.

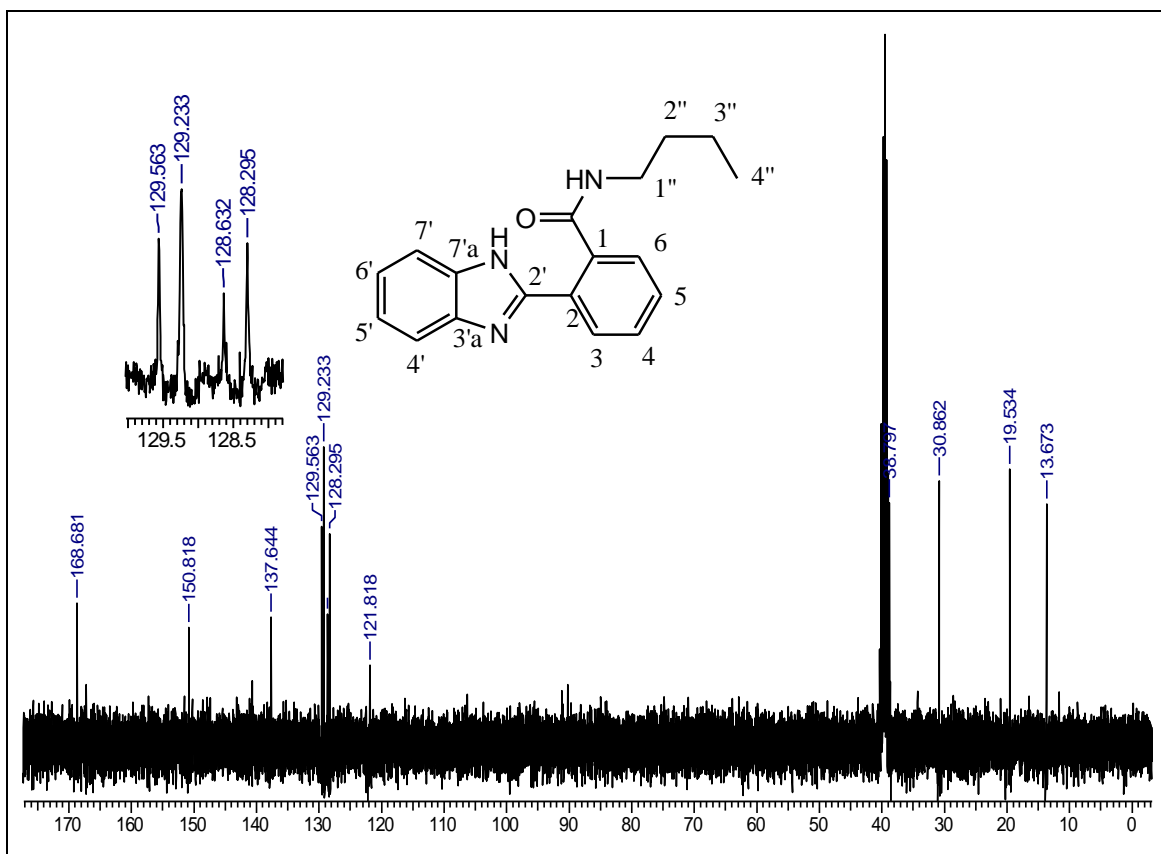


Figura A - 10: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **28a**.

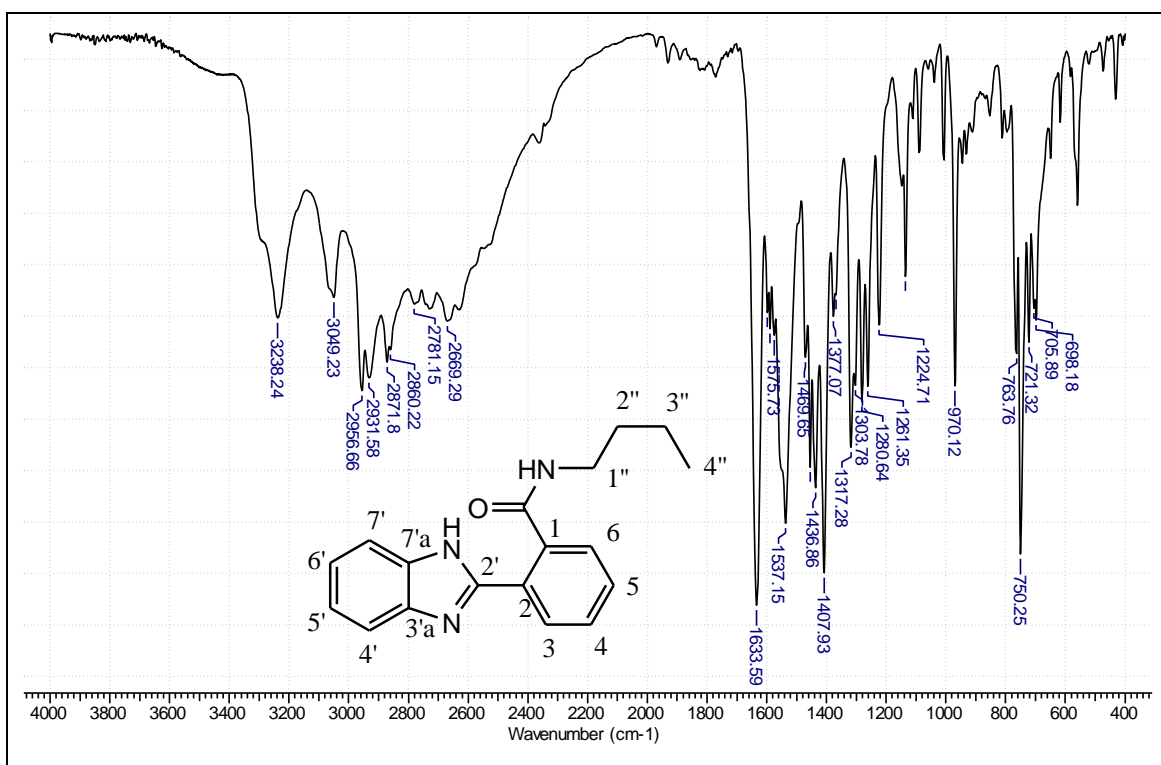


Figura A - 11: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28a**.

2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N-isopropilbenzamida (28b)

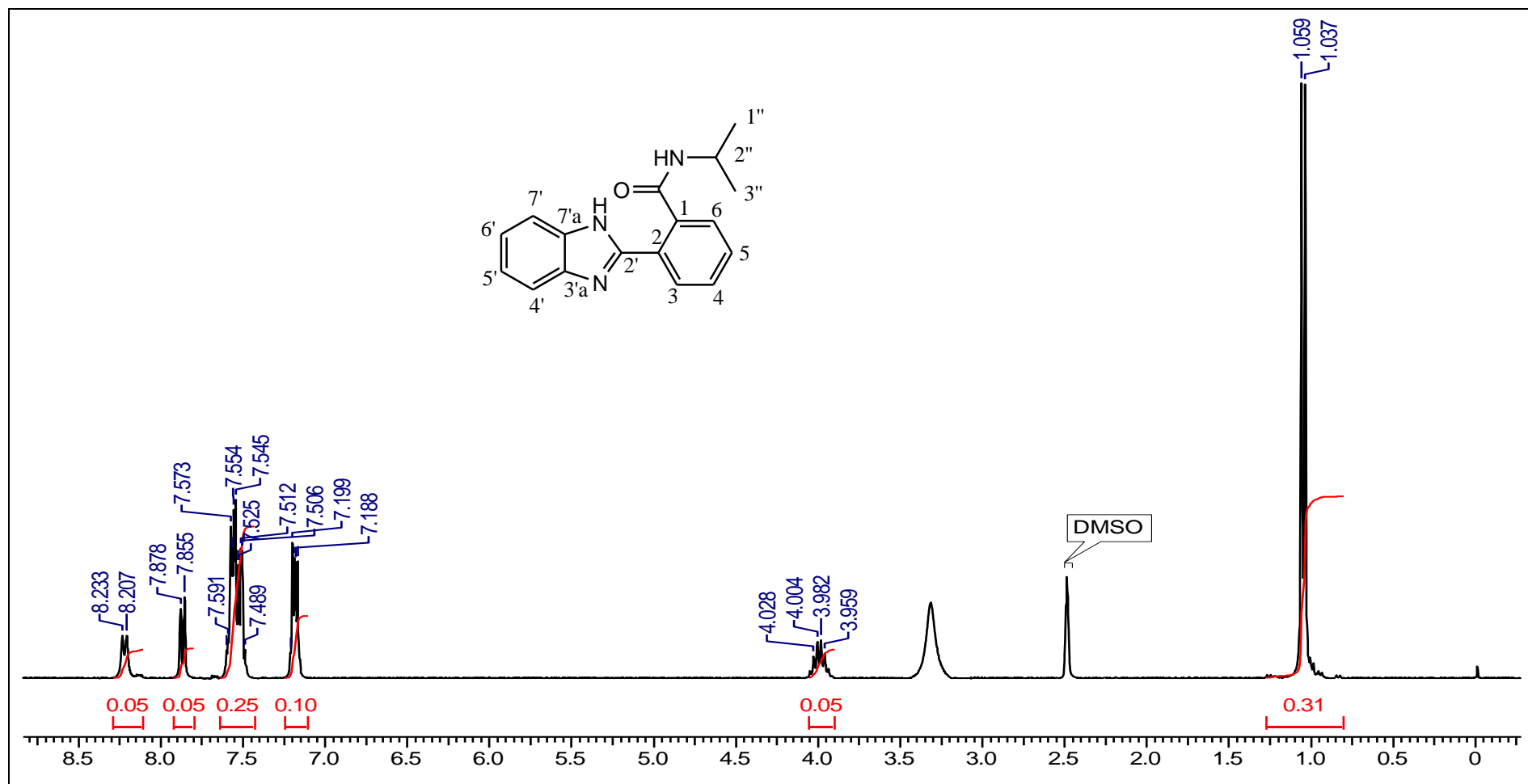


Figura A - 12: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28b**.

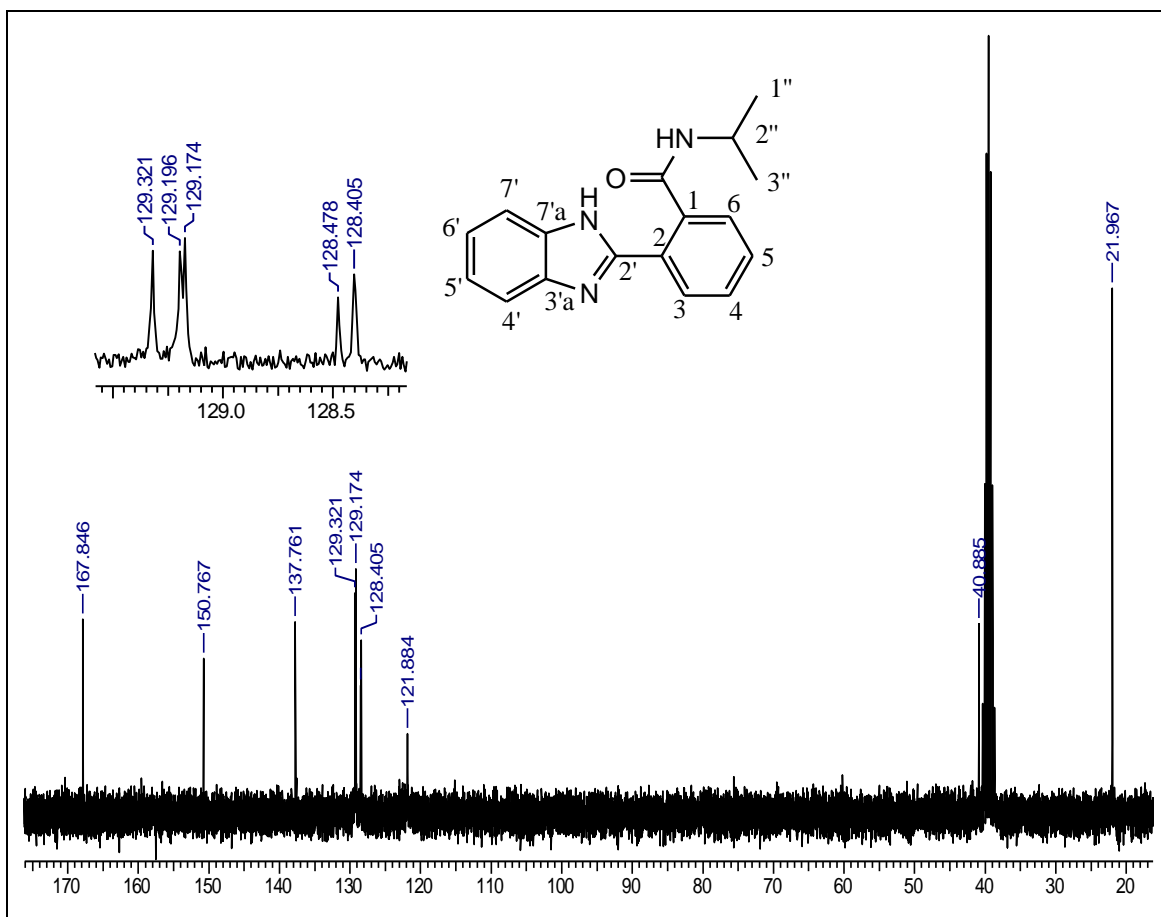


Figura A - 13: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **28b**.

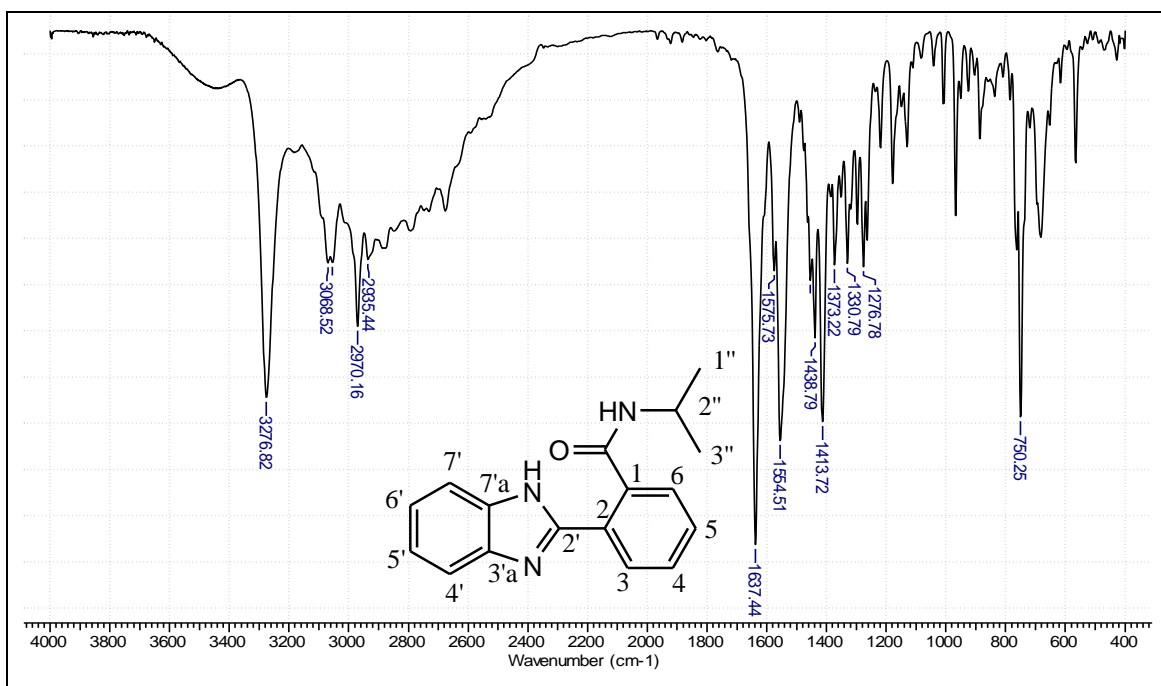


Figura A - 14: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28b**.

2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N-benzilbenzamida (28c)

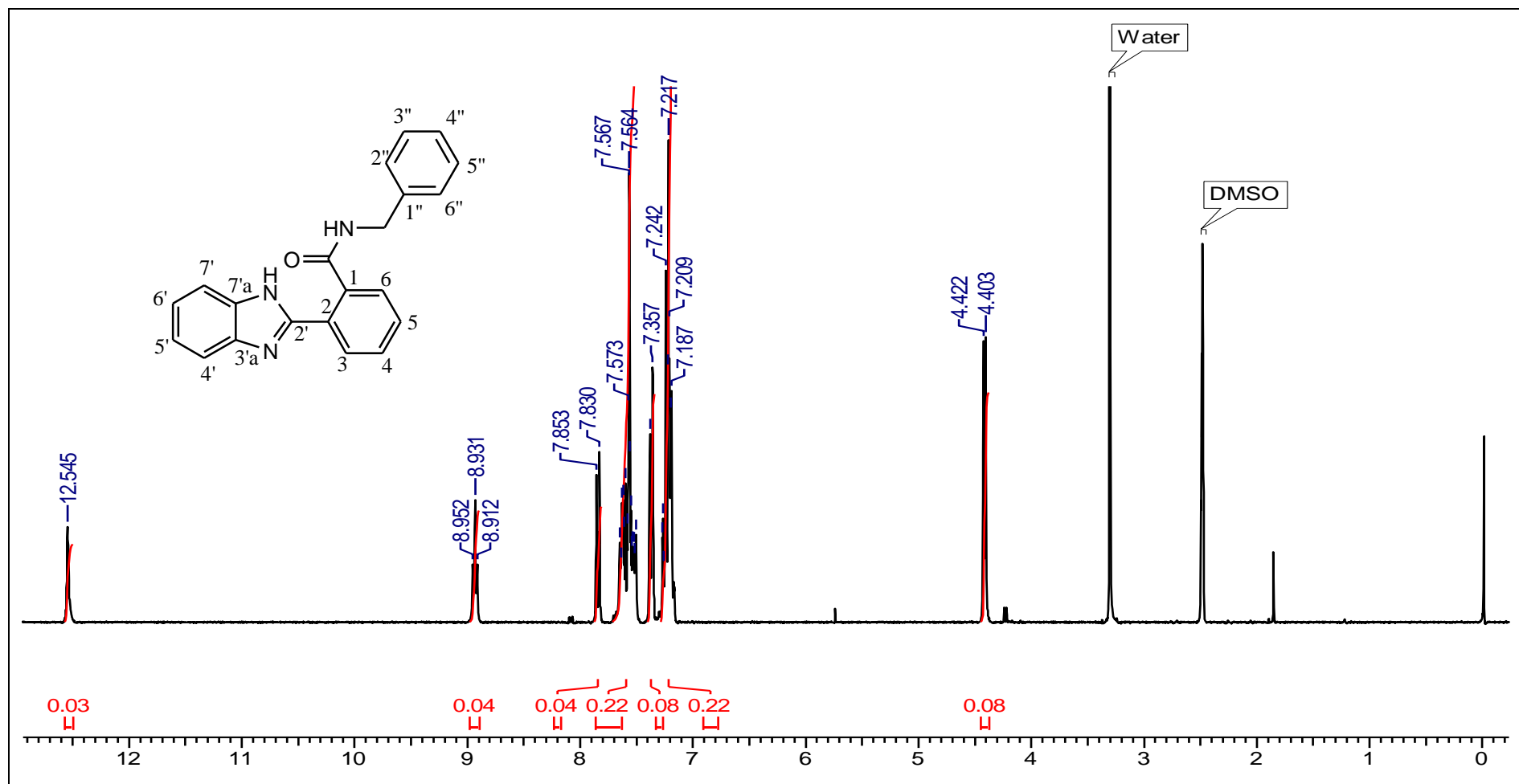


Figura A - 15: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28c**.

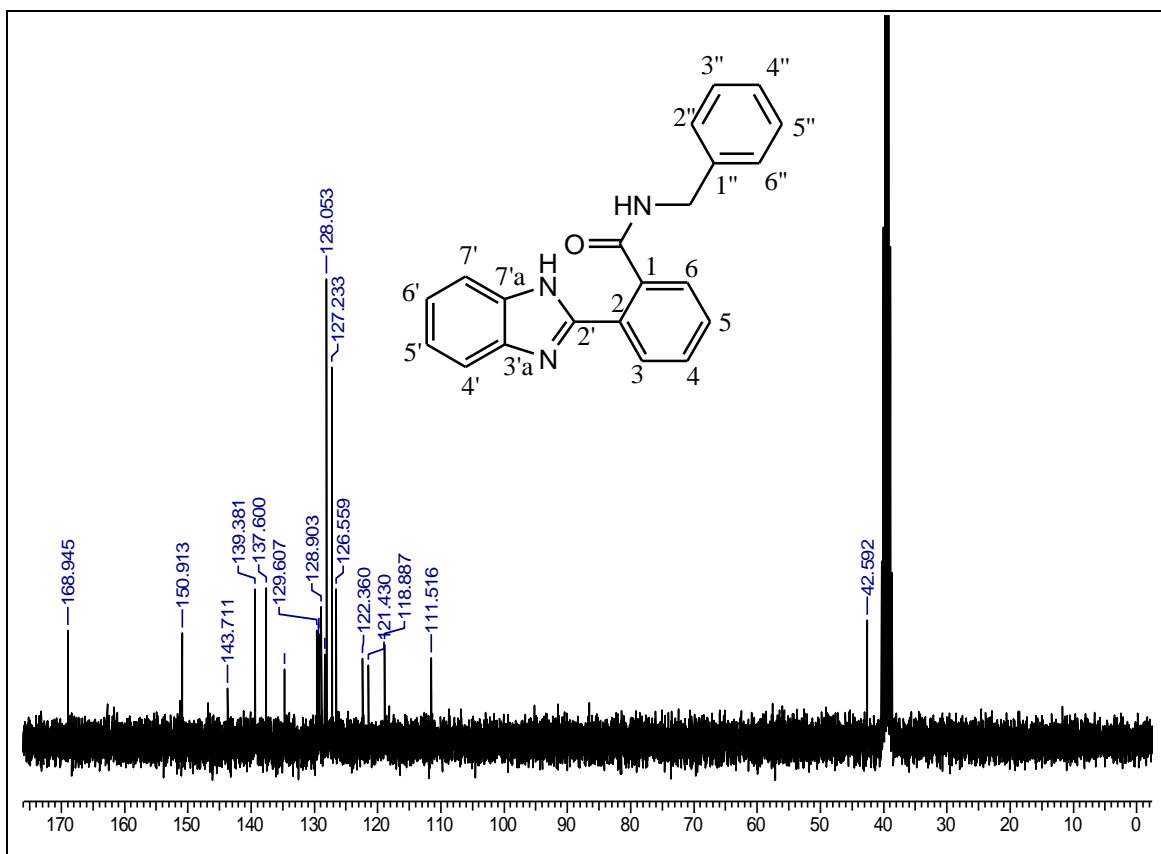


Figura A - 16: Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto **28c**.

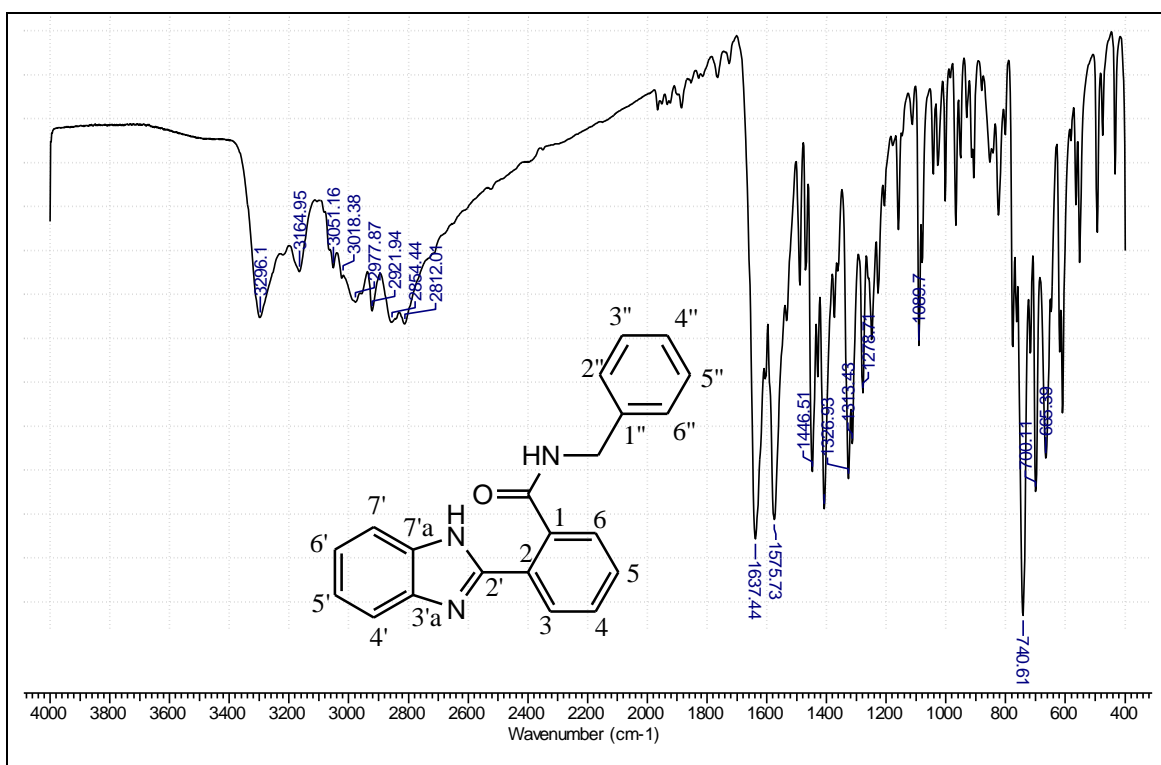


Figura A - 17: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28c**.

[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](pirrolidina-1''-il)metanona (28d)

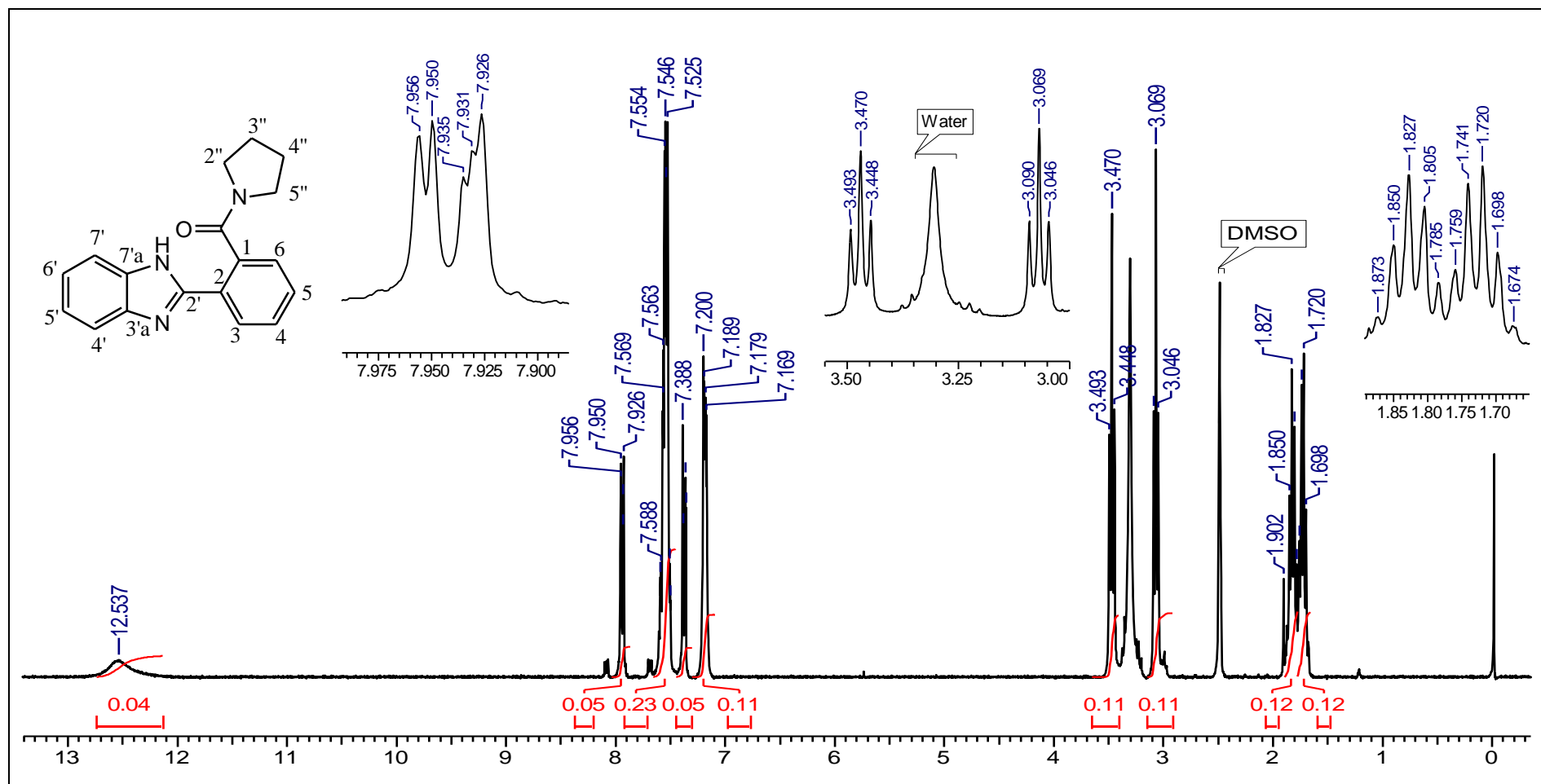


Figura A - 18: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28d**.

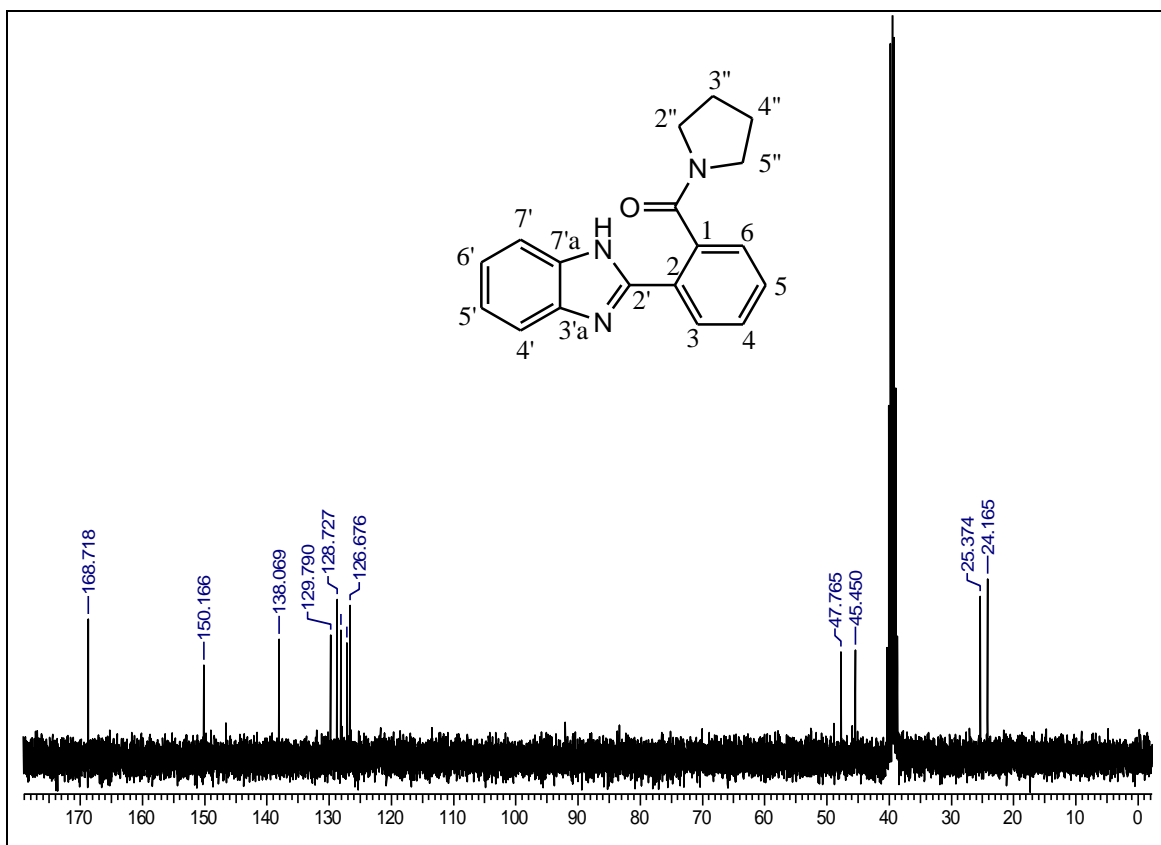


Figura A - 19: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **28d**.

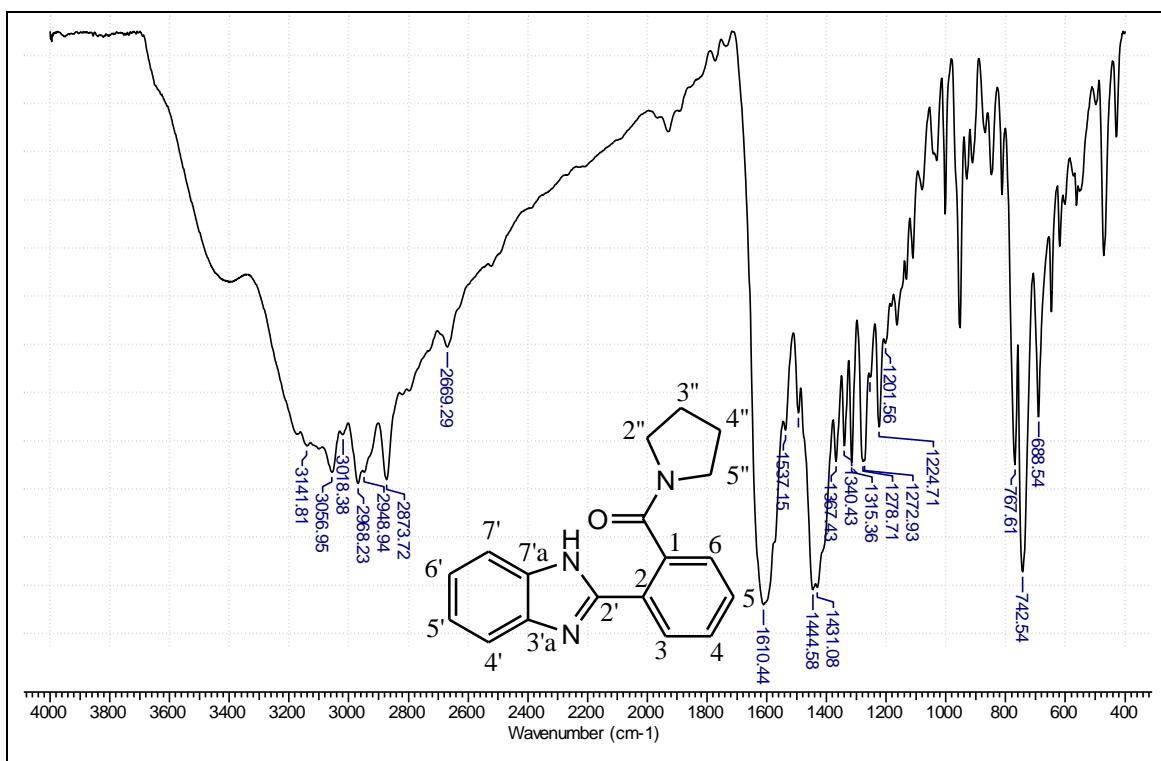


Figura A - 20: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28d**.

[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](4''-metilpiperazina-1''-il)metanona (28e)

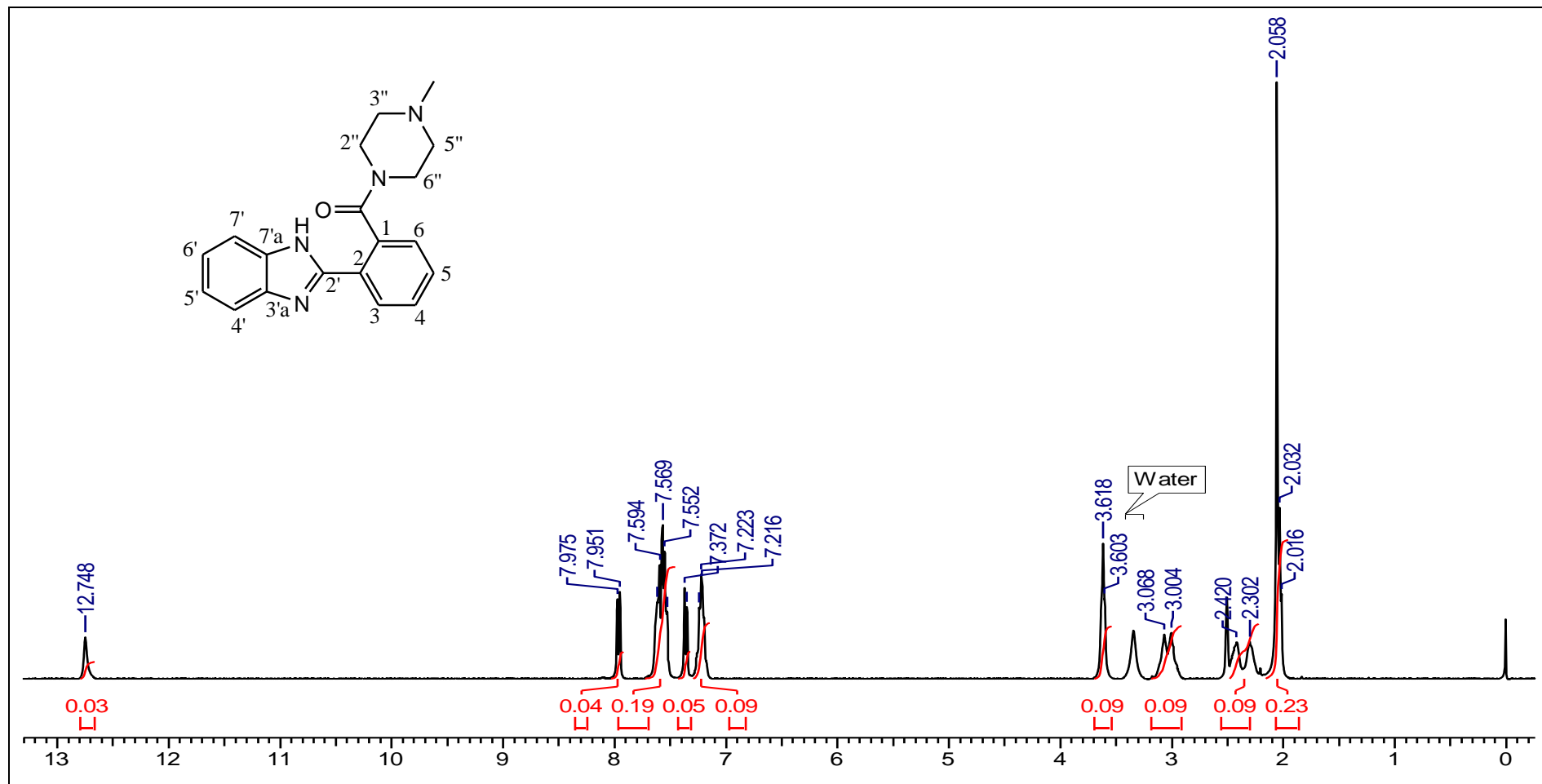


Figura A - 21: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28e**.

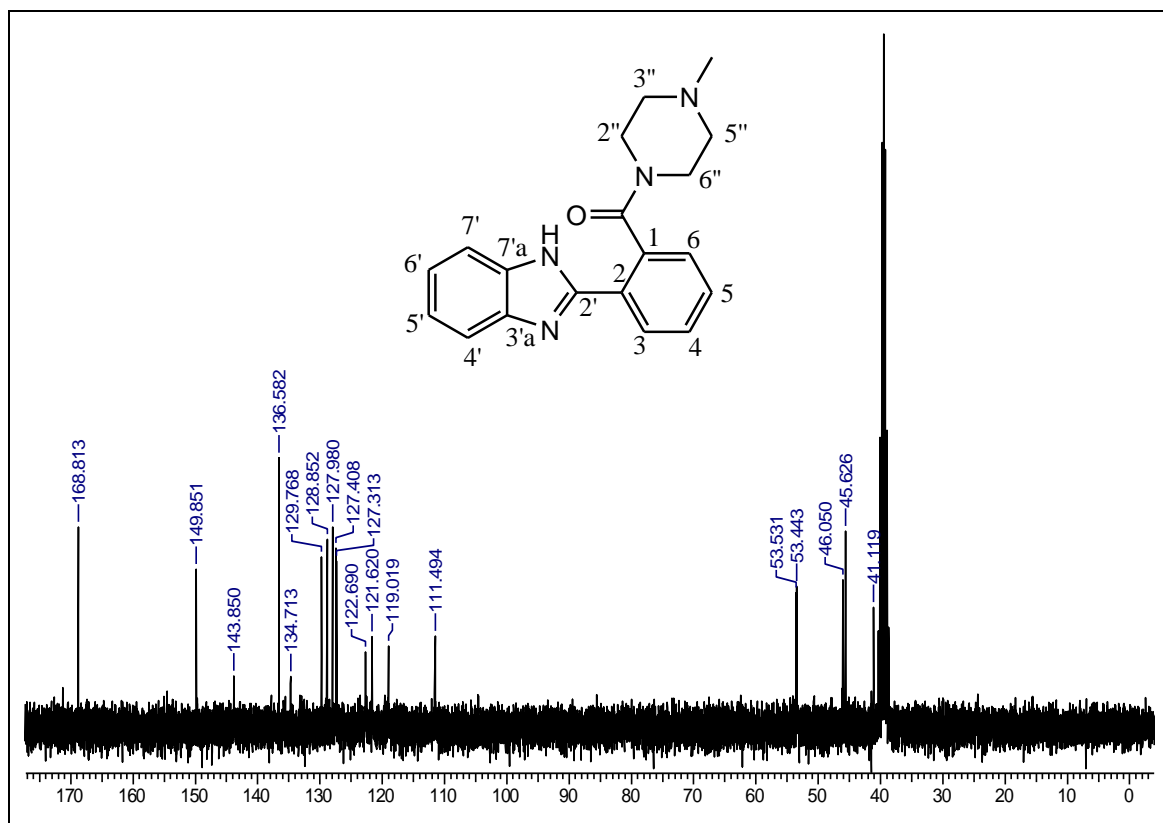


Figura A - 22: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto **28e**.

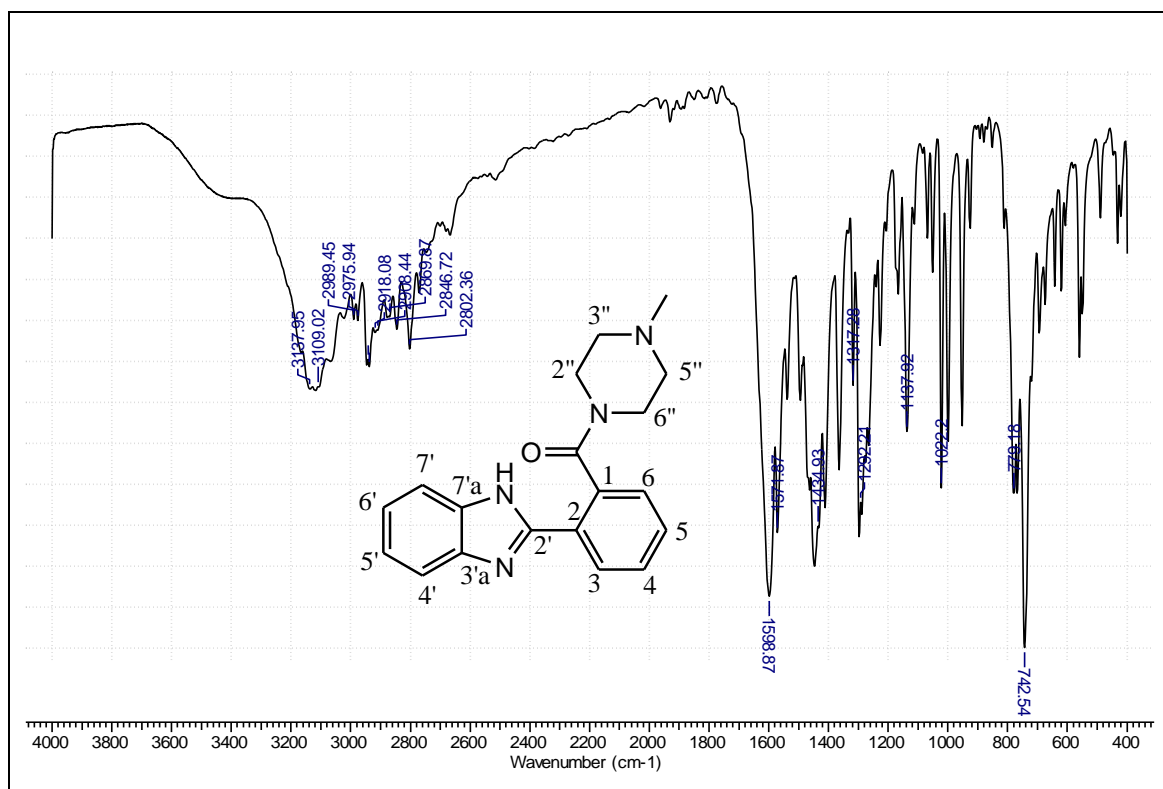


Figura A - 23: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28e**.

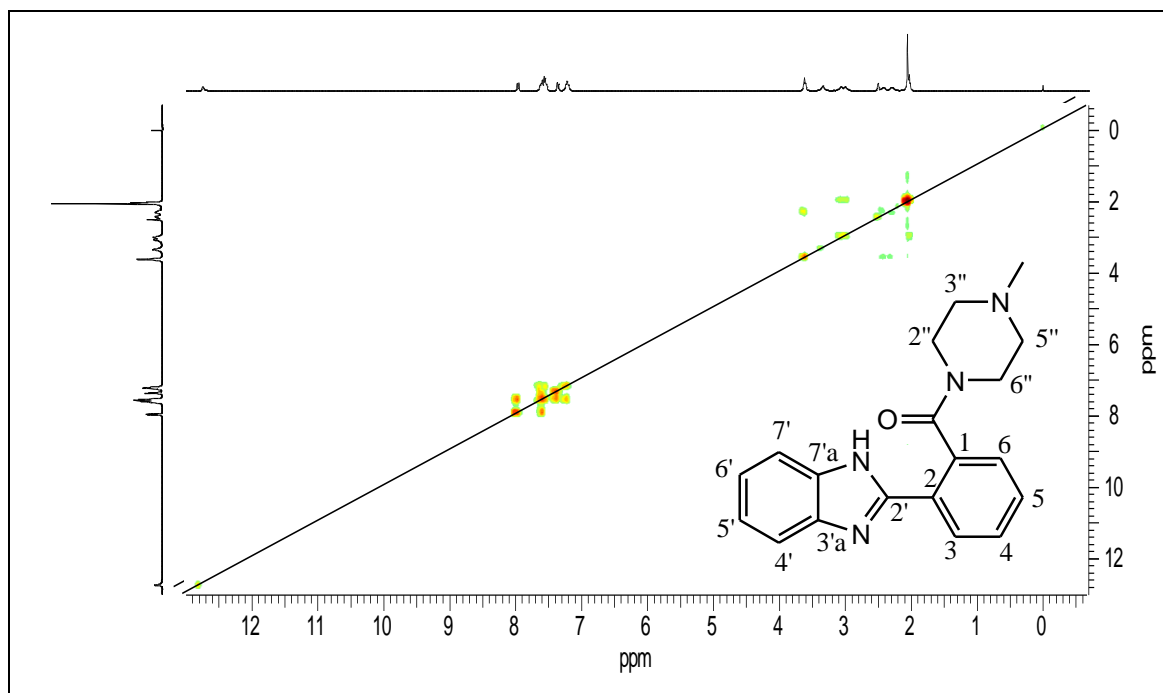


Figura A - 24: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28e**.

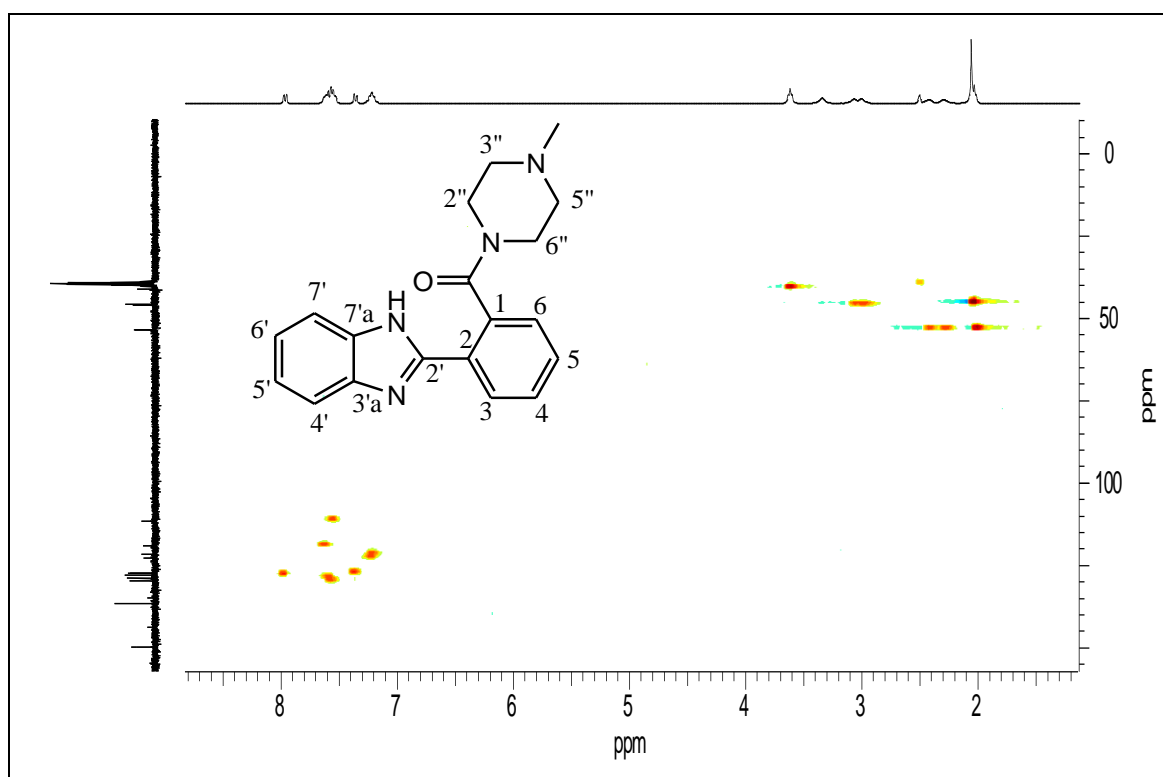


Figura A - 25: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto **28e**.

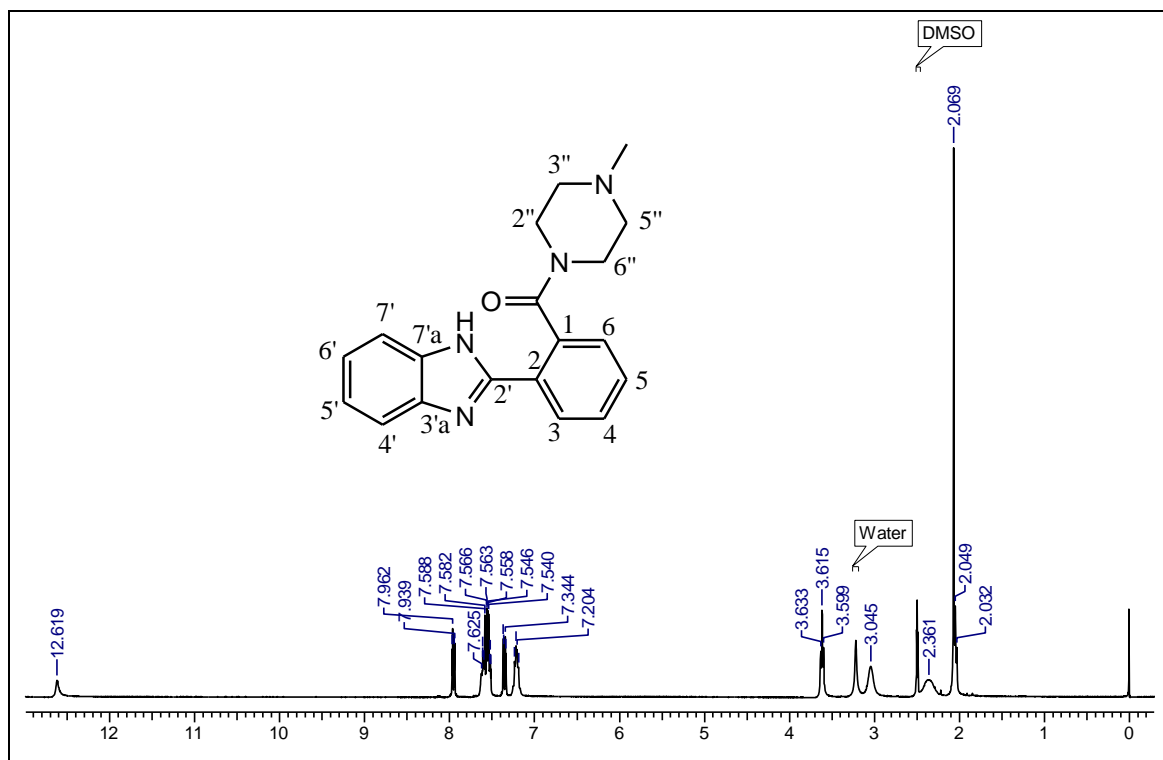


Figura A - 26: Espectro de RMND ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) à 45°C do composto 28e.

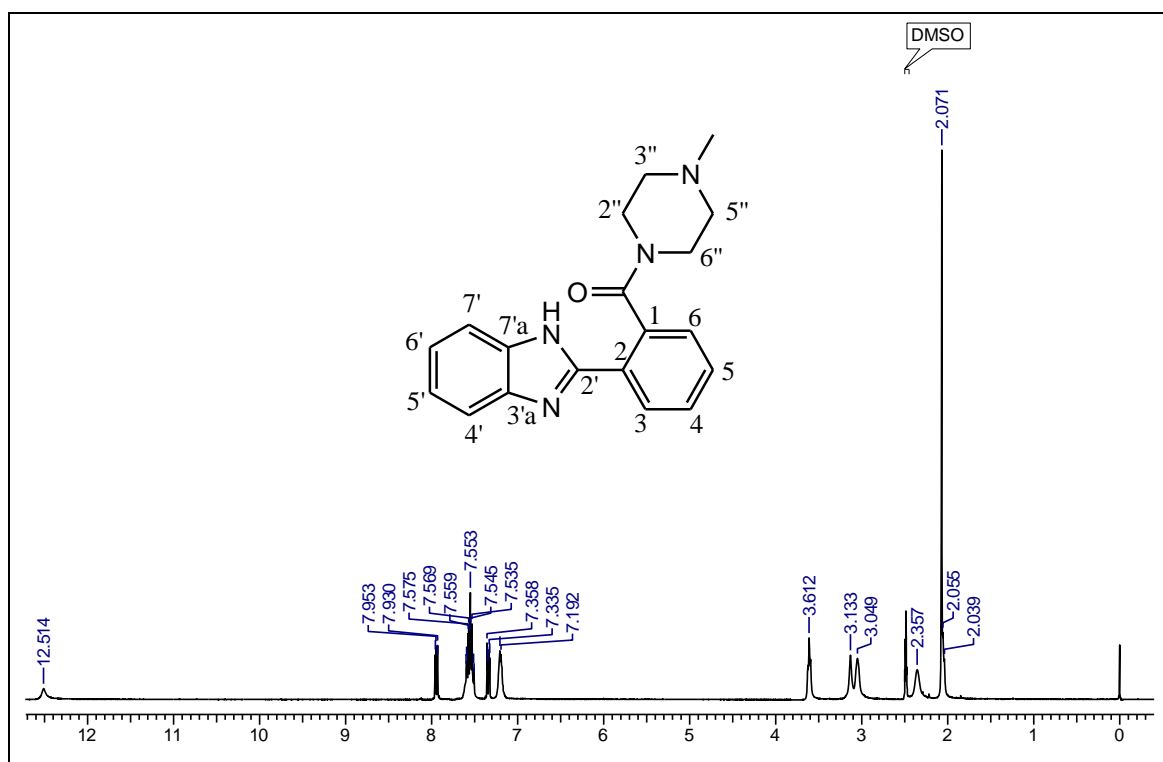


Figura A - 27: Espectro de RMND ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) à 60°C do composto 28e.

[2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)fenil](*N*-morfolil)metanona (28f)

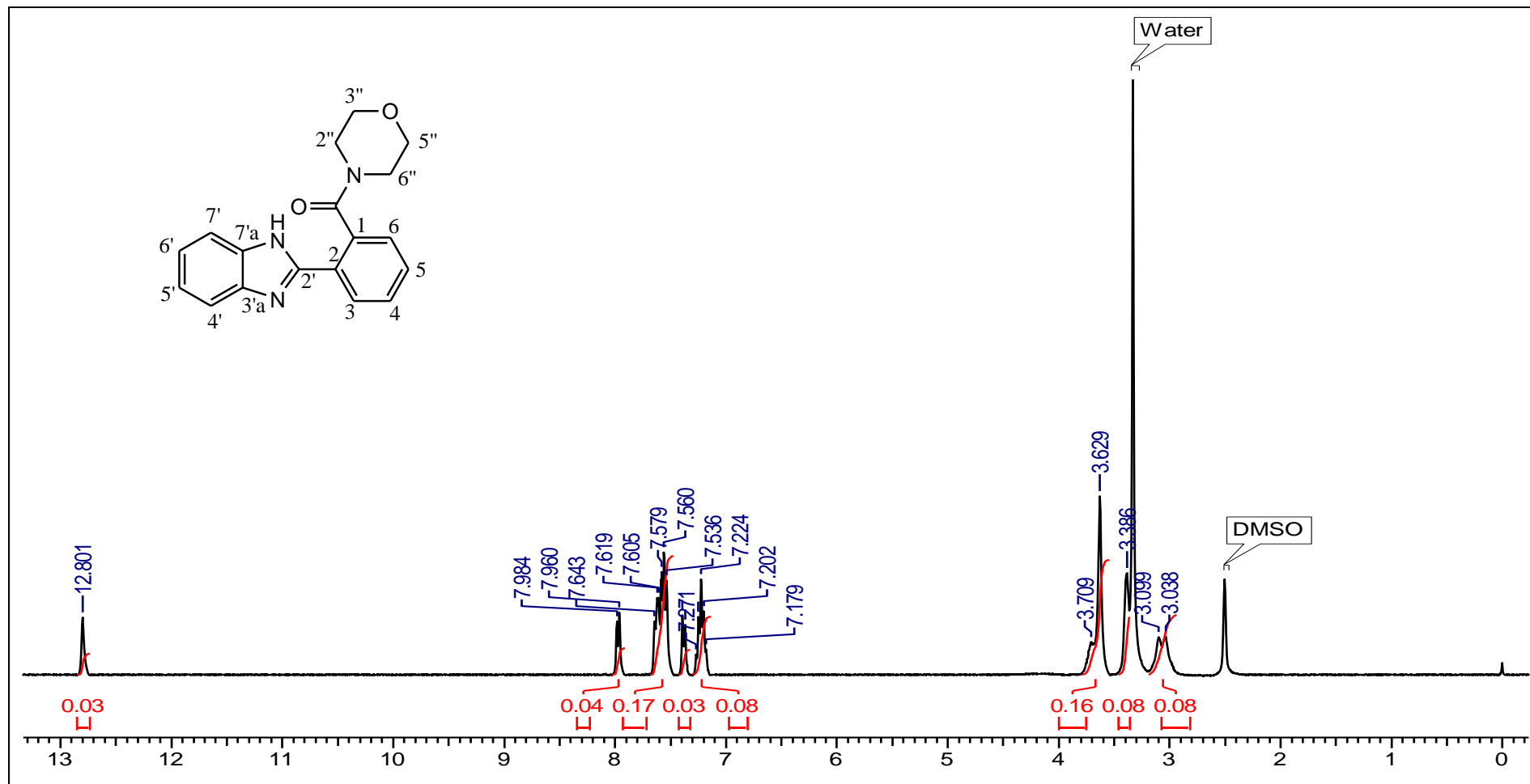


Figura A - 28: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 28f.

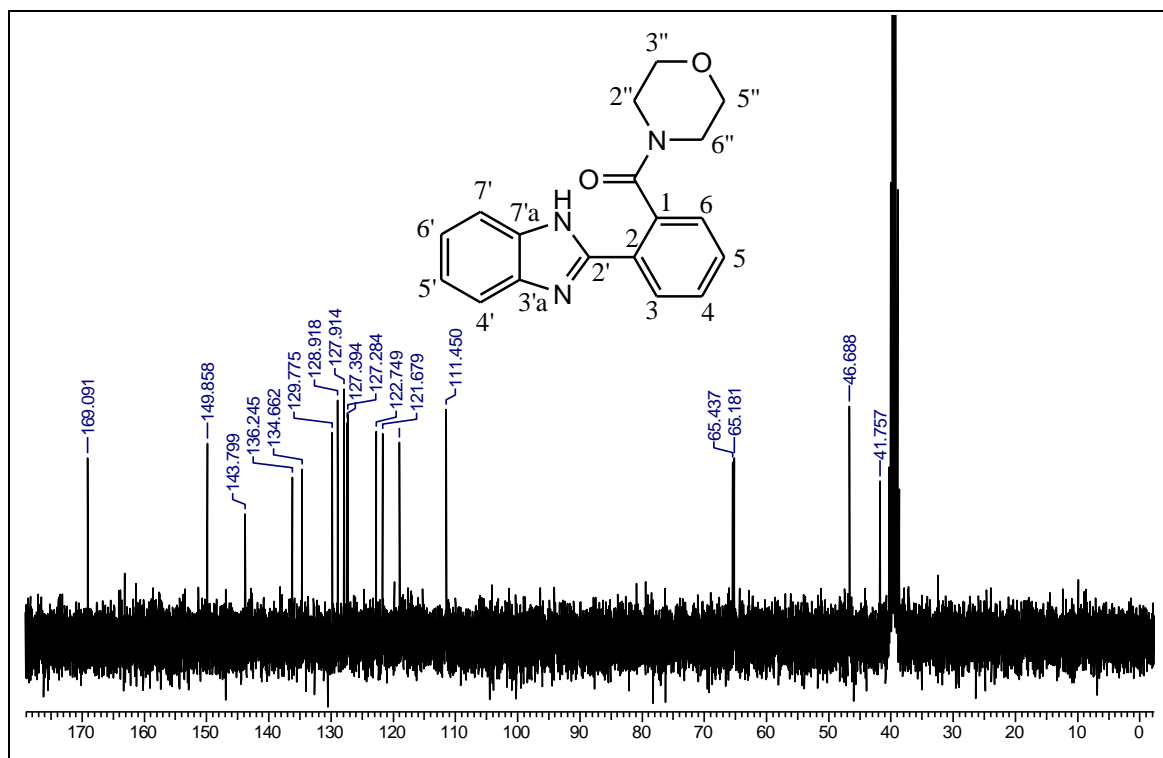


Figura A - 29: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **28f**.

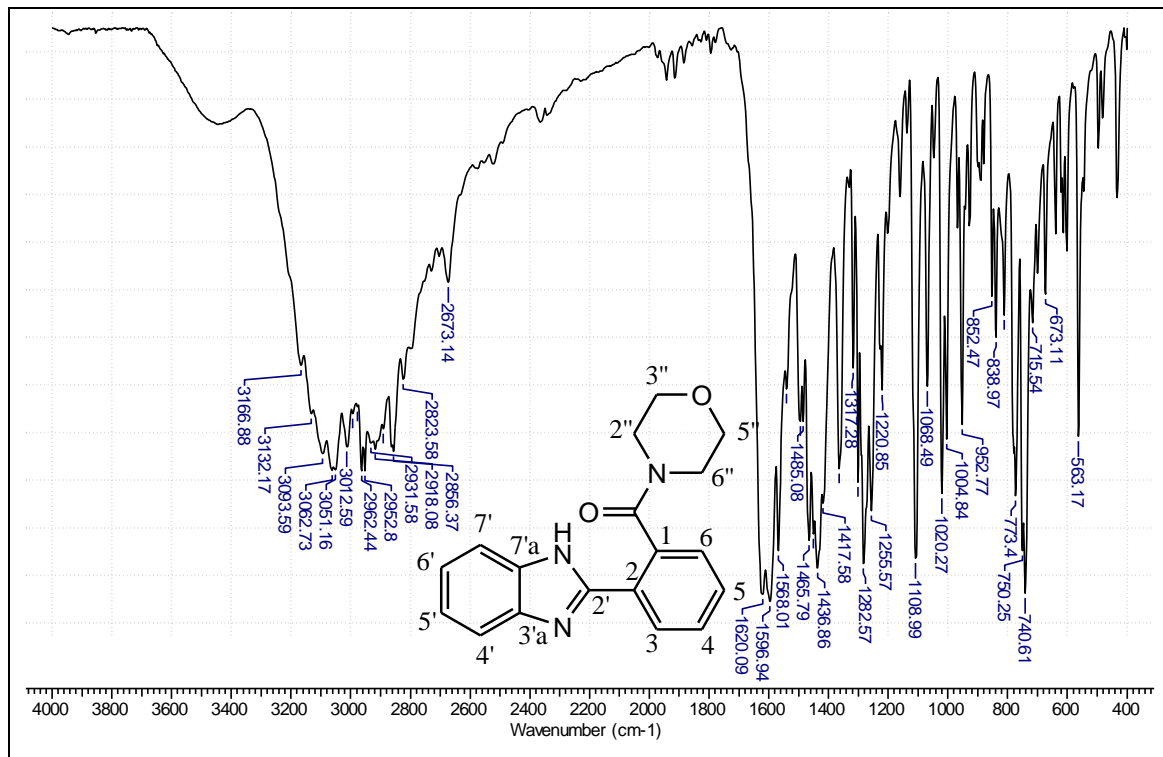


Figura A - 30: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28f**.

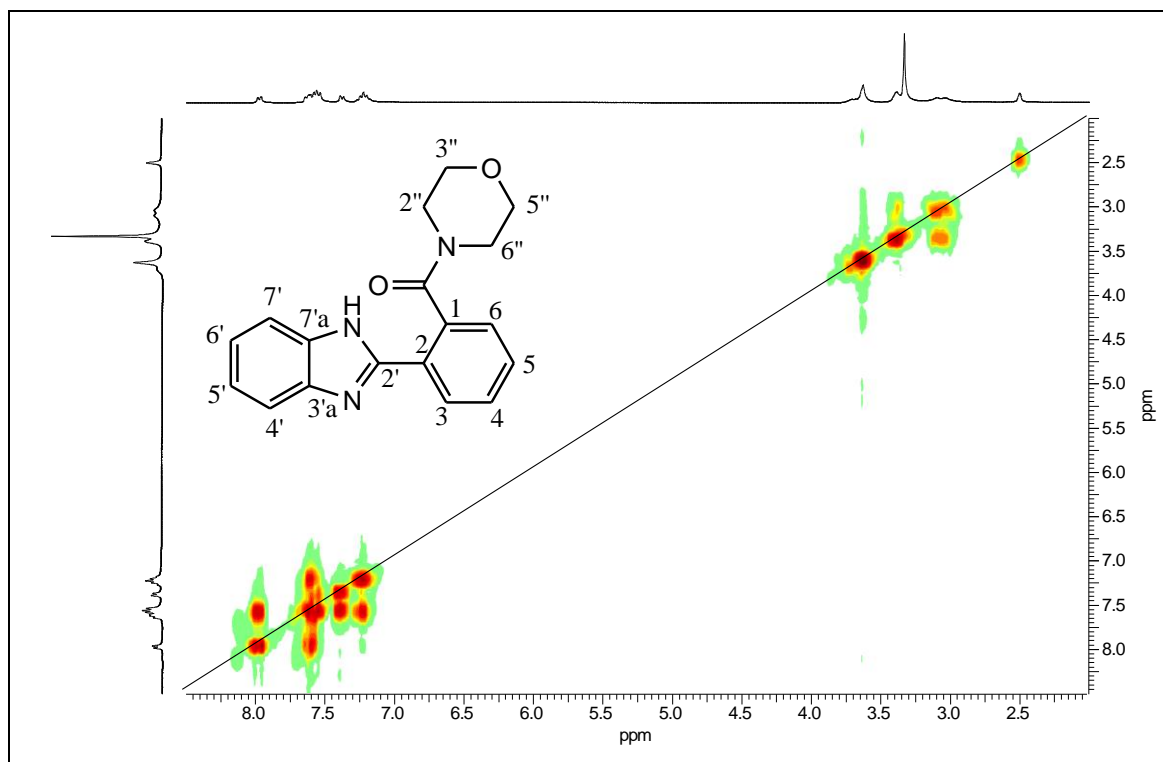


Figura A - 31: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **28f**.

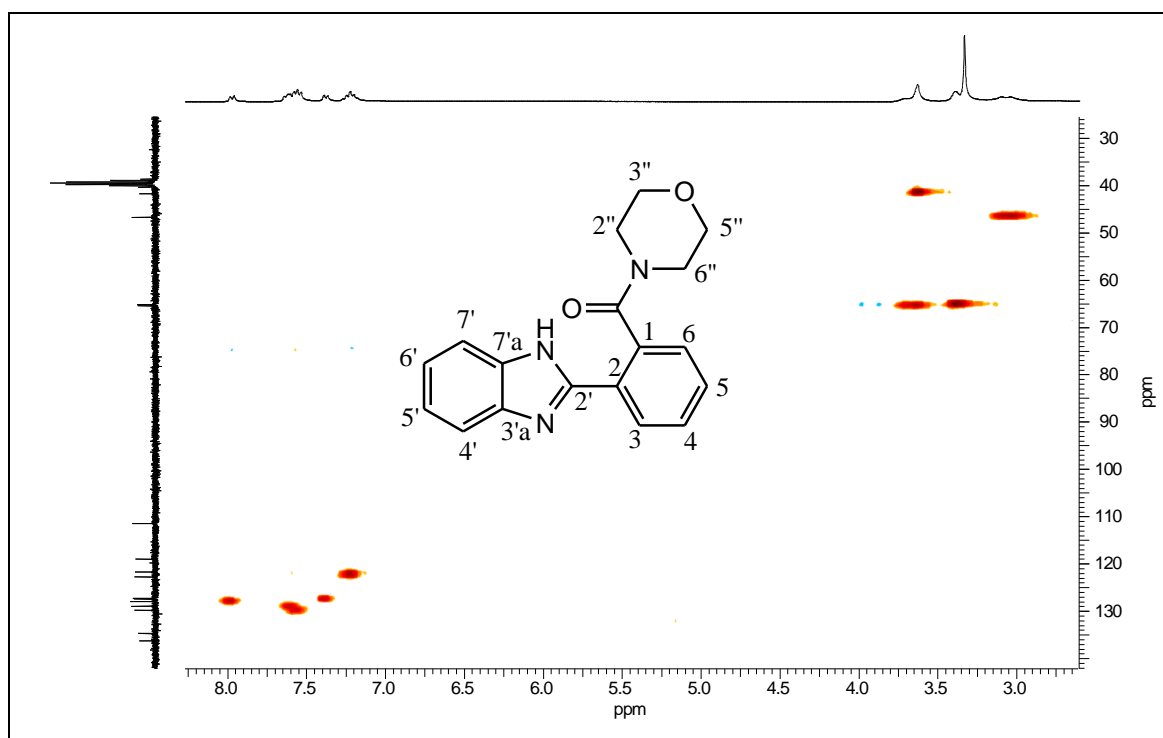


Figura A - 32: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto **28f**.

***N*-[2-(1''*H*-indol-3''-il)etil]-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzamida (28g)**

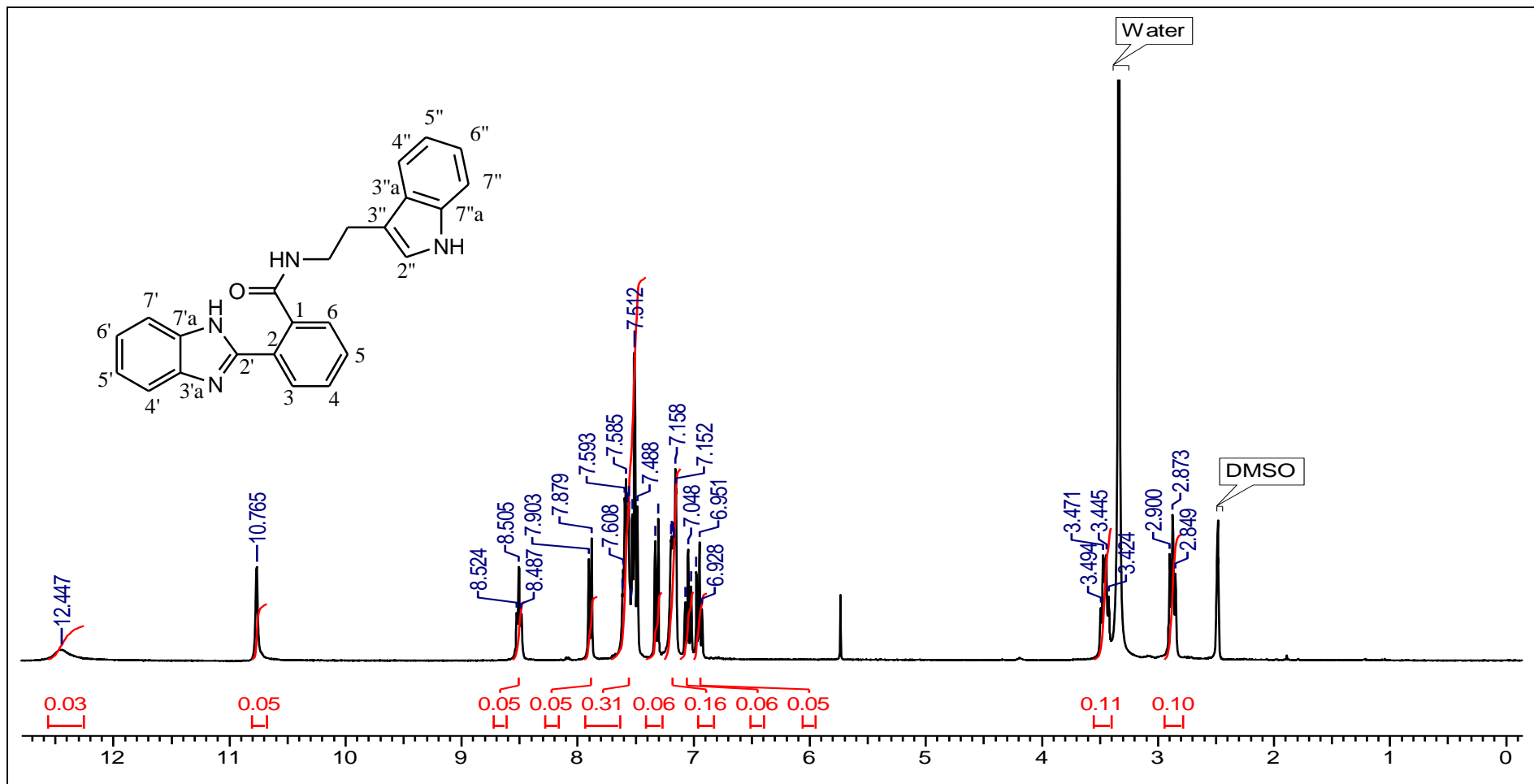


Figura A - 33: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **28g**.

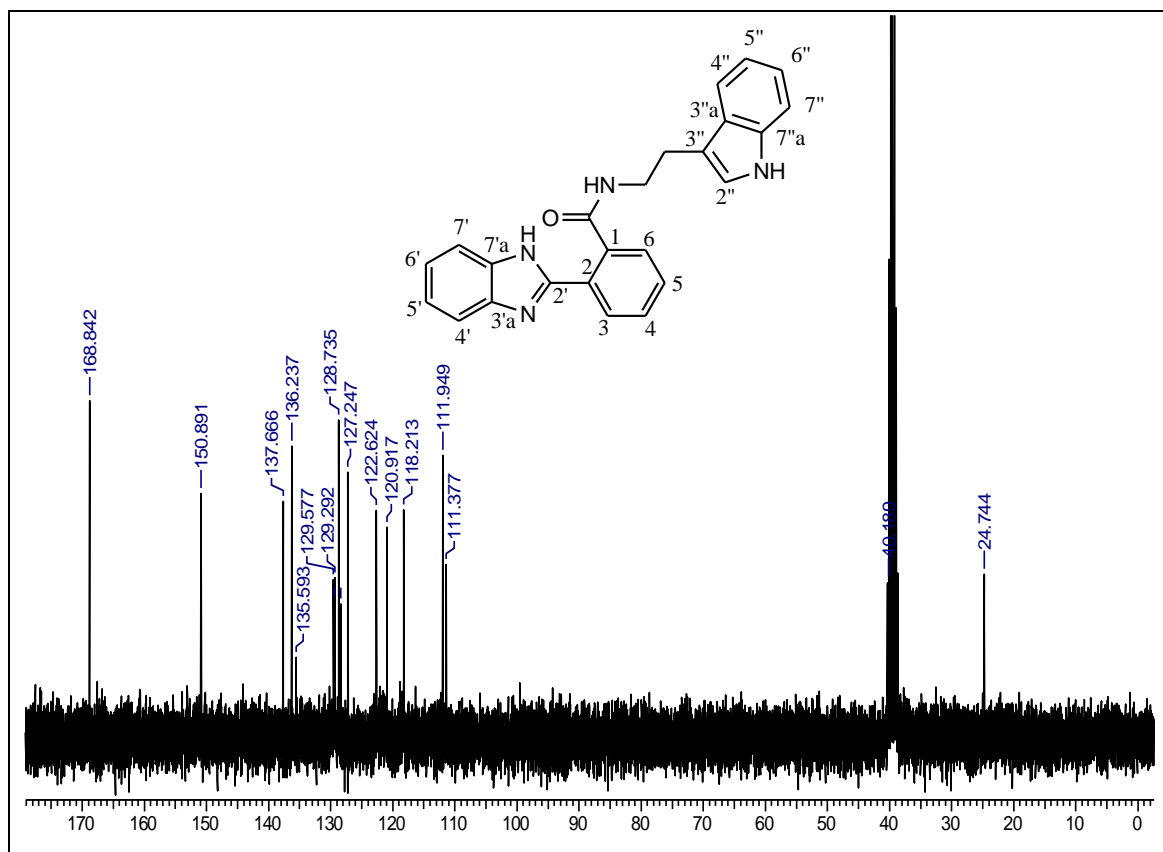


Figura A - 34: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **28g**.

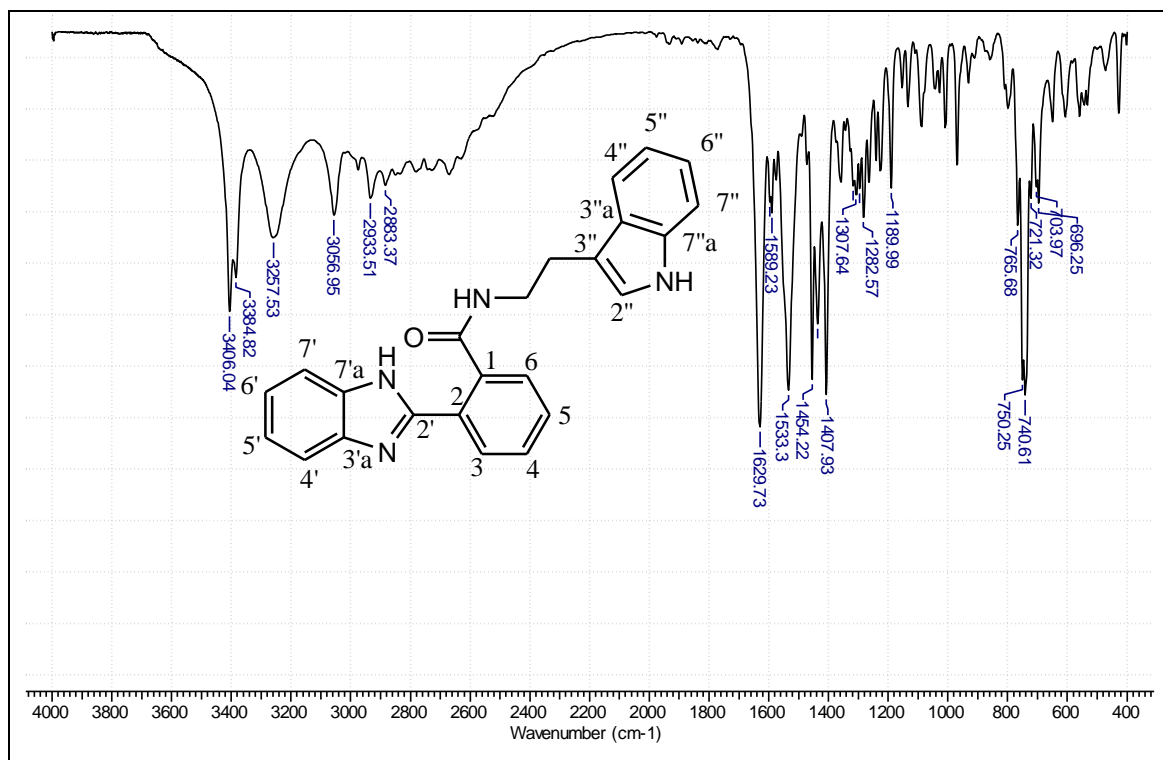


Figura A - 35: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **28g**.

2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (30a)

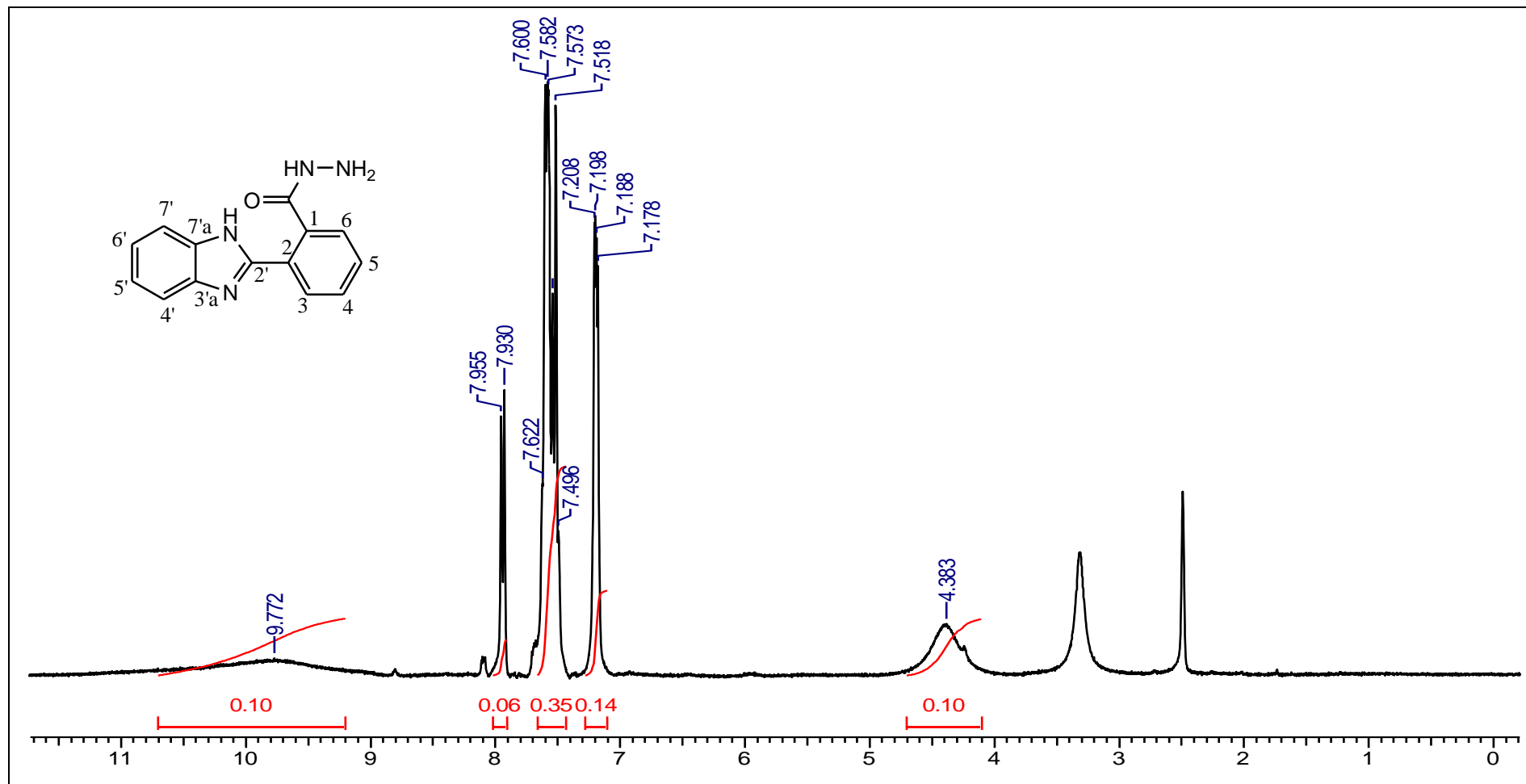


Figura A - 36: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **30a**.

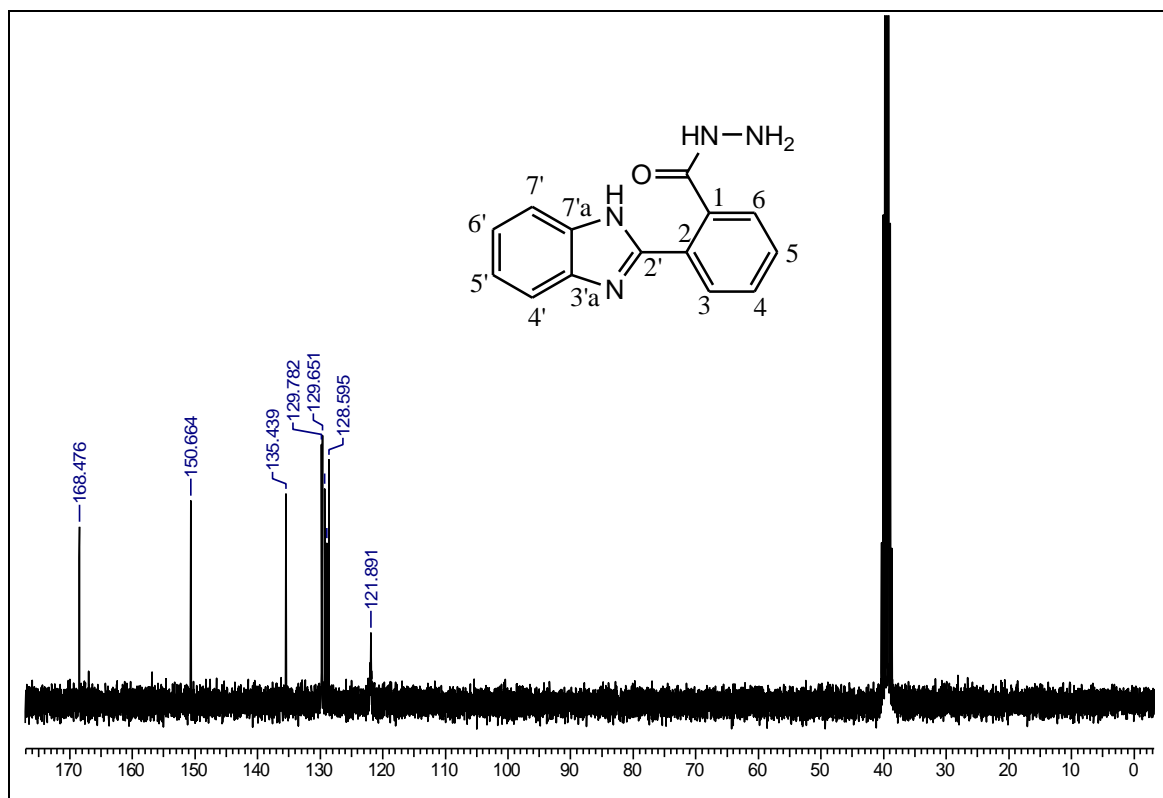


Figura A - 37: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 30a.

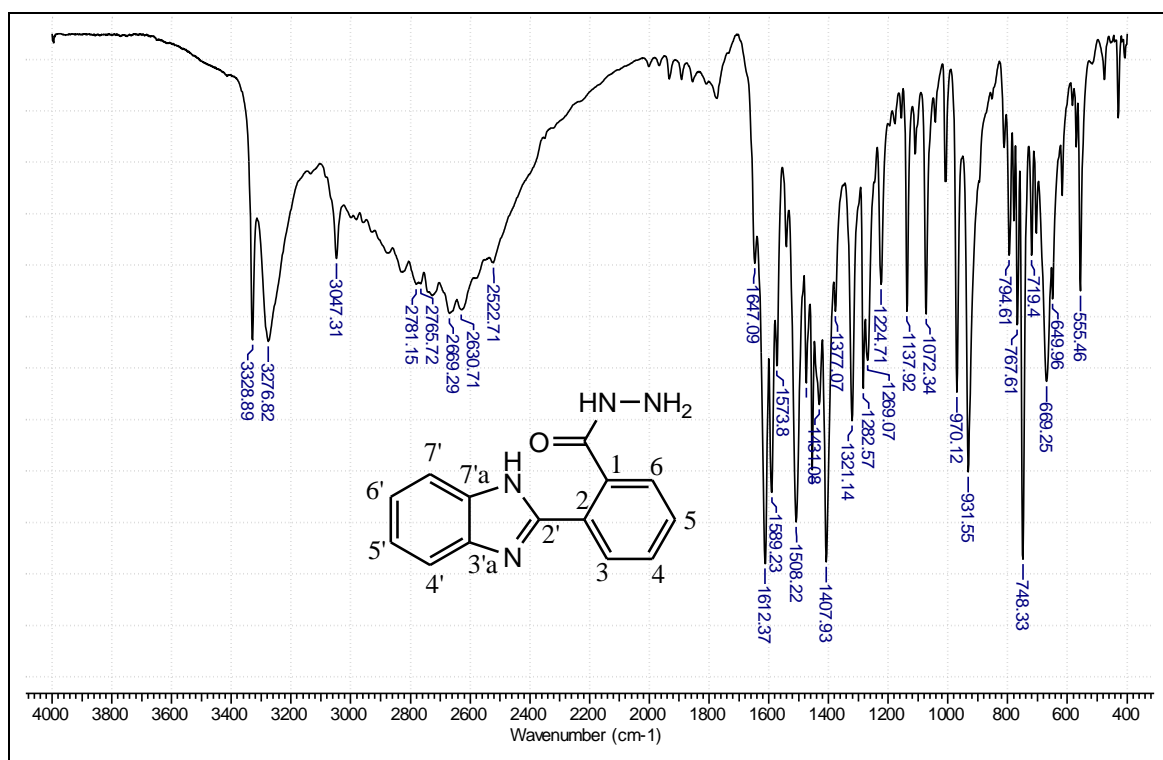


Figura A - 38: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 30a.

2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)-*N'*-benziledenobenzoidrazida (32a)

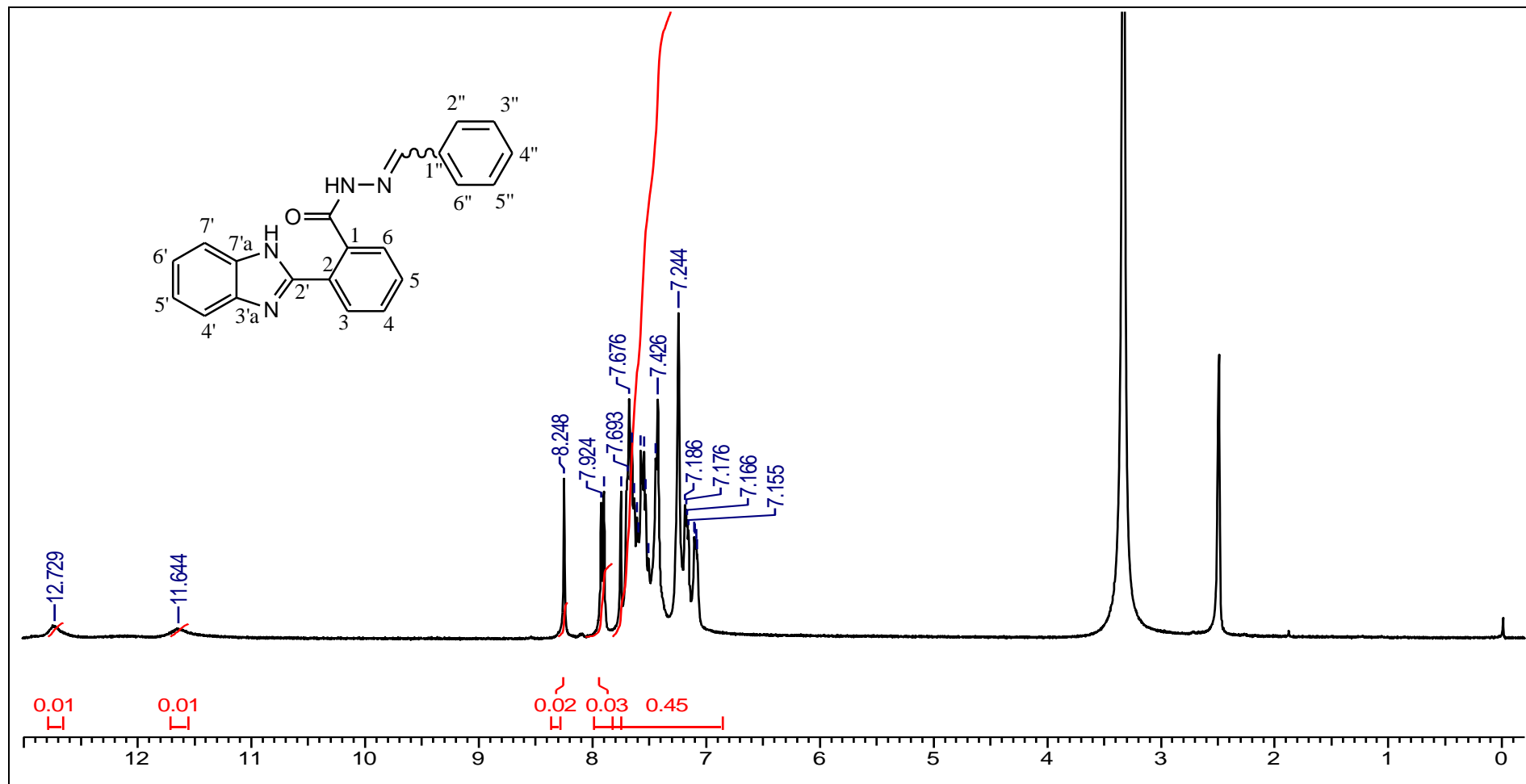


Figura A - 39: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **32a**.

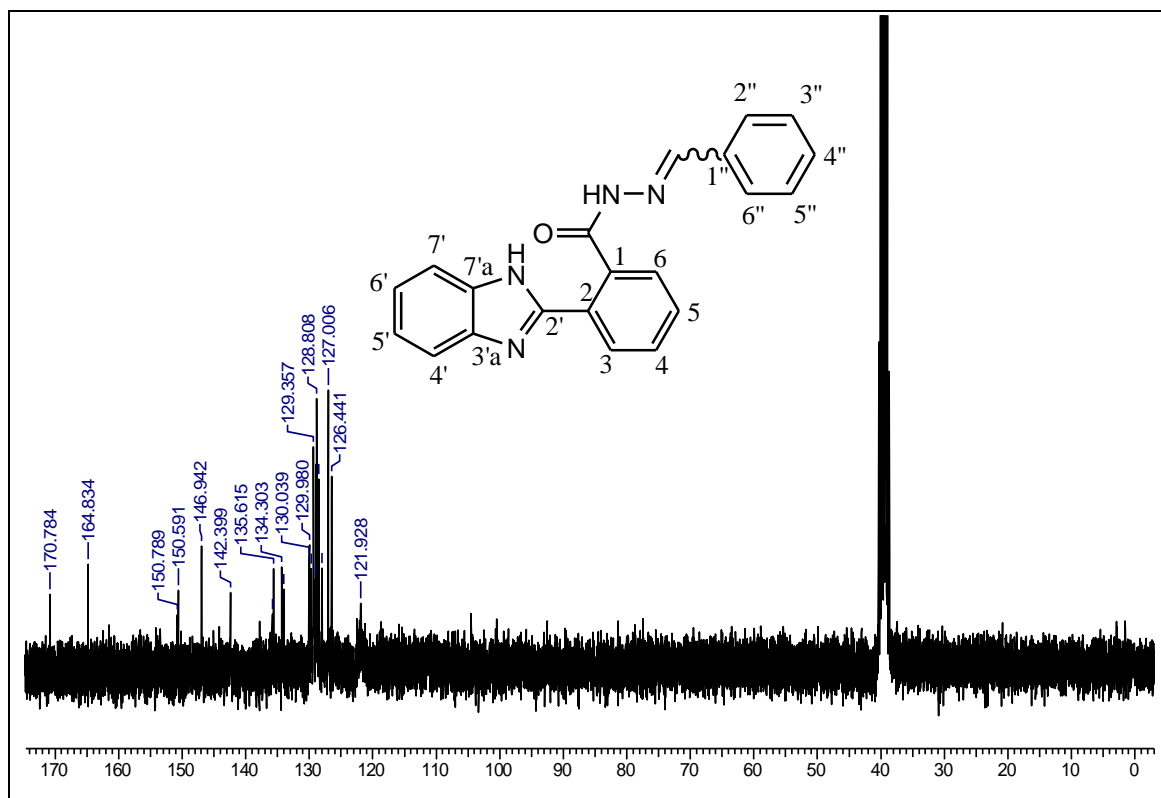


Figura A - 40: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 32a.

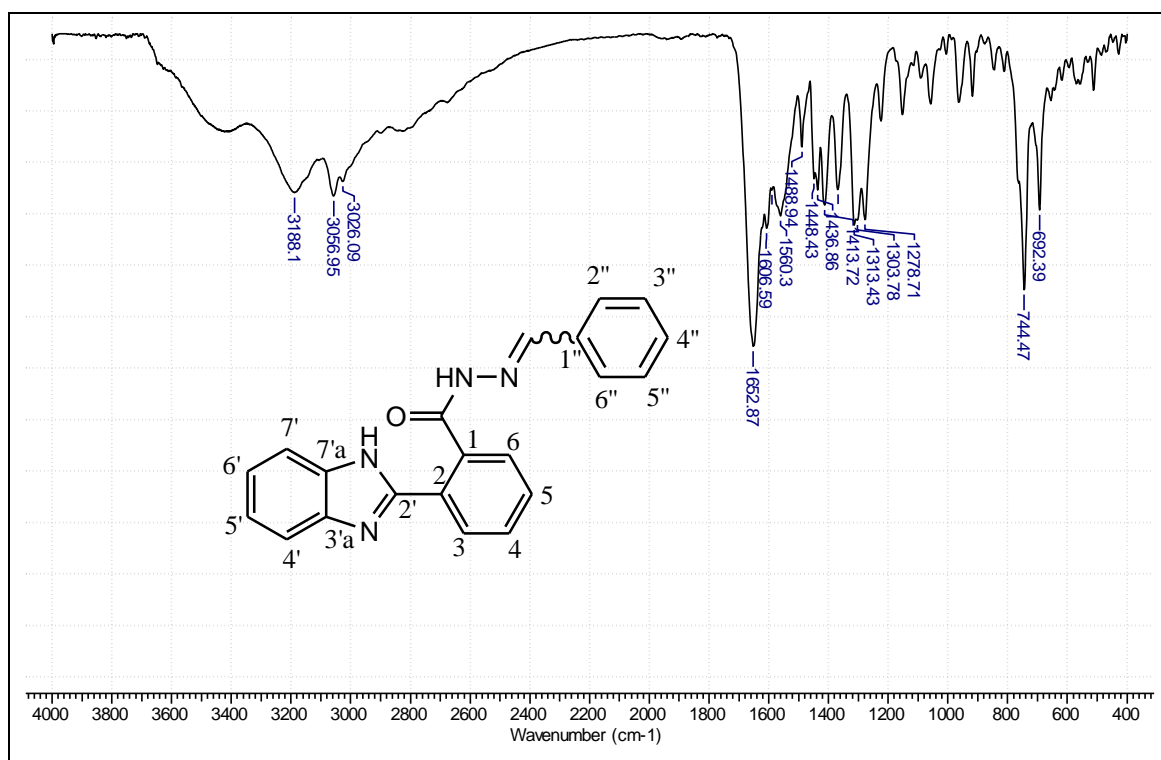


Figura A - 41: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32a.

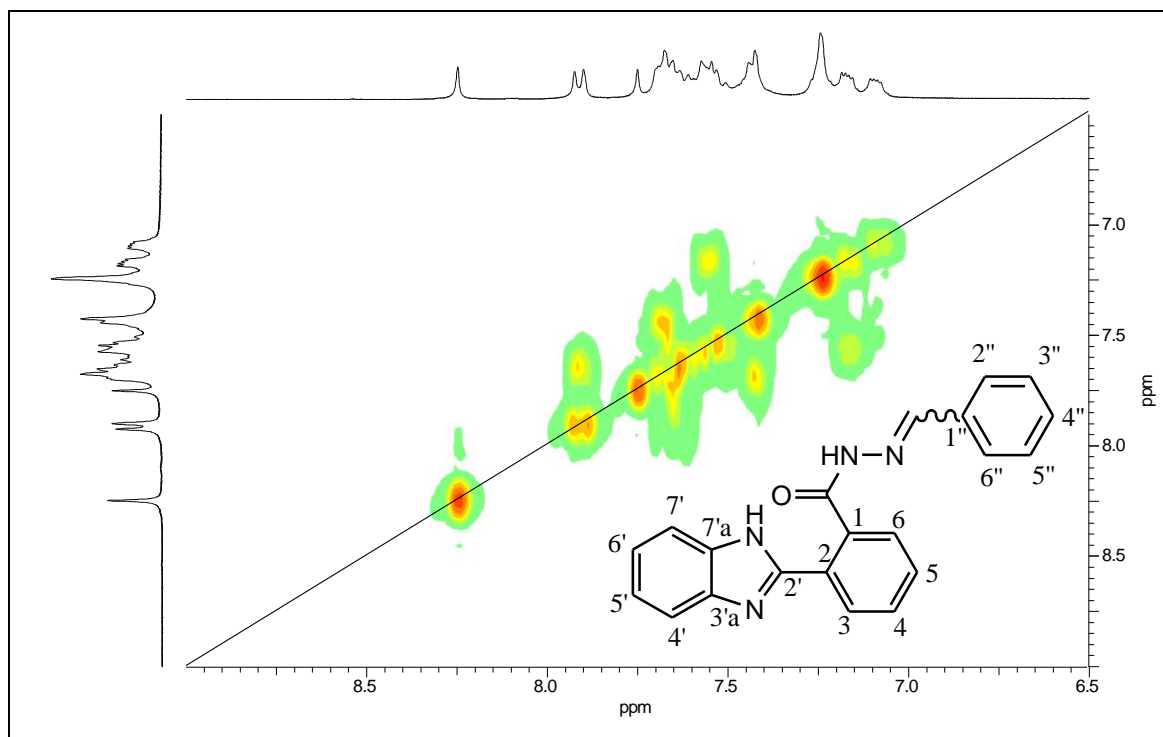


Figura A - 42: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **32a**.

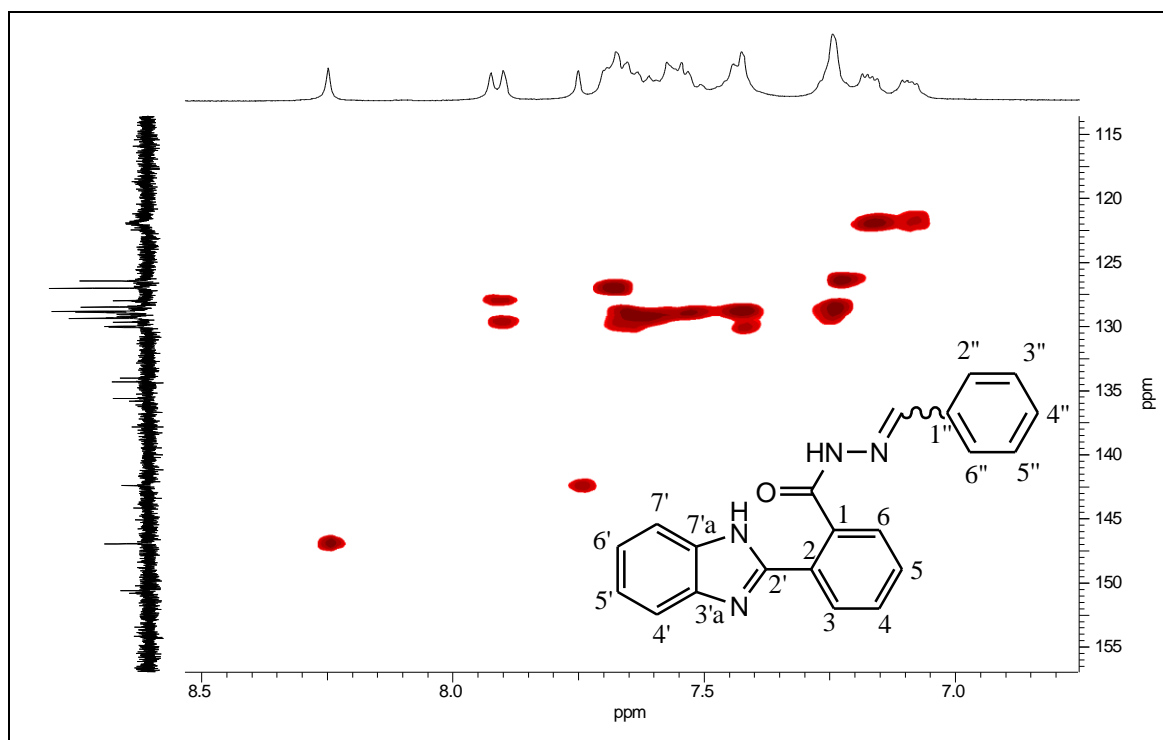


Figura A - 43: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto **32a**.

N'-(p-metoxi-benzilideno)-2-(1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32b)

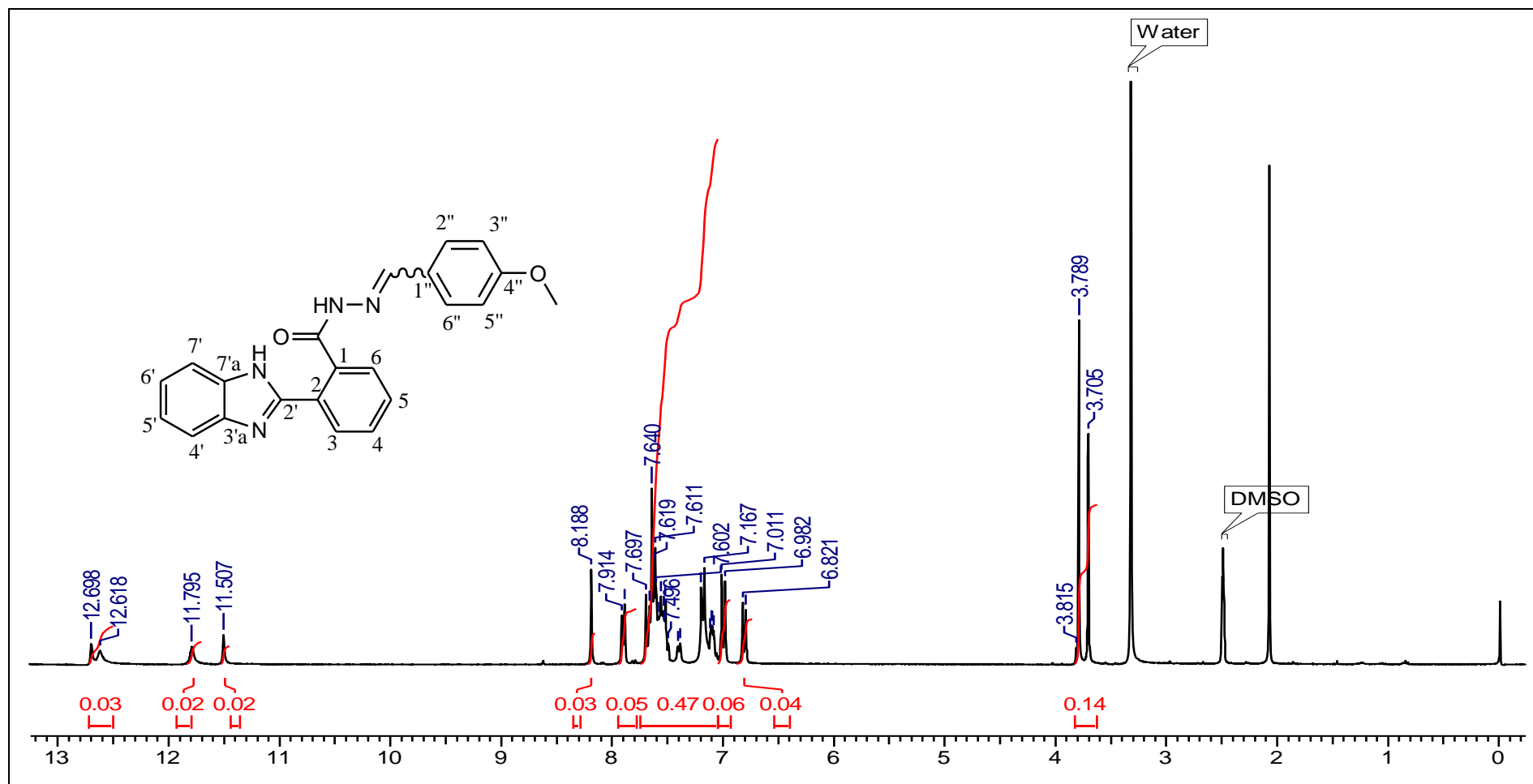


Figura A - 44: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32b.

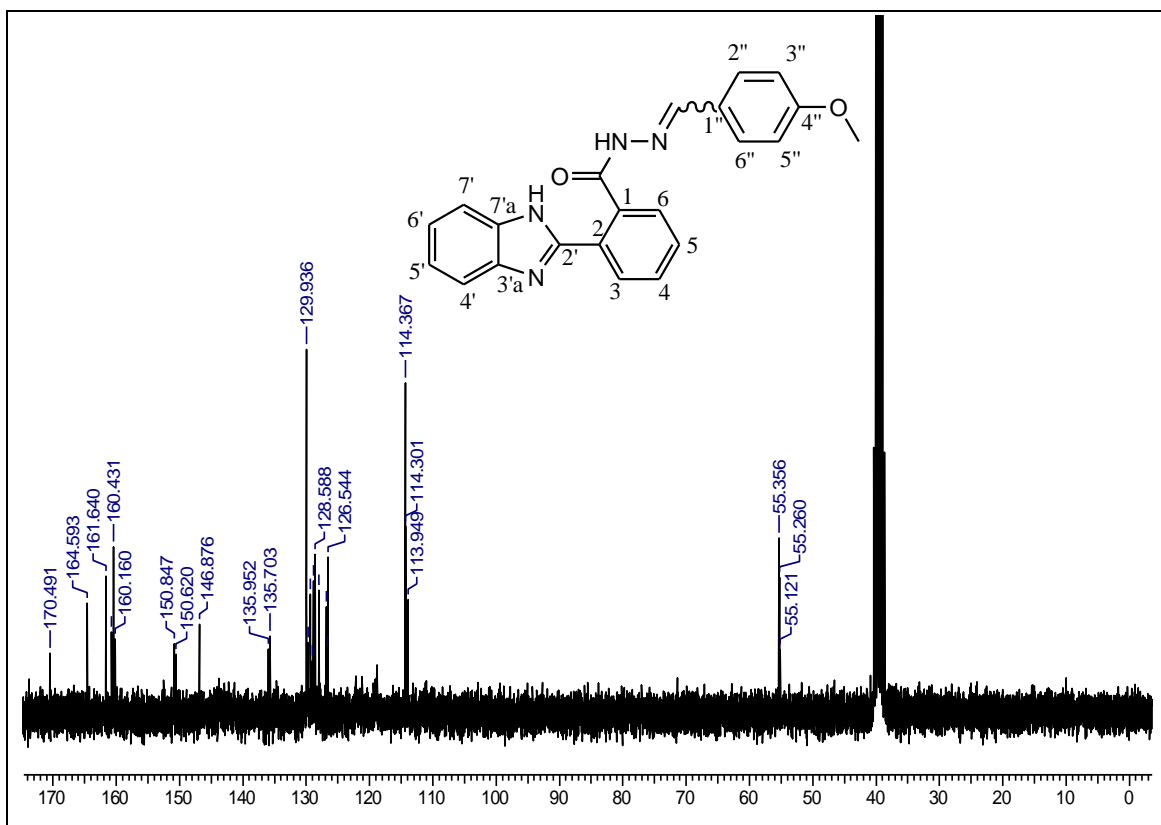


Figura A - 45: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **32b**.

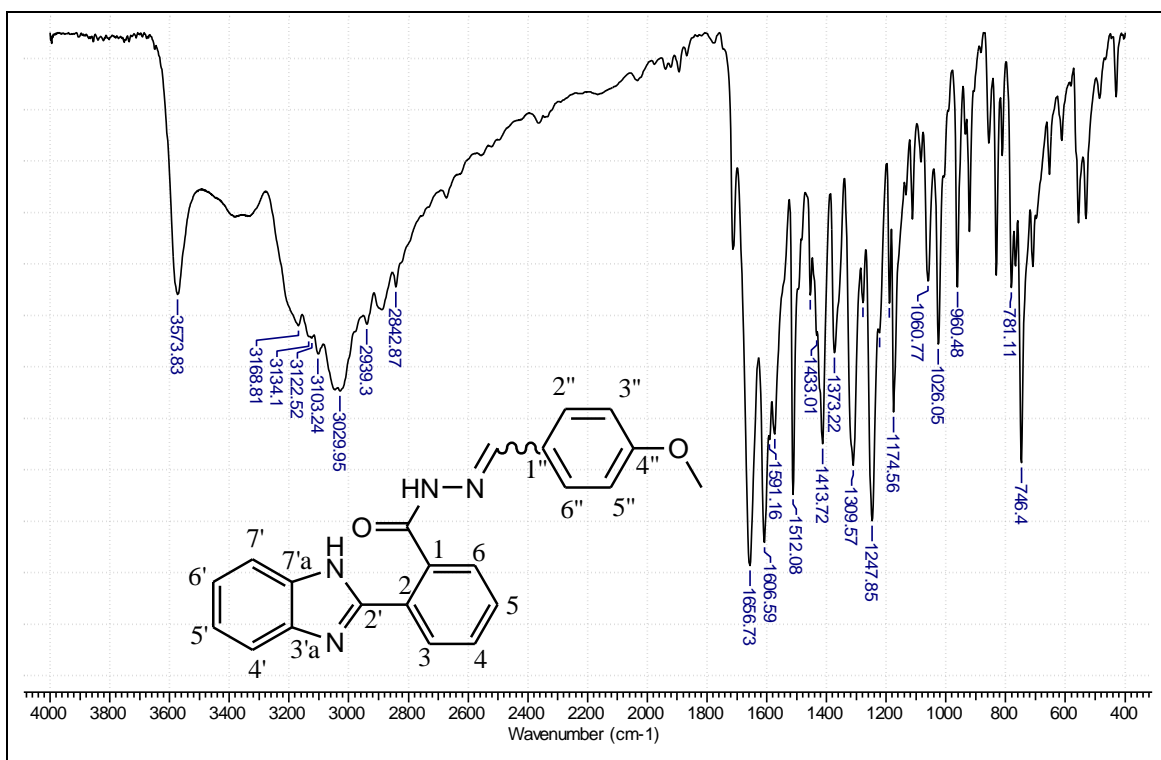


Figura A - 46: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **32b**.

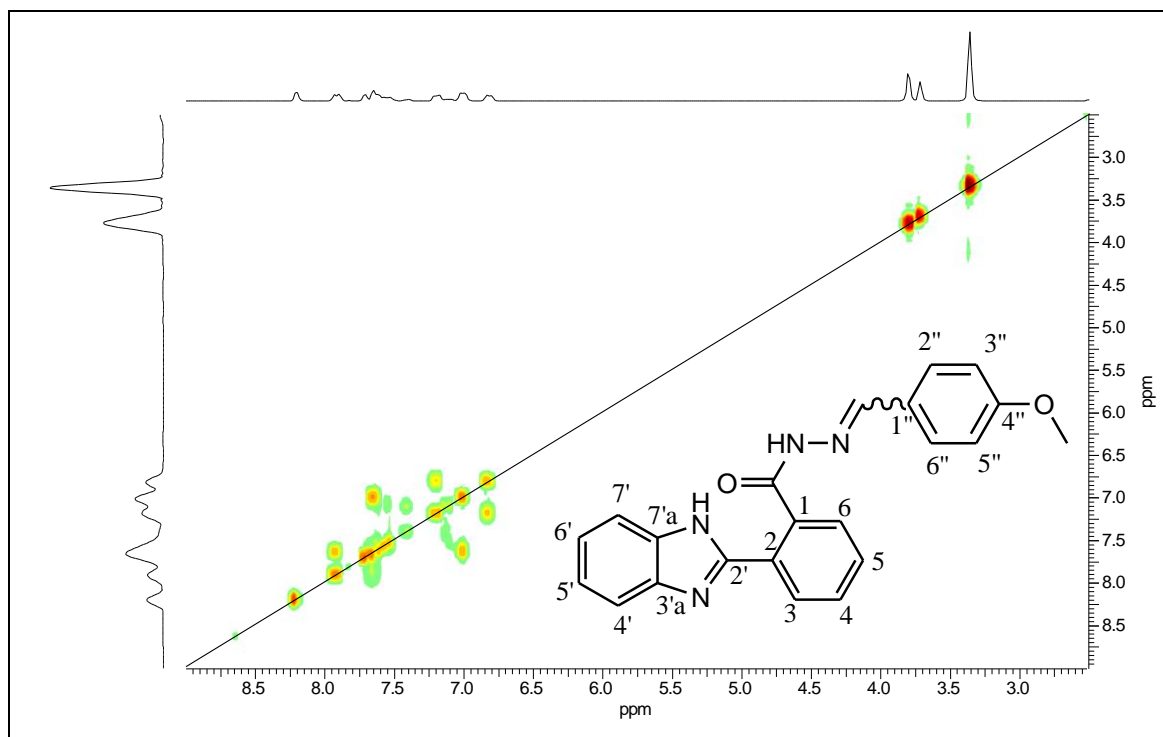


Figura A - 47: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **32b**.

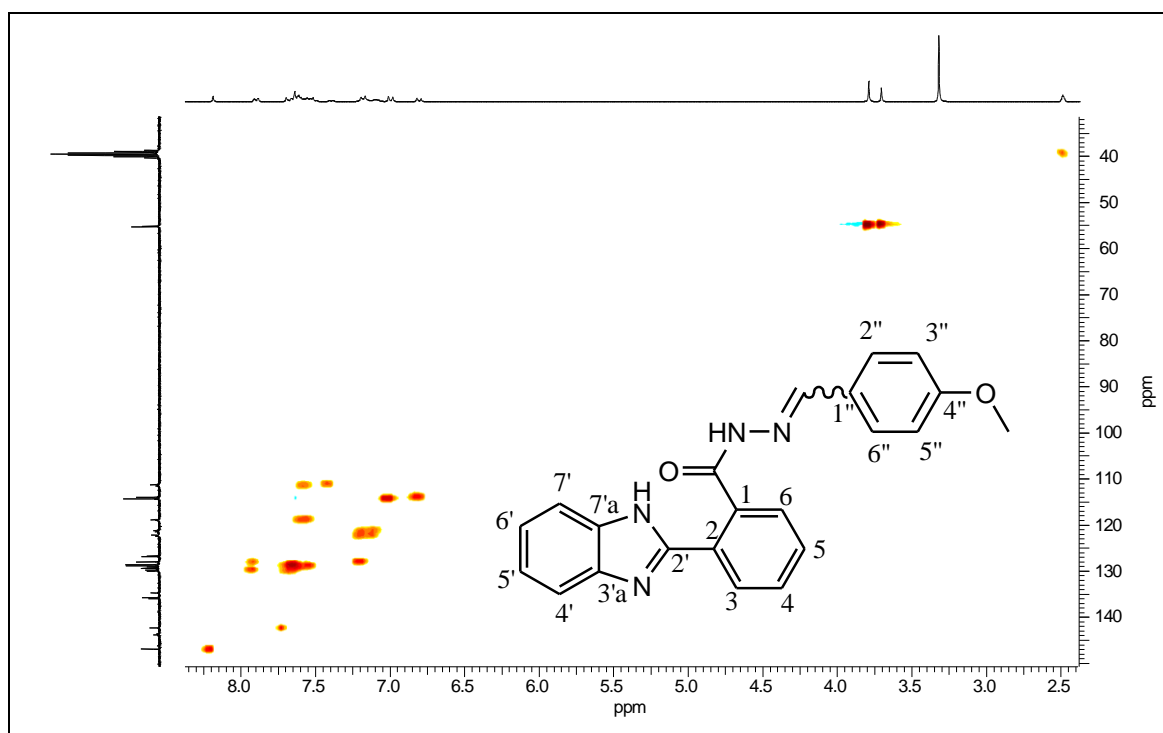


Figura A - 48: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto **32b**.

***N'*-(*o*-cloro-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32c)**

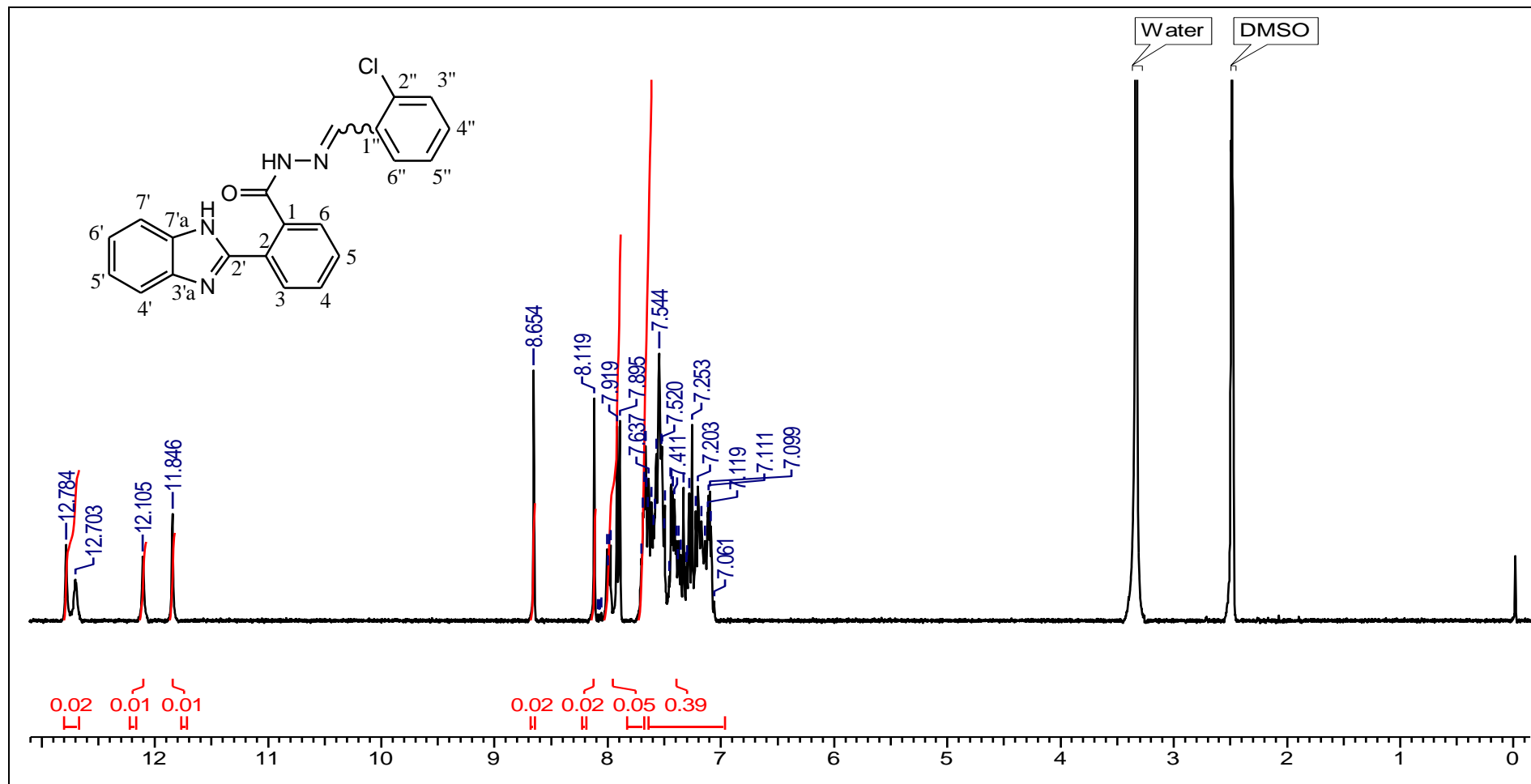


Figura A - 49: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32c.

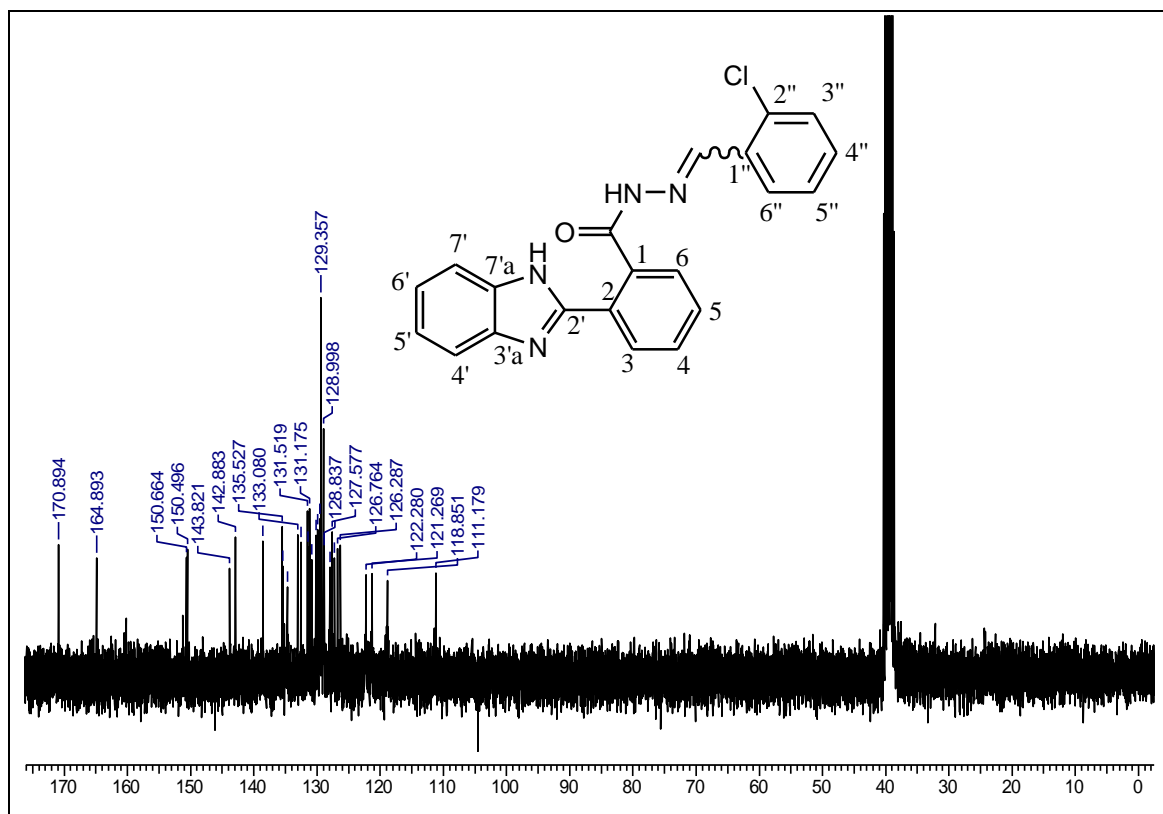


Figura A - 50: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **32c**.

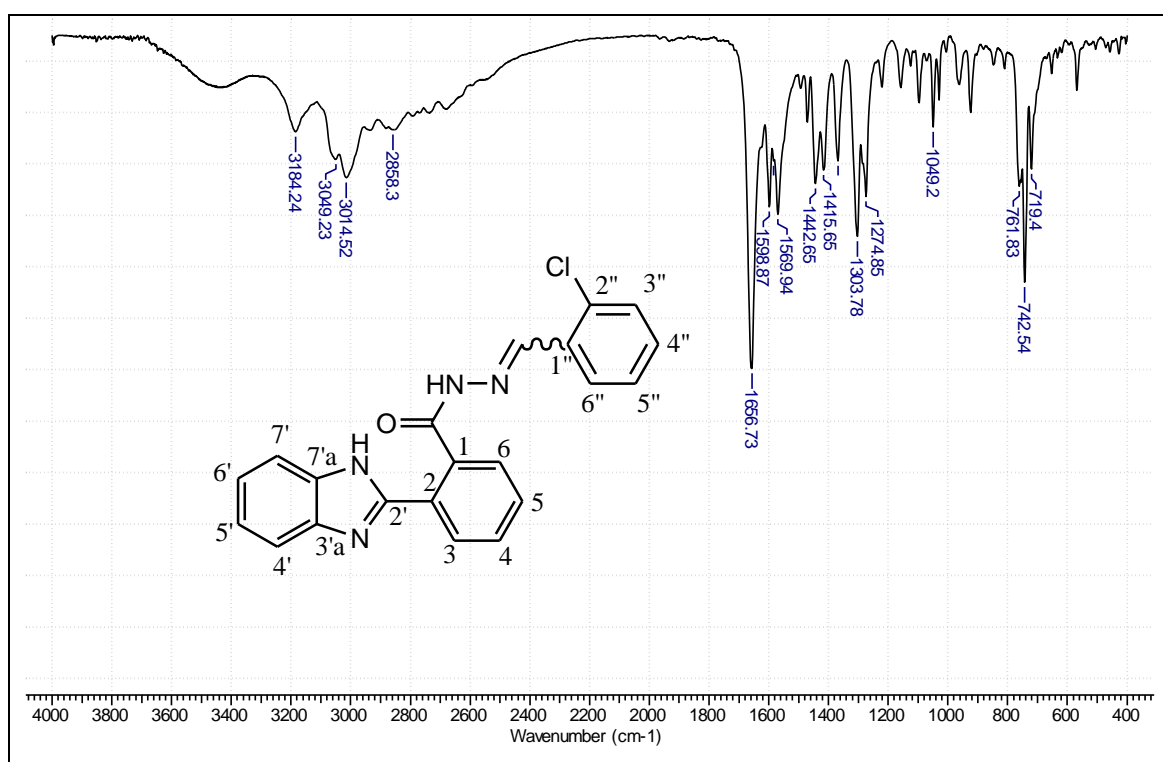


Figura A - 51: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **32c**.

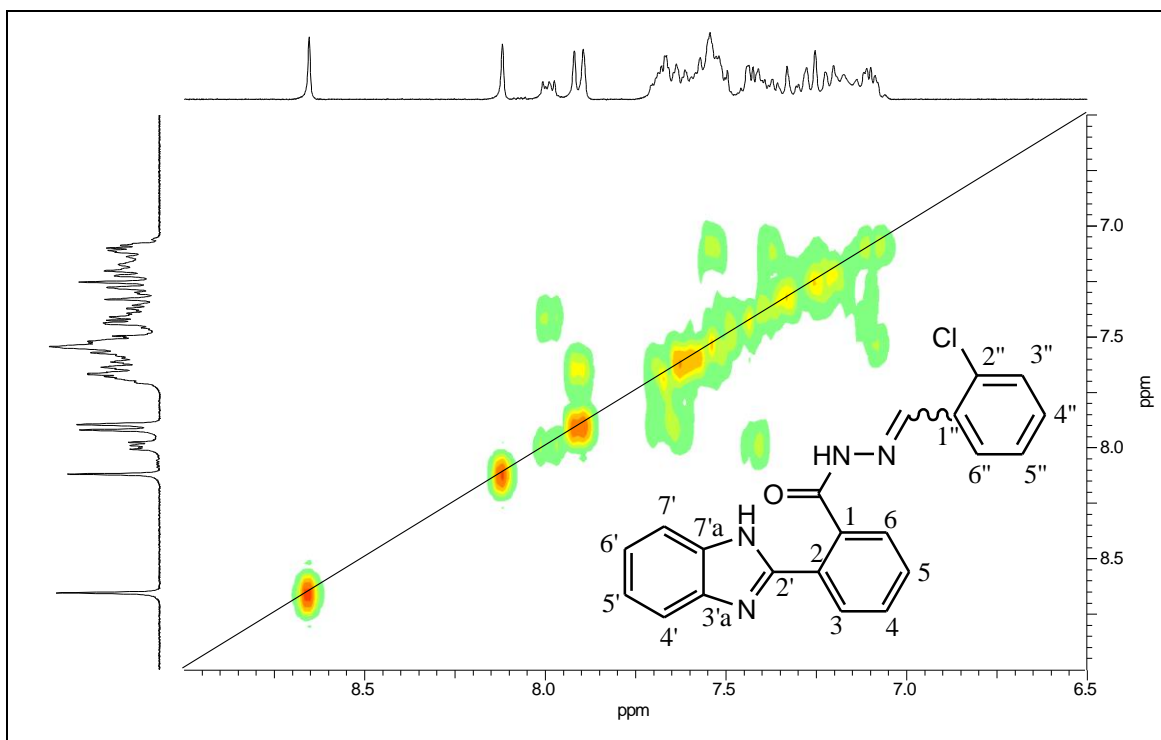


Figura A - 52: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **32c**.

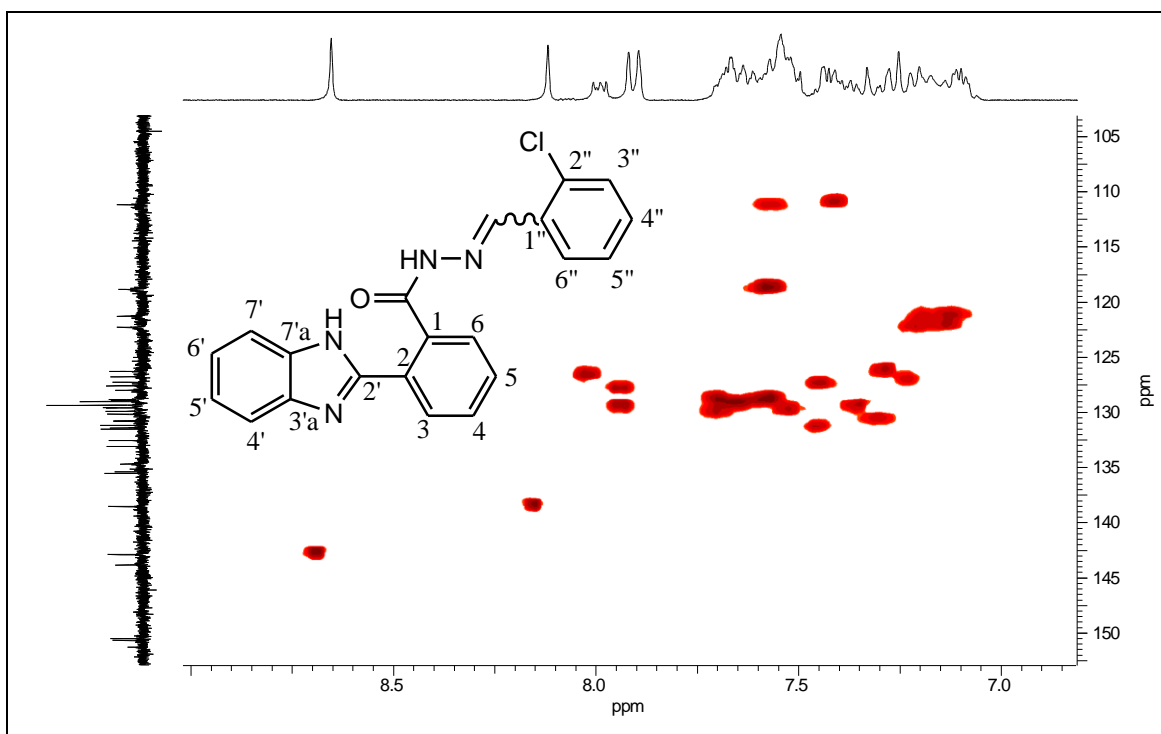


Figura A - 53: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto **32c**.

***N'*-(*p*-flúor-benzilideno)-2-(1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (32d)**

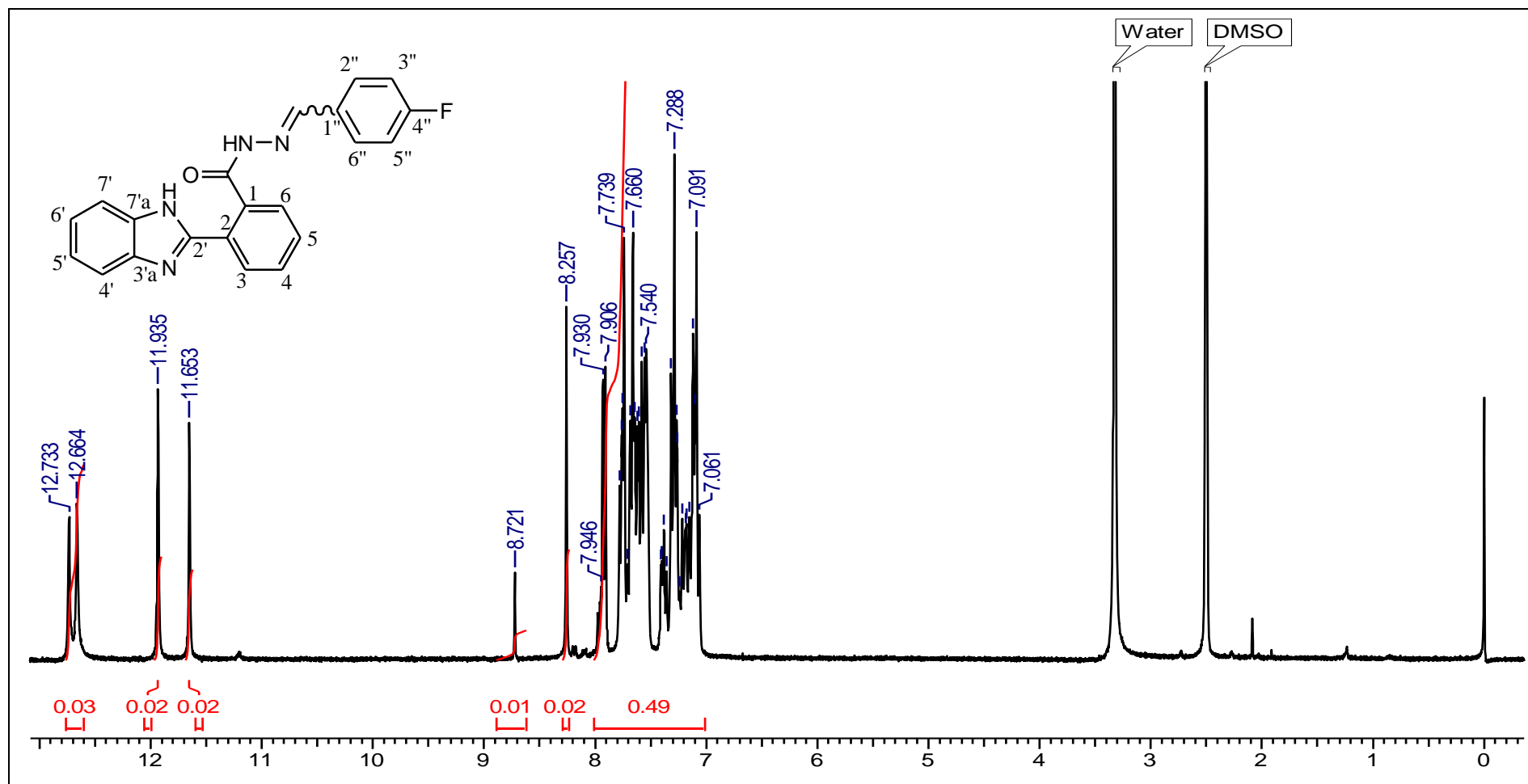


Figura A - 54: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32d.

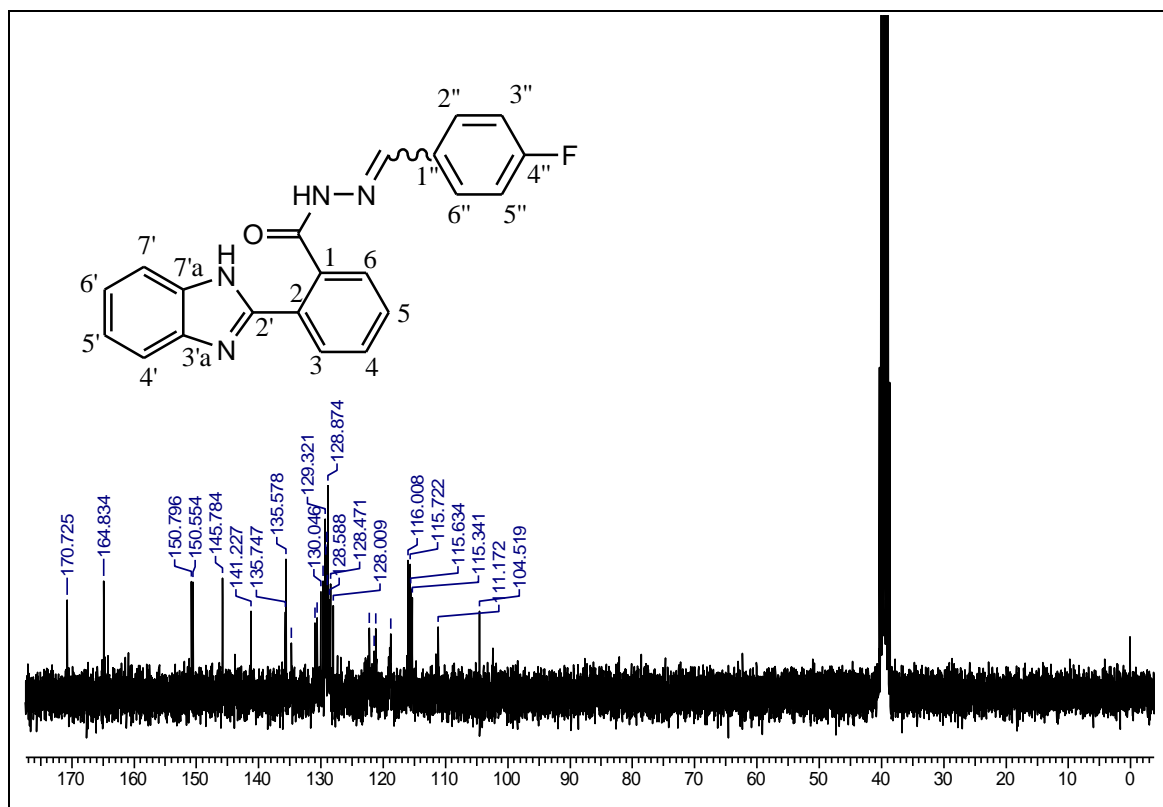


Figura A - 55: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **32d**.

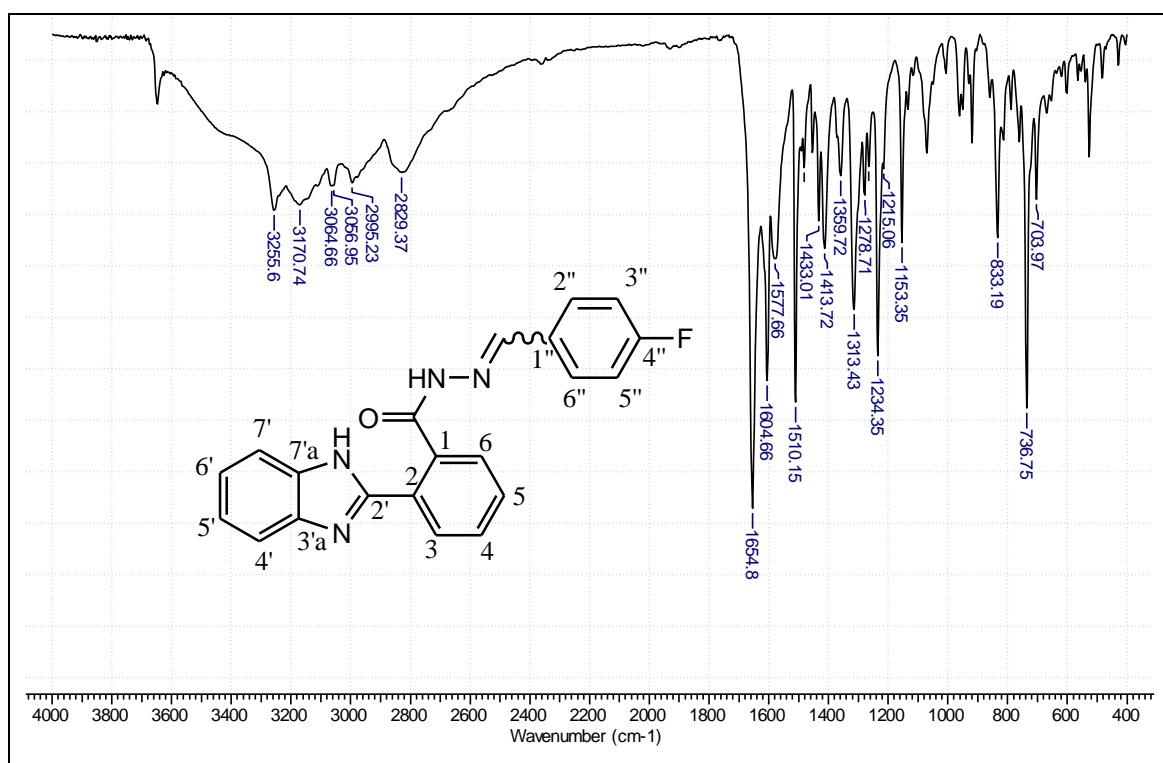


Figura A - 56: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **32d**.

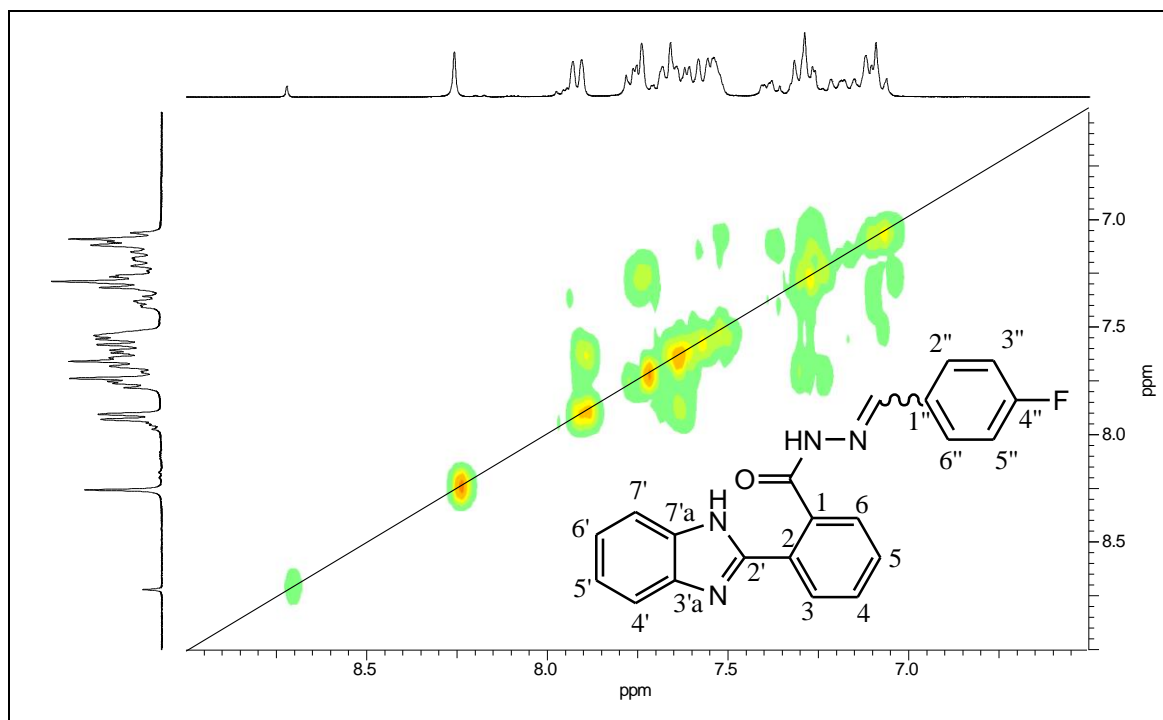


Figura A - 57: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO- d_6) do composto **32d**.

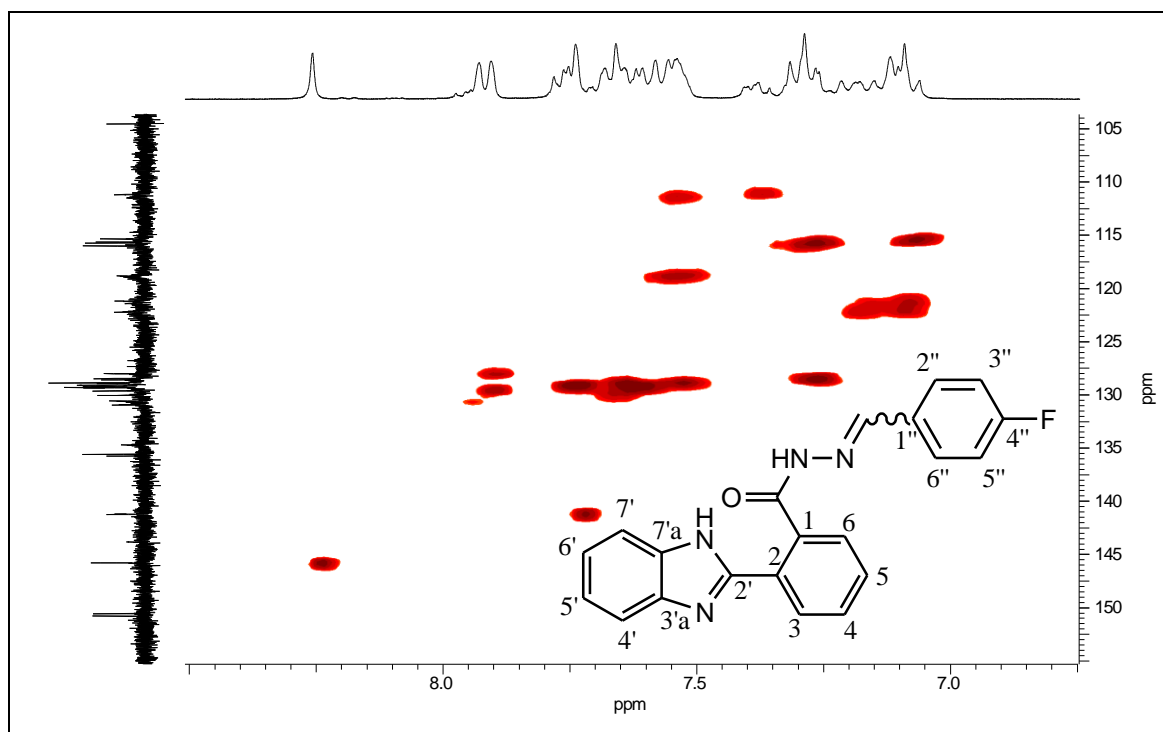


Figura A - 58: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO- d_6) do composto **32d**.

2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N'-[(tiofeno-2''-il)metileno]benzoidrazida (32e)

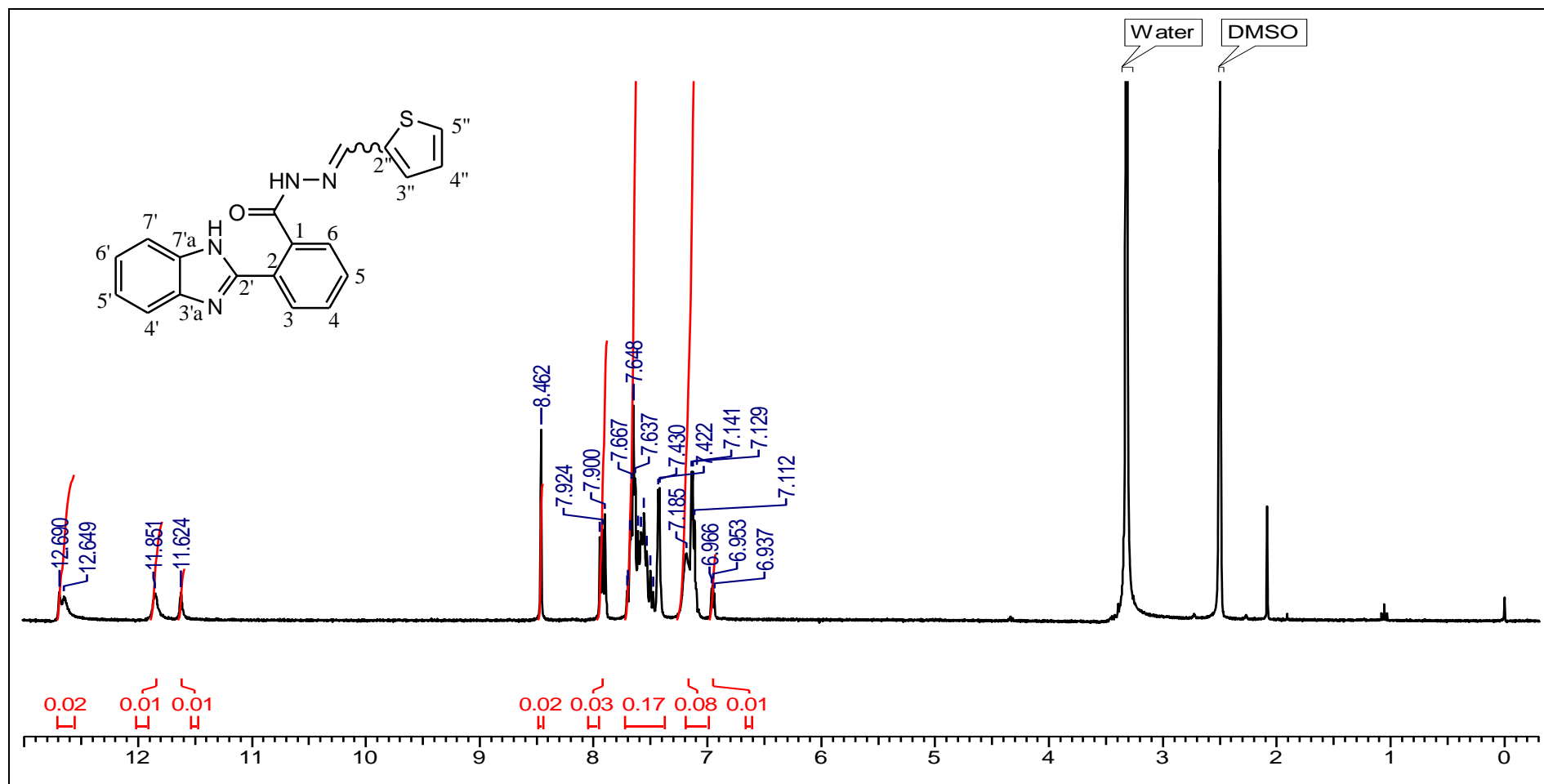


Figura A - 59: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto **32e**.

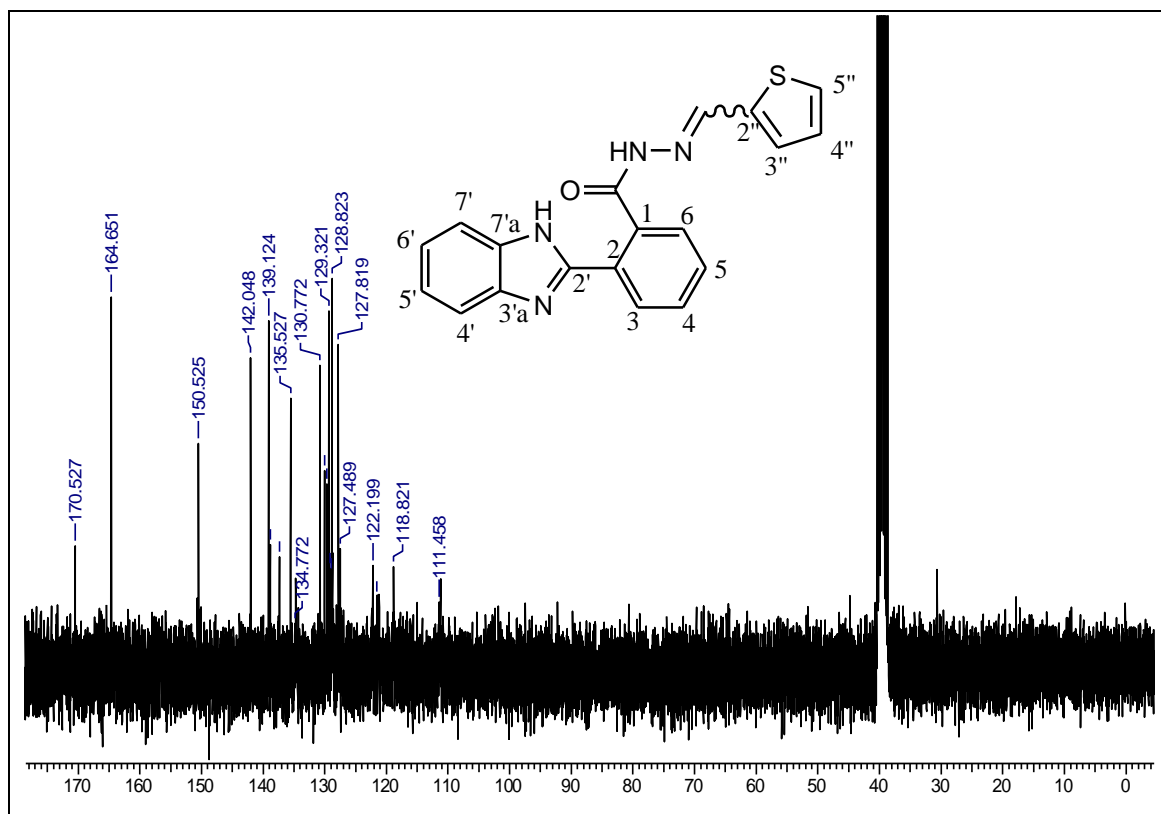


Figura A - 60: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 32e.

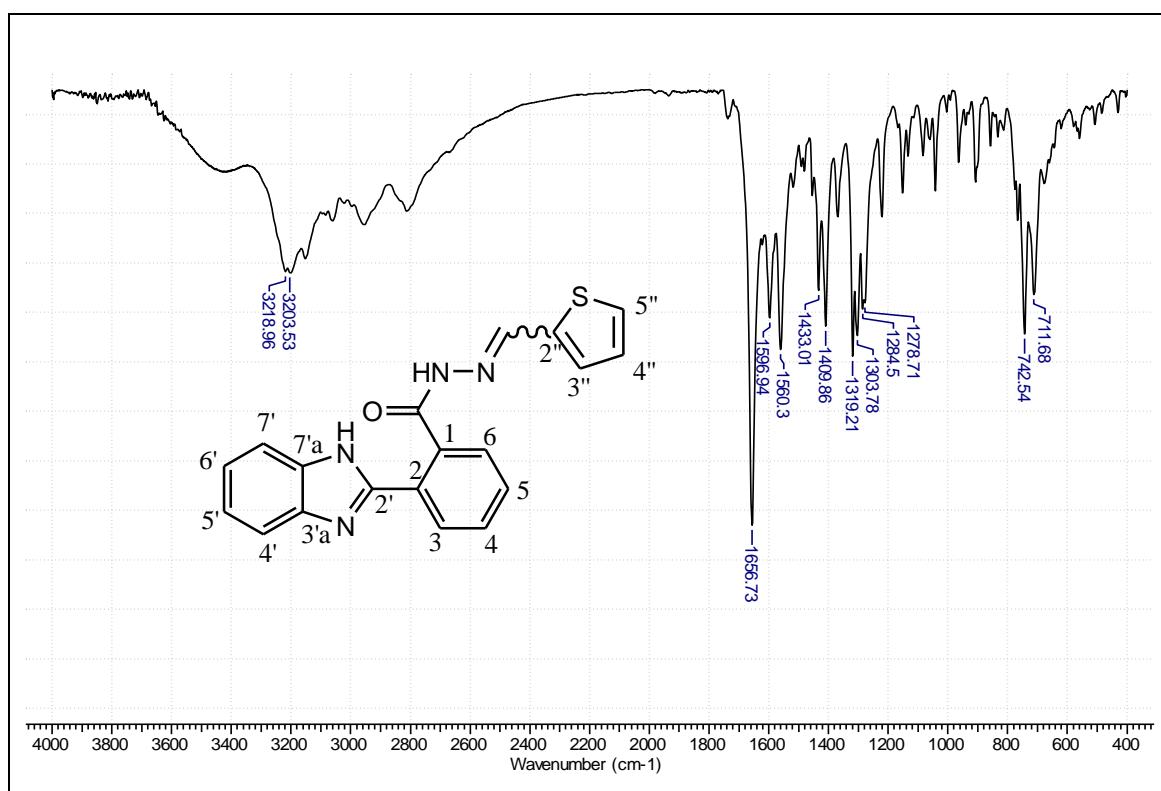


Figura A - 61: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32e.

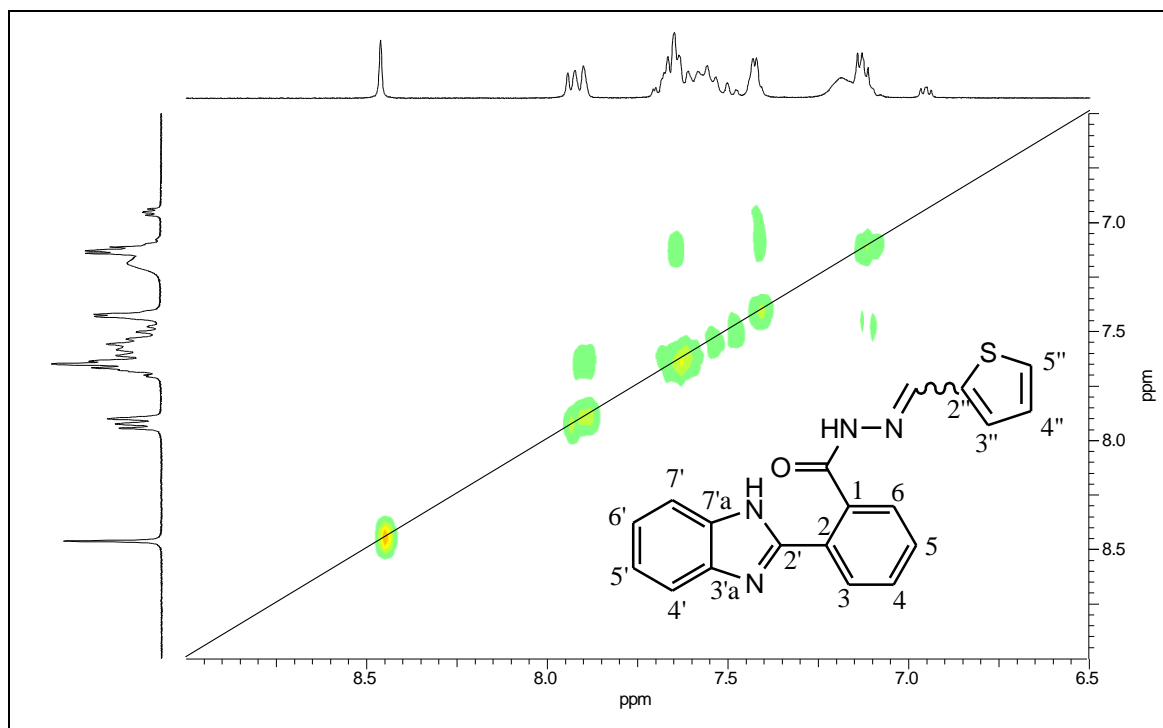


Figura A - 62: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32e.

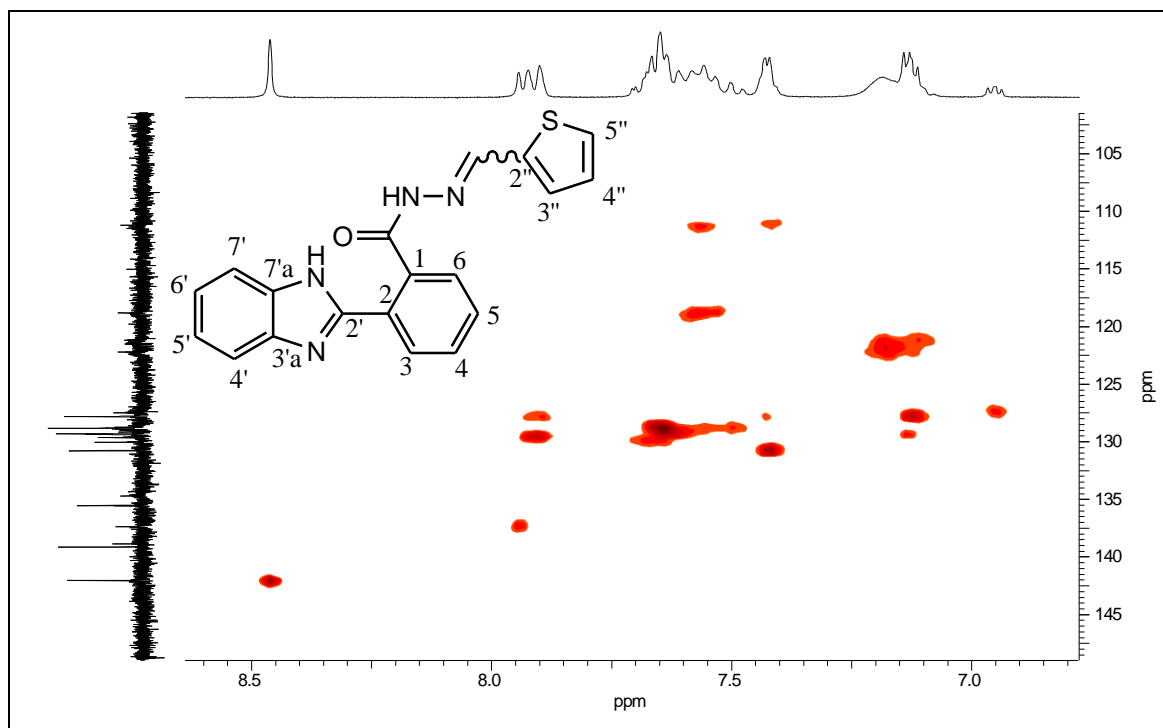


Figura A - 63: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32e.

2-(1'H-benzimidazol-2'-il)-N'-butilidenbenzoidrazida (32f)

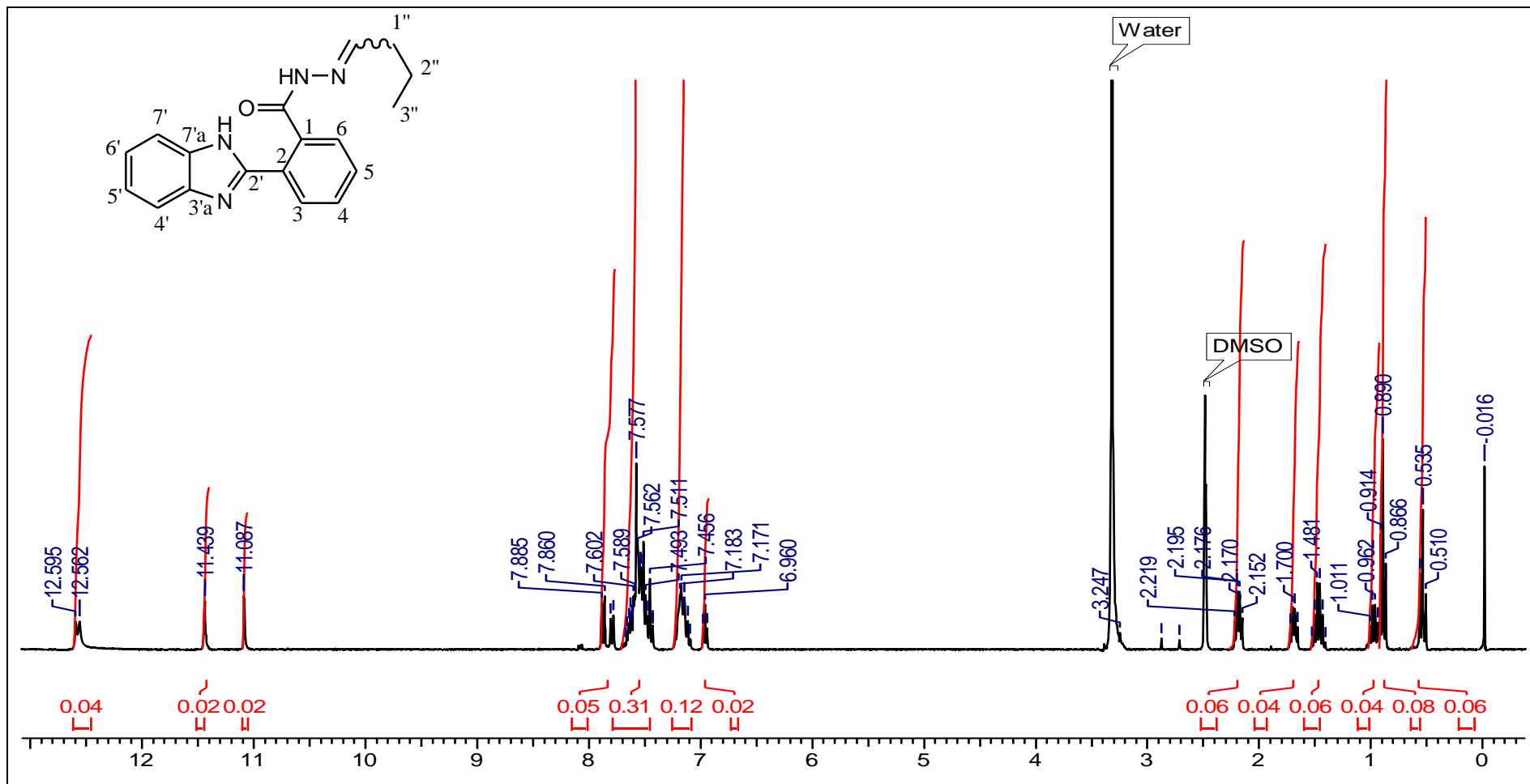


Figura A - 64: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32f.

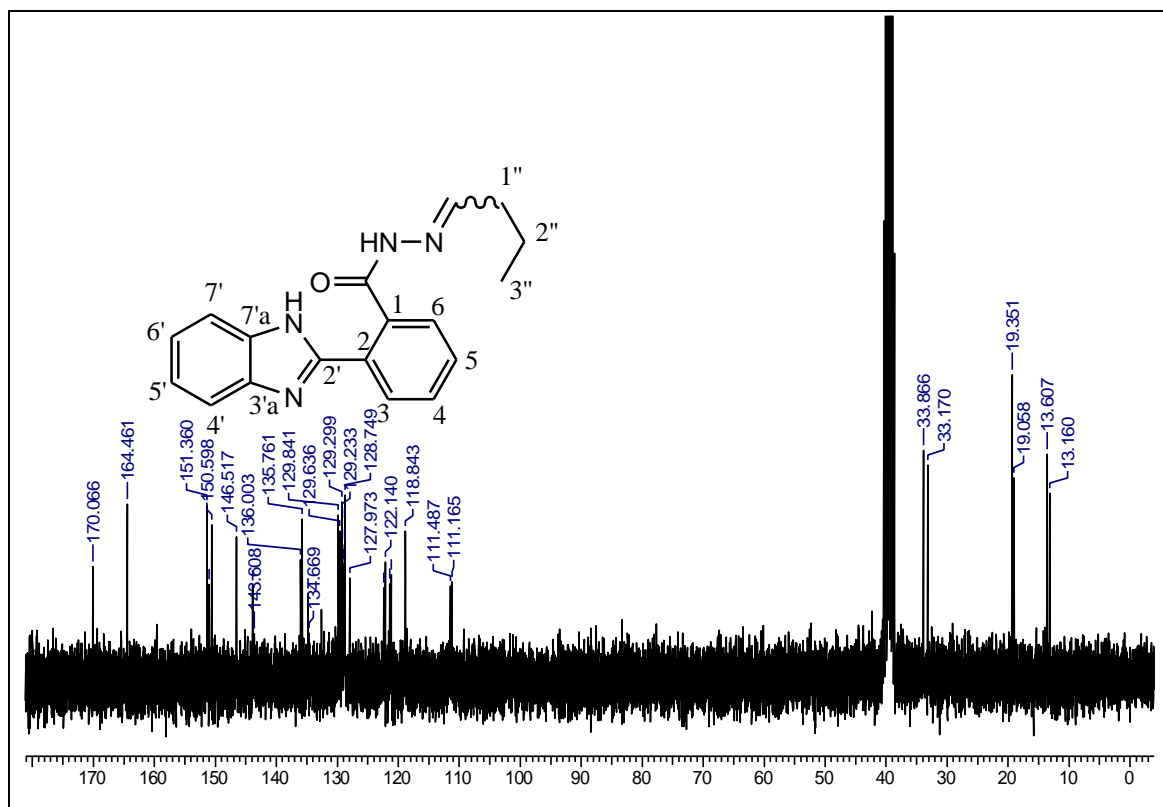


Figura A - 65: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO- d_6) do composto 32f.

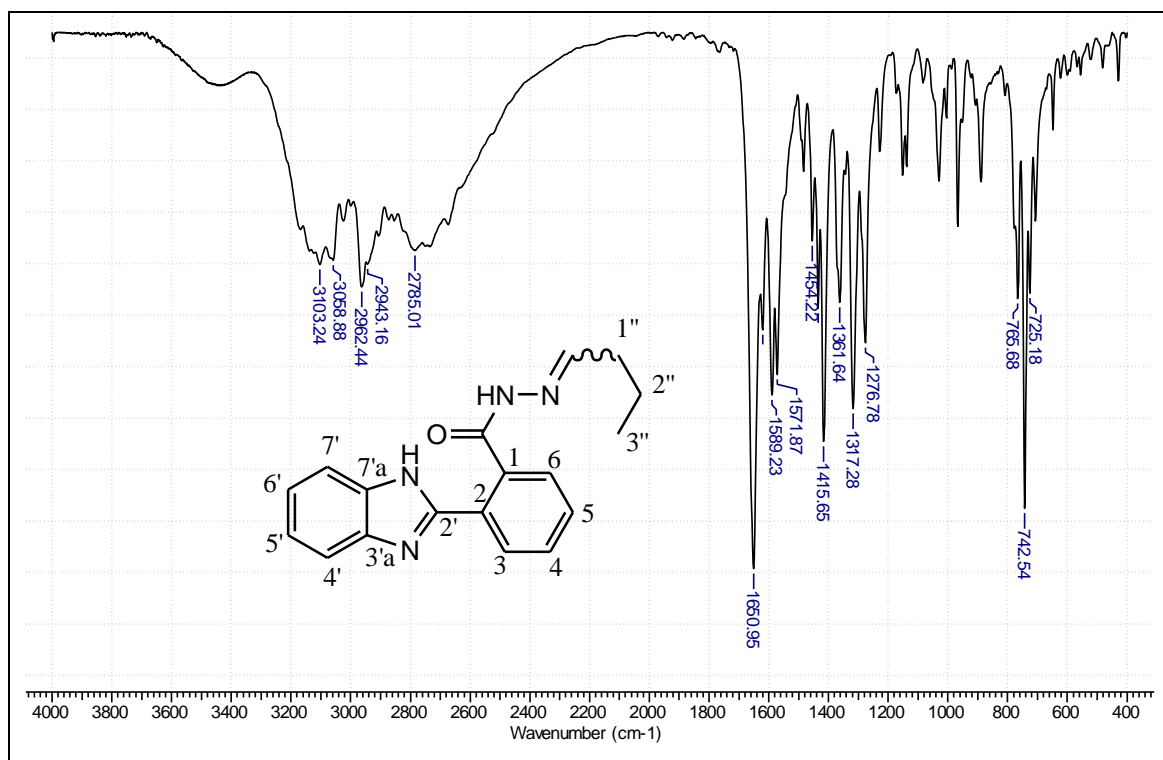


Figura A - 66: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 32f.

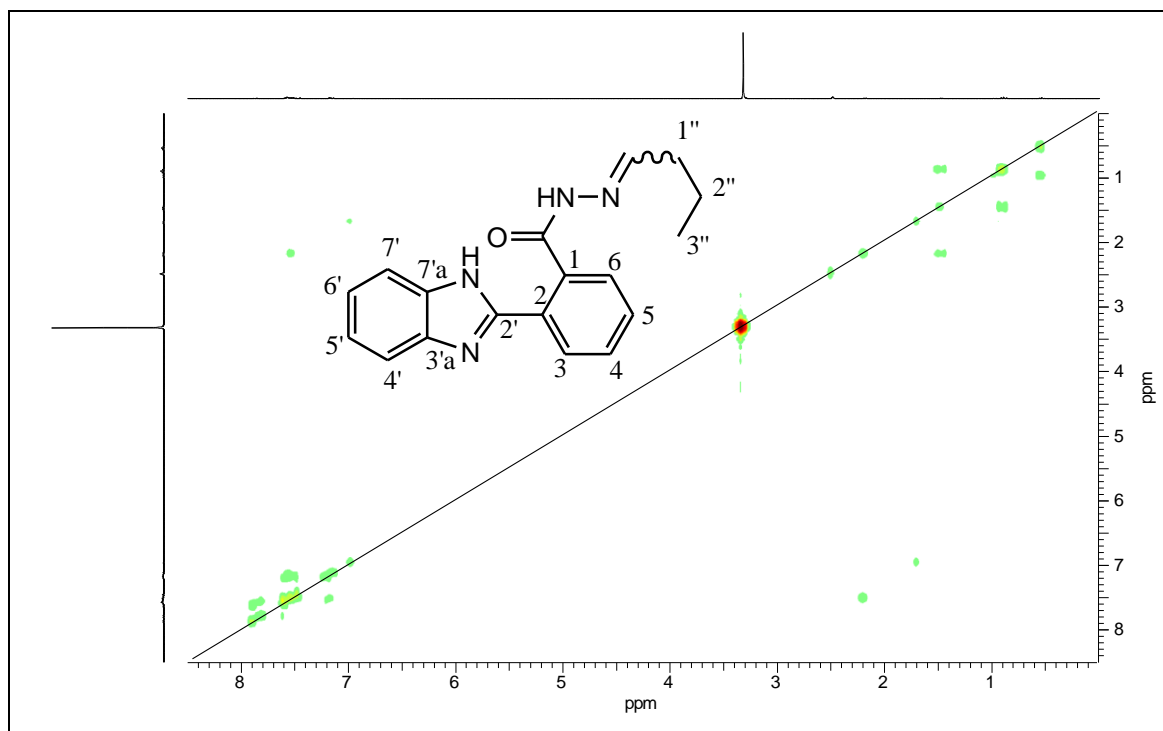


Figura A - 67: Espectros de correlação H-H COSY (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 32f.

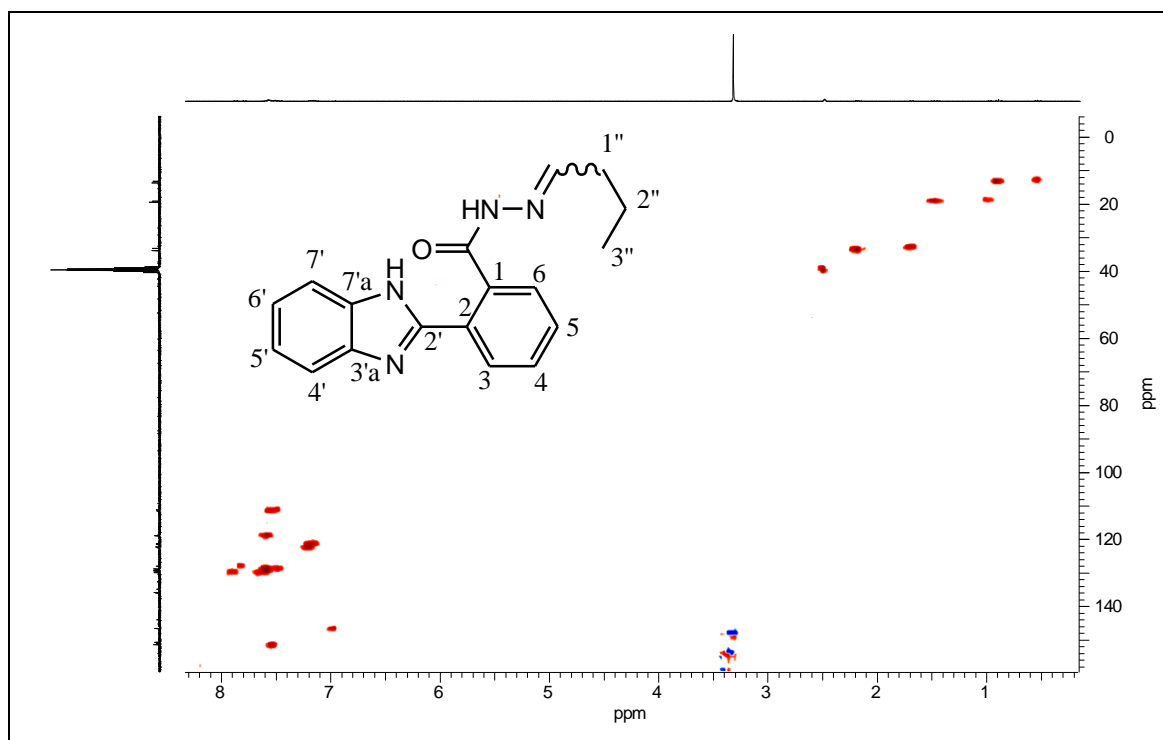


Figura A - 68: Espectro de correlação H-C HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz DMSO-d₆) do composto 32f.

2-(6-metil-1H-benzimidazol-2-il)benzoidrazida (30b)

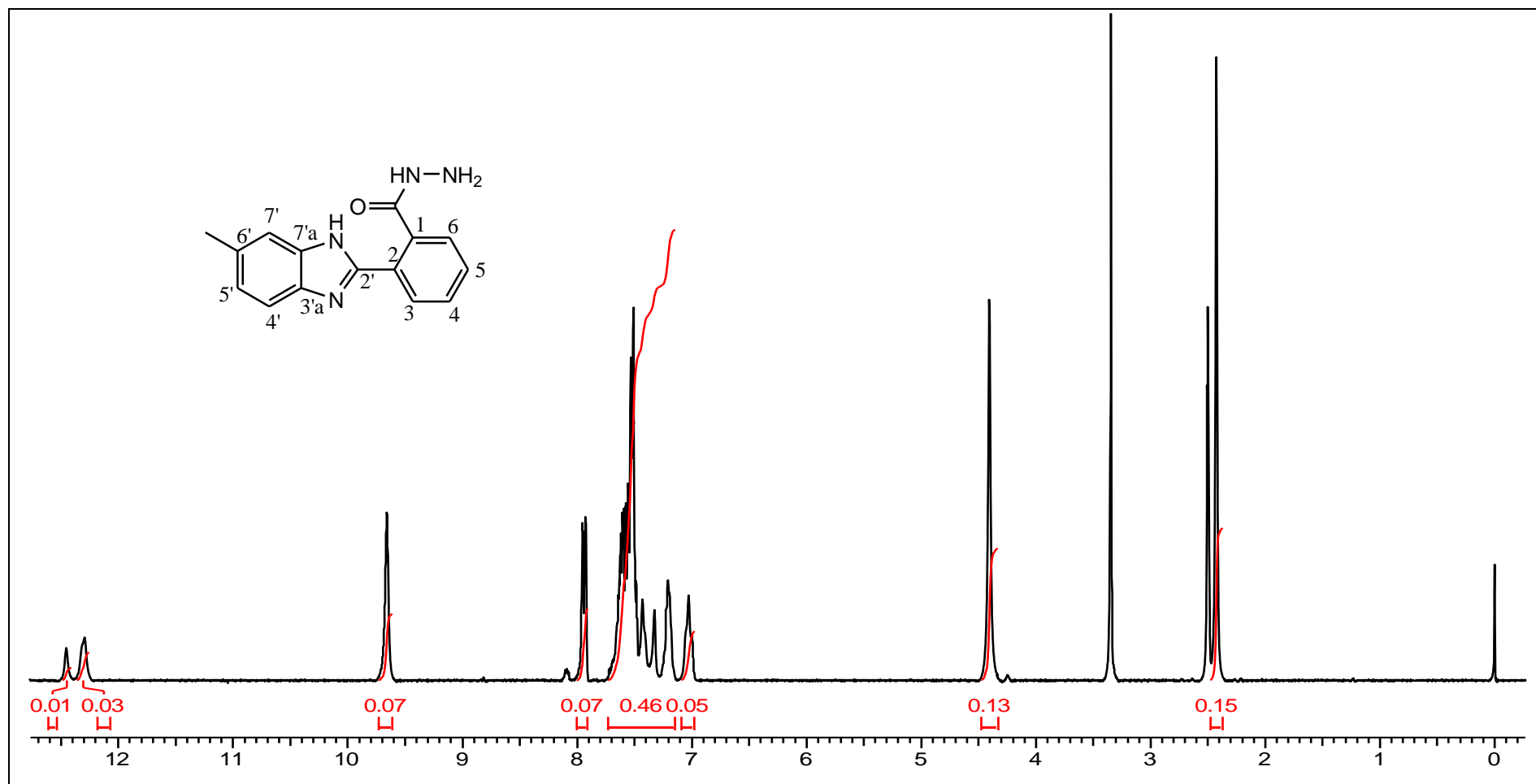


Figura A - 69: Espectro de RMN ^1H (300,06 MHz, DMSO-d_6) do composto **30b**.

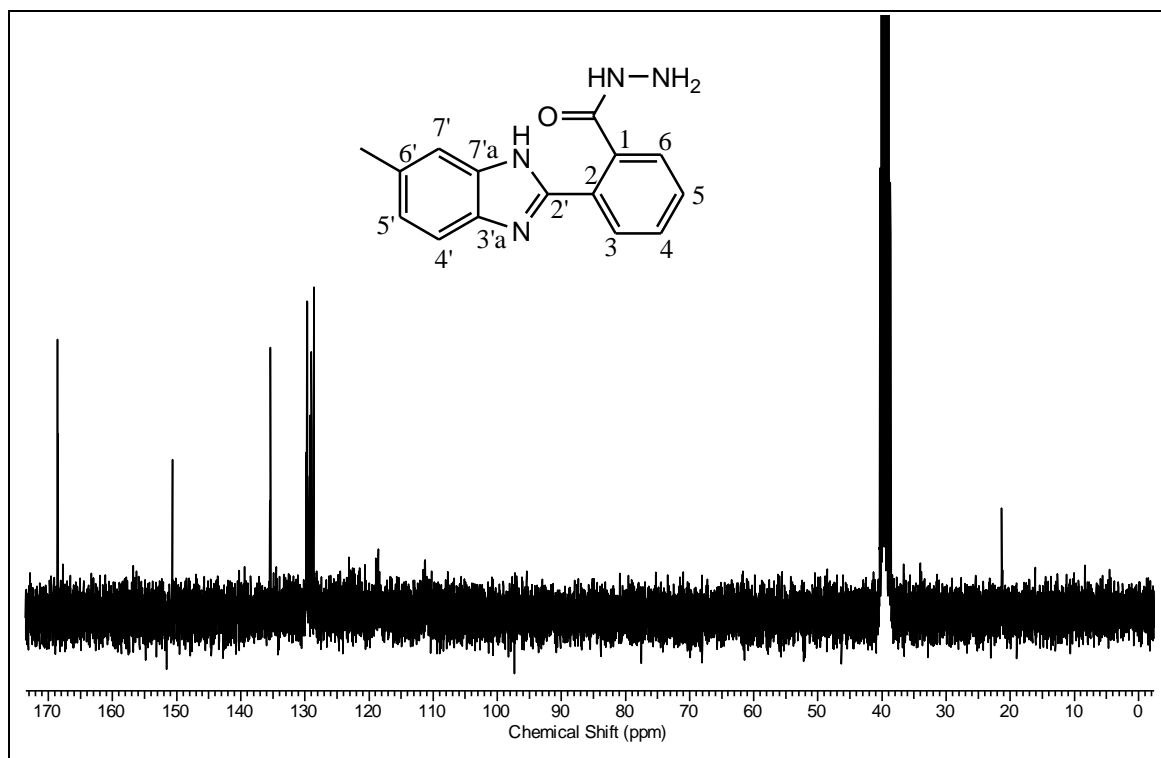


Figura A - 70: Espectro de RMN ¹³C (75,46 MHz, DMSO-d₆) do composto 30b.

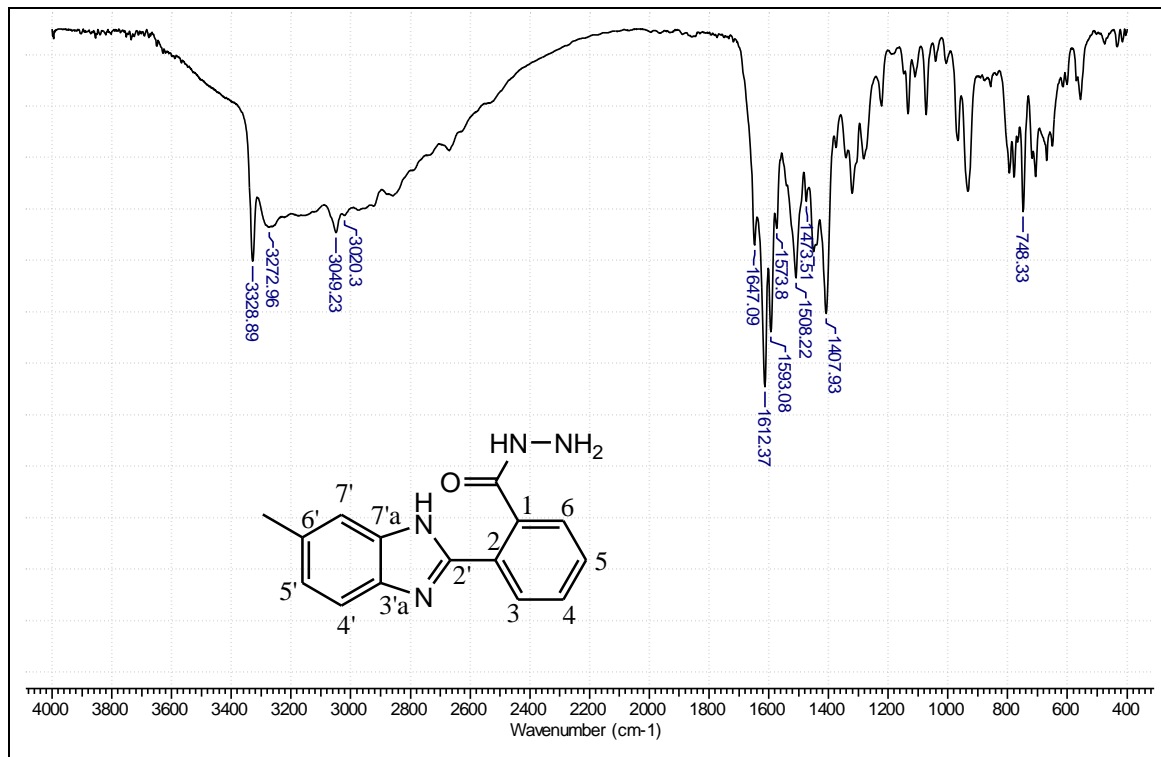


Figura A - 71: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 30b.

***N'*-benzilideno-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33a)**

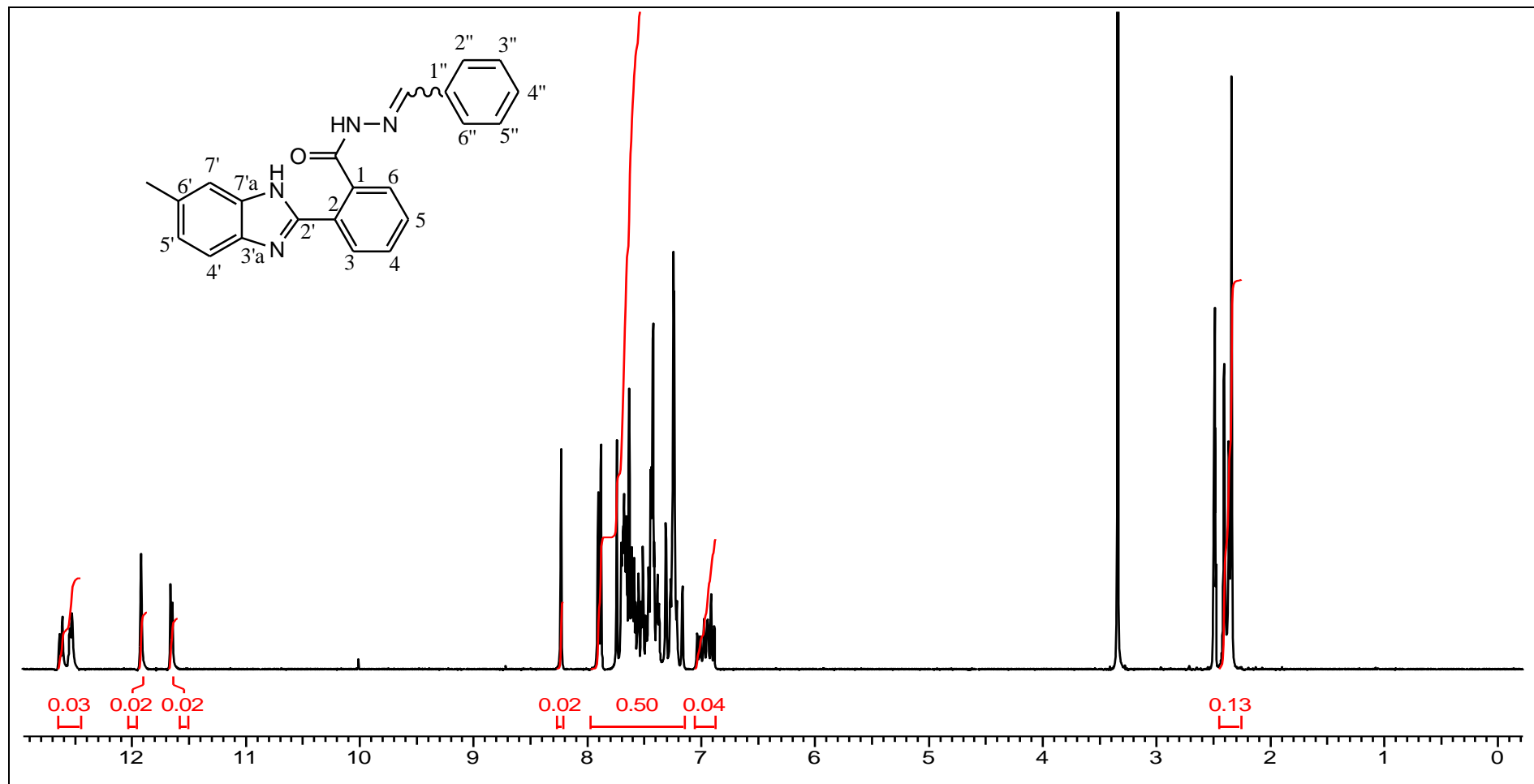


Figura A - 72: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 33a.

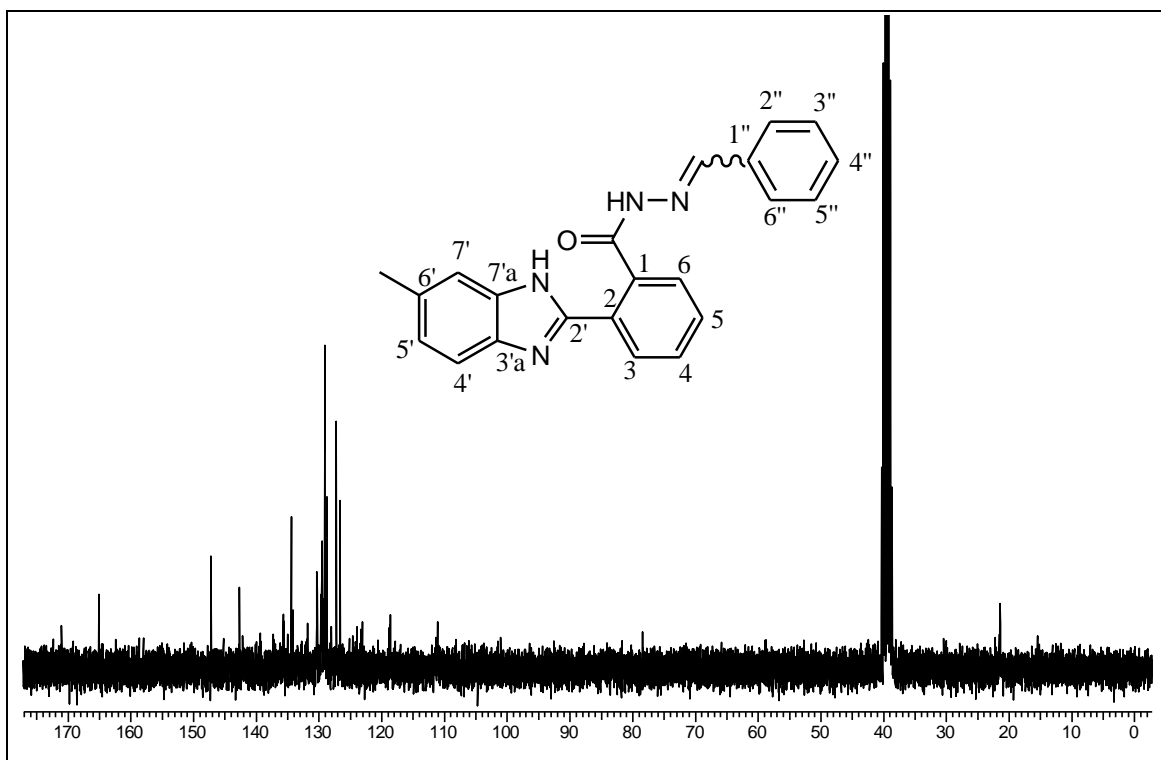


Figura A - 73: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto **33a**.

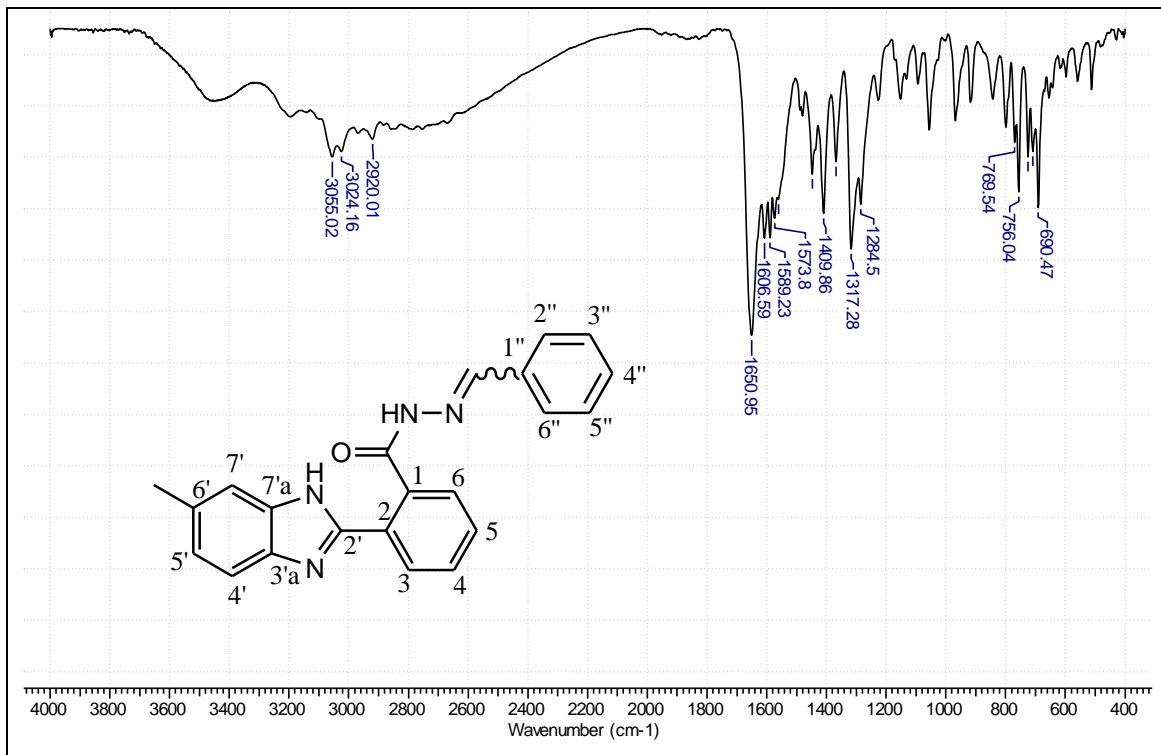


Figura A - 74: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **33a**.

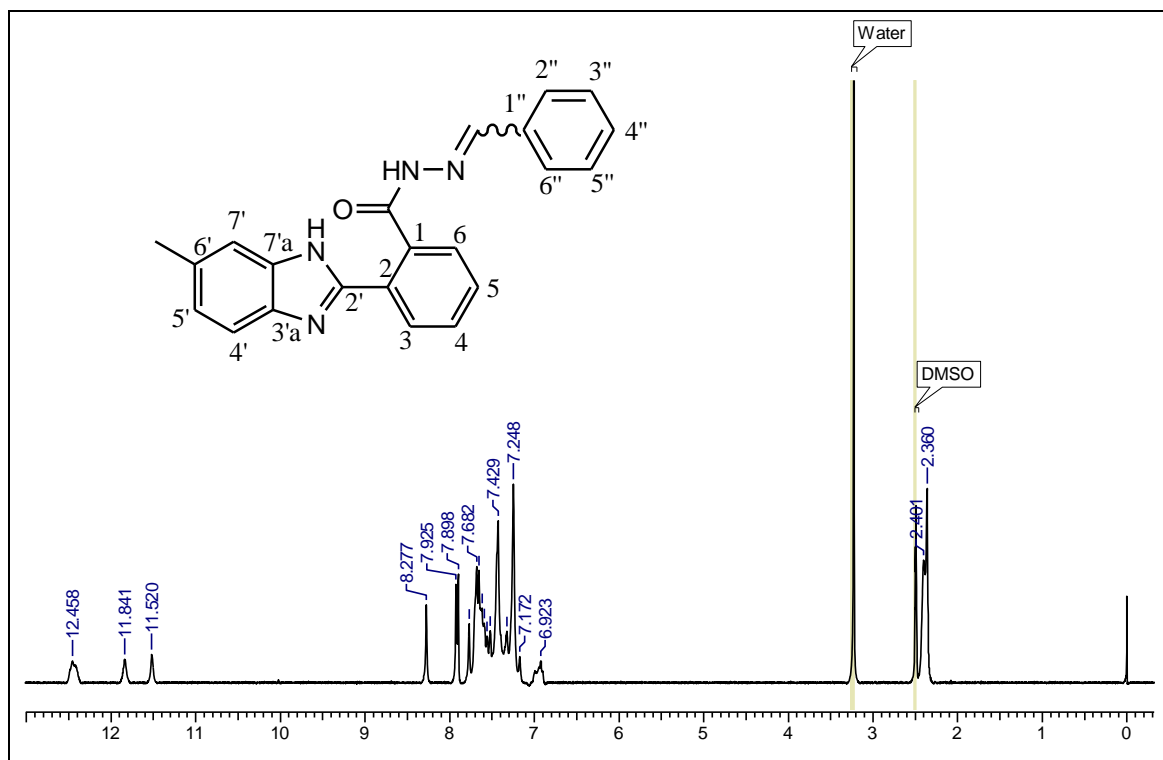


Figura A - 75: Espectro de RMND ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) à 45°C do composto 33a.

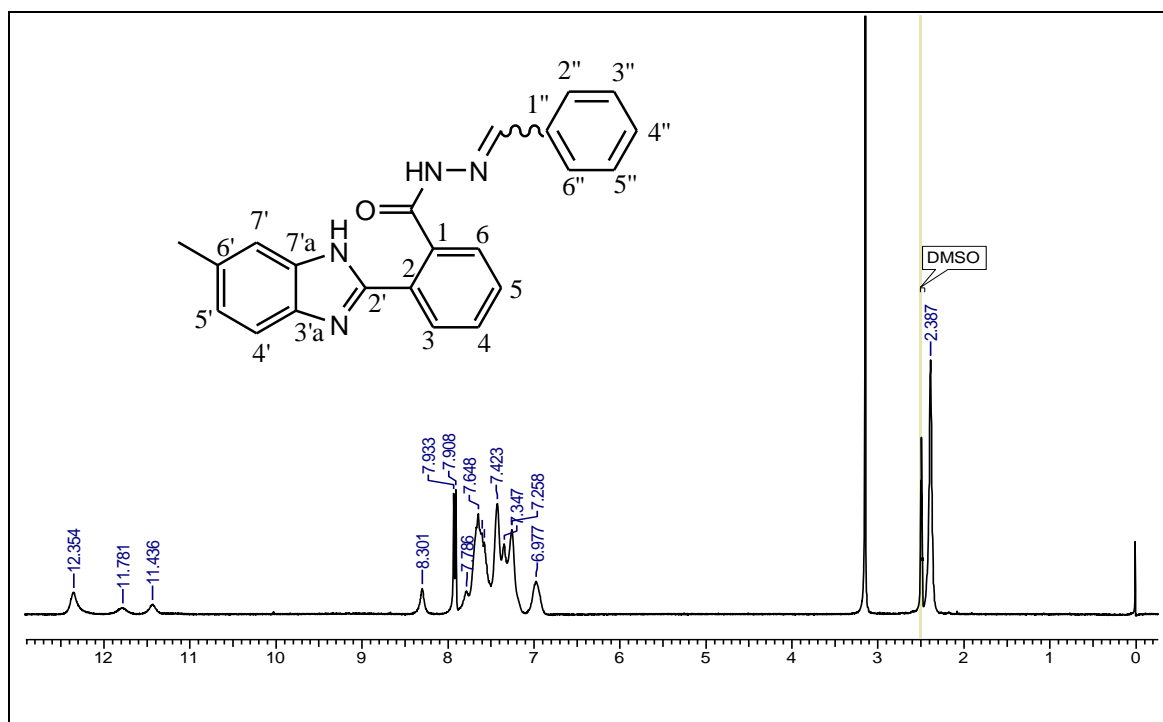


Figura A - 76: Espectro de RMND ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) à 60°C do composto 33a.

***N'*-(*p*-metoxibenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33b)**

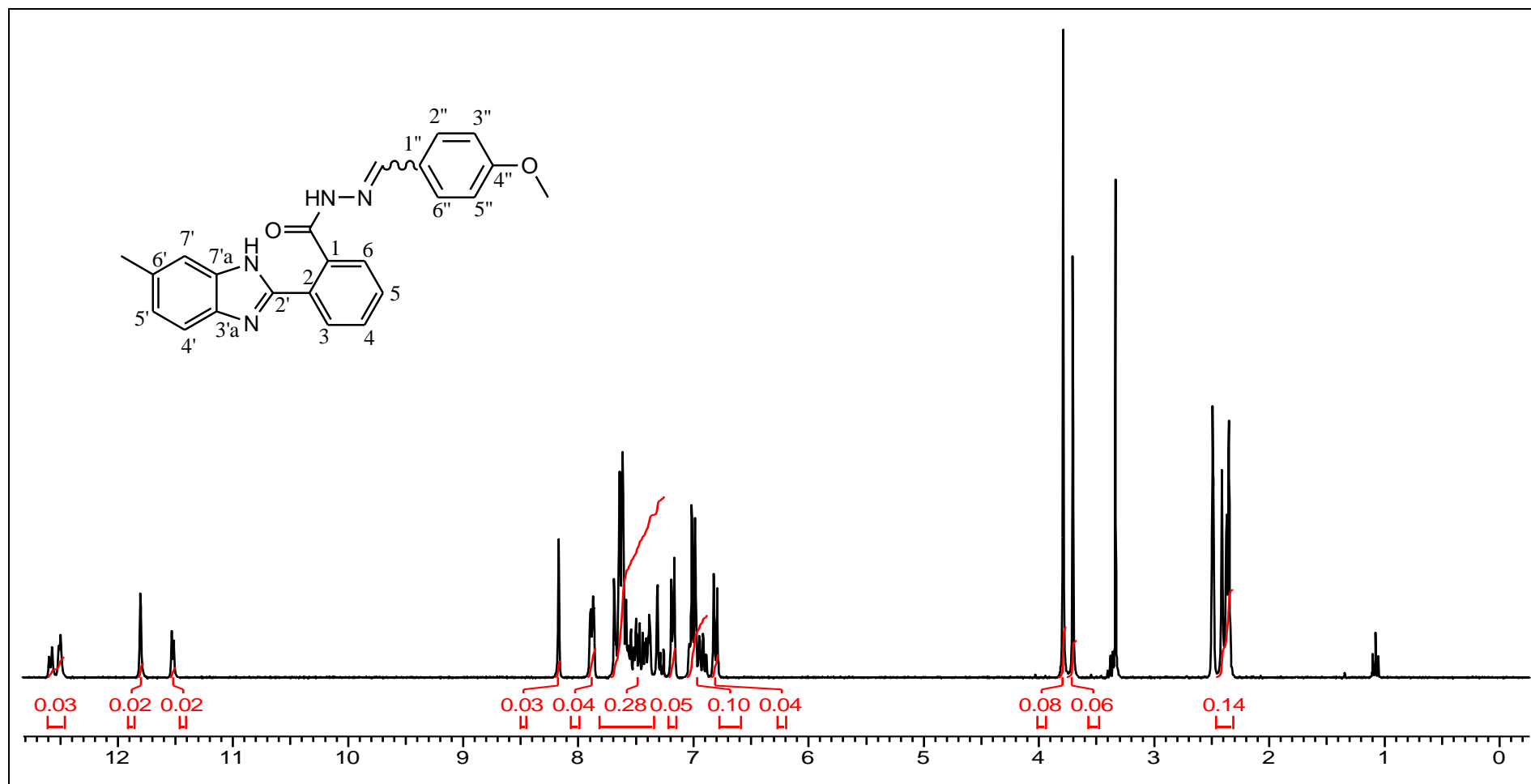


Figura A - 77: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **33b**.

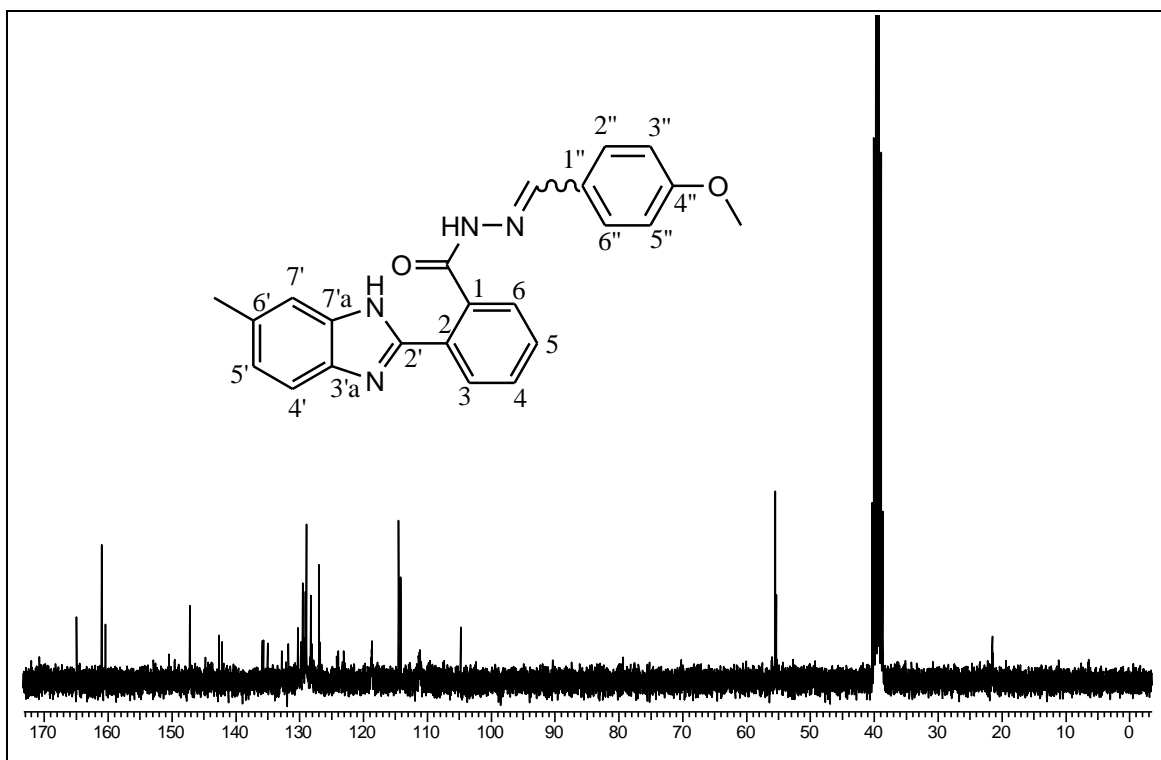


Figura A - 78: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33b.

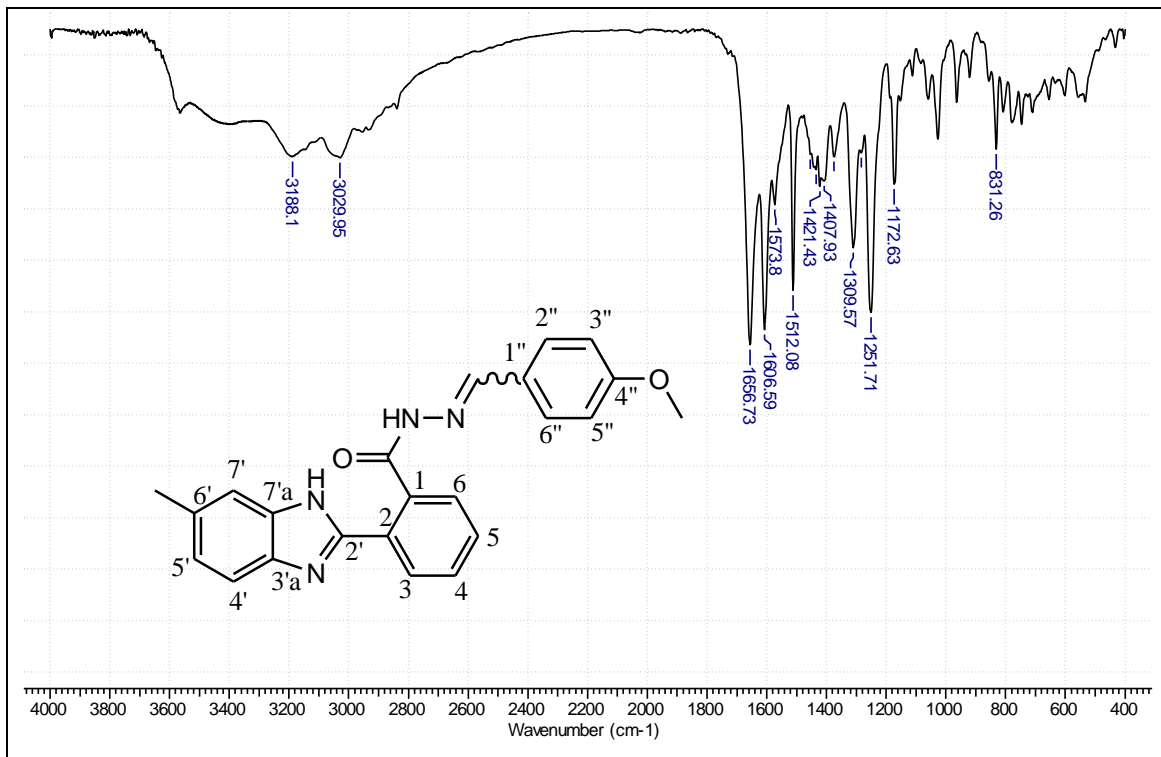


Figura A - 79: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33b.

N'-(o-clorobenzilideno)-2-(6'-metil-1'H-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33c)

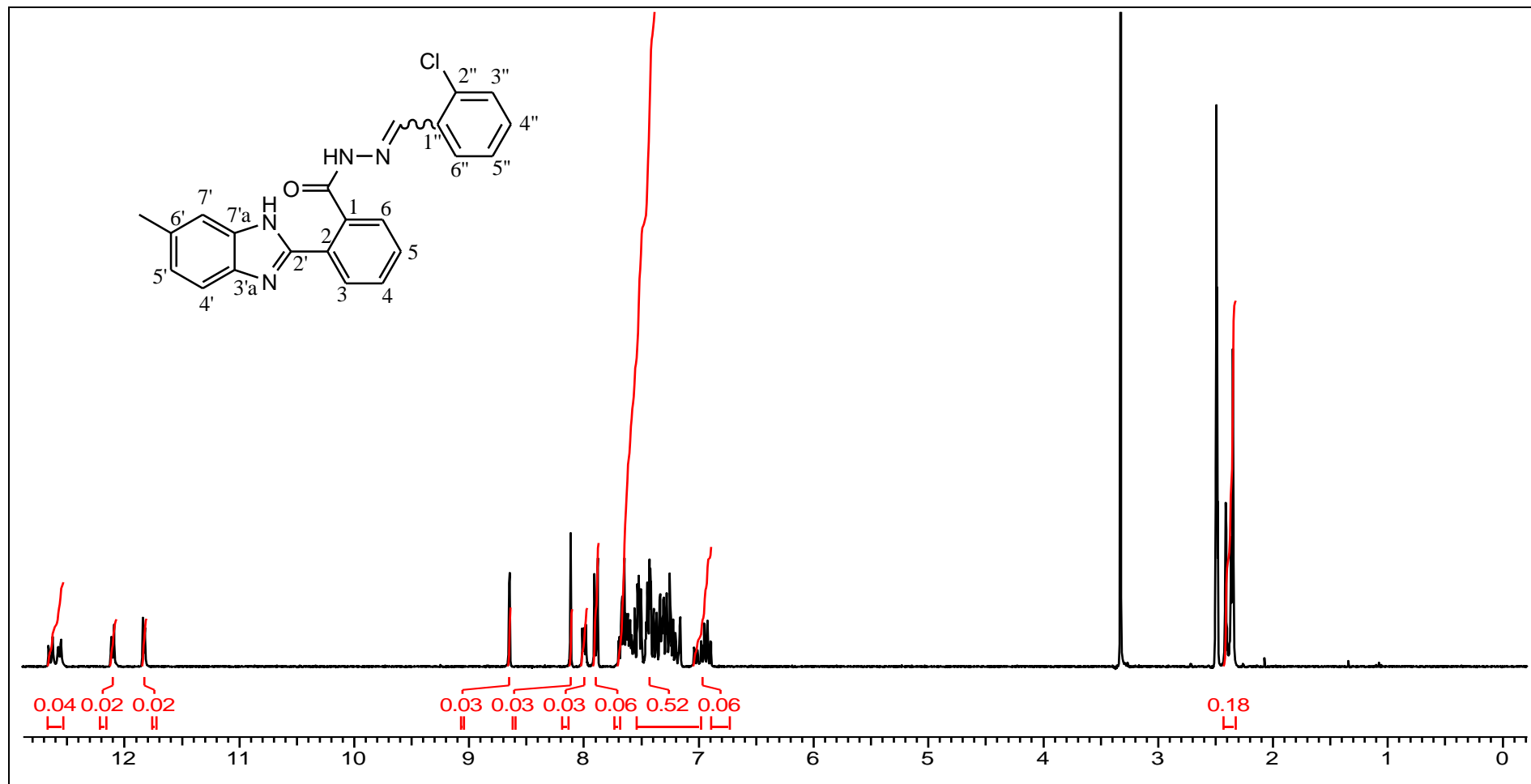


Figura A - 80: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto **33c**.

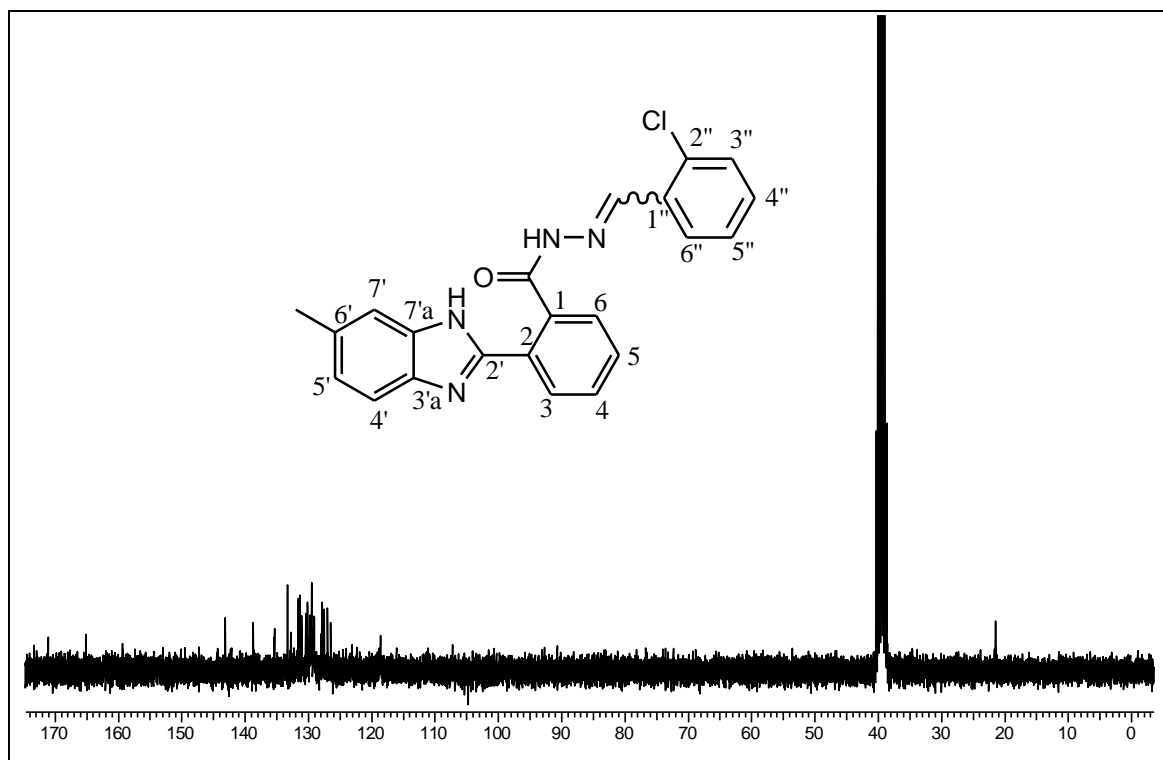


Figura A - 81: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33c.

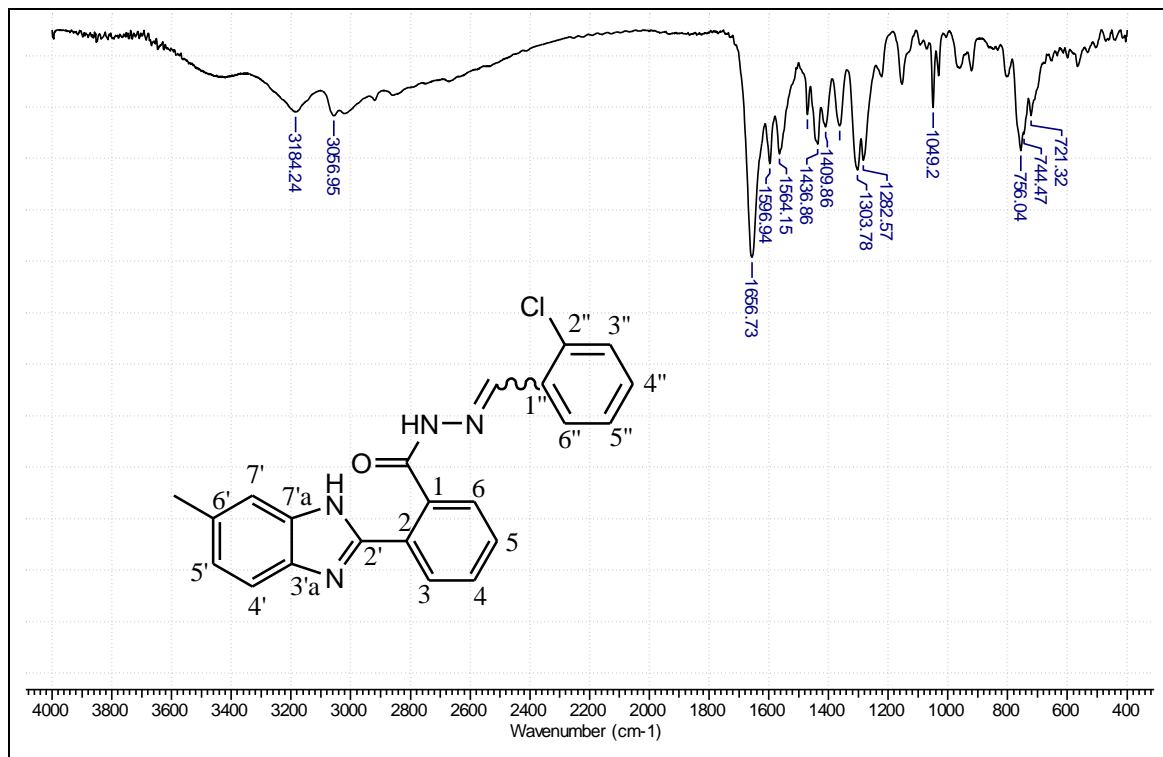


Figura A - 82: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33c.

***N'*-(*p*-fluorbenzilideno)-2-(6'-metil-1'*H*-benzimidazol-2'-il)benzoidrazida (33d)**

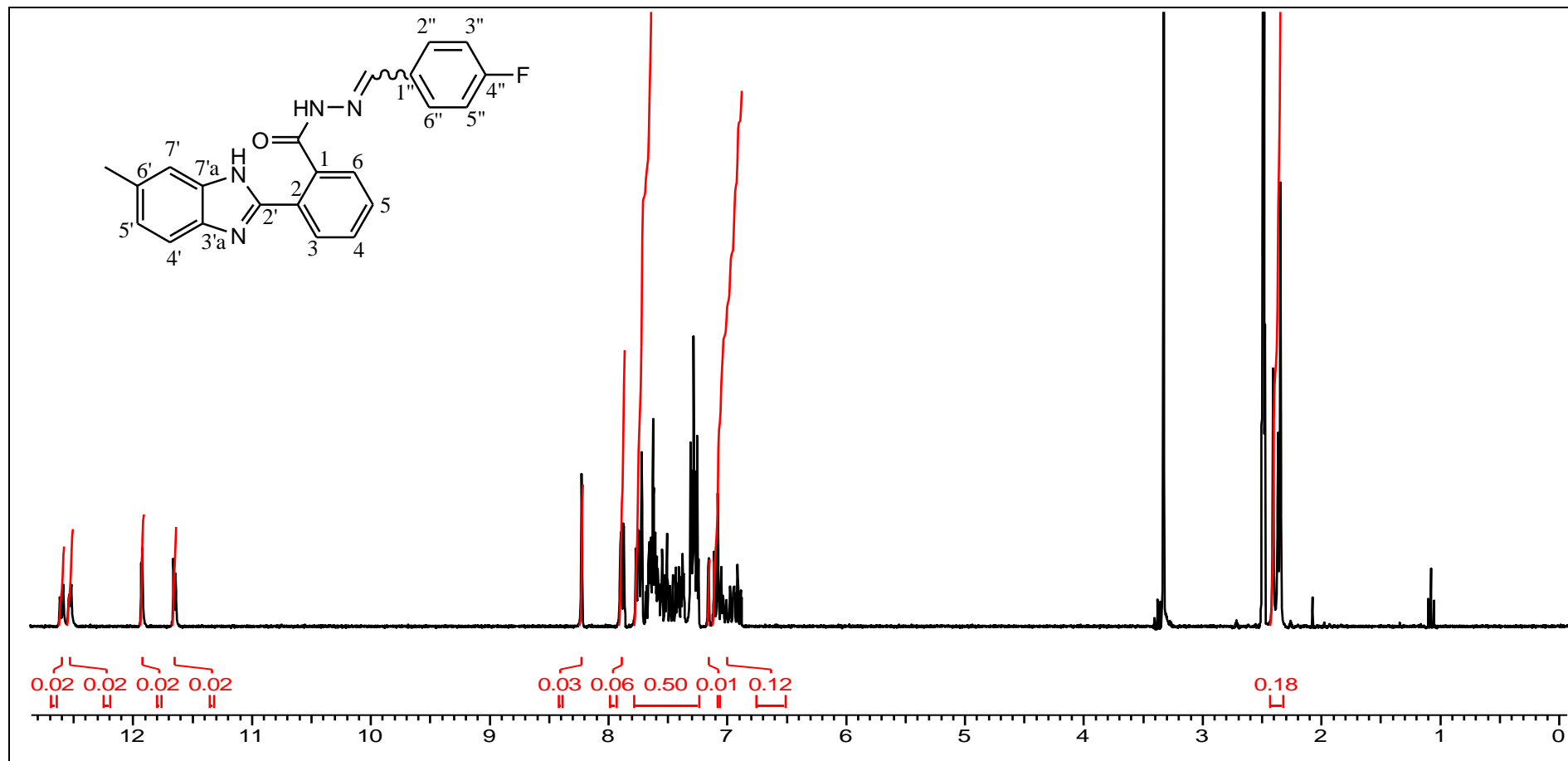


Figura A - 83: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 33d.

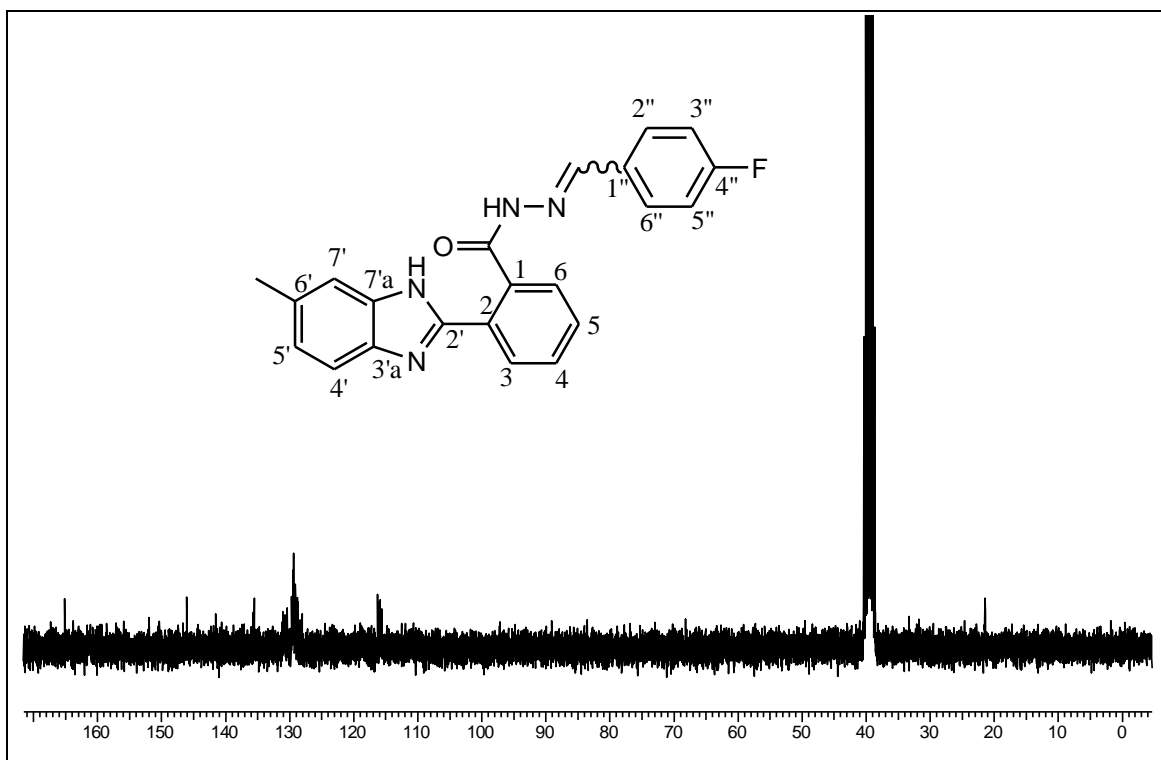


Figura A - 84: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33d.

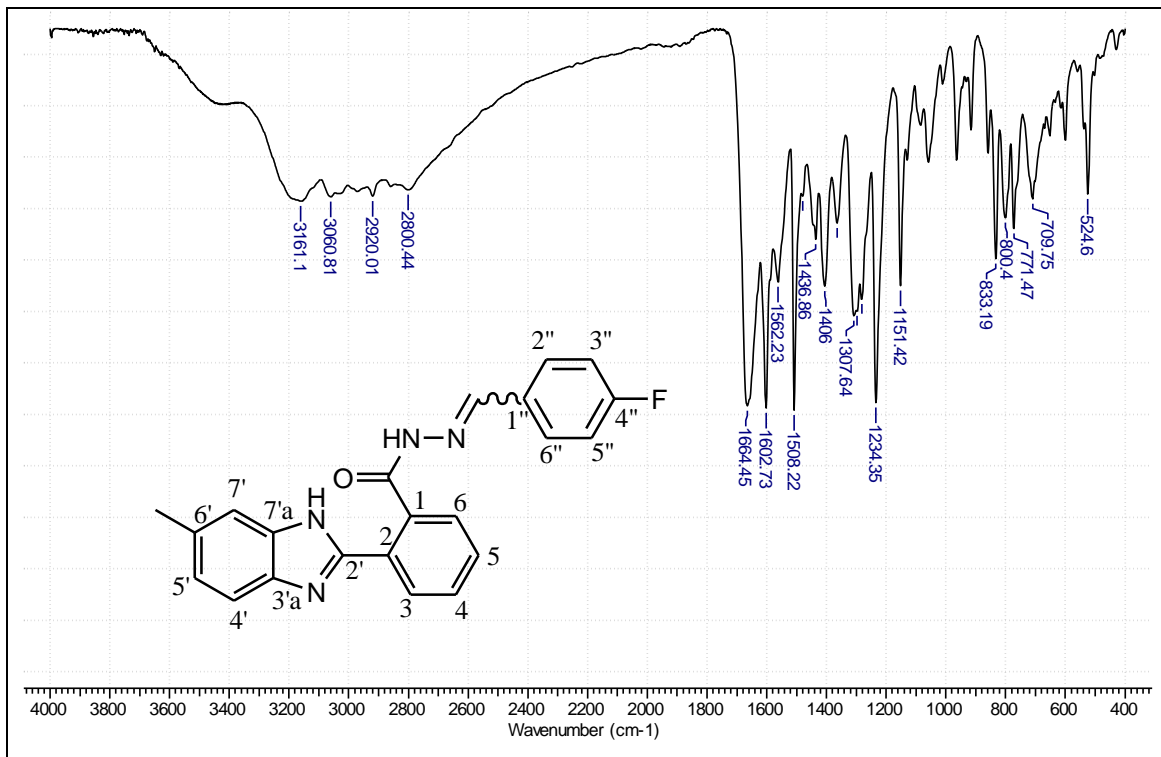


Figura A - 85: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33d.

2-(6'-metil-1'H-benzimidazol-2'-il)-N'-[(tiofeno-2''-il)metileno]benzoidrazida (33e)

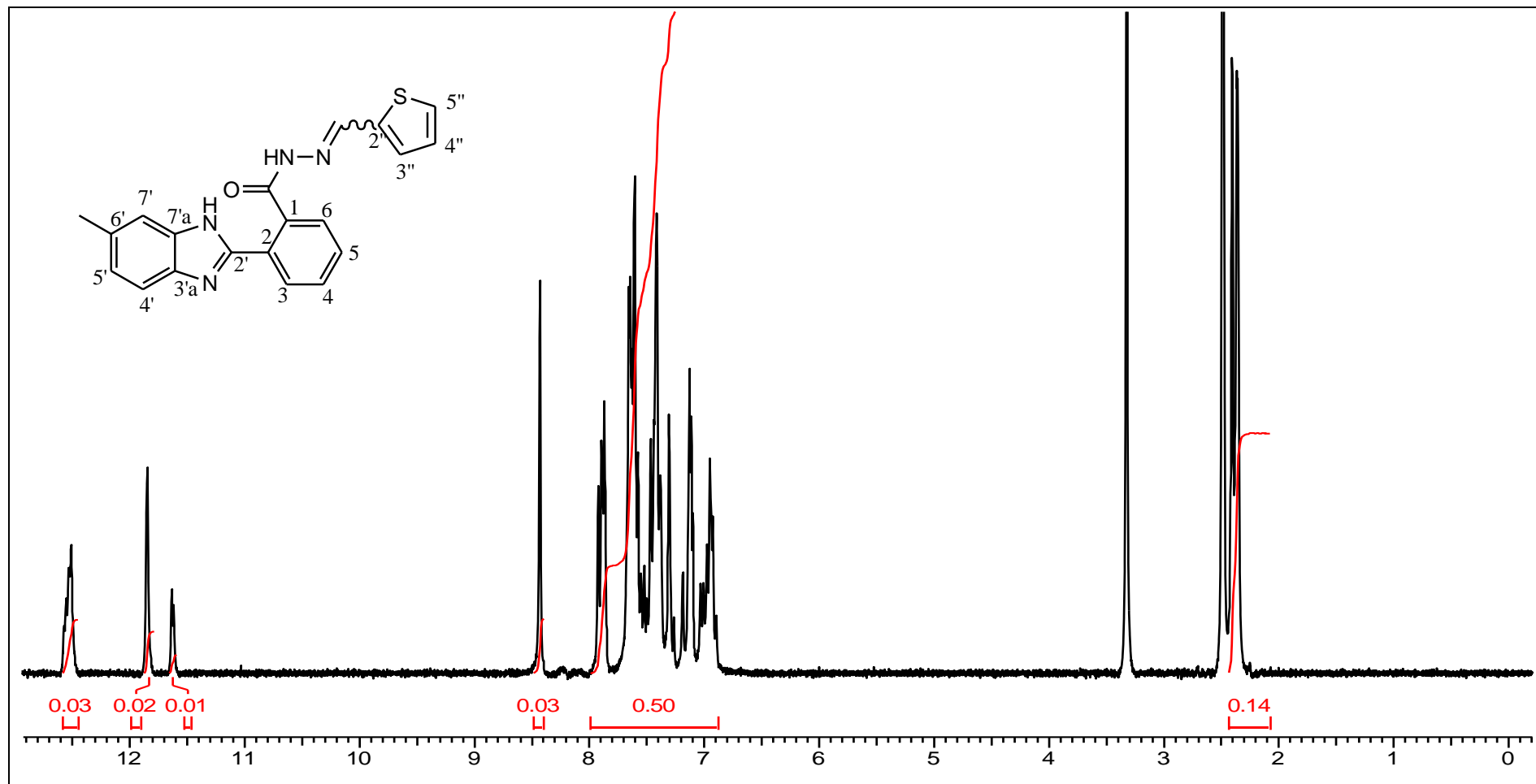


Figura A - 86: Espectro de RMN ¹H (300,06 MHz, DMSO-d₆) do composto 33e.

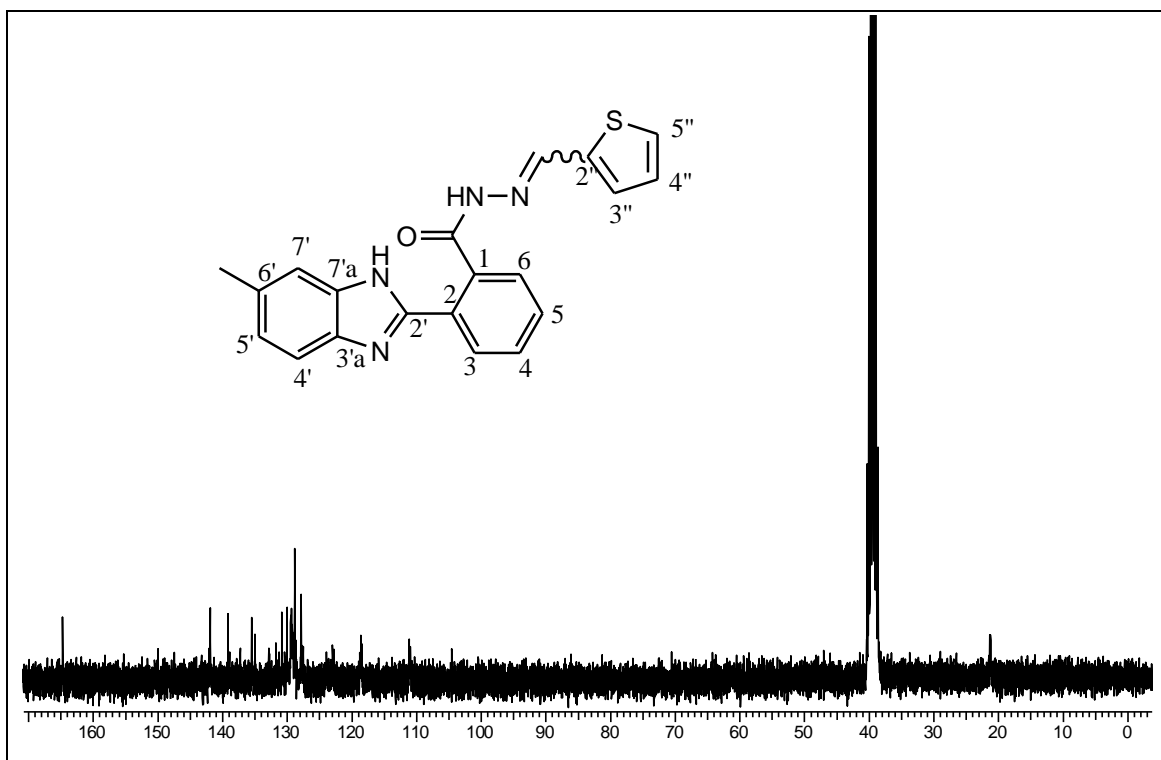


Figura A - 87: Espectro de RMN ^{13}C (75,46 MHz, DMSO-d_6) do composto 33e.

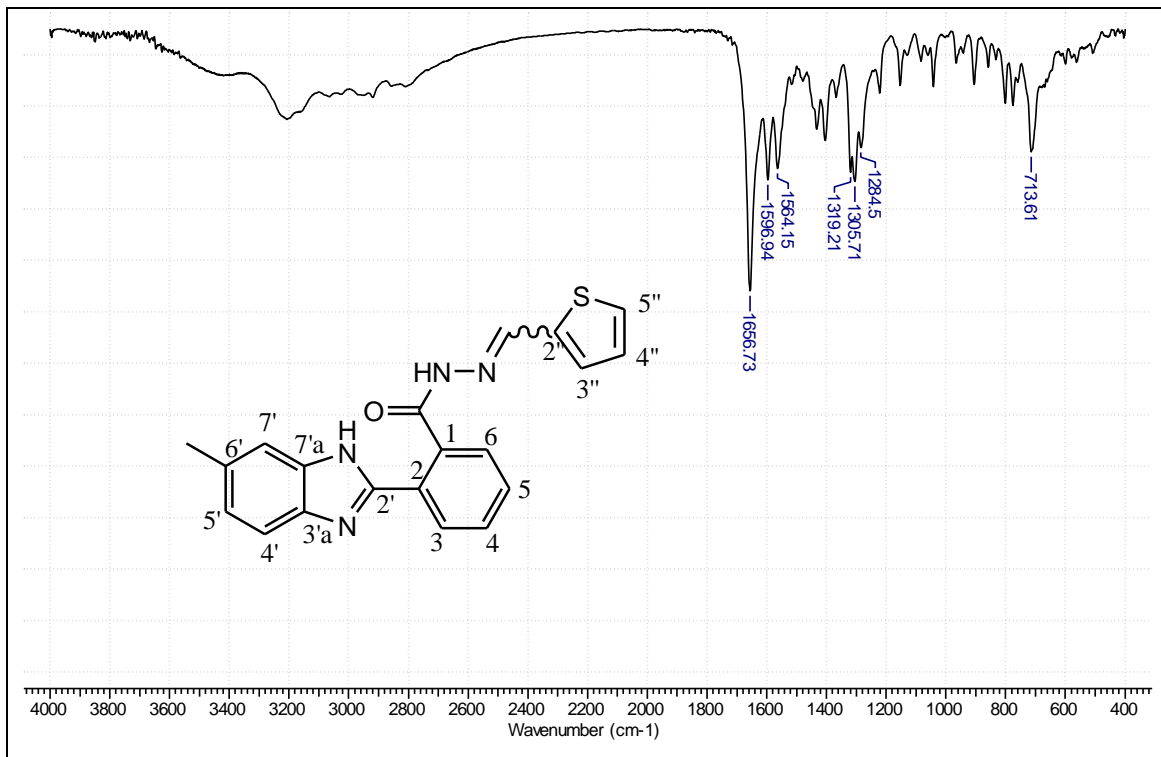


Figura A - 88: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 33e.