



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



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ORGANOSSELÊNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTITUMORAL

MIN-FU NASCIMENTO HUANG

SAPIENTIA ÆDIFICAT

João Pessoa – PB
Agosto/2016



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



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS
ORGANOSSELÊNICOS COM POTENCIAL
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E
ANTITUMORAL

MIN-FU NASCIMENTO HUANG

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica.

Orientadores: Prof. **Dr. Petrônio Filgueiras Athayde Filho**
Prof. **Dr. Bruno de Freitas Lira**

*Bolsista CAPES

João Pessoa – PB
Agosto/2016

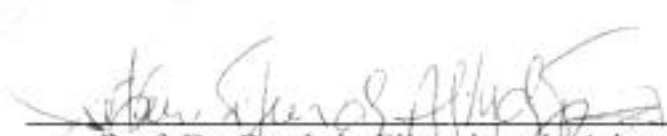
H874s Huang, Min-Fu Nascimento.
 Síntese de novos compostos organosselênicos com
 potencial atividade antimicrobiana e antitumoral / Min-Fu
 Nascimento Huang.- João Pessoa, 2016.
 129f.
 Orientadores: Petrônio Filgueiras Athayde Filho, Bruno de
 Freitas Lira
 Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN
 1. Química orgânica. 2. Organosselênio. 3. Antibacteriano.
 4. Antitumoral.

UFPB/BC

CDU: 547(043)

Síntese de novos compostos organosselênicos com potencial atividade antimicrobiana e antitumoral.

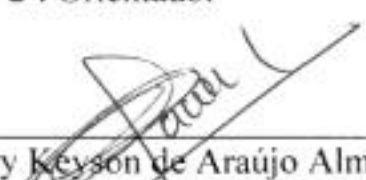
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Min-Fu Nascimento Huang e aprovada pela banca examinadora em 12 de agosto de 2016.



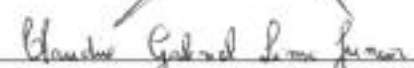
Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho
Orientador/Presidente



Dr. Bruno Freitas Lira
2º. Orientador



Prof. Dr. Dawy Keyson de Araújo Almeida
Examinador



Prof. Dr. Cláudio Gabriel Lima Júnior
Examinador

Dedicatória

Dedico esta dissertação a todos que contribuíram direta e indiretamente para este trabalho – em especial minha mãe Rivalde Ferreira do Nascimento que sempre me apoiou nessa jornada educacional e meu grande mestre Dr^o Marçal de Queiros Paulo que continua a me guiar nessa jornada de aperfeiçoamento na química.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar a força para continuar nessa jornada, onde as dificuldades foram vencidas graças a ele.

A minha família, tios queridos que tornaram os momentos difíceis mais aturáveis e mãe amada que fez com que tudo isso fosse possível sem ela nem estaria aqui

Ao Prof. Dr. Marçal de Queiros Paulo, por desde a graduação ter me dado o prazer de ser seu aluno, e como fosse pouco ter me dado a oportunidade de trabalhar ao seu lado, busco em sua jornada minha luz para seguir em frente.

Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho que me deu a satisfação de poder conhecê-lo e trabalhar ao seu lado, sei que foi difícil mais chegamos aqui mestre.

A Helivaldo Diogenes da Silva Sousa que me salvou quando todos os experimentos não funcionavam. Obrigada Helivaldo, você sempre me mostrou que havia uma luz no final do túnel, e que desistir é inadmissível. Obrigada por todos os ensinamentos.

A minha namorada Evilly que me dá alegria em todos os dias dessa caminhada e atura toda minha ausência

A toda família LPBS: Alam, Raquel, Wellisson, Genilson, Pricila, Emily, Gabi, Thamires, Claudia e Isabelle muito obrigado pela paciência sei que não é fácil trabalhar ao meu lado, agradeço a cada um tenho orgulho de trabalhar ao lado de tantas estrelas

Aos amigos de curso: Rafael Farias, Rafael Wilamis, Matheus, Carol, Andre, Joao Paula e amigos que encontrei na pós Antonio e Raquel.

A minha banca de qualificação Professores: Antonia Lucia e Cláudio Gabriel

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

A Capes, pelo apoio financeiro.

TITULO: **SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS ORGANOSSELÊNICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTITUMORAL**

RESUMO

O presente trabalho trata do planejamento, síntese e caracterização de moléculas organosselênicas com potencial atividade antimicrobiana e antitumoral, para tanto foram preparados uma série de 12 compostos organosselênicos inéditos (bis-selenetos) contendo a função amida, sintetizados a partir da reação de substituição de cloretos de alquila (com/ou sem substituintes) com uma espécie nucleofílica de selênio preparado a partir do selênio elementar (Se^0 , amorfo), obtendo bis-selenetos com variações programáticas com rendimentos que variaram de 72-85 %. A caracterização estrutural dos compostos está baseada em vários experimentos de RMN ^1H , RMN ^{13}C e infravermelho. Além da preparação e caracterização foram realizados os estudos de avaliação farmacocinéticos *in silico* e um ensaio preliminar de citotoxicidade frente a *Artemia Salina* Leach. Os resultados revelaram que dois compostos o SeA5 e o Se2A5 apresentaram respectivamente DL_{50} de 127 e 156 ppm. De maneira geral os estudos frente a esses novos compostos organosselênicos obtiveram resultados promissores ao serem avaliados teoricamente na sua disponibilidade oral e apresentando bons perfis farmacológicos de baixa toxicidade (*Artemia Salina* Leach, Osires). Outro dado importante obtido foi à demonstração da interação do tipo Nitrogênio Selênio por meio de espectros RMN ^1H , esse estudo gerou informações significativas em torno dos compostos organosselênicos. Por fim ensaios microbiológicos frente bactérias e fungos, indicarão ótima atividade frente ao gênero *cândida albicans* para os compostos SeA3 e Se2A3, que possuíram CIM de 128 μg .

Palavras-chave: Organosselênio, selenetos, antimicrobiana, antitumoral.

**TITLE: SYNTHESIS OF NEW ORGANOSELÊNICOS COMPOUNDS WITH
POTENTIAL ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND ANTITUMORS**

ABSTRACT

This work deals with the design, synthesis and characterization of organoselênicas molecules with potential antimicrobial and antitumor activity, for both were prepared a series of 12 unpublished organoselênicos compounds (bis-selenide) containing the amide function, synthesized from the chloride substitution reaction alkyl (with / or without substituents) with a nucleophilic selenium species prepared from the elemental selenium (Se^0 amorphous) to give bis-selenide with programmatic variations in yields ranging from 72-85%. The structural characterization of the compounds is based on several experiments NMR ^1H , NMR ^{13}C and IR. In addition to the preparation and characterization studies pharmacokinetic evaluation in silico and a preliminary test facing cytotoxicity *Artemia Salina* Leach were performed. The results revealed that the two compounds SeA5 and Se2A5 respectively showed LD_{50} of 127 and 156 ppm. In general the studies forward to these new organoselênicos compounds obtained promising results when assessed theoretically in its oral availability and showing good pharmacological low toxicity profiles (*Artemia Salina* Leach, Osires). Another important factor was obtained to demonstrate the interaction of nitrogen Selenium type by NMR ^1H spectra, this study generated significant information around organoselênicos compounds. Finally microbiological testing front bacteria and fungi, indicate great activity against *Candida albicans* gender for compounds SeA3 and Se2A3, who owned MIC 128 μg .

Keywords: organoselenium, selenides, antimicrobial, antitumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Algumas funções contendo selênio	25
Figura 2: Selenocisteína e Cisteína	26
Figura 3: Alimentos naturais, amêndoas de diversos frutos que representam fontes ricas em selênio.	29
Figura 4: (8) Disseleneto de Difenila (PhSe) E (9) Ebselen.....	31
Figura 5: Estrutura dos intermediários obtidos (A1-2A6).....	41
Figura 6: Mecanismo proposto para obtenção das acetanilidas.....	41
Figura 7: Estruturas dos doze selenetos inéditos sintetizados no presente trabalho (SeA1 - Se2A6)	42
Figura 8: Mecanismo proposto para a reação de obtenção dos bis-selenetos	44
Figura 10: Estrutura molecular de selenetos genéricos enumerados.....	48
Figura 11: Comparação dos deslocamentos sofridos pelo hidrogênio 7(H7).	49
Figura 12: Comparação dos deslocamentos sofridos pelo carbono 7 (C-7).....	51
Figura 12: Lipofilicidade (cLogP) dos selenetos orgânicos obtida no programa Osiris Property Explorer.	66
Figura 13: Solubilidade dos selenetos obtidos no programa Osiris Property Explorer	67
Figura 15: Valores de druglikeness dos selenetos orgânicos	68
Figura 16 : Valores de <i>drug-score</i> dos novos organosselênicos	69
Figura 17: – Esquema do ensaio de citotoxicidade em <i>Artemia salina</i>	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Algumas propriedades físicas e químicas do selênio	22
Tabela 2: Rendimentos dos compostos sintetizados nesse trabalho	44
Tabela 4: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (SeA1-7)	54
Tabela 5: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (Se2A1-5).....	54
Tabela 6: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (SeA1-7)	55
Tabela 7: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (Se2A1-5).....	55
Tabela 8: Deslocamentos químicos dos hidrogênios (N-H) dos selenetos e seus intermediários.	56
Tabela 9: Principais bandas de absorção dos novos compostos organosselênicos (IV cm^{-1}).	59
Tabela 10: Análise teórica das propriedades físico-químicas dos novos compostos organosselênicos envolvidas na biodisponibilidade oral para fármacos, seguindo a regra dos cinco de Lipinski, calculado pelo Molinspiration.	64

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese direta de selenetos orgânicos a partir de dióxido de selênio	27
Esquema 2: Inserção do selênio elementar em compostos organolítio ou de Reagentes de Grignard	32
Esquema 3: Reação de selênio com amidas	32
Esquema 4: Redução de disseleneto de fenila com boro hidreto alcalino ..	33
Esquema 5: Espécies nucleofílicas via selênio elementar.	34
Esquema 6: Reações com halogenetos nas preparações de várias classes contendo selênio	35
Esquema 7: Condensação entre selenocisteína e alquil halogenetos, e reação de disseleneto de fenila e β -cloroalanina.....	36
Esquema 8: Espécies de selênio nucleofílicas gerados a partir de disselenetos.....	36
Esquema 9: Rota sintética de obtenção dos intermediários (cloretos de arilacetamidas)	40
Esquema 10: Esquema da via sintética das reações de obtenção dos bis-selenetos.....	44

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) composto A1.....	46
Espectro 2: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do composto A1.....	47
Espectro 3: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) do composto SeA1....	49
Espectro 4: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO)do composto SeA1.	50
Espectro 5: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) do composto Se2A4..	52
Espectro 6: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO)do composto SeA1	53
Espectro 7: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA1.....	112
Espectro 8: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA1.....	112
Espectro 9: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA1	113
Espectro 10: – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA2	113
Espectro 11: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do composto SeA2 em DMSO-d_6	114
Espectro 12: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA2	114
Espectro 13: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do composto SeA3 em DMSO-d_6	115
Espectro 14: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA3	115
Espectro 15: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA3	116

Espectro 16: Espectro 13 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA4.....	116
Espectro 17: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA4.....	117
Espectro 18: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA4	117
Espectro 19: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA5.....	118
Espectro 20: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA5.....	118
Espectro 21: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA5	119
Espectro 22: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA6.....	119
Espectro 23: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA6.....	120
Espectro 24: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA6	120
Espectro 25 : Espectro 13 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A1.....	120
Espectro 26: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A1.....	121
Espectro 27: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A1.....	122
Espectro 28: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A2.....	122
Espectro 29: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A2.....	123
Espectro 30: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do	

composto Se2A2.....	133
Espectro 31: – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A3.....	134
Espectro 32: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A3.....	123
Espectro 33: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A2.	125
Espectro 34: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A4.■.....	125
Espectro 35: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A4.	
Espectro 36: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A4	126
Espectro 37: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A6.■.....	127
Espectro 38: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A6.....	127
Espectro 39: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A6	128
Espectro 40: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA7.....	128
Espectro 41: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A6.....	129
Espectro 42: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA7	129

LISTA DE ABREVIATURAS

CIM	Concentração Inibitória Mínima
<i>d</i>	Dubleto
<i>dd</i>	Duplo dubleto
DL₅₀	Dose nessessaria para mata 50% da população
dt	Duplo tripleto
GPX	glutamine peroxidaze
IV	Espectroscopia de infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hertz)
LogS	Solubilidade
Met	Metil
MHz	Mega Hertz
<i>q</i>	Quarteto
<i>s</i>	Singleto
<i>t</i>	Tripleto
δ	Deslocamento químico em parte por milhão

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	22
2.1. Selênio	22
2.2. Compostos orgânicos de selênio	24
2.3. Selenetos de arila	26
2.4. Atividade Biológica e Toxicologia	28
2.5. Selênio e tumores	29
2.6. Disseleneto de Difenila (PhSe) ₂ e Ebselen.....	31
2.7. Preparação de Espécies Nucleofílicas de Selênio.....	32
2.7.1 Reações Nucleofílicas de Selênio Espécies	35
3. OBJETIVOS	38
3.1 Objetivos gerais	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Sínteses dos intermediários cloretos de arilacetamidas.....	40
4.2 A síntese dos Selenetos de alquila.....	42
4.3 Caracterização Estrutural dos Compostos Intermediários	46
4.4 Caracterização Estrutural dos Selenetos SeA1-7 e Se2A1-5	48
4.5 Interação nitrogênio selênio	56
4.6 Interpretação dos espectros de absorção na região do infravermelho dos compostos organosselênicos.....	58
4.5 Ensaio biológico de citotoxicidade	60
4.8 Análise <i>in silico</i> dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET)	63
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	72
6.3.1 Preparação dos cloretos de fenilacetamida	76
6.3.2 Preparação do 2-cloro-N-denilacetamida (A1).....	76
6.3.3 Preparação de 2-cloro-N-(<i>p</i> -tol)acetamida (A3)	76
6.3.4 Preparação de 2-cloro-N-(4-etilfenil)acetamida (A4).....	78
6.3.5 Preparação de N-(4-bromofenil)-2-cloroacetamida (A5).....	79

6.3.6 Preparação de 2-cloro- <i>N</i> -(4-clorofenil)acetamida (A6)	80
6.3.7 Preparação de 2-cloro- <i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida (A2)	81
6.4 Síntese dos bis-selenetos orgânicos:	82
6.4.1 Preparação do 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -fenilacetamida) (SeA1)	82
6.4.2. Preparação do 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(<i>p</i> -toluil)acetamida) (SeA4)	83
6.4.3 Preparação do 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-etilfenil)acetamida) (SeA3)	84
6.4.4 Preparação do 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-nitrofenil)acetamida) (SeA2)	85
6.4.5 Preparação do 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-bromofenil)acetamida) (SeA5)	86
6.4.6 Preparação 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-clorofenil)acetamida) (SeA6)	87
6.4.7 Preparação 3,3'-selenobis(<i>N</i> -fenilpropanamida) (Se2A1)	88
6.4.8 Preparação 3,3'-seleno-bis(<i>N</i> -(<i>p</i> -toluil)propanamida) (Se2A3)	89
6.4.9 Preparação 3,3'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-etilfenil)propanamida) (Se2A4)	90
6.4.10 Preparação 3,3'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-nitrofenil)propanamida) (Se2A2)	91
6.4.12 Preparação 3,3'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-clorofenil)propanamida) (Se2A5)	92
.....	92
6.4.6 Preparação 2,2'-seleno-bis(<i>N</i> -(4-metoxifenil)acetamida) (SeA7)	93
6.5 Análise <i>in silico</i> dos Selenetos através dos parâmetros ADMET	94
6.6 <i>Artemia salina</i> LEACH	95
REFERENCIAS	100
APÊNDICE	111

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Estudos demonstram que o selênio em baixas concentrações é um elemento nutricional essencial aos mamíferos (RAYMAN, 2002). Na forma de selenocisteína este micronutriente encontra-se presente no sítio ativo de diversas enzimas com papel antioxidante como a glutathione peroxidase e a fosfolipídeo hidroperóxido glutathione peroxidase (GOVINDASAMY, 2001). Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a deficiência de selênio na dieta está relacionada com a gênese e ou progressão de diversas patologias como desordens cardiovasculares, neurológicas, câncer e diabetes (CLARK *et al.*, 1991; COMBS and GRAY, 1998; REDDI *et al.*, 2001).

Atualmente não se sabe ao certo o mecanismo de ação tóxica deste elemento apesar de vários estudos sugerirem que estes efeitos estão associados à sua habilidade em catalisar a oxidação de tióis endógenos e, causar a gênese de radicais livres (NOGUEIRA *et al.*, 2003a; 2004). A elaboração de moléculas orgânicas contendo selênio vem demonstrando a minimização de seus efeitos tóxicos. Em contradição, estes efeitos pró-oxidantes estão diretamente envolvidos no mecanismo de proteção que este elemento oferece contra doenças como o câncer (SPALLHOZ *et al.*, 2001a; SPALLHOZ *et al.*, 2004).

A atividade antioxidante exibida pelo selênio parece ser responsável pela sua eficácia no tratamento de doenças que envolvem estresse oxidativo como processo central no seu desenvolvimento. Além da propriedade antioxidante, determinados compostos de selênio exibem ação antinociceptiva, neuroprotetora, antiinflamatória, anticarcinogênica, hepatoprotetora e mimética de varias enzimas e proteínas (STAPLETON *et al.*, 2000; ROSSATO *et al.*, 2002; PORCIUNCULA *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2003b; ZASSO *et al.*, 2005; BORGES *et al.*, 2006). Em vista disto,

tem crescido muito nas últimas décadas o interesse em investigar o perfil farmacológico de compostos de selênio como possíveis agentes terapêuticos no tratamento de diversas patologias, desempenhando um papel protetor contra danos oxidativos de diversas células (BŁASIAK *et al.*, 2004).

Diversos estudos demonstram que o selênio inserido na dieta entre 50 a 200 µg/dia, apresenta atividade anticarcinogênica mostrando que a suplementação dietética com selênio em doses acima das nutricionalmente requeridas inibe o processo de carcinogênese experimental em vários tipos de câncer (SPALLHOZ, 1994; FLEMING *et al.*, 2001).

Além dos diversos efeitos protetores já mencionados, ensaios com compostos organosselênicos, mostraram eficiente mecanismos destes em provocar a morte e ou apoptose de diversas linhagens de células tumorais (GOVINDASAMY, 2001; YIKAI, 2014).

Novos estudos também demonstram que compostos organosselênicos exibem uma latente atividade frente a cepas de bactérias resistentes, essa propriedade e de primordial importância tendo em vista o crescente número de óbitos que apresentam as infecções bacterianas (PHAT, 2009; RADHAKRISHNA, 2010). O mecanismo proposto ao combate de bactérias resistentes vem demonstrando ser uma estratégia inteligente, associando fármacos já consagrados a selênio compostos que exibem a inativação dos mecanismos de defesa bacteriana (BR1020130340502, data de depósito: 18/12/2013, no Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI.).

Considerando os aspectos acima mencionados, o presente estudo tem por objetivo sintetizar uma série de compostos organosselênicos inéditos, com potencial atividade antimicrobiana e antitumoral.

Capítulo 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Selênio

O Selênio foi descoberto em 1817, pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius. Este elemento localiza-se no grupo VI da tabela periódica podendo ser encontrado em quatro estados de oxidação: Se^0 , Se^{+6} , Se^{+4} , Se^{-2} . O selênio pertencente a mesma família do enxofre e compartilha propriedades físicas e químicas com o mesmo. Estas similaridades permitem que ocorra a substituição do selênio pelo enxofre em diversas reações químicas que acontecem nos sistemas biológicos. Por outro lado, as diferenças entre esses elementos constituem a base essencial de seus respectivos papéis biológicos.

Tabela 1: Algumas propriedades físicas e químicas do selênio

Propriedades	Selênio (Se)
Numero atômico	34
Massa atômica relativa	78,96
Raio atômico	0,14nm
Raio covalente	0,116nm
Eletronegatividade (Pauling)	2,55
Potencial de ionização	9,75eVal
Estrutura eletrônica	$[\text{Ar}]3d^{10}4s^24p^4$
Estados de oxidação	2,0,+2,+4,+6
Ponto de fusão	217°C
Ponto de ebulição	685°C
Densidade	4,26-4,79

(Fonte: http://www2.fc.unesp.br/lvq/LVQ_tabela/034_selenio.html).
Data de acesso: 26/06/2016

Os compostos de selênio nos sistemas biológicos geralmente se apresentam na forma de selenol ($R-SeH$) ou Selenóis, estes são compostos correspondentes à forma de tióis ($R-SH$), onde o átomo de Se é substituído pelo átomo de S. A principal diferença química entre selenóis e tióis está relacionada com as suas respectivas constantes de dissociação e seus caracteres nucleofílicos (KLAYMAN, 1973). Devido a este maior caráter nucleofílico os selenóis são capazes de reduzir dissulfetos e sulfóxidos e ainda na presença de agentes oxidantes serem convertidos a seus respectivos disselenetos (KLAYMAN, 1973).

Portanto, selênio e seus compostos não são exatamente novos para uso em química orgânica. Em 1929 surgiu a primeira patente de I.G. Farbenindustrie AG para o uso de dióxido de selênio como oxidante em química orgânica sintética (KACER, 1933). Desde essa época, o dióxido de selênio tem sido conhecido como um reagente valioso para oxidações e hidroxilação (WOGGON, 1996), e por causa da sua volatilidade foi usado no processo de purificação de selênio elementar. (ZYBILL, 1997). A principal fonte de selênio é a lama depositada no ânodo durante a refinação eletrolítica de cobre. Selênio é usado em dispositivos eletrônicos como fotocondutor, semicondutor, como um descolorante do vidro, na indústria de pigmentos e como um micronutriente essencial. Sua produção atinge vários milhares de toneladas por ano. Em 1957, o selênio foi descoberto como um elemento essencial na dieta (SCHWARZ, 1957). Desde esse tempo, as propriedades biológicas de selênio foram investigadas, e, em 1973, o primeiro selenoenzima, glutathione peroxidase, foi descoberta (FLOHÉ *et al.*, 1973). Isto tem levado a um crescente interesse na enzimologia e as propriedades biorgânicas do selênio (SPALLHOLZ, 1981; SHAMBERGER, 1983; SCHRAUZER, 1998).

Em meados do ano de 1970, a formação de alcenos por decomposição de selenóxidos foi divulgado como um processo muito versátil sob condições ordinárias (JONES *et al.*, 1970). Desde essa época, a

química dos organoselênio tem sido focada pelos químicos orgânicos. Os trabalhos seguintes demonstraram um rápido crescimento da química dos compostos orgânicos desta classe de substância. Isto é refletido em um grande número de publicações referentes a estes compostos, aos quais podem ser eficientemente introduzido, manipulado e removido de diversas maneiras diferentes, sob condições suaves e, geralmente com bons rendimentos. Muitas destes compostos referidos estão comercialmente disponíveis (SELEN, 1998).

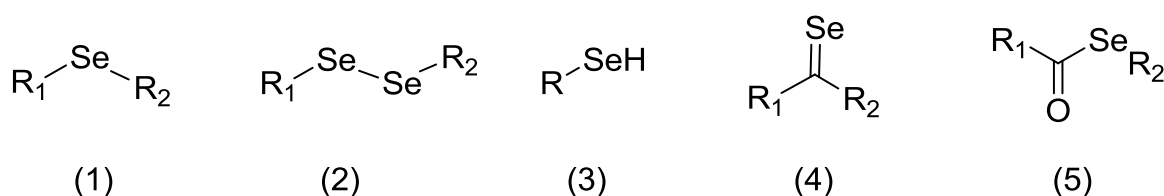
2.2 Compostos orgânicos de selênio

O selênio é um calcogênio quimicamente relacionado com o enxofre e o oxigênio. Esse elemento apresenta diversas aplicações no âmbito da química inorgânica, incluindo usos como materiais semicondutores, dispositivos fotovoltaicos e como integrante da tinta de *toners* para impressão. Seu principal uso industrial se dá na indústria de materiais (vidro e cerâmica) na produção destes materiais de coloração vermelha (FLEMER *et al*, 2011). Além disso, o selênio elementar é um micronutriente biológico importante, sendo essencial para o funcionamento do organismo. Ao contrário da vasta química inorgânica em torno do elemento selênio, a química orgânica onde se trabalha com compostos contendo ligações carbono-selênio, é muito menos explorada.

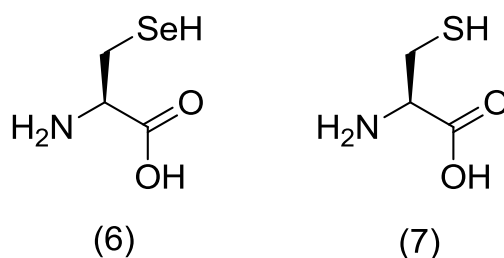
Em comparação com a enorme gama de aplicações dos calcogênios de menor peso atômico, a presença de selênio na química orgânica pode ser considerada pouco frequente (FLEMER *et al*, 2011). Embora praticamente todas as estruturas orgânicas contendo oxigênio ou enxofre são potenciais compostos organoselênio envolvendo para isto a troca destes elementos pelo selênio, na prática ocorre que a formação de grupamentos funcionais contendo selênio não são tão simples assim.

Na **figura 1** estão apresentados alguns grupamentos funcionais de substância orgânicas contendo na sua estrutura molecular o selênio a exemplo do: seleneto (1), disseleneto (2), selenol (3), selona (4) e selenoester (5), segundo Flemer e colaboradores (2011).

Figura 1: Algumas funções contendo selênio



Na forma estrutural de selenol ($R-SeH$) ou de sua base conjugada selenolato ($R-Se^-$), o selênio orgânico está em uma das suas formas mais reativas. Devido à grande diferença de pK_a quando comparado à tióis, por exemplo: $pK_a \sim 5$ para selenóis vs $pK_a \sim 8$ para tióis, o grupo funcional selenol, em sistemas biológicos, existe como o selenolato correspondente, agindo como um poderoso nucleófilo com alto potencial oxidativo (KLAYMAN, 1973). Na verdade, o grande interesse pelos compostos organosselênicos reside devido o meio biológico. A maior fonte de selênio dentro do corpo dos mamíferos são os resíduos do aminoácido selenocisteína (6), apresentado na **figura 2**, no qual a cadeia lateral é isostérica ao aminoácido contendo tiol, a cisteína (7). O selenol dos resíduos de selenocisteínas é um componente crucial de muitas enzimas que agem no metabolismo redox como a tioredoxina redutase 2 e a glutational peroxidase (GPx). (GLADYSHEV *et al.*, 1996).

Figura 2: Selenocisteína e Cisteína

2.3 Selenetos de arila

Selenetos de diarila são reagentes centrais na química dos organosselênios (KLAYMAN, 1973). Eles tem demonstrado ser intermediários valiosos e síntons úteis em síntese orgânica, tendo em vista que os átomos de selênio podem ser facilmente removido de moléculas orgânicas. Além disso, diaril e difenil selenetos atraem considerável atenção devido à sua atividade biológica notável e seu potencial como antioxidante, eficiente antitumoral, agentes anti-infecciosos, inibidores e enzimas, mimética glutathione peroxidase e imunomoduladores (MUGESH, 2000; NOGUEIRA *et al.*, 2004). Além disso, diaril-selenetos são intermediários chave na síntese de uma variedade de compostos de organosselênio biologicamente e farmacologicamente importantes, tais como sais de selênio, selenóxidos e selenetos (FREUDENDAHL *et al.*, 2009).

Selenetos de arila raramente têm sido estudados além do interesse farmacológico evidente. Estes compostos são promissores sistemas de ligantes multidentados tendo ambos os sítios 'duro' e 'mole' de ligação para criação de *frameworks* supramoleculares (JANIÁK, 2003).

Métodos tradicionais para preparação de selenetos de diarilas incluem as reações dos selenetos de metal selenocianatos ou reagentes de Grignard com halogenetos de arila com conversão de halogenetos de arila, subsequentemente a formação de selenetos através de intermediários de diazônio. As reações de acoplamento cruzado de halogenetos de arila ocorrem com selenóis de arila ou

selênoletos. (WIRTH, 2000). Em outros casos, estes métodos são trabalhosos e envolvem sínteses de várias etapas apresentando limitações ou desvantagens significativas. Portanto, apesar da versatilidade das vias sintéticas disponíveis, existe uma grande interesse para o desenvolvimento de métodos convenientes e simples para a síntese de selenetos de diarila (MUGESH. *et al.*, 2001).

A síntese direta de selenetos orgânicos a partir de dióxido de selênio pode ser considerada como uma abordagem alternativa razoável (**Esquema 1**), mas é pouco estudada. Em vários casos, este método proporciona rendimentos razoáveis, mas em alguns casos os selenetos são formadas apenas como produtos menores, muitas vezes exigindo uma separação trabalhosa do selênio precipitado e os produtos principais (ABELE *et al.*, 2004).

Esquema 1: Síntese direta de selenetos orgânicos a partir de dióxido de selênio



Entre as sínteses de diaril selenetos relatadas as mais investigadas pertencem a família dos derivados de indol, que formam diferentes tipos de selenetos dependendo dos substituintes, enquanto relatos sobre outras classes de compostos orgânicos são esporádicas. (JONES *et al.*, 2005). Para ampliar os conhecimento sobre síntese dos derivados de pirazol, estudos recentes foram realizados para obtenção deste tipo de reação, no entanto a síntese de selenetos de pirazois é atraente, considerando sua alta eficiência para a supressão de células de carcinoma associada com baixa toxicidade para mamíferos (SEREDYUK *et al.*, 2007; DOROFEENKO, Y.G *et al.*, 2002).

2.4 Atividade Biológica e Toxicologia

O papel do selênio como um elemento essencial na dieta, em diminutas concentrações, foi demonstrado experimentalmente em 1957 por Klaus Schwarz na Alemanha. Em 1980, a Junta de Alimentação e Nutrição da Academia de Ciências dos Estados Unidos propôs a ingestão diária entre 50 e 200 µg de selênio para homens adultos; aporte este considerado adequado e isento de efeitos tóxicos. Atualmente, o conhecimento sobre as necessidades dietéticas de selênio, tanto para homens como para animais, aumentou notavelmente. Existem várias evidências de que a deficiência deste micronutriente está diretamente relacionada com o desenvolvimento de doenças como: desordens cardiovasculares, cirrose, esclerose, câncer e diabetes (COMBS and GRAY, 1998; REDDI *et al.*, 2001).

O valor preventivo e terapêutico do selênio contra tais patologias parece estar fortemente associado com a propriedade antioxidante que o mesmo exibe. Tal propriedade se deve ao fato do mesmo fazer parte do sítio ativo de enzimas que desempenham papel antioxidante nos sistemas biológicos como a glutathione peroxidase (GPx) e a fosfolípídeo hidropéroxido glutathione peroxidase (PHGPx) (ROTRUCK *et al.*, 1973; RAYMAN, 2002). No entanto, a dose de selênio a ser administrada e/ou ingerida também constitui um fator crítico na atividade biológica do elemento, uma vez que, a quantidade requerida nutricionalmente (50 a 200 µg/dia) de selênio é muito próxima da quantidade considerada tóxica.

Apesar do rápido progresso no entendimento do metabolismo do selênio, os mecanismos de sua toxicidade ainda não estão totalmente definidos. No entanto, muitos dos achados sobre os efeitos tóxicos de determinados compostos de selênio estão associados à sua capacidade de catalisar a oxidação de tióis e de gerar espécies reativas de oxigênio (SPALLHOZ *et al.*, 2001a; NOGUEIRA *et al.*, 2004).

2.5 Selênio e tumores

A relação entre o selênio e a atividade anticarcinogênica foi sugerida na década de 60, baseada na observação de uma relação inversa entre níveis de selênio na população e número de mortes atribuídas a câncer. Sendo que, os maiores níveis do selênio foram encontrados na população de regiões cuja agricultura baseava-se em grãos e vegetais com maiores índices deste elemento. A **figura 3** mostra alguns exemplos naturais de fontes de selênio (SHAMBERGER e FROST, 1969). A partir deste período, muitos estudos em humanos têm demonstrado o papel antitumoral do selênio em diferentes tumores, incluindo pulmonar, esofágico, cardíaco, gástrico e de próstata (ZHUO *et al.* 2004; WEI *et al.*, 2004; VAN DEN BRANDT *et al.*, 2003; LI *et al.* 2004).

Figura 3: Alimentos naturais, amêndoas de diversos frutos que representam fontes ricas em selênio.



Fonte: <http://www.saudedicas.com.br/saude-geral/alimentos-ricos-em-selenio>

Data de acesso: 20/07/2016

Os efeitos antitumorais do selênio são atribuídos em parte à produção *in vivo* de metabólitos de baixo peso molecular como CH_3SeH (metilselenol), que demonstrou apresentar potente atividade antitumoral em diversos estudos (IP *et al.* 2000). São diversos os mecanismos associados ao efeito antitumoral do selênio, entre estes a diminuição de dano ao DNA (KOWALSKA *et al.*, 2005), diminuição do estresse oxidativo (RAYMAN, 2000) e de inflamação (RAYMAN, 2000) e inativação de PKC (GOPALAKRISHNA e GUNDIMEDA, 2002).

O estudo de compostos orgânicos de selênio sintéticos como agentes antitumorais em animais de laboratório foi primeiro demonstrado nos anos 80. Desde então, modificações em suas estruturas têm sido realizadas tornando estes compostos mais efetivos e menos tóxicos (NOGUEIRA *et al.*, 2004).

A modulação de vias de sinalização celular ocupa um papel importante nos mecanismos envolvidos na ação antitumoral de compostos de selênio. Foi demonstrado que tratamento de linhagem de células endoteliais humanas com CH_3COSeH (ácido metilseleníco), um precursor imediato do metilselenol, causou apoptose, diminuição da fosforilação das quinases proteicas (WANG *et al.*, 2001).

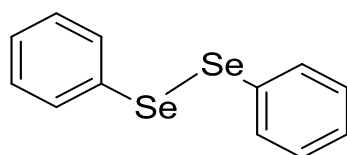
Quando avaliado em linhagem de câncer de próstata, MSeA aumentou a fosforilação de ERK1/2, sendo que a inibição desta proteína estimulou a morte apoptótica destas células quanto submetidas ao tratamento com MSeA (Hu *et al.*, 2005).

2.6 Disseleneto de Difenila (PhSe)₂ e Ebselen

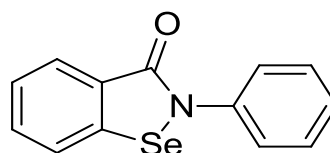
O Disseleneto de difenila e o ebselen (**Figura 4**) são compostos orgânicos sintéticos de selênio que compartilham algumas propriedades químicas como por exemplo a atividade tiol-peroxidase (1994; NOGUEIRA *et al.*, 2004). De importância particular, estes organocalcogênios também exibem outras propriedades farmacológicas em comum como: atividades antioxidante; anti-inflamatória; analgésica; neuroprotetora e hepatoprotetora (MEOTTI *et al.*, 2003; Porciúncula *et al.*, 2003; NOGUEIRA *et al.*, 2004; BORGES *et al.*, 2005). Parte destes efeitos protetores estão ligados com a capacidade dos mesmos em decompor peróxidos na presença de tióis e de reduzir a peroxidação lipídica em diversos modelos experimentais.

Da mesma forma, a toxicologia destes compostos é bastante similar. Em doses farmacológicas ambos os compostos apresentam baixa toxicidade tanto para ratos como para camundongos (FACHINETO *et al.*, 2006). No entanto, a DL₅₀ do disseleneto de difenila via intraperitoneal (i.p.) e via sub-cutânea (s.c.) para estes animais é maior que a do composto ebselen (MEOTTI *et al.*, 2003). Tais efeitos também parecem estar correlacionados com a atividade pró-oxidante do composto.

Figura 4: (8) Disseleneto de difenila e (9) Ebselen



(8)

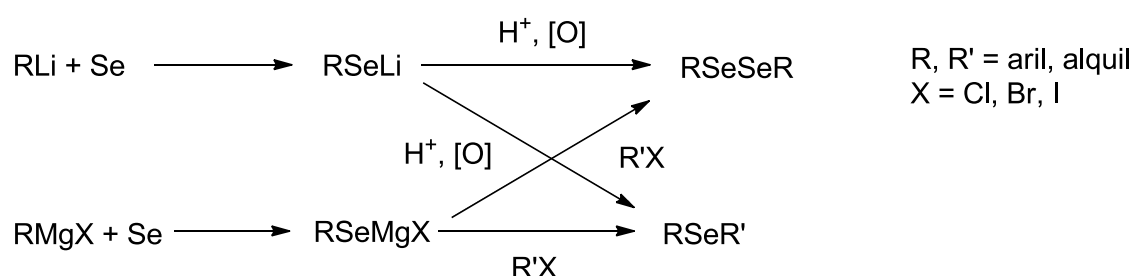


(9)

2.7 Preparação de Espécies Nucleofílicas de Selênio

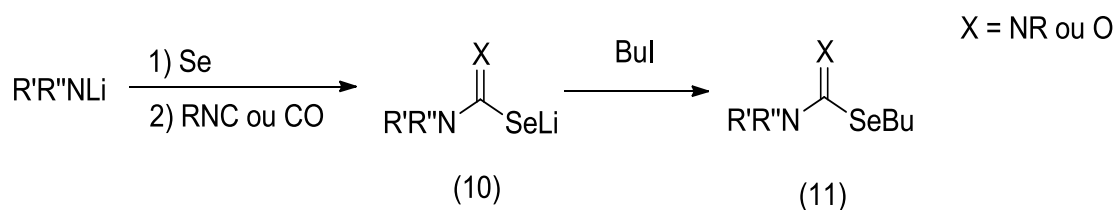
Inserção do selênio elementar em compostos organolítio ou de Reagentes de Grignard é um dos métodos gerais e úteis para preparar espécies nucleofílicas de selênio (NICOLAOU *et al.*, 1984). A reação é geralmente utilizada para a síntese de vários diseletos ou selenetos como mostrado no **esquema 2** (GULLIVER *et al.*, 1984).

Esquema 2: Inserção do selênio elementar em compostos organolítio ou de Reagentes de Grignard



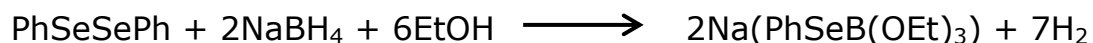
No entanto, as aplicações são limitadas devido à elevada reatividade do lítio ou reagentes de Grignard restante na reação. Uma troca semelhante com o selênio ocorre com amidas secundárias de lítio. Na presença de um isocianeto, e produzidos selenocarbamideto de lítio, o qual pode reagir com iodeto de butila, para gerar a correspondente isoselenourea em bons rendimentos (**Esquema 3**) (MAEDA *et al.*, 1997). Quando a reação é realizada sob atmosfera de monóxido de carbono, os correspondentes obtidos são selenocarbamatos (MAEDA *et al.*, 1997).

Esquema 3: Reação de selênio com amidas



A utilização de borohidretos alcalinos na redução de selenetos difenílicos tais com borohidreto de sódio e álcool é o método mais comum e mais fácil de preparar espécies de selênio nucleofílicos (**Esquema 4**) (SHARPLESS, 1973).

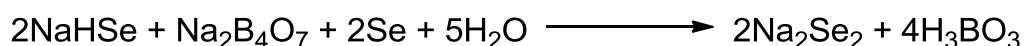
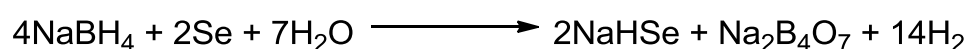
Esquema 4: Redução de disseleneto de fenila com boro hidreto alcalino



A reação é acompanhada pela liberação vigorosa de hidrogênio gasoso resultando numa solução incolor. As espécies de selênio nucleofílicos geradas foram utilizadas com sucesso para vários tipos de reações sintéticas (PATAI S *et al.*, 1986). No entanto, a estrutura real do complexo tenha sido caracterizada dois anos depois, medindo o volume do gás hidrogênio gerado para determinar a estequiometria da reação e caracterizar a complexa estrutura de forma inequívoca por RMN ^1H (MIYASHITA M *et al.*, 1988). Assim, a estrutura do complexo é agora revelada como fenilselênio de sódio (trietoxi) borato. Este complexo é um pouco menos nucleofílico comparação com o nucleofilo selenolato que é preparado através da utilização de metais alcalinos ou hidretos e disselenetos (LEY *et al.*, 1986). Vários selenocianatos também podem ser facilmente reduzido pelo NaBH_4 para as espécies de selênio nucleofílicos (PAULMIER, 1986).

Em solventes apróticos, tais como diclorometano e THF, borohidreto de potássio, borohidreto de lítio, trietilborohidreto de lítio e hidreto de diisobutilalumínio (DIBALH) (KRIEF *et al* .,1997; HAUNG *et al.*, 1998), foram usadas em vez de NaBH₄. Eles também reduziram o selênio elementar com adição de água ou álcool gerando o seleneto de sódio (NaHSe) ou disseleneto de sódio (Na₂Se₂) dependendo da estequiometria dos reagentes (**Esquema 5**) (KLAYMAN, 1973). Estes síntons são úteis para a síntese de selenetos ou disselenetos, respectivamente, através de substituição nucleófila com vários eletrófilos.

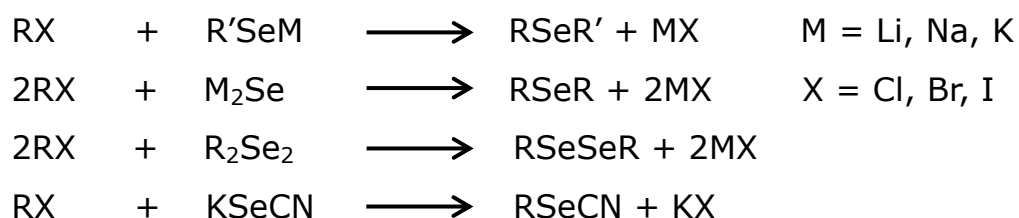
Esquema 5: Espécies nucleofílicas via selênio elementar.



2.7.1 Reações Nucleofílicas de Selênio Espécies

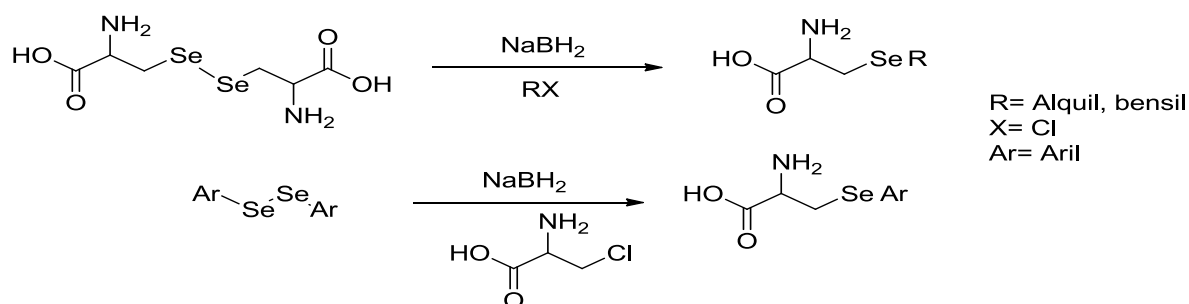
As reações com halogenetos são as reações mais típicas com as espécies de selênio nucleofílicas. Alquil ou aril selenetos (R'SeM ou ArSeM) são preparados *in situ* por métodos que utilizam halogenetos para gerar selenetos simétricos ou assimétricos em duas etapas (**Esquema 6**) (FLOHÉ *et al.*, 1973; ROTRUCK *et al.*, 1973; KLAYMAN. *et al.*, 1973; KRIEF. *et al.*, 1997).

Esquema 6: Reações com halogenetos nas preparações de várias classes contendo selênio



Duas aplicações interessantes deste tipo de reação, são apresentados nos **esquema 7**. Os derivados substituídos em selênio cisteína são sintetizados por condensação entre a selenocisteína e o alquil halogeneto de benzila correspondente, ou entre o diseleneto de benzila e a β -cloroalanina (ANDREADOU *et al.*, 1996). Estes compostos são considerados como potenciais pró-fármacos para formulação de medicamentos sintéticos para tratamento dos rins.

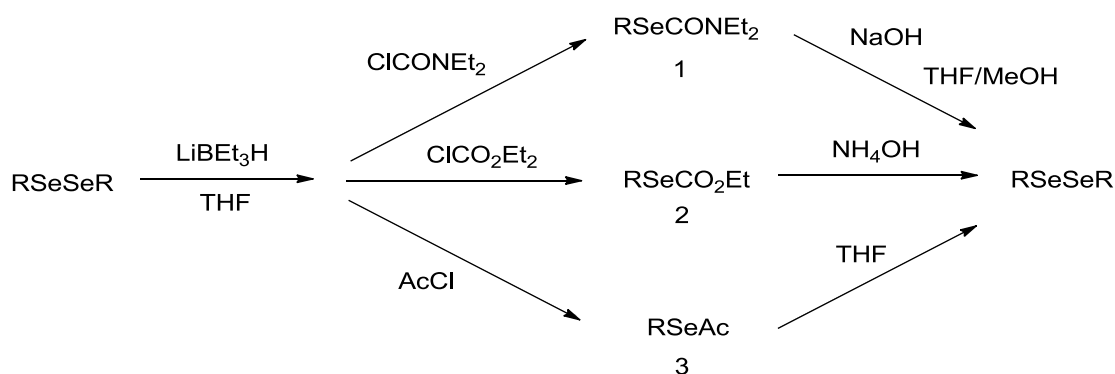
Esquema 7: Condensação entre selenocisteína e alquil halogenetos, e reação de disseleneto de fenila e β -cloroalanina



Espécies de selênio nucleofílicas, gerados a partir de disselenetos com LiEt_3BH em THF, reagem com cloretos de dietilcarbamida, cloroformato de etilo e cloreto de acetila para produzir os correspondentes alquilsulfatos selenocarbamato 1, selenocarbonato 2, eo selenoacetato 3, respectivamente (**Esquema 8**) (REINERTH, TOUR, 1998). Estes compostos são estáveis contra bases fracas e agentes redutores, tais como NaBH_4 , e podem ser bons grupos protetores de disselenetos.

Disselenetos são facilmente regenerados por tratamento de selênamida (RSeCONEt_2 (1)) conforme **esquema 8**, em meio a NaOH em THF / MeOH ou, podem ser regenerados por tratamento do carbonoselenoato (RSeCO_2Et (2)) ou usando o selenoacetil (RSeAc (3)) com hidróxido de amônia NH_4OH e tetraidrofurano (THF) (REINERTH, 1998).

Esquema 8: Espécies de selênio nucleofílicas gerados a partir de disselenetos



Capítulo 3

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo obter novos compostos organosselênicos com potencial atividade biológica, através de uma rota sintética pratica que utiliza o selênio elementar como precursor e cloretos de arilacetemidas.

3.2 Objetivos Especificos

- Obter cloretos de arilacetamidas (12 intermediarios) ;
- Obter uma série bis-selenetos com variações específicas e em quantidades satisfatórias;
- Caracterizar os compostos organosselênicos e os intermediários por meio de técnicas espectroscópicas e de propriedade física (IV, RMN ^1H , RMN ^{13}C e PF);
- Avaliar o potenciais citotóxico dos compostos sintetizados frente à *Artemia salina* Leach;
- Avaliar o potencial teórico das propriedades farmacocinéticas dos bis-selenetos através do estudo *in silico*.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

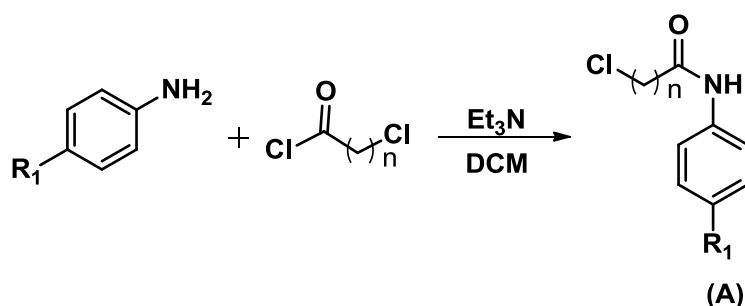
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta sessão serão expostos os resultados obtidos inerentes estratégia sintética adotada para a síntese das moléculas alvo, bem como os dados físicos, espectroscópicos, citotóxicos e farmacocinéticos feitos *in silico* dos parâmetros ADME-Tox, agregando assim informações inerentes aos compostos inéditos produzidos neste trabalho.

4.1 Sínteses dos intermediários cloretos de arilacetamidas.

Os compostos intermediários (arilacetamidas), foram obtidos em apenas uma etapa por meio da reação de substituição nucleofílica envolvendo cloretos ácidos (RCOCl), anilina e anilinas *p*-substituídas (*p*-ArNH₂), ambos comercialmente disponíveis, através da rota apresentada no **esquema 9**, os intermediários foram obtidos em bons rendimentos que variam de 80 a 90%, sendo assim expostos a uma etapa de purificação (recristalização). Os produtos foram obtidos com alto grau de pureza evidenciado pelos dados térmicos e espectroscópicos.

Esquema 9: Rota sintética de obtenção dos intermediários (cloretos de arilacetamidas)

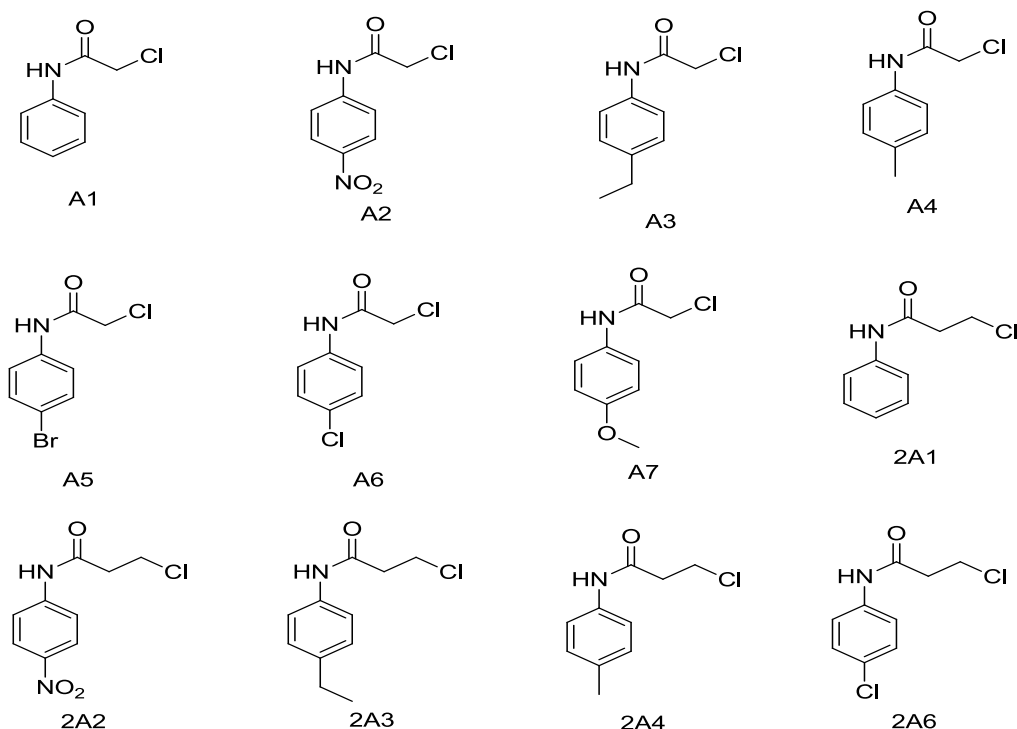


$R_1 = \text{H, NO}_2, \text{CH}_2\text{CH}_3, \text{CH}_3, \text{Br, Cl, OMe}$

$n = 1 \text{ ou } 2$

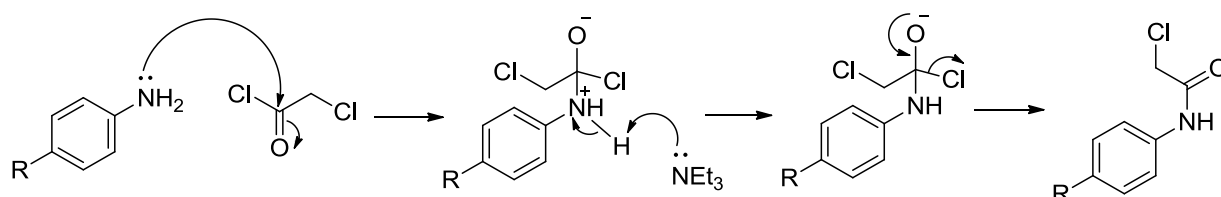
Estes intermediários foram selecionados com objetivo específicos tendo em vista seu histórico farmacológico de segurança (baixa toxicidade), atividade antibacteriana e antitumoral (KATKE, 2011; MASAYA, 2011) frente a uma abordagem estrutura vs atividade. A **figura 5** demonstra as estruturas dos intermediários obtidos.

Figura 5: Estrutura dos 12 intermediários obtidos (**A1-2A6**).



O mecanismo para obtenção dos intermediários está descrito na **figura 6**, demonstra uma substituição nucleofílica na carbonila, uma reação rápida entre cloretos de ácido e anilina, em presença de uma base não nucleofílica.

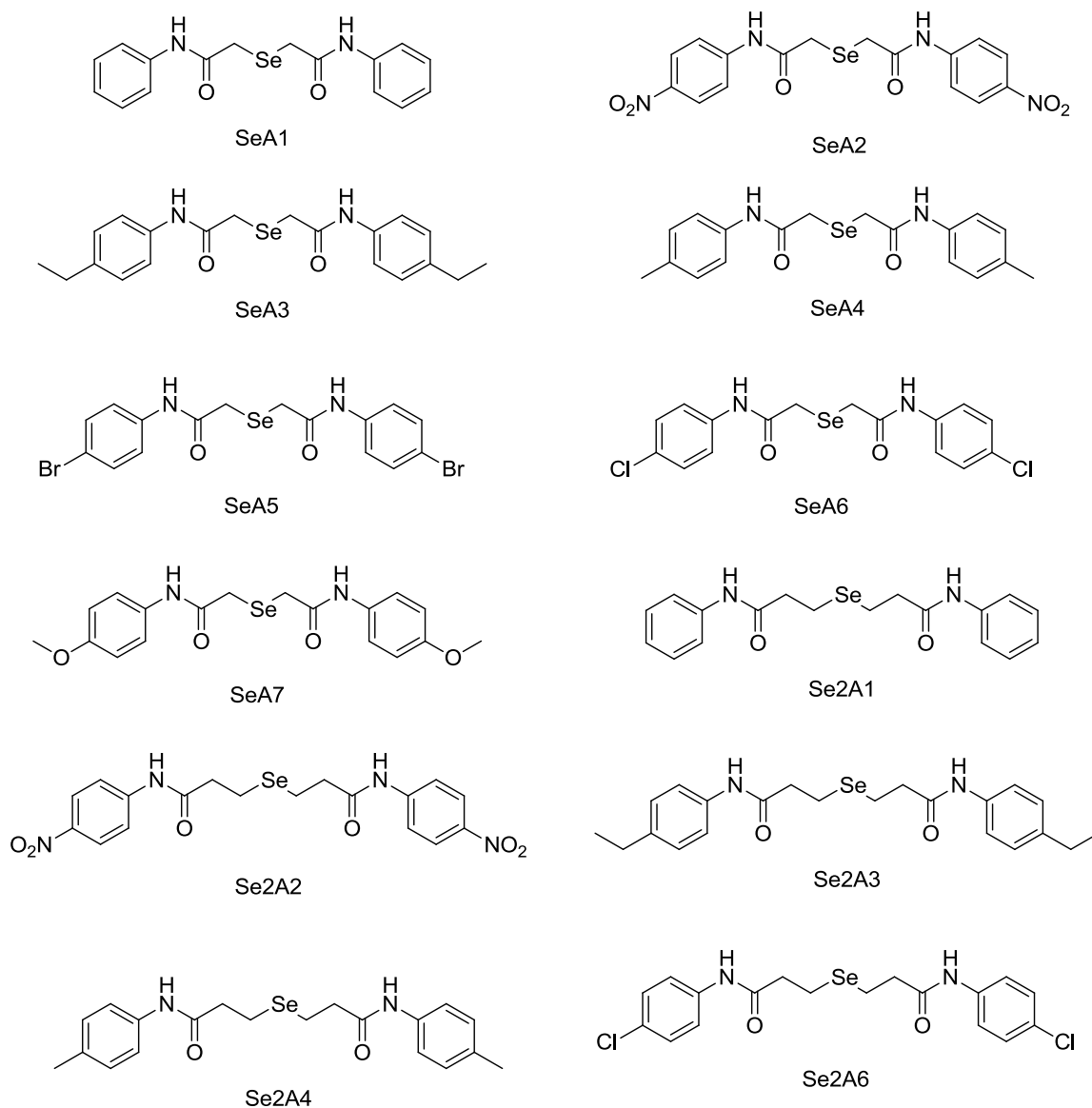
Figura 6: Mecanismo proposto para obtenção das acetanilidas



4.2 A síntese dos Selenetos de alquila

A síntese proposta foi adaptada utilizando a técnica experimental descrita por Alan Krif (2004) a qual são produzidos selenois e bi-selenetos de alquila a partir de um intermediário que foi melhor exposto no trabalho de Athayde-Filho (2004), no qual melhor especifica esse intermediário como NaHSe, uma espécie nucleofílica de fundamental importância para a síntese dessa série de compostos organosselênicos, expostos na **figura 7**.

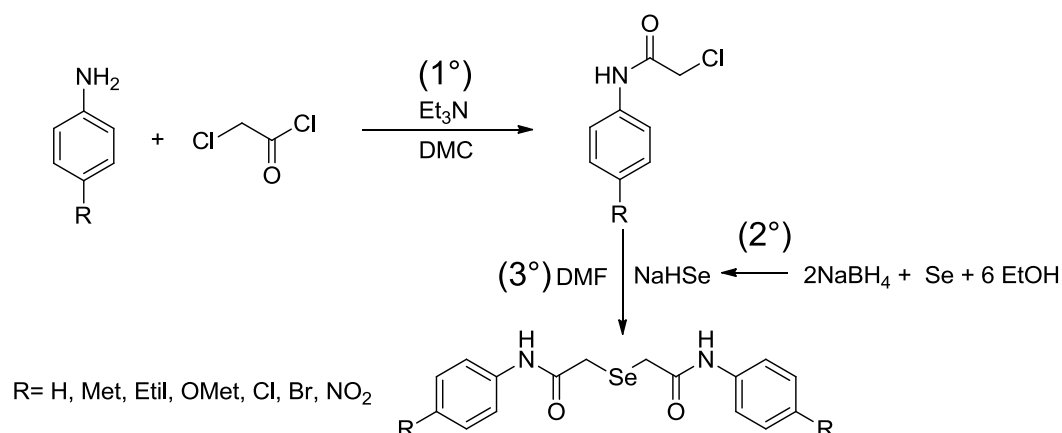
Figura 7: Estruturas dos doze selenetos inéditos sintetizados no presente trabalho (SeA1 - Se2A6)



Tendo em vista a importância dos compostos organosselênicos, foi objetivada uma série homodimerica a fim de potencializar a ação antibacteriana e antitumoral (RADHAKRISHNA, 2010; GOVINDASAM, 2001) agindo em concordância com os estudos feitos por MUKHERJEE et al., 2010 os quais descrevem que a forte interação não ligante entre selênio e nitrogênio (Se-N), e de fundamental importância para suas possíveis atividades (mimética enzimática, antitumoral, antioxidante), para tanto foram obtidos 12 compostos organosselênicos inéditos, planejados com a função acetanilida com variações estruturais, as quais demonstraram por meio de RMN ^1H os efeitos desta interação nos compostos sintetizados (**SeA1, SeA2, SeA3, SeA4, SeA5, SeA6, Se2A1, Se2A2, Se2A3, Se2A4, Se2A5 e Se2A6**). Por estas razões, esta série de selenetos projetada, sintetizada e avaliada representam uma contribuição para a pesquisa e desenvolvimento de fármacos com propriedade de inibir as defesas bacterianas (ATHAYDE-FILHO, 2004).

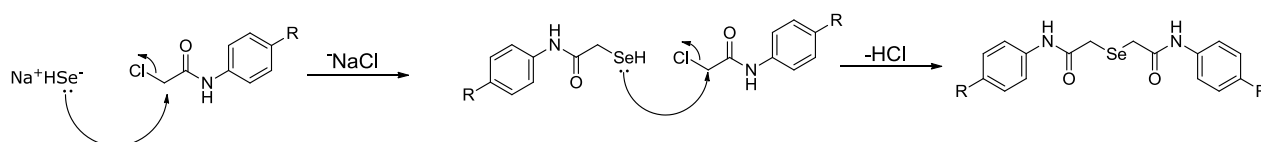
A espécie nucleofílica de selênio foi obtida com êxito na forma de NaHSe , gerado a partir da reação do selênio elementar e NaBH_4 na forma sólida, após a adição de 6 equivalentes de etanol, conforme apresentado no **esquema 10** (2º Etapa). A alquilação foi realizada, cruzando a rota sintética dos cloretos de alquila e a espécie nucleofílica de selênio (via elementar), obtendo selenetos dialquilícos simétricos satisfatoriamente a temperatura ambiente, utilizando 2 equivalentes de cloretos de arilacetamida.

Esquema 10: Esquema da via sintética das reações de obtenção dos bis-selenetos.



A estequiometria desta reação é de primordial importância devido a semelhança de polaridade do produto e seu intermediário, a presença do mesmo dificulta a purificação, que foi realizada utilizando sucessivas recristalizações em solvente apropriado, o mecanismo proposto e determinado na **figura 8**.

Figura 8: Mecanismo proposto para a reação de obtenção dos bis-selenetos



Dessa forma, os novos selenetos foram obtidos nas suas formas cristalinas com rendimentos satisfatórios entre 72 e 85% (**Tabela 2**).

Tabela 2: Rendimentos dos compostos sintetizados nesse trabalho

RENDIMENTOS (%)											
A1	A2	A3	A4	A5	A6	2A1	2A2	2A3	2A4	A7	2A5
93	80	95	95	84	76	91	88	90	78	73	84
SeA1	SeA2	SeA3	SeA4	SeA5	SeA6	Se2A1	Se2A2	Se2A3	Se2A4	SeA7	Se2A5
73	72	72	73	76	78	73	72	82	85	79	84

A pureza destes compostos foi evidenciada através do ponto de fusão e dados espectroscópicos.

Foi observado que a quantidade de etanol utilizada não é de fundamental importância satisfazendo apenas as seguintes condições: ser maior que 6 equivalentes e não tão alta que desempenha o papel do solvente. Outros álcoois, tais como o *i*-propanol e *t*-butanol podem ser utilizado em vez de etanol. Os resultados experimentais usando esses solventes não oferecem vantagens específicas frente ao etanol. O metanol não deve ser utilizado nestas sínteses, considerando que este solvente reage muito rapidamente, com borohidreto de sódio.

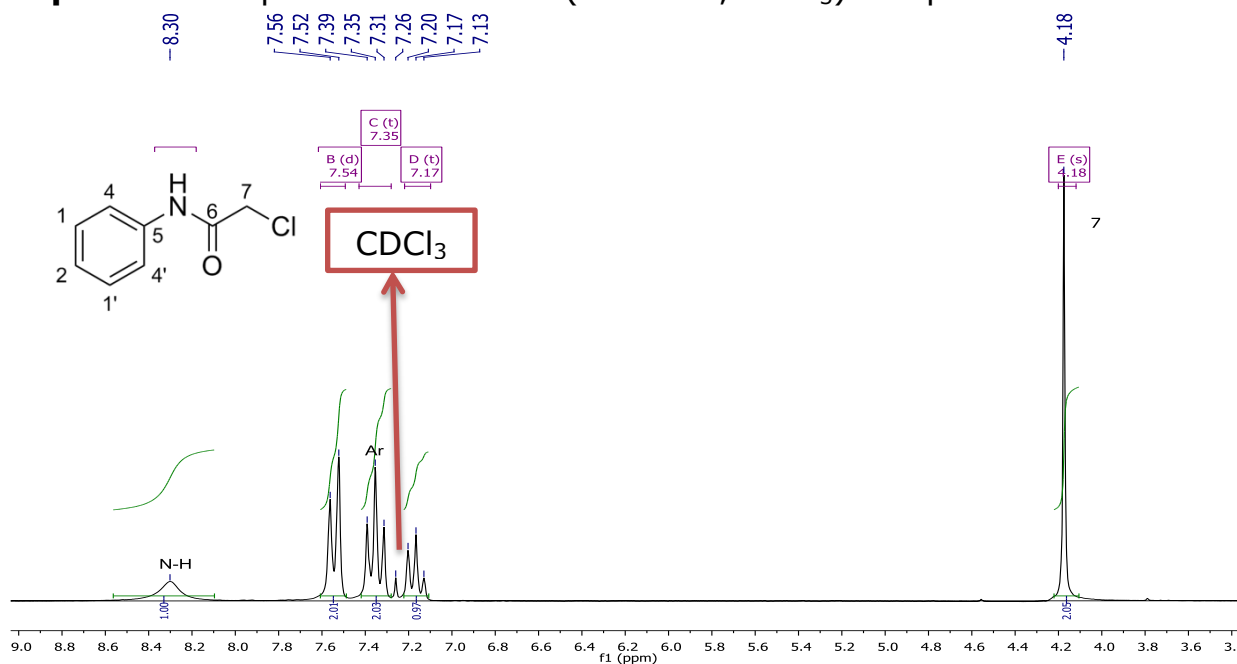
Analisando-se os resultados obtidos, é importante notar a fácil adaptação da mesma estratégia sintética usada neste trabalho para uma ampla gama de substratos (cloretos de acila), com diferentes grupos substituintes. Essa rota sintética torna esta metodologia bastante atrativa para a síntese de novos compostos organosselênicos com diferentes variações. Essa característica permite que esta rota sintética seja adotada para criar uma variedade de selenetos orgânicos, com diferenças estruturais desejáveis para estudos biológicos envolvendo relação estrutura-atividade.

4.3 Caracterização Estrutural dos Compostos Intermediários

Os produtos intermediários (2-cloro-N-Fenilacetamidas) (**A1-6 e 2A1-5**) foram caracterizados por métodos espectroscópicos e físicos: RMN ^1H , RMN ^{13}C e PF ($^{\circ}\text{C}$), posteriormente utilizados para síntese dos selenetos, após recristalizados.

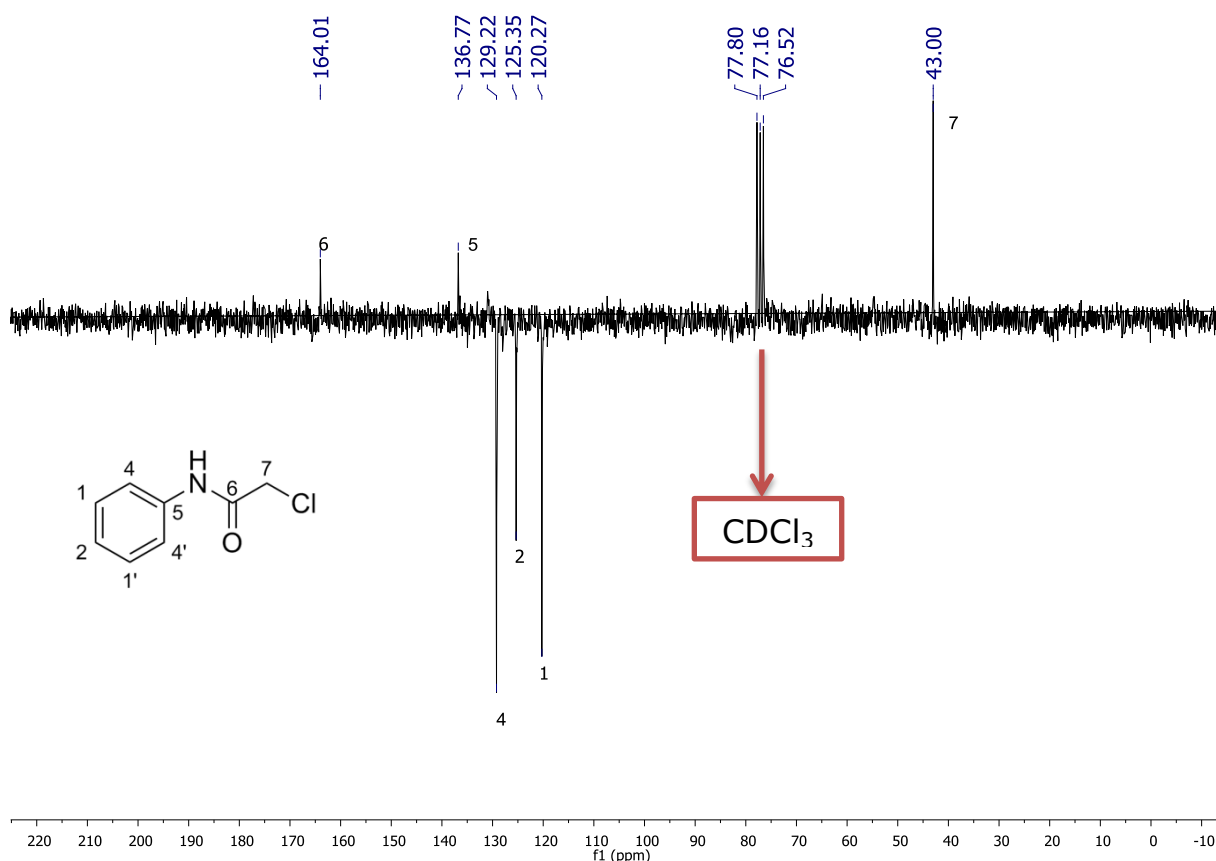
No espectro de RMN ^1H (200 MHz em CDCl_3) do composto **A1** (**Espectro 1**), podemos observar em 4,17 ppm a presença de um singlete com integral para 2H referente aos hidrogênios H-7, na região de 8,3 ppm deslocados pela presença de dois grupos desativantes (Cl e CONH), encontra-se um singlete largo com integral para 1H referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio da amida (N-H), os demais sinais são referentes aos hidrogênios aromáticos, um dubleto em 7,54 ppm (H-4,4'), triplete em 7,35 ppm (H-1,1') e outro triplete registrado em 7,16 ppm (H-2). Esses sinais são referentes aos hidrogênios aromáticos presentes na estrutura do composto **A1**, essa dedução foi tomada tendo em vista o grupo amida que desativa o anel nas posições meta e para e suas multiplicidades.

Espectro 1: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) composto **A1**.



No espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3)(**Espectro 2**), observamos o sinal relativo ao carbono 7 registrado 43 ppm, temos então o carbono carboxílico referente ao carbono 6 em 164,01 ppm e os carbonos aromáticos com sinais em 136,77 ppm, 129,22 ppm, 125,35 ppm e 120,27 ppm foram colocados os índices enumerando cada sinal junto a seus respectivos carbonos representado no **espectro 2**. Tal atribuição foi apresentada tendo em vista a regiões inerentes a cada grupo, os carbonos aromáticos foram determinados tendo em vista as regiões meta e para (C-2 e C-4) desprotegidas pelo grupo retirados por ressonância (CONH).

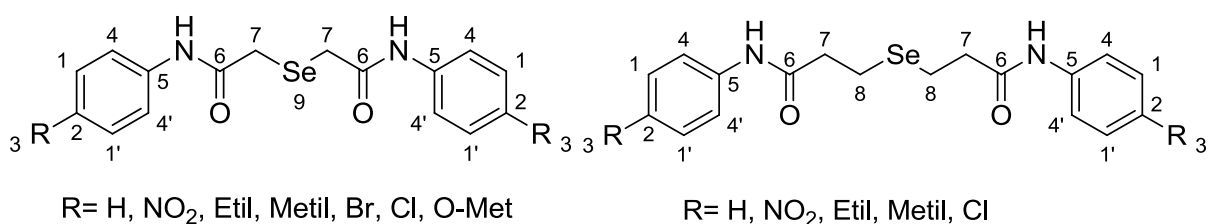
Espectro 2: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do composto **A1**.



4.4 Caracterização Estrutural dos Selenetos SeA1-7 e Se2A1-5

A caracterização desta série de selenetos foi interpretada com a comparação entre os compostos obtidos e seus respectivos precursores já conhecidos, essa visão geral, permite observar os deslocamentos sofridos pelos RMN ^1H e RMN ^{13}C (200 MHz e 50MHz DMSO) aos quais após a reação de substituição do elemento cloro pelo selênio, adquire uma maior blindagem eletrônica no carbono 7 presente no composto de partida. Na **figura 9** é demonstrada as estruturas genéricas enumeradas para esta série.

Figura 9: Estrutura molecular de selenetos genéricos enumerados.



Tomando como exemplo o intermediário A1 onde o sinal de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) (**Espectro 1**) referente (H-7), presente anteriormente em 4,17 ppm se desloca para região mais protegida devido a maior interação eletrônica do Se por ser um elemento maior e menos eletronegativo que o Cl, esse singlete então se desloca para região de 3,53 ppm (**Espectro 3**), essa visão é detalhada na **figura 10**. Tendo em vista que a estrutura é simétrica, vemos que os sinais obtidos estão sobrepostos, temos então os mesmos conjuntos de sinais obtidos anteriormente onde os mesmos sofre deslocamento devido as novas interações esses são, singlete em 10,15 ppm referente a 1H ligado ao nitrogênio, temos novamente o conjunto de dubleto em 7,55 ppm tripleto em 7,30 ppm e tripleto em 7,04 ppm referente aos hidrogênios aromáticos.

Espectro 3: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) do composto **SeA1**.

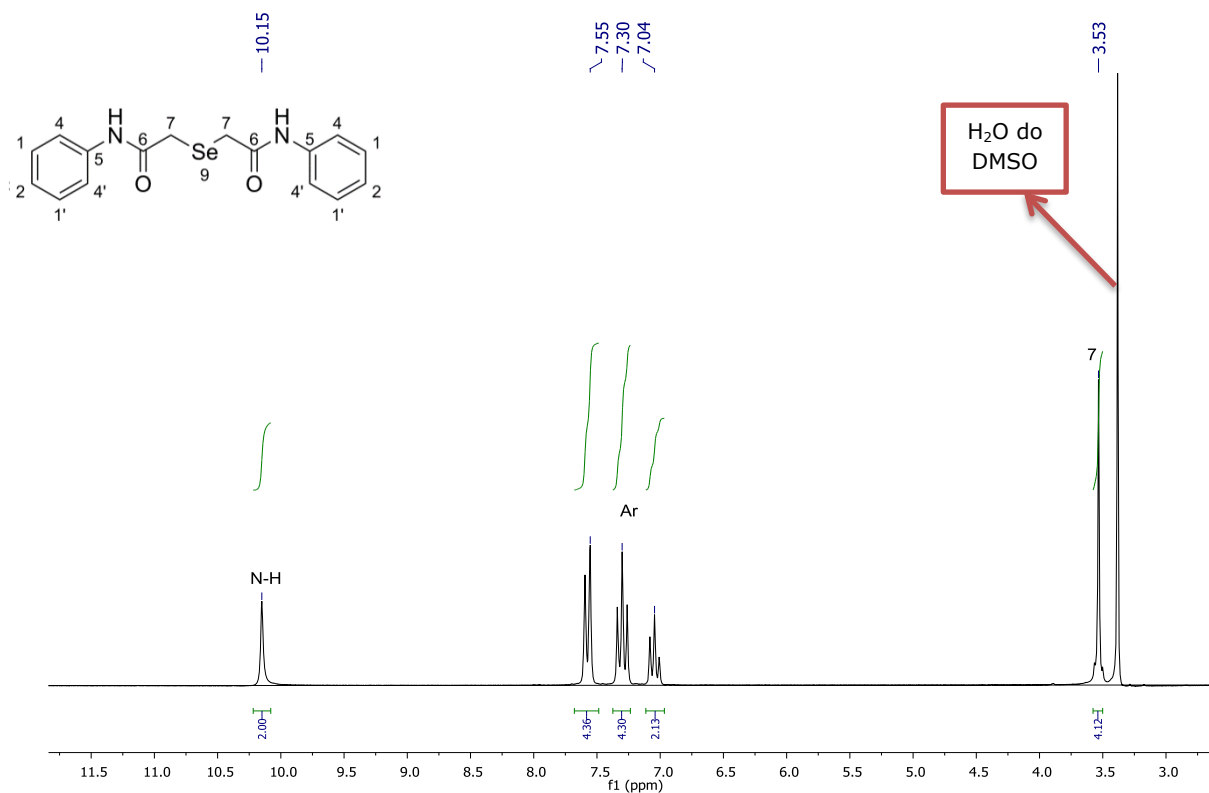
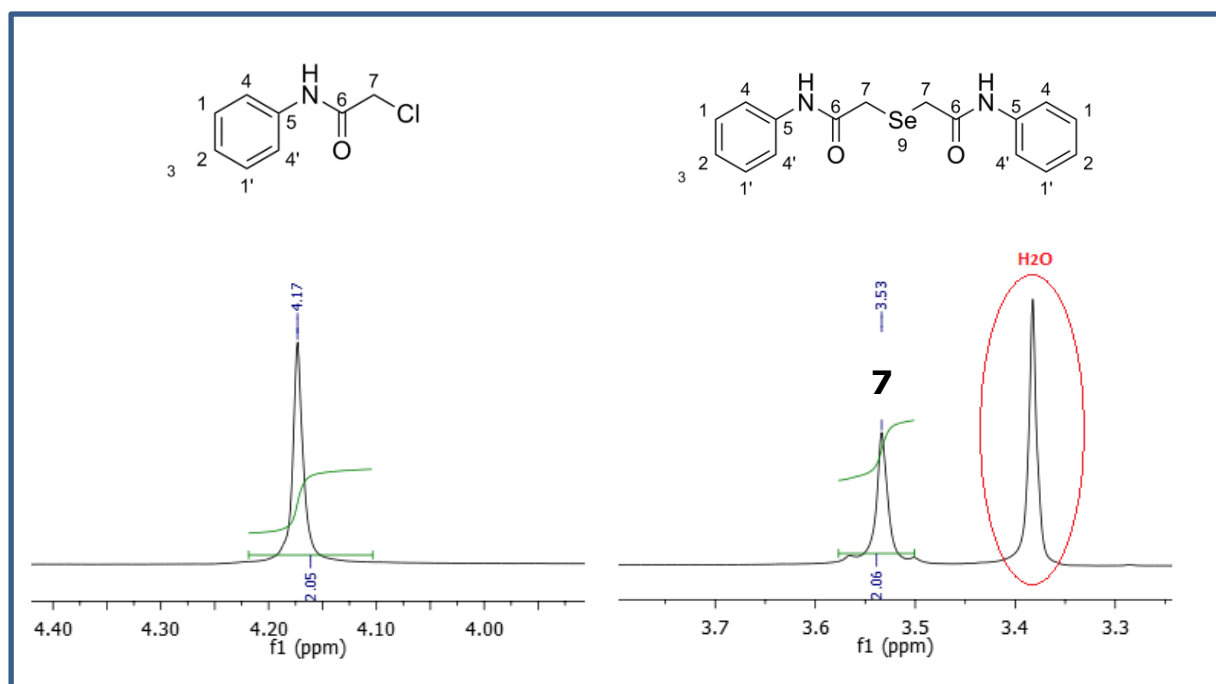


Figura 10: Comparação dos deslocamentos sofridos pelo hidrogênio 7(H7).



O mesmo efeito de blindagem do selênio é sentido pelo espectros de RMN ^{13}C (**espectro 2 e 4**), onde o carbono da posição 7 se desloca de 43 ppm (**A1**) para região mais blindada em 26,97 ppm (**SeA1**), essa visão é mais detalhada na **Figura 11**, o conjunto de sinais e demonstrado de forma detalhada no **espectro 4**, onde podemos observar pico em 168,71 ppm referente a carbonila, 139,07 ppm carbono 5, 128,80 ppm carbono 4,4' , 123,39 ppm carbono 2 e 119,12 ppm carbono 1,1' essas conclusões estão baseadas no efeito retirador de elétrons que a função amida exerce sobre o anel aromático.

Espectro 4: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) do composto **SeA1**.

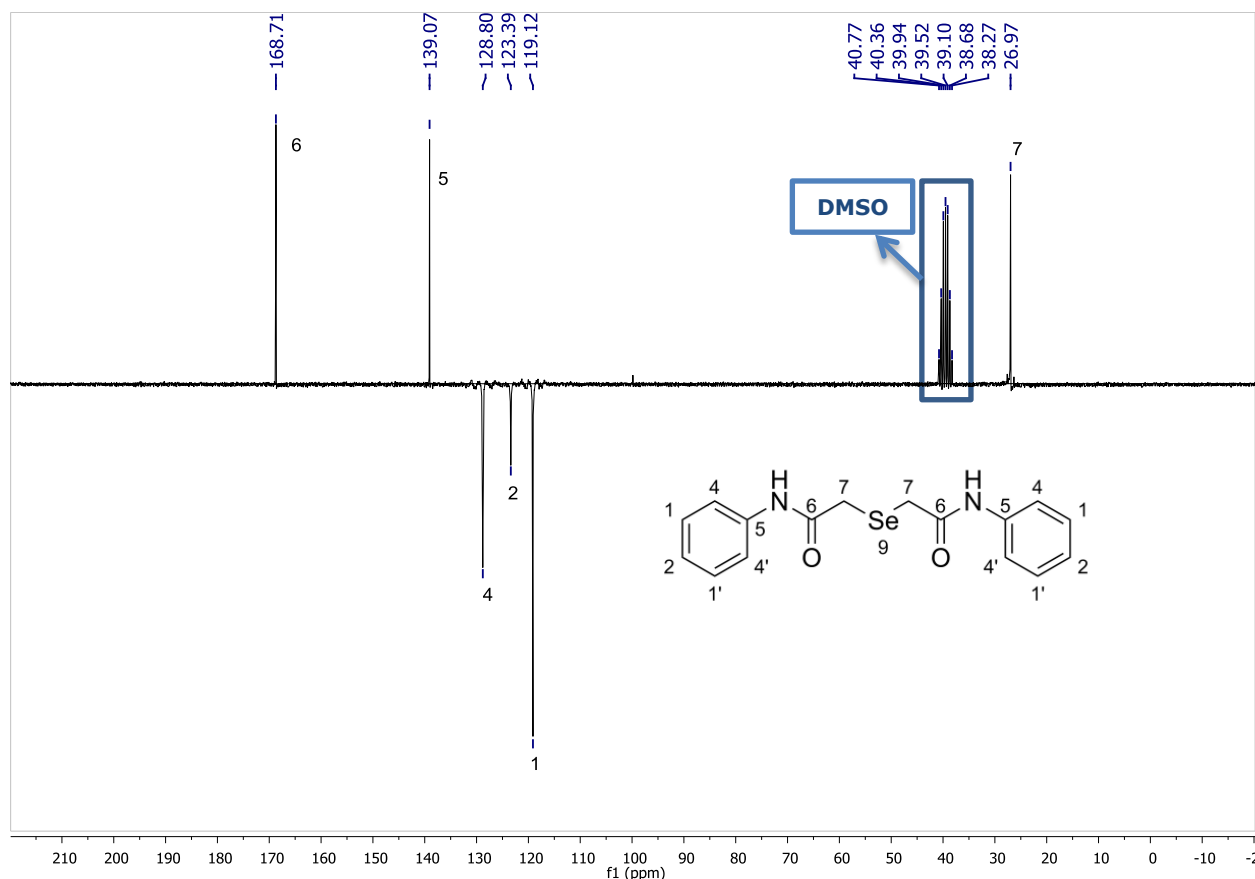
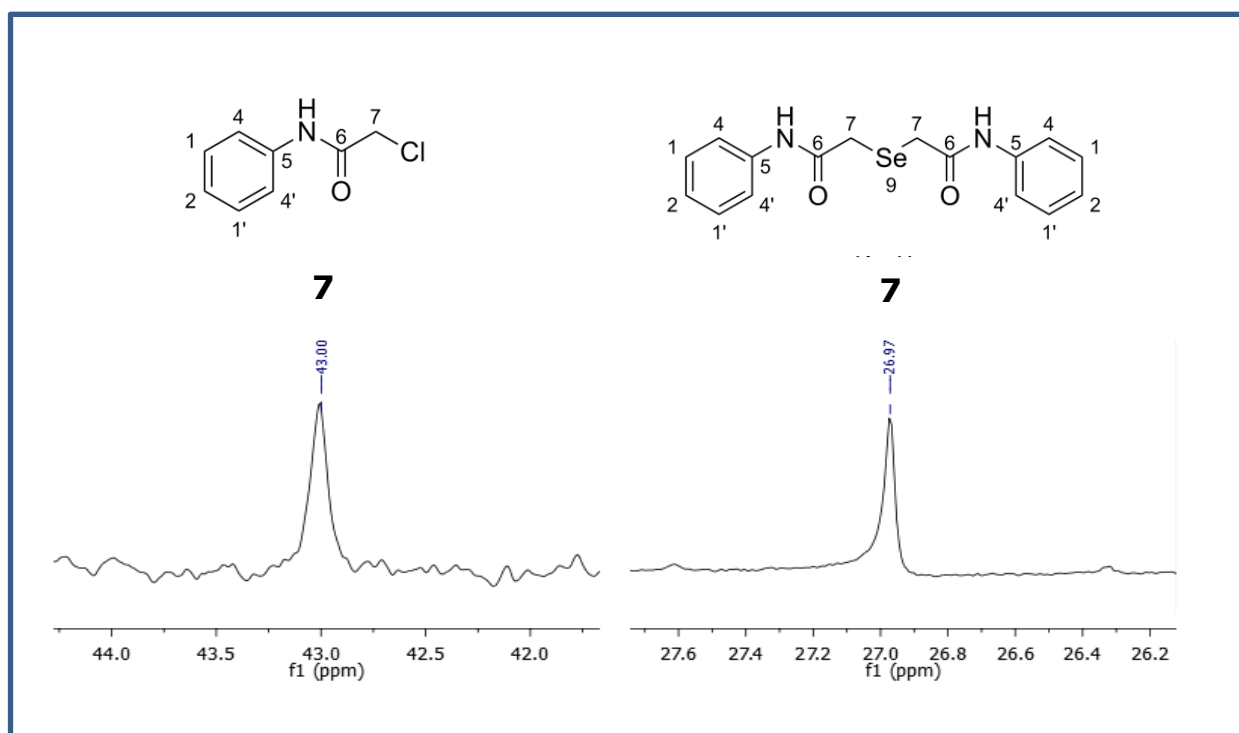
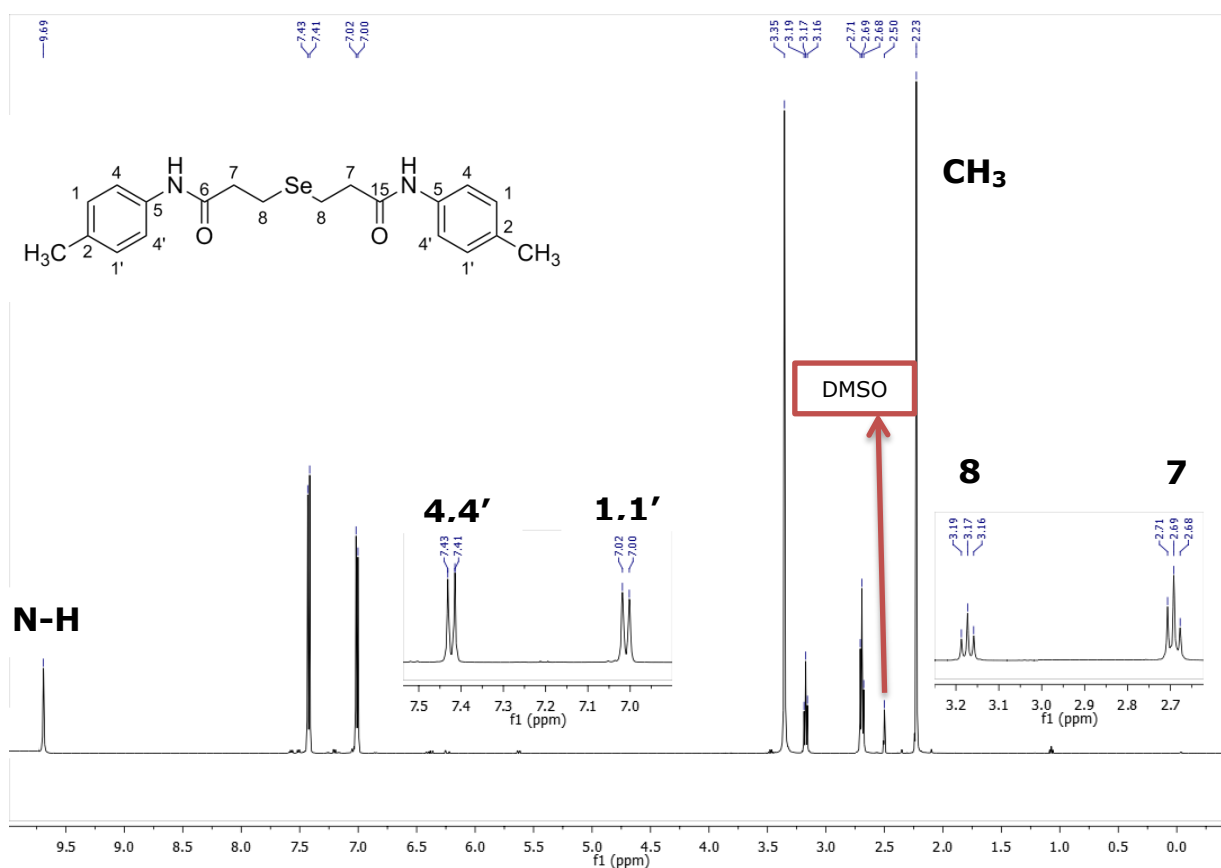


Figura 11: Comparação dos deslocamentos sofridos pelo carbono 7 (C-7)

Por possuírem estruturas similares, podemos observar que os sinais referentes aos hidrogênios do composto **SeA2 a Se2A5** são semelhantes aos sinais referente ao do composto **SeA1**, diferenciando apenas nos sinais de deslocamento **2,69-2,86 ppm** referente aos prótons do carbono **8** que são presentes nas estruturas com espaçamento **Se2A1-5** e os sinais dos grupos alquílicos terminais (CH₂ e CH₃) presentes nos compostos **SeA3, SeA4, Se2A3 e Se2A4**. Esses sinais estão presentes entre **1,08-2,83 ppm** deduzidos pela sua multiplicidade e pelo seu caráter mais protegido. Temos também que salientar que o grupo NO₂ exerce uma influencia maior que o grupo amida alterando assim a sequencia modal dos picos 1,1' e 4,4' nas estruturas **SeA2 e Se2A2**.

No espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) do composto **Se2A4** (**Espectro 5**), é observado um conjunto de sinais distintos do composto **SeA1**, isso é devido a presença de mais um carbono, o qual confere a esse grupo de moléculas (**Se2A1 a Se2A5**), a presença de dois tripletos entre 2 e 4 ppm referente aos hidrogênios 7 e 8, ainda no composto Se2A4 observa-se um singleto referente ao grupamento CH_3 presente neste composto em 2,23 ppm. Temos então os sinais N-H em 9,69 ppm, 1,1' em 7 ppm e 4,4' em 7,72 ppm estes presentes em toda a serie.

Espectro 5 : Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO) do composto Se2A4



O espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}$) do composto **Se2A4** (**Espectro 6**). Tomando em consideração o caráter doador e retirador de eletros dos constituintes dessa molécula e observado os seguintes sinais C-6 em 169,44 ppm, C-5 em 136,29 ppm, C-4,4' em 128,64 ppm, C-1,1' em 119,11 ppm, C-2 em 131,86 ppm, C-7 em 18,20 ppm, C-8 em 37,53 e CH_3 em 20,31 ppm.

Espectro 6: Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) do composto **SeA1**

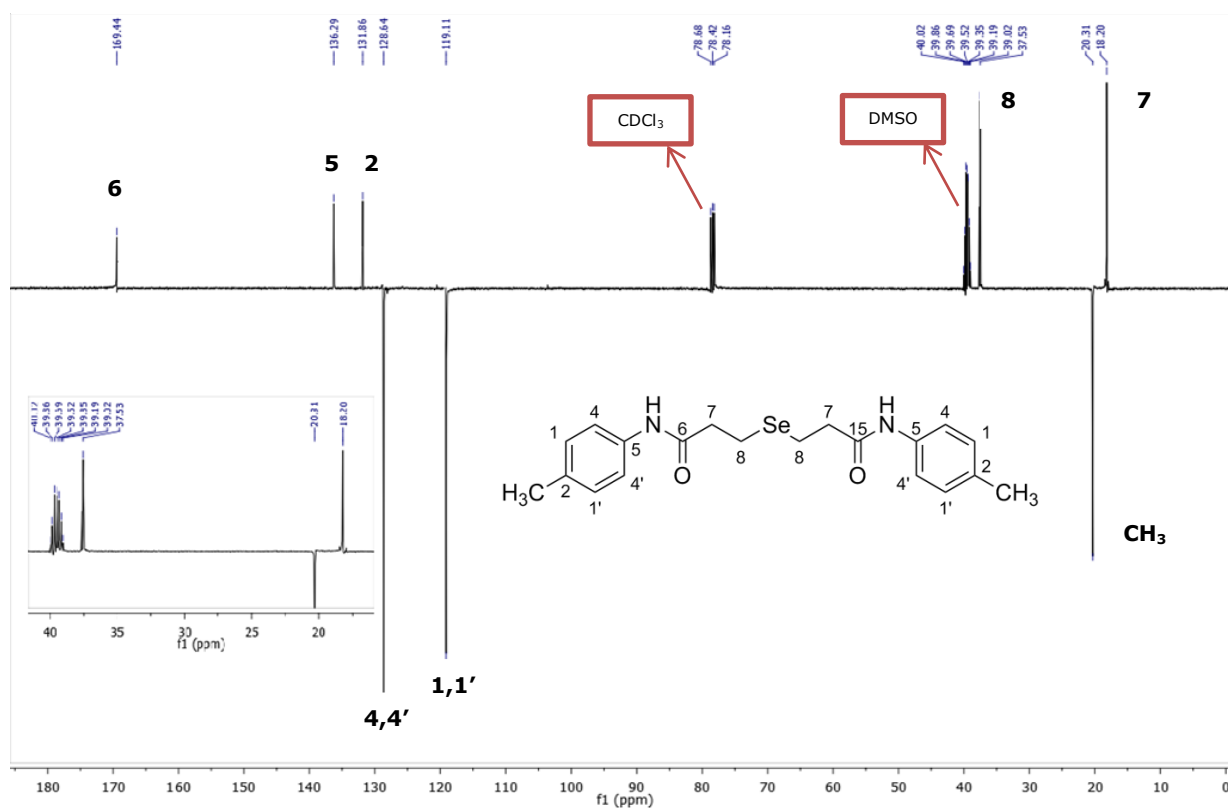
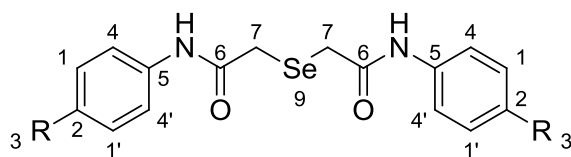


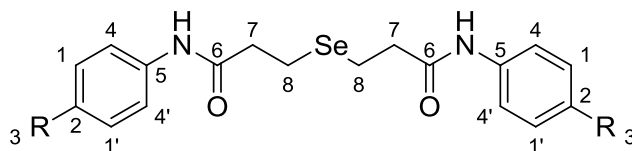
Tabela 3: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (SeA1-7)



R= H, NO₂, Etil, Metil, Br, Cl, O-Met

Composto	R	C-1,1'	C-2	C-3 (CH ₃ /CH ₂)	C-4, 4'	C-5	C-6	C-7
SeA1	H	119,12	123,39	n/a	128,8	139,7	168,9	26,92
SeA2	NO₂	124,91	142,21	n/a	118,74	145,13	169,42	27,01
SeA3	Etil	119,22	138,79	15,79/ 26,92	127,96	136,75	168,41	27,64
SeA4	Met	119,13	132,31	20,49	129,13	136,56	168,46	26,93
SeA5	Br	120,66	114,95	n/a	121,02	138,4	169,89	26,93
SeA6	Cl	120,64	126,93	n/a	128,67	137,97	168,79	26,92
SeA7	OMet	113,9	132,22	55,19	131,57	155,3	168,2	26,88

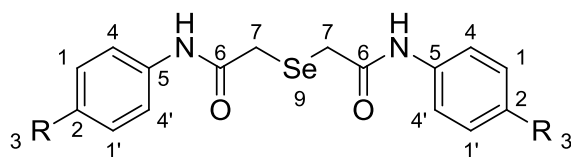
Tabela 4: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (Se2A1-5)



R= H, NO₂, Etil, Metil, Cl

Composto	R	C-1,1'	C-2	C-3 (CH ₃ /CH ₂)	C-4, 4'	C-5	C-6	C-7	C-8
Se2A1	H	128,28	123,03	n/a	119,23	138,71	169,6	24,47	37,76
Se2A2	NO₂	124,55	142,18	n/a	118,5	144,84	168,82	39,35	39,85
Se2A3	Etil	127,57	138,42	15,59/27,66	119,19	136,6	169,52	18,24	37,55
Se2A4	Met	128,64	136,29	20,31	119,11	131,86	169,44	18,2	37,53
Se2A5	Cl	128,13	126,92	n/a	120,4	137,67	169,82	18,05	37,55

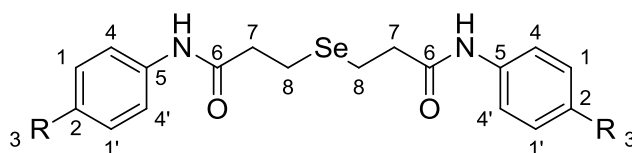
Tabela 5: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (SeA1-7)



R= H, NO₂, Etil, Metil, Br, Cl, O-Met

Composto	R	H-1,1'	H-2	H-3 (CH ₃ /CH ₂)	H-4, 4'	H-7	N-H
SeA1	H	7,31 (t)	7,05 (t)	n/a	7,58 (d)	3,54 (s)	10,14 (s)
SeA2	NO ₂	8,19 (d)	n/a	n/a	7,79 (d)	3,50 (s)	10,71 (s)
SeA3	Etil	7,07 (d)	n/a	1,08 (t)/2,46 (q)	7,41 (d)	3,5 (s)	10,07 (s)
SeA4	Met	7,10 (d)	n/a	2,23 (s)	7,45 (d)	3,52 (s)	10,07 (s)
SeA5	Br	7,49 (d)	n/a	n/a	7,52 (d)	3,52 (s)	10,28 (s)
SeA6	Cl	7,34 (d)	n/a	n/a	7,59 (d)	3,52 (s)	10,27 (s)
SeA7	OMet	6,88 (d)	n/a	3,38 (s)	7,49(d)	3,50 (s)	10,02 (s)

Tabela 6 Deslocamentos químicos (ppm) de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO) dos novos compostos organosselênicos (Se2A1-5)



R= H, NO₂, Etil, Metil, Cl

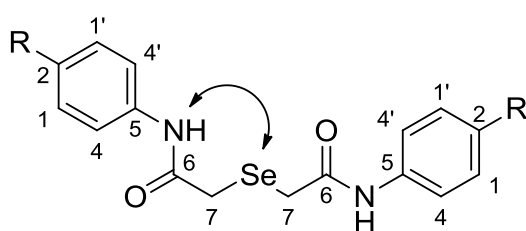
Composto	R	H-1,1'	H-2	H-3 (CH ₃ /CH ₂)	H-4, 4'	H-7	H-8	N-H
Se2A1	H	7,19 (t)	6,96 (t)	n/a	7,54 (d)	3,28 (t)	2,86 (t)	9,85 (s)
Se2A2	NO ₂	7,84 (d)	n/a	n/a	8,11 (d)	3,84 (t)	2,86 (t)	10,59 (s)
Se2A3	Etil	7,02 (d)	n/a	1,12 (t)/2,46 (q)	7,43 (d)	2,79 (d)	2,69 (d)	9,75 (s)
Se2A4	Met	7,41 (d)	n/a	2,23 (t)/2,83 (m)	7,00 (d)	3,17 (t)	2,69 (t)	9,69 (s)
Se2A5	Cl	7,19 (d)	n/a	n/a	7,56 (d)	2,76 (dd)	2,76 (dd)	9,88 (s)

4.5 Interação nitrogênio selênio

Essa nova série também teve o objetivo de averiguar a relação entre as interações não ligantes entre o Selênio e o Nitrogênio tendo em vista que diversos autores relatam que esta interação influencia diretamente nas suas propriedades biológicas pró oxidativas (MUKHERJEE et al., 2010), as quais combatem diversas doenças oxidegenerativas. Esta interação (N---Se) é observada analisando os espectros de RMN de ^1H , observando especificamente os deslocamentos dos hidrogênios ligados aos nitrogênios.

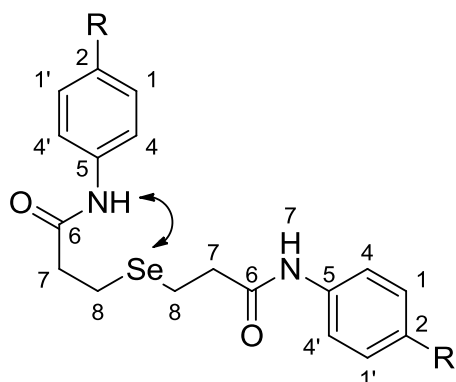
Analisando os espectros de RMN de ^1H , observa-se que os sinais dos hidrogênios (N-H), dos compostos **SeA1**, **SeA3**, **SeA4** e **SeA7** que antes estavam na região entre 8,28-8,20 ppm, são deslocados para região menos desprotegida entre 10,14-10,02 ppm, demonstrando que ocorreram interações do tipo N---Se em compostos que apresentavam grupos doadores, demonstrando experimentalmente de forma eficiente que grupos doadores afetam positivamente esta interação.

Tabela 7: Deslocamentos químicos dos hidrogênios (N-H) dos selenetos e seus intermediários.



Composto	R	N-H	N-H (A1-A7)
SeA1	H	10,14 (s)	8,28 (s)
SeA2	NO₂	10,71 (s)	10,93 (s)
SeA3	Etil	10,07 (s)	8,23 (s)
SeA4	Met	10,07 (s)	8,21 (s)
SeA5	Br	10,28 (s)	10,45 (s)
SeA6	Cl	10,27 (s)	10,45 (s)
SeA7	OMet	10,02 (s)	8,20 (s)

Nos compostos com espaçador (**Se2A1-Se2A6**), onde poderia ser esperado uma maior interação, devido a maior mobilidade e proximidade entra os átomos de nitrogênio e selênio (estrutura fechada), não houve interações perceptíveis no presente estudo, demonstrando que a cadeia dessas moléculas se apresentam abertas mantendo assim a distancia nitrogênio selênio, impossibilitando essa interação.



Composto	R	N-H(Se2A1-6)	N-H (A1-7)
Se2A1	H	9,85 (s)	9,98
Se2A2	NO₂	10,59 (s)	10,52(s)
Se2A3	Etil	9,75 (s)	9,93 (s)
Se2A4	Met	9,69 (s)	9,94 (s)
Se2A5	Cl	9,88 (s)	10,15 (s)

4.6 Intepretação dos espectros de absorção na região do infravermelho dos compostos organosselênicos.

Os compostos organosselênicos apresentam bandas de absorções na região de infravermelho que são características, isto é importante na elucidação da suas estruturas e confirmação de sua formação a partir dos precursores (cloretos de acetamidas). As principais bandas de absorções nestes compostos que podem ser observadas são: deformação axial de C=O de amida secundaria, bandas de esqueleto que envolve a deformação axial de C=C de anel aromático, vibrações de C-Se e bandas de vibrações de outros grupos como, por exemplo, halogênios e NO₂ ligados ao anel benzênico. Portanto, a discussão dos espectros de infravermelho dos compostos sintetizados será feita considerando-se estas principais bandas de absorção.

Em todos os espectros analisados foi possível identificar um padrão de absorção dos grupos acima citados, o que possibilitou uma fácil interpretação dos mesmos. As bandas de absorção referentes ao grupo funcional (C=O) de amida secundaria variaram de 1662-1674 cm⁻¹. Todos os compostos da série também apresentaram bandas de absorções no intervalo de 823 a 742 cm⁻¹ associada ao grupo C-N. As bandas de absorção referentes às deformações axiais das ligações C=C do anel aromático variaram de 1502 a 1552 cm⁻¹. As deformações axiais assimétricas das ligações Se-C variaram de 651 a 742 cm⁻¹. A **tabela 10** contém as principais bandas de absorção destes compostos.

Tabela 8: Principais bandas de absorção dos novos compostos organosselênicos (IV cm^{-1}).

Composto	R	ν (C=C) Aromatico	ν (C=O)	ν (C-N)	ν (C-Se)	ν (C-R)
SeA1	H	1552	1643	750	690	3286
SeA2	NO ₂	1550	1662	748	686	850
SeA3	Etil	1546	1643	750	696	2940
SeA4	Met	1552	1651	810	661	2936
SeA5	Br	1537	1651	812	689	1238
SeA6	Cl	1537	1651	825	692	1238
SeA7	OMet	1506	1608	823	742	1246
Se2A1	H	1529	1651	742	690	3305
Se2A2	NO ₂	1502	1703	750	696	1107
Se2A3	Etil	1525	1657	823	669	2828
Se2A4	Met	1521	1649	814	665	2914
Se2A6	Cl	1526	1655	820	681	1246

4.5 Ensaio biológico de citotoxicidade

Os ensaios de atividade toxicológica sobre *A. salina* é comumente utilizado para avaliação preliminar e fundamental da citotoxicidade de extratos vegetais (clorofórmico, metanólico, aquosos) e de substâncias puras sintéticas ou naturais isoladas de fontes naturais, como pesquisado por MOREIRA *et al.*, (2003). Já em 1982, MEYER *et al.* procuravam um teste geral que detectasse um largo espectro de atividades farmacológicas em substâncias orgânica e que pudesse ser aplicado por químicos a um preço baixo, de forma simples e que guiasse de forma qualitativa para outros ensaios experimentais de maior complexidade. Assim, começaram a usar o microcrustáceo *A. salina* como um modelo de bioensaio geral em sistema, indicativo de atividades farmacológicas específicas, fato este demonstrado pelos resultados significativos encontrados nesse estudo.

Esse ensaio da letalidade usando microcrustáceos continuou a ser empregado e hoje é considerado como uma ferramenta útil na avaliação preliminar da citotoxicidade (MOJICA e MICOR, 2007), além do seu uso na detecção da poluição aquática experimental. Devido aos resultados robustos, seu uso é difundido na avaliação de compostos bioativos, guiado para outros ensaios, comprobatórios (CEPLEANU, 1993).

Em nossos testes feitos no LQPN-UFPB (laboratório químico de produtos naturais), optamos pela concentração máxima de 1% de DMSO para dissolução das substâncias, evitando um possível resultado falso positivo.

Dentre as 12 substâncias testadas, 10 apresentaram DL₅₀ maior que 250 µg/mL. Os compostos **SeA1, SeA2, SeA3, SeA4, SeA6, SeA7 Se2A1, Se2A2 e Se2A3, Se2A4**, demonstraram através dos resultados obtidos em triplicata que esses compostos apresentam baixa toxicidade, quando avaliados por esse sistema biológico, mostrando a tolerância do organismo a estas substâncias.

Tal inatividade sugere uma boa tolerância *in vivo*, possibilitando sua exploração em diversas atividades e mostrando uma segurança na sua administração. (STEFANELLO *et al.*, 2006), é de primordial importância na busca de novos fármacos organosselênicos os quais necessitam de uma baixa toxicidade.

Os compostos **SeA5** e **Se2A5** apresentaram toxicidade sobre *A. salina* de 127 µg/mL e 156 µg/mL, respectivamente. Estes dados representam estes compostos apresentam propriedades moderadamente tóxicas e, indica também que **SeA5** e **Se2A5** apresentam potencial atividade antineoplásica frente células tumorais. Assim, estudos farmacológicos devem ser realizados para comprovação de sua viabilidade frente a esse tipo de atividade.

(-) Ausência do crescimento microbiano

4.8 Análise *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET)

Os novos compostos organosselênicos foram submetidos a uma análise *in silico* utilizando o programa Osiris Property Explorer com a intenção de avaliar o seu potencial teórico como possíveis candidatos a novos fármacos. Para isso, determinamos os valores de cLogP, que representa a lipofilicidade do composto; o risco de toxidez teórica relacionado à efeitos irritante, mutagênico, tumorigênico e efeitos sobre o sistema reprodutivo, além dos parâmetros de druglikeness e o drug-score. O valor de druglikeness avalia a índice de fragmentos comuns a fármacos comerciais enquanto o drug-score combina uma série de descritores incluindo o druglikeness, a lipofilicidade (clogP), solubilidade (LogS), a massa molecular e o risco de toxidez em um valor que pode inferir teoricamente o potencial de um composto se tornar um futuro fármaco.

Inicialmente, foi avaliado o parâmetro teórico de biodisponibilidade oral utilizando para isso a regra dos cinco de Lipinski que indica se estes compostos químicos podem ter uma boa biodisponibilidade oral em humanos (LIPINSKI et al., 2001). Os resultados mostraram que todos os compostos da série (**SeA1-7 e Se2A2-5**) seguiram a regra dos cinco de Lipinski, que determina que os compostos devam possuir pelo menos três de quatro requisitos, demonstrando que todos compostos sintetizados apresentam uma boa disponibilidade oral, apenas o composto **SeA5** teve uma violação (**MM**).

Tabela 9: Análise teórica das propriedades físico-químicas dos novos compostos organosselênicos envolvidas na biodisponibilidade oral para fármacos, seguindo a regra dos cinco de Lipinski, calculado pelo Molinspiration.

Composto	R	cLogP	MM	nON	nHONH	n°Viola
SeA1	H	2,56	347,28	4	2	0
SeA2	NO₂	2,48	437,27	10	2	0
SeA3	Etil	4,39	403,38	4	2	0
SeA4	Met	3,46	375,33	4	2	0
SeA5	Br	4,18	505,07	4	2	1
SeA6	Cl	3,92	416,17	4	2	0
SeA7	OMet	2,27	407,33	6	4	0
Se2A1	H	3,1	365,33	4	2	0
Se2A2	NO₂	3,21	465,25	10	2	0
Se2A3	Etil	4,93	431,44	4	2	0
Se2A4	Met	4	403,38	4	2	0
Se2A5	Cl	4,46	444,22	4	2	0

cLogP=Lipofilicidade, MM=Massa Molecular, nON= Número de aceptor de hidrogênio, nHONH Número de doador de hidrogênio

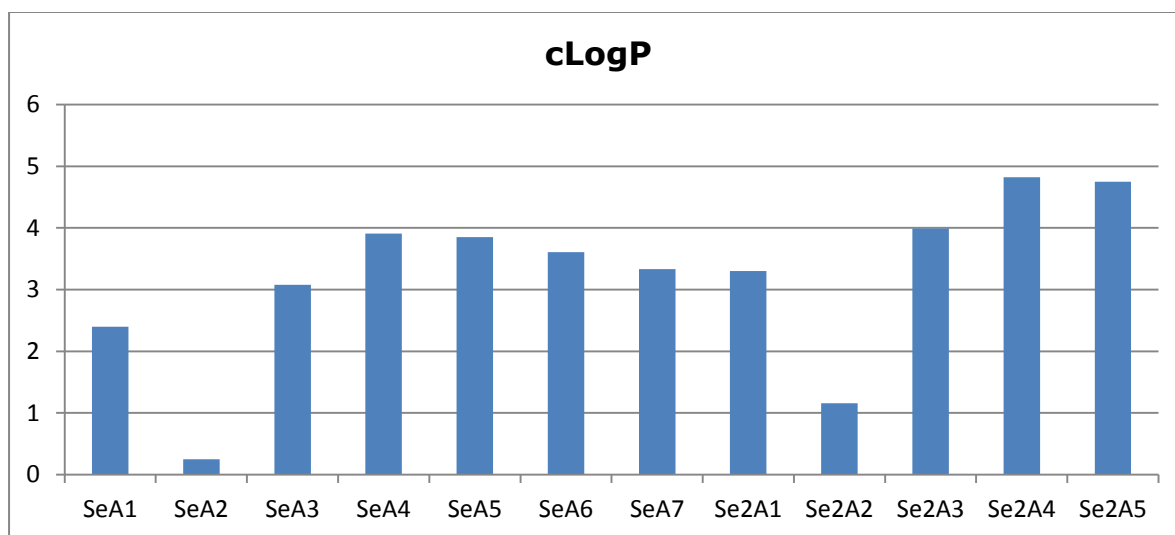
Por questões de mercado, conveniência e segurança, a maioria dos fármacos é administrada via oral. O tratamento com medicamentos por esta via implica a introdução de um fármaco no organismo, de modo que possa chegar a corrente sanguínea e dirigir-se para o sitio específico de ação (MORRISON, 2007). Nesse parâmetro obtivemos bons resultados teóricos.

Em uma segunda abordagem teórica os selenetos (SeA1–A7 e Se2A1–2A6) foram submetidos a uma análise *in silico* usando o programa Osiris Property Explorer para avaliar o potencial teórico destas substâncias como candidatos a novos fármacos. Para isso, foram determinados os seguintes valores:

- a)** cLogP, que corresponde a lipofilicidade da substância;
- b)** cLogS, que corresponde a solubilidade da substância;
- c)** risco toxicológico relacionado aos efeitos irritantes, mutagênico, tumorigênico e sobre a reprodução;
- d)** *druglikeness* que avalia a frequência de ocorrência de fragmentos comuns a fármacos comerciais;
- e)** drug score, que combina *druglikeness*, cLogP, LogS, massa molecular e risco de toxicidade em um valor que pode inferir o potencial de uma substância se tornar um futuro fármaco.

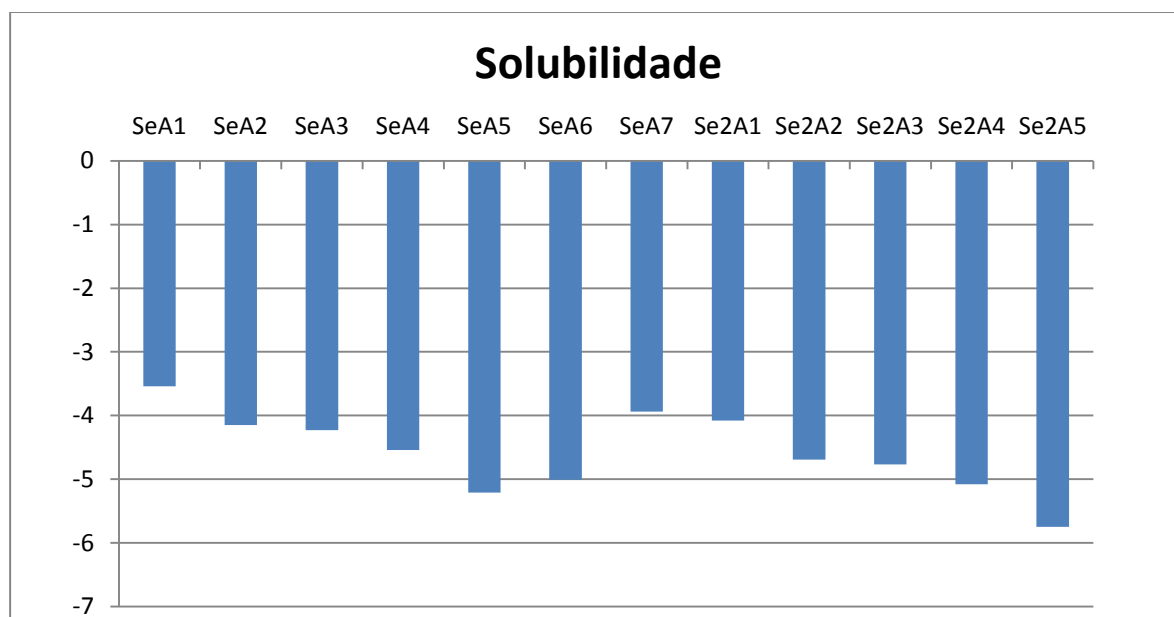
De acordo com a avaliação do Programa Osiris, para que as substâncias tenham uma probabilidade de serem bem absorvidos seus valores de lipofilicidade (cLogP) não devem ser maiores do que 5. Os resultados apresentados por este teste para os novos derivados organosselênicos sintetizados nesta pesquisa apresentaram valores de clogP entre 0,25 e 4,82, indicando que os compostos são suficientemente hidrofóbicos para serem absorvidos e penetrarem em membranas biológicas. Os compostos **SeA2** e **Se2A2** foram os que apresentaram menores valores, indicando baixa lipofilicidade, esse dado demonstra que os grupos substituintes NO₂ afetam de forma negativa essa propriedade de interesse. O aumento dos grupamentos carbonílicos e átomos como o cloro se mostraram eficientes em aumentar esses valores. Os compostos que apresentaram maiores valores foram **Se2A4** e **Se2A5** (**Figura 12**).

Figura 12: Lipofilicidade (cLogP) dos selenetos organicos obtida no programa Osiris Property Explorer.



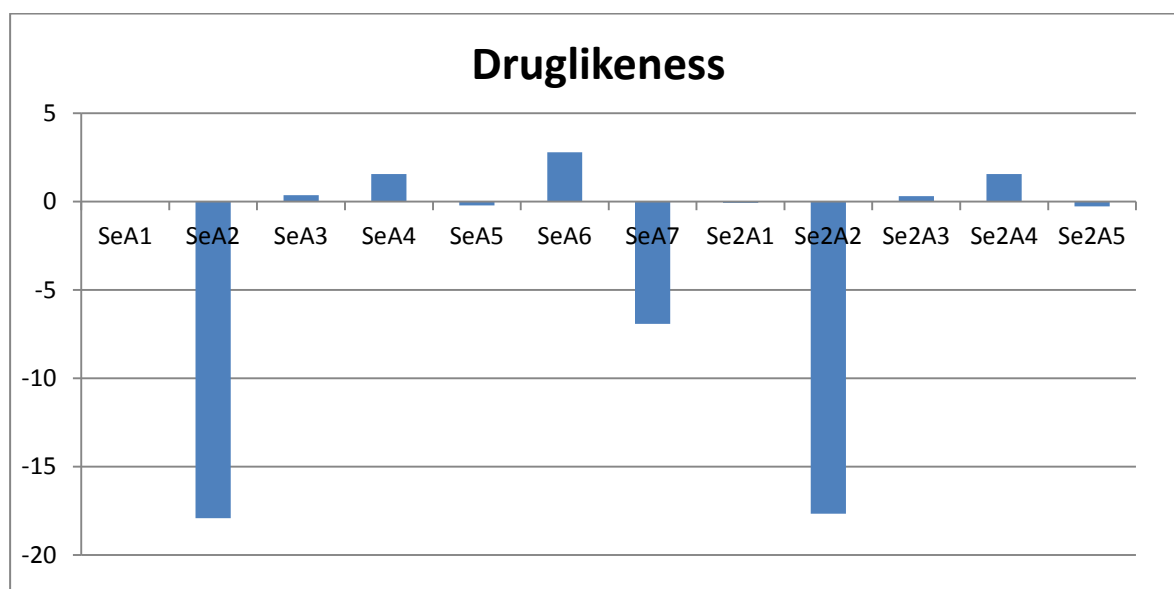
A solubilidade em água de uma substância afeta significativamente as suas características de absorção e distribuição. Em geral uma baixa solubilidade está diretamente relacionada a uma baixa absorção e deve, portanto, ser evitada. Para 80% dos fármacos disponíveis comercialmente, os valores de Log S estimados são maiores do que -4. As análises dos resultados desses testes sobre os novos compostos organosselênicos e seus derivados apresentaram valores de solubilidade próximos ao desejado entre -5,73 e -3,54, mais apenas os compostos **SeA1** e **SeA7** satisfizeram essa condição (**Figura 13**).

Figura 13: Solubilidade dos selenetos obtidos no programa Osiris Property Explorer



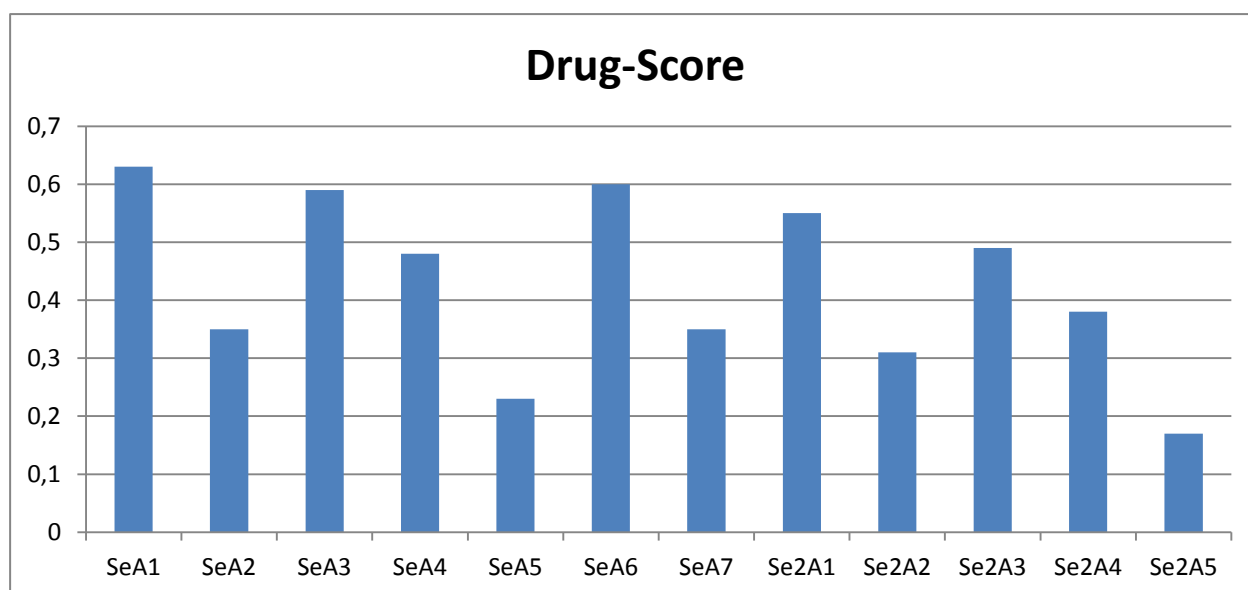
A análise do potencial de uma substância como desenvolvida para fármaco também pode ser realizada por estudos de *druglikeness* e *drug score*. O potencial de *druglikeness* de uma substância está relacionado à semelhança com fármacos do mercado, sendo baseado em descritores topológicos, dados estruturais ou outras propriedades como cLogP (coeficiente de partição etanol/água calculado) e peso molecular. Os derivados apresentaram valores de *druglikeness* entre -17,93 e 2,49. O ideal para uma substância ter características *drug-like*, (ou seja, semelhante a fármacos), é que ele apresente valores estimados de *druglikeness* positivos. As novas substâncias organosselênicas **SeA4**, **SeA6**, **Se2A4** e **Se2A5** mostraram valores positivos e maiores, resultado que aponta um bom perfil *drug-like*, semelhante aos fármacos disponíveis no mercado farmacêutico. A **figura 15** apresenta os valores de *druglikeness* dos novos compostos organosselênicos.

Figura 14: Valores de “druglikeness” dos selenetos orgânicos obtidos no programa Osiris Property Explorer



O potencial de “drug-score” combina o potencial de druglikeness, cLogP, LogS, peso molecular e risco de toxicidade em um valor que é utilizado para inferir o potencial de uma substâncias se tornar um fármaco. Os valores de *drug-score* variam entre 0 e 1 e indicam o potencial de uma molécula se tornar um fármaco de acordo com a combinação dos valores de *druglikeness*, cLogP, logS, peso molecular e risco tóxico. Os valores ficaram entre 0,17 e 0,63. A substância **SeA1** foi a que apresentou valor mais alto, os valores de dos compostos **SeA3**, **SeA6** e **Se2A1** também demonstraram ter uma bom desempenho, a **figura 16** apresenta os valores de *drug-score* dos novos selenetos orgânicos.

Figura 15 : Valores de *drug-score* dos novos organosselênicos obtidos no programa Osiris Property Explorer



A avaliação da toxicidade no Osiris revelou que as substâncias **SeA5** e **Se2A5** apresentaram risco tumorigênico moderado. Os compostos **SeA3** e **Se2A3** apresentaram risco mutagênico médio, o composto **SeA5** apresentou toxicidade frente a *Artemia Salina* demonstrando correlação com os resultados *in silico*. As demais substâncias avaliadas não demonstraram nenhum risco tóxico teórico. É importante ressaltar que os alertas de risco são um indicativo de que a molécula pode ter algum fragmento ou grupamento que cause efeito tóxico, mas não podem ser considerados completamente infalíveis e, por outro lado, a ausência de alerta de riscos não garante que a molécula seja completamente livre de quaisquer efeitos tóxicos. Entretanto, é possível estabelecer uma predição de acordo com uma lista de fragmentos criada a partir das moléculas da base de dados do RTECS (Registro de Efeitos Tóxicos de Substâncias Químicas) que apresentam toxicidade já conhecida (TECKTO, 2005).

Capítulo 5

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e analisando-se os resultados obtidos, é possível obter generalizações frente ao presente trabalho.

O presente estudo esteve centrado no desenvolvimento de uma nova série de compostos organosselênicos obtidos a partir da estrutura dos cloretos de acetamida. Dessa forma, foi sintetizada doze compostos organosselênicos (bis-selenetos) aos quais não foi encontrado nenhum registro na literatura. Esta nova série foi obtida utilizando uma estratégia sintética simples e eficiente, permitindo modificações na estrutura dos compostos na posição *para* do anel aromático. Esta estratégia também pode ser aplicada as demais posições (*orto* e *meta*), o que confere um caráter altamente modular. Cabe salientar que essa flexibilidade na introdução e modificação de substituintes arilas, visando a preparação de pequenas bibliotecas de compostos, é um modelo de fundamental importância para estudos toxicológicos e farmacológicos de novos compostos.

Através das análises dos resultados obtidos, é importante notar a fácil adaptação da mesma estratégia sintética para uma ampla gama de substratos, com diferentes características estruturais, o que torna essa metodologia robusta e bastante atrativa para a incorporação de grupos organosselênio em diferentes cadeias orgânicas. Essa característica permite criar uma variedade de selenetos orgânicos, com sutis diferenças estruturais, como realizado neste trabalho, o que é desejável para estudos biológicos envolvendo relação estrutura-atividade. Por fim, convém destacar que além de avaliação de seu potencial em sistemas biológicos, essa classe de compostos apresenta uma estrutura bastante interessante, podendo servir como plataforma para o desenvolvimento de novos compostos contendo selênio

Este trabalho também permitiu obter informações fundamentais entorno da toxicidade desta série de compostos organosselênicos, os quais apresentaram resultados semelhantes ao estudo *in silico*, tornando assim ainda mais atraente a utilização desse tipo de estudo, frente a novas moléculas e a possibilidade de potencial farmacológico para série produzida, devido a baixa toxicidade indicada pelos testes, considerados sobre todos os aspectos como relevantes.

Os compostos SeA3 e Se2A3 podem ser considerados de ótima atividade antifúngica, pois inibiram as cepas de *Candida* spp. cuja CIM foi de 128 µg/mL e de atividade moderada, os compostos Se2A4 e SeA5, onde a CIM registrada foi entre 512 a 1024 µg/mL (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

De maneira geral, os novos compostos orgânicos de selênio preparados podem representar estruturas promissoras com diferentes atividades biológicas, que podem atuar contra o estresse oxidativo através de diversos mecanismos de ação.

Entre as perspectivas deste projeto estão a realização das análises conformacionais e ensaios biológicos que venham a confirmar as atividades antimicrobianas e antitumorais, além de aumentar a série com outros grupos analisando os fatores de melhor desempenho. Vale salientar também que estudos biológicos complementares desses compostos estão em andamento em laboratórios parceiros.

Capítulo 6

METODOLOGIA

6.0 METODOLOGIA

6.1 Instrumentos

Para realização dos espectros de RMN ^1H e dos espectros de ^{13}C unidimensional, ambos utilizados para caracterização dos compostos intermediários e dos compostos finais desse trabalho foram obtidos no aparelho VARIAN MERCURY de 200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C na Central Analítica da Universidade Federal da Paraíba (NUCAL-UFPB). Nestes espectros foram utilizados solventes dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) e clorofórmio (CDCl_3) para solubilizar as amostras. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em unidade de parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os espectros de infravermelho foram registrados em espectrômetro BOMEM[®] modelo MB100 M Séries em pastilhas de KBr. As bandas de absorção foram expressas em cm^{-1} , na faixa de 4.000 a 600 cm^{-1} .

Os pontos de fusão foram determinados em placa Kofler de aquecimento MQAPF-3 (LPBS-DQ/UFPB) e não sofreram correções.

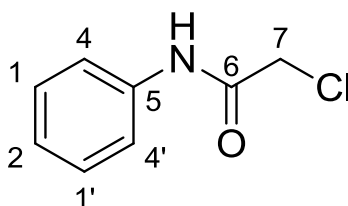
6.2 Materiais

Os solventes e reagentes utilizados de diversas procedências continham grau PA ou espectrométrico, os que não apresentavam qualidades adequadas, quando necessário e dependendo da finalidade do uso, foram purificados e secos.

6.3.1 Preparação dos cloretos de fenilacetamida

6.3.2 Preparação do 2-cloro-*N*-denilacetamida (A1)

Em um balão de 50 mL foram adicionados 20 mmol de anilina e 24 mmol de Trietilamina (Et_3N) sob agitação em 20 mL de diclorometano a uma temperatura de 0°C , controlado por banho de gelo picado. Após um breve período foram adicionados lentamente 24 mmol do cloreto de 2-cloro-acetila. Após a adição, o banho de gelo foi retirado e a reação permaneceu sob agitação constante e temperatura ambiente por 24h. Ao final da reação, o solvente foi removido a pressão reduzida. O precipitado resultante foi lavado com água destilada, filtrado a vácuo e recristalizado em solução adequada de etanol/água. Através desse procedimento foi obtido na sua forma cristalina (cristais brancos).



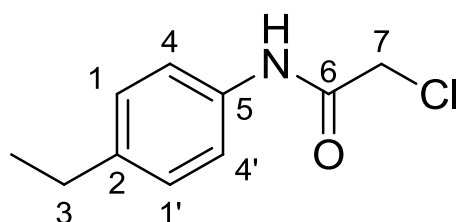
Caracterização:

Rendimento: 93 %, p.f. $138 - 140^\circ\text{C}$. RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 4.16 (s, 2H, CH_2), 7.15 (t, 1H, CH_{Ar} , J 7.3 Hz), 7.33 (t, 2H, J 7.8, CH_{Ar}), 7.52 (d, 2H, J 8.0, CH_{Ar}), 8.28 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): δ 164.01, 136.77, 129.22, 125.35, 120.27, 43.00. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3267, 3205, 3143 (NH), 3098, 3049 (CH_{Ar}), 2947, 2862 (CH_{Alif}), 1672 (C=O), 1604, 1496 (C=C_{Ar}), 1290, 1250 (C-Cl), 1078, 858 (CH_{Ar}), 750 (NH), 557, 499 (C_{Ar}).

6.3.3 Preparação de 2-cloro-*N*-(*p*-tol)acetamida (A3)

Conforme metodologia descrita no item 6.3.2, para a síntese do composto 2-cloro-*N*-(*p*-tol)acetamida foi utilizado 20mmol de *p*-

metilanilina. Através desse processo foi obtido o composto em sua forma cristalina (cristais brancos).

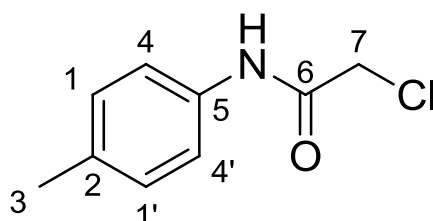


Caracterização:

Rendimento: 95 %, p.f. 182 – 184 °C. RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 2.33 (s, 3H, CH_3), 4.17 (s, 2H, CH_2), 7.15 (d, 2H, CH_{Ar}), 7.42 (d, 2H, CH_{Ar}), 8.21 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (50 MHz - DMSO-d_6): δ 163.86, 135.11, 134.21, 129.73, 120.35, 42.66, 21.02. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3307, 3273, 3203 (NH), 3134, 3089 (CH_{Ar}), 2953 (CH_{Alif}), 1674 ($\text{C} = \text{O}$), 1616, 1552 ($\text{C} = \text{C}_{\text{Ar}}$), 1292, 1252 ($\text{C} - \text{Cl}$), 114, 864 (CH_{Ar}), 748 (NH), 505 ($\text{C} - \text{C}_{\text{Ar}}$).

6.3.4 Preparação de 2-cloro-*N*-(4-etilfenil)acetamida (A4)

Conforme metodologia descrita no item 6.3.2, para a síntese do composto 2-cloro-*N*-(4-etilfenil)acetamida foi utilizado 20mmol de *p*-metilanilina. Através desse processo foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos).

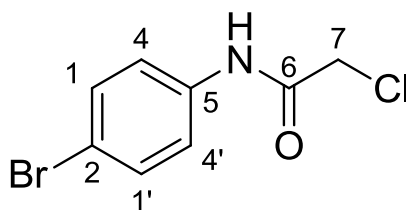


Caracterização:

Rendimento: 95 %, p.f. 140 – 142 °C. RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3): δ 1.22 (t, 3H, CH_3), 2.63 (m, 2H, CH_2), 4.17 (s, 2H, CH_2), 7.18 (d, 2H, CH_{Ar}), 7.44 (d, 2H, CH_{Ar}), 8.23 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (50 MHz - DMSO-d_6): δ 163.89, 141.53, 134.37, 128.56, 120.45, 43.00, 28.45, 15.72. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3308, 3273, 3201 (NH), 3088, 2965 (CH_{Ar}), 2964, 2868 (CH_{Alif}), 1668 ($\text{C}=\text{O}$), 1614, 1512 ($\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$), 1292, 1254 ($\text{C}-\text{Cl}$), 1118, 864 (CH_{Ar}), 740 (NH), 540, 487 ($\text{C}-\text{C}_{\text{Ar}}$).

6.3.5 Preparação de *N*-(4-bromofenil)-2-cloroacetamida (A5)

Conforme metodologia descrita no item 6.3.2, para a síntese do composto 2-cloro-*N*-(4-bromofenil) acetamida foi utilizado 20mmol de *p*-bromo anilina. Através desse processo foi obtido o composto em sua forma crisrtalina(cristais violeta claro).

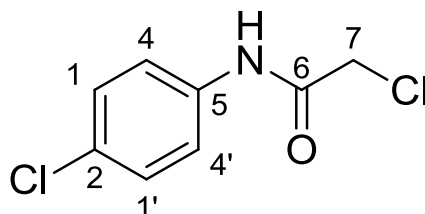


Caracterização:

Rendimento: 84 %, p.f. 184 – 186 °C. RMN ^1H (200 MHz - DMSO- d_6): δ 4.27 (s, 2H, CH_2), 7.55 (m, 4H, CH_{Ar}), 10.45 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (50 MHz - DMSO- d_6): δ 164.83, 137.85, 131.71, 121.28, 115.51, 43.56. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3263, 3194 (NH), 3124, 3076 (CH_{Ar}), 2999, 2953 (CH_{Alif}), 1670 (C = O), 1610, 1550 (C = C_{Ar}), 1281, 1246 (C – Cl), 1188 (C – Br), 1072, 860 (CH_{Ar}), 736 (NH), 497 (C – C_{Ar}).

6.3.6 Preparação de 2-cloro-*N*-(4-clorofenil)acetamida (A6)

Conforme metodologia descrita no item 6.3.2, para a síntese do composto 2-cloro-*N*-(4-clorofenil)acetamida foi utilizado 20mmol de *p*-cloroanilina. Através desse processo foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos).

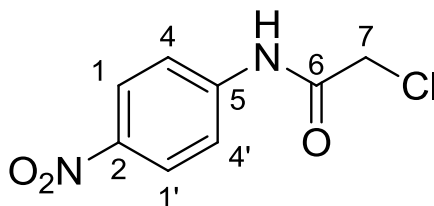


Caracterização:

Rendimento: 76 %, p.f. 170 – 172 °C. RMN ^1H (200 MHz - DMSO- d_6): δ 4.27 (s, 2H, CH_2), 7.40 (d, 2H, CH_{Ar}), 7.63 (dd, 2H, CH_{Ar}), 10.45 (2, 1H, NH). RMN ^{13}C (50 MHz - DMSO- d_6): δ 164.81, 137.44, 128.81, 127.45, 120.92, 43.54. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3264, 3198 (NH), 3128, 3080 (CH_{Ar}), 3003, 2951 (CH_{Alif}), 1668 (C = O), 1612, 1551 (C = C Ar), 1281, 1246 (C – Cl), 1095 (C – Cl of ArCl), 1010, 862 (CH_{Ar}), 737 (NH), 567, 501 (C – C Ar).

6.3.7 Preparação de 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamida (A2)

Conforme metodologia descrita no item 6.3.2, para a síntese do composto 2-cloro-*N*-(4-nitrofenil)acetamida foi utilizado 20mmol de *p*-nitroanilina. Através desse processo foi obtido o composto em sua forma cristalina (cristais amarelo queimado).



Caracterização:

Rendimento: 80 %, p.f. 188 – 190 °C. RMN ^1H (200 MHz, DMSO): δ 4.36 (d, 2H, J 2.3, CH_2), 7.85 (dt, 2H, J 10.2, 2.7, CH_{Ar}), 8.26 (dt, 2H, CH_{Ar}), 10.93 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (50MHz, DMSO): δ 165.62, 144.61, 142.62, 125.07, 119.10, 43.62. IV (KBr): ν/cm^{-1} 3277, 3227, 3163 (NH), 3109, 3070 (CH_{Ar}), 2939, 2825 (CH_{Alif}), 1688 (C = O), 1624, 1506 (C = C_{Ar}), 1597, 1570, 1338 (NO_2), 1294, 1255 (C – Cl), 1172, 869, 850 (C – N de ArNO_2), 1111, 829 (CH_{Ar}), 748 (NH), 526 (C – C_{Ar}).

6.4 Síntese dos bis-selenetos orgânicos:

6.4.1 Preparação do 2,2'-seleno-bis(*N*-fenilacetamida) (SeA1)



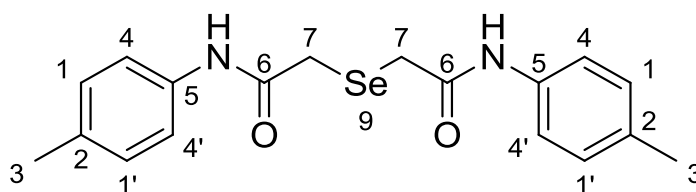
Em um balão foram adicionados 20 mL da mistura sólida de 2,5 mmol de selênio elementar e 5,0 mmol de NaBH₄. A mistura foi agitada continuamente até tornar a mistura sólida homogênea à temperatura ambiente. A seguir foram adicionados 5,0 mmol de etanol, gota a gota e, após a total adição foram adicionados 5 mL de DMF. No decorrer dessa reação a coloração da mistura mudou bruscamente para uma coloração escura e a reação foi deixada em repouso por 5 min. Em seguida 5,0 mmol de 2-cloro-*N*-fenilacetamida dissolvidos em 5 mL de DMF foram adicionados à mistura reacional a qual permaneceu à temperatura ambiente e com agitação constante. Para o processo de purificação, foram adicionados 20 mL de água destilada que promoveu a formação do precipitado que foi filtrado e recristalizado com solvente apropriado. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina (cristais brancos aspecto fibroso).

Caracterização:

Rendimento de 73,2% e ponto de fusão de 202 – 204 °C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.16 (s, 1H, N-H), 7.58 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-4,4'), 7.31 (t, J = 7.8 Hz, 2H, H-1,1'), 7.05 (t, J = 7.3 Hz, 1H, H-2), 3.54 (s, 2H, H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.71(C-6), 139.07 (C-5), 128.80 (C-4,4'), 123.39 (C-2), 119.12 (C-1,1'), 26.97 (C-7). IV (KBr pastilha) ν/cm^{-1} : 3286 (C-H, Ar), 1552 (C=C, Ar), 1643 (C=O), 750 (N-H), 690 (Se-C).

6.4.2. Preparação do 2,2'-seleno-bis(*N*-(*p*-toluil)acetamida) (SeA4)

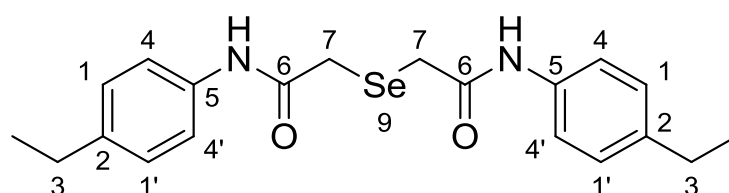
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto 2,2'-seleno-bis(*N*-(*p*-toluil)acetamida) foi utilizado 5 mmol de 2-cloro-*N*-(*p*-toluil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos aspecto lamelar).



Caracterização: Rendimento de 72,3% e ponto de fusão de 195°. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.06 (s, 1H, N-H), 7.45 (d, J = 6.5 Hz, 2H, H-4,4'), 7.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-1,1'), 3.51 (s, 1H, H-7), 2.24 (s, 3H, H-CH₃). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.46 (C-6), 136.56 (C-5), 132.38 (C-2), 129.15 (C-4,4'), 119.13 (C-1,1'), 26.93 (C-7), 20.49 (CH₃). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1651 (C=O), 1552 (C=C), 810 (N-H), 661 (Se-C), 2936 (CH₃)

6.4.3 Preparação do 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-etilfenil)acetamida) (SeA3)

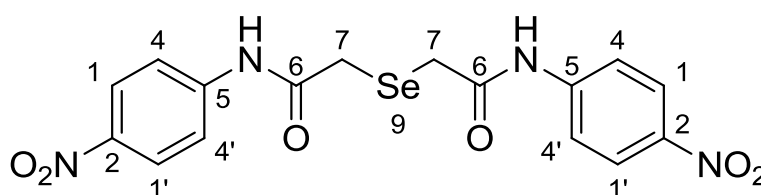
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-etilfenil)acetamida) foi utilizado 5mmol de 2-cloro-*N*-(*p*-etilfenil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais amarelos).



Caracterização: Rendimento de 72,3% e ponto de fusão de 195°C¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆) δ 10.07 (s, 1H, N-H), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-4,4'), 7.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-1,1'), 3.51 (s, 2H, H-7), 2.61 – 2.50 (m, 2H, H-CH₂), 1.14 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H, H-CH₃). ¹³C RMN (50 MHz DMSO-d₆) δ 168.46 (C-6), 138.79 (C-5), 136.75 (C-2), 127.96 (C-4,4'), 119.22 (C-1,1'), 27.64 (C-7), 26.92 (CH₂), 15.76 (CH₃). IV (KBr pastilha) ν / cm⁻¹, 2940 (CH₃), 1662 (C=O), 1546 (C=C), 750 (N-H), 696 (Se-C)

6.4.4 Preparação do 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-nitrofenil)acetamida) (SeA2)

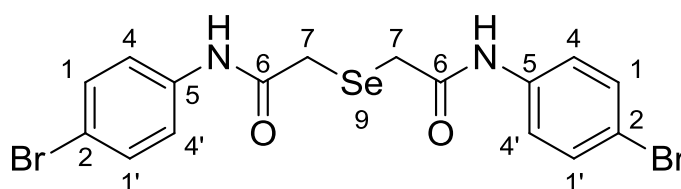
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto 2,2'-selenobis(*N*-(4-nitrofenil)acetamida) foi utilizado 5mmol de 2-cloro-*N*-(*p*-nitrofenil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais amarelo queimado).



Caracterização: Rendimento de 72,3% e ponto de fusão de 232-234°C. ^1H RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 10.70 (s, 1H, N-H), 8.18 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, H-1,1'), 7.78 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, H-4,4'), 3.58 (s, 2H, H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 169.44 (C-6), 145.13 (C-2), 142.21 (C-5), 124.91 (C-1,1'), 118.74 (C-4,4'), 27.01 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} . 1662 (C=O), 1550 (C=C), 850 (NO_2), 748 (N-H), 686 (Se-C).

6.4.5 Preparação do 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-bromofenil)acetamida) (SeA5)

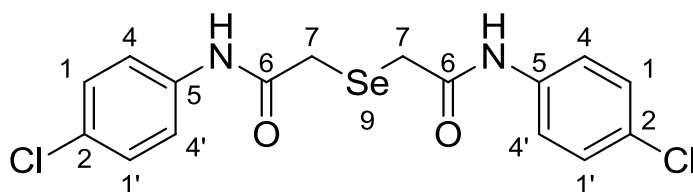
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-bromofenil)acetamida) foi utilizado 5mmol de 2-cloro-*N*-(*p*-bromofenil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais violeta claro).



Caracterização: Rendimento de 76% e ponto de fusão de 205°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.27 (s, 1H, N-H), 7.50 (q, J = 9.0 Hz, 4H, H-1,1',4,4'), 3.51 (s, 2H H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.81 (C-6), 138.40 (C-5), 131.57 (C-4,4'), 121.02 (C-1,1'), 114.95 (C-2), 26.93 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1651 (C=O), 1550 (C=C), 1238 (C-Br), 748 (N-H), 686 (C-Se).

6.4.6 Preparação 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-clorofenil)acetamida) (SeA6)

Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 2'-seleno-bis(*N*-(4-clorofenil)acetamida) foi utilizado 5mmol de 2-cloro-*N*-(*p*-clorofenil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos).

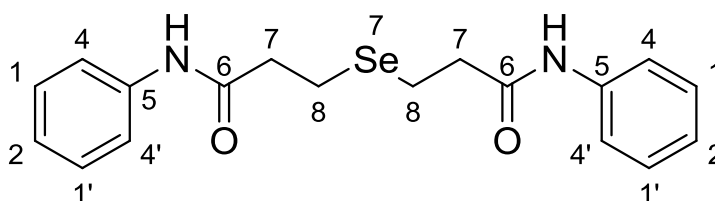


Caracterização:

Rendimento: 78 %, p.f. 190 °C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.28 (s, 1H, N-H), 7.59 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-4,4'), 7.35 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, h-1,1'), 3.52 (s, 2H, H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.79 (C-6), 137.99 (C-5), 128.67 (C-4,4'), 126.93 (C-2), 120.64 (C-1,1'), 26.92 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1651 (C=O), 1537 (C=C), 1238 (C-Cl), 825 (N-H), 692 (C-Se)

6.4.7 Preparação 3,3'-selenobis(*N*-fenilpropanamida) (Se2A1)

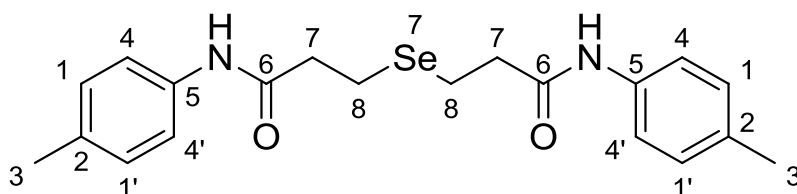
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 3,3'-seleno-bis(*N*-fenilpropanamida) foi utilizado 5mmol de 3-cloro-*N*-fenilbutanamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos).



Caracterização: Rendimento de 72,3% e ponto de fusão de 165°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9.84 (s, 1H, *N*-H), 7.53 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-4,4'), 7.19 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-1,1'), 6.95 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-2), 3.16 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, H-8), 2.80 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 169.60 (C-6), 138.71 (C-5), 128.28 (C-4,4'), 123.03 (C-2), 119.23 (C-1,1'), 37.76 (C-8), 24.47 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 3305 (C-H), 1651 (C=O), 1529 (C=C), 742 (N-H), 690 (C-Se).

6.4.8 Preparação 3,3'-seleno-bis(*N*-(*p*-toluil)propanamida) (Se2A3)

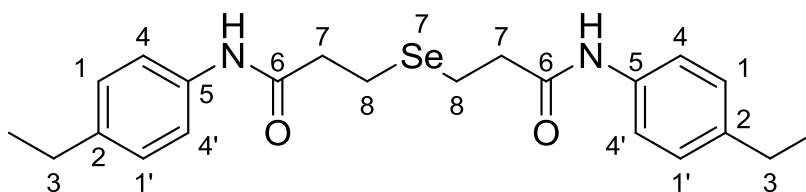
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 3,3'-seleno-bis(*N*-(*p*-toluil)propanamida) foi utilizado 5mmol de 3-cloro-*N*-(*p*-toluil)propanamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina (cristais amarelos, aspecto lamelar).



Caracterização: rendimento de 84,5% e ponto de fusão 160°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO-d_6) δ 9.69 (s, 1H, N-H), 7.42 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4,4'), 7.01 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-1,1'), 3.17 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-8), 2.69 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-7), 2.23 (s, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO-d_6) δ 169.44 (C-6), 136.29 (C-5), 131.86 (C-2), 128.64 (C-4,4'), 119.11 (C1,1'), 37.53 (C-8), 20.31 (CH₃), 18.20 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 2914 (CH₃), 1649 (C=O), 1521 (C=C), 814 (N-H), 665 (C-Se).

6.4.9 Preparação 3,3'-seleno-bis(N-(4-etilfenil)propanamida) (Se2A4)

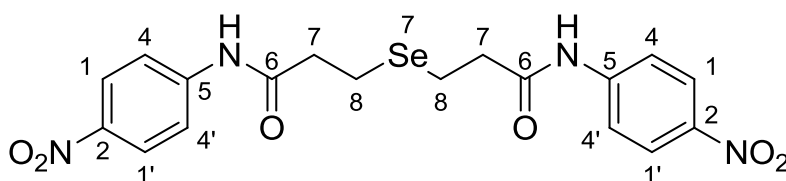
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 3,3'-seleno-bis(N-(4-etilfenil)propanamida) foi utilizado 5mmol de 3-cloro-N-(4-etilfenil)propanamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais amarelos, aspecto lamela).



Caracterização: com rendimento de 82,3% e ponto de fusão de 155°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9.75 (s, 1H, N-H), 7.43 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-4,4'), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-1,1'), 2.74 (dd, J = 19.3, 6.0 Hz, 4H H-7,8), 2.50 (q, J = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 1.12 (t, J = 7.6 Hz, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 169.52 (V-6), 138.42 (C-5), 136.60 (C-2), 127.57 (C-4,4'), 119.19 (C-1,1'), 37.55 (C-8), 27.66 (C-7), 18.24 (CH₂), 15.59 (CH₃). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 2828 (CH₃), 1657 (C=O), 1525 (C=C), 823 (N-H), 669 (Se-C)

6.4.10 Preparação 3,3'-seleno-bis(*N*-(4-nitrofenil)propanamida) (Se2A2)

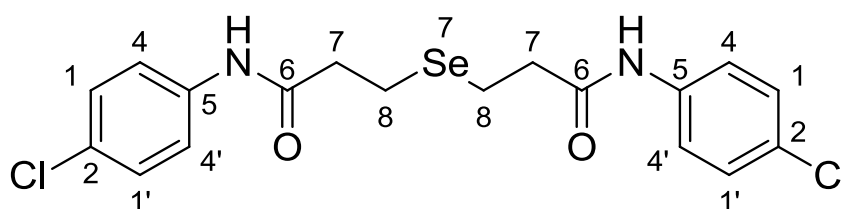
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 3,3'-seleno-bis(*N*-(4-nitrofenil)propanamida) foi utilizado 5mmol de 3-cloro-*N*-(4-nitrofenil)propanamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais amarelo queimado).



Caracterização: com rendimento de 72,1% e ponto de fusão de 204°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.59 (s, 2H, N-H), 8.13 (d, J = 9.3 Hz, 2H, H-1,1'), 7.82 (d, J = 9.3 Hz, 4H, H-4,4'), 3.84 (t, J = 6.3 Hz, 4H, H-8), 2.86 (t, J = 6.3 Hz, 4H, H-7). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.68 (C-6), 144.87 (C-2), 142.18 (C-5), 124.50 (C-1,1'), 118.62 (C-4,4'), 39.85 (C-8), 39.35 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1703 (C=O), 1502 (C=C), 1107 (NO_2), 750 (N-H), 696 (Se-C).

6.4.12 Preparação 3,3'-seleno-bis(*N*-(4-clorofenil)propanamida) (Se2A5)

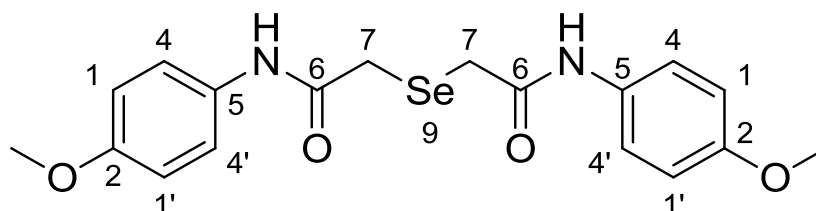
Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 3,3'-seleno-bis(*N*-(4-clorofenil)propanamida) foi utilizado 5mmol de 3-cloro-*N*-(4-clorofenil)propanamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos).



Caracterização: com rendimento de 83,4% e ponto de fusão de 203°C. ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9.95 (s, 2H, N-H), 7.56 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, H-4,4'), 7.19 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-1,1'), 2.76 (dd, $J = 16.2, 5.8$ Hz, 4H, H-7,8). ^{13}C RMN (50 MHz, DMSO- d_6) δ 169.82 (C-6), 137.67 (C-5), 128.13 (C-4,4'), 126.92 (C-2), 120.42 (C-1,1'), 37.55 (C-8), 18.05 (C-7). IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1655 (C=O), 1526 (C=C), 1226 (C-Cl), 820 (N-H), 681 (C-Se).

6.4.6 Preparação 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-metoxifenil)acetamida) (SeA7)

Conforme metodologia descrita no item 6.4.1, para a síntese do composto, 2,2'-seleno-bis(*N*-(4-metoxifenil)acetamida) (SeA7) foi utilizado 5mmol de 2-cloro- *N*-(4-metoxifenil)acetamida. Através desse procedimento foi obtido o composto em sua forma cristalina(cristais brancos, aspecto fibroso).



Caracterização: com rendimento de 79% e ponto de fusão de 204 °C. RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.02 (s, 2H), 7.49 (d, $J = 9.0$ Hz, 4H), 6.88 (d, $J = 9.0$ Hz, 4H), 3.50 (s, 4H), 3.38 (s, 3H). RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) δ 168.20, 155.30, 132.22, 120.66, 113.90, 55.19, 26.88. IV (KBr pastilha) ν / cm^{-1} , 1608 (C=O), 1506 (C=C), 1246 (C-O), 823 (N-H), 742 (C-Se).

6.5 Análise *in silico* dos Selenetos através dos parâmetros ADMET

As substâncias foram submetidas à análise *in silico* dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) usando o programa Osiris Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>), onde foram determinados o potencial de *druglikeness* e o *drug score* (TECKTO, 2005). A avaliação *in silico* da toxicidade de moléculas inclui efeitos mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução. Como os compostos planejados são para a administração via oral, eles devem ser capazes de ser absorvidos no trato gastrintestinal. Desta forma, eles foram avaliados de acordo com a “Regra dos Cinco” de Lipinski que avalia o potencial de compostos apresentarem uma boa biodisponibilidade oral (LIPINSKI, 2001). Além disso, foram calculados a área superficial polar e o número de ligações rotáveis, parâmetros também relacionados à capacidade do fármaco de permear as membranas biológicas (PAJOUHESH & LENZ, 2005). Estas propriedades foram obtidas utilizando os programas Osiris Property Explorer e Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>).

6.6 *Artemia salina* LEACH

O ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* foi conduzido segundo metodologia descrita por Siqueira (1999), adaptada quanto à quantidade de ovos de *A. salina* para cada litro de solução salina e quanto às concentrações testadas.

A solução marinha foi preparada utilizando-se sal marinho sintético (Marinemix – Marine Enterprises International Inc.) e água destilada (38 g de sal/litro de água), sendo esta dividida em duas partes, uma para a eclosão dos ovos e a outra para a preparação das diluições das substâncias-teste, com pH variando entre 8-9. Em um litro de solução salina acondicionado em uma cuba de vidro foi adicionado aproximadamente 80 mg de ovos comerciais de *A. salina* (Maramar), submetidos a um choque de luz com lâmpada de 100 W, por duas horas. O sistema foi mantido em temperatura ambiente por mais 46h, protegido de poeira e insetos e aerado com uso de aerador comercial para aquário. O restante da solução salina foi acondicionado em outro recipiente e também submetido às mesmas condições de iluminação, temperatura e aeração (**Figura 10**).

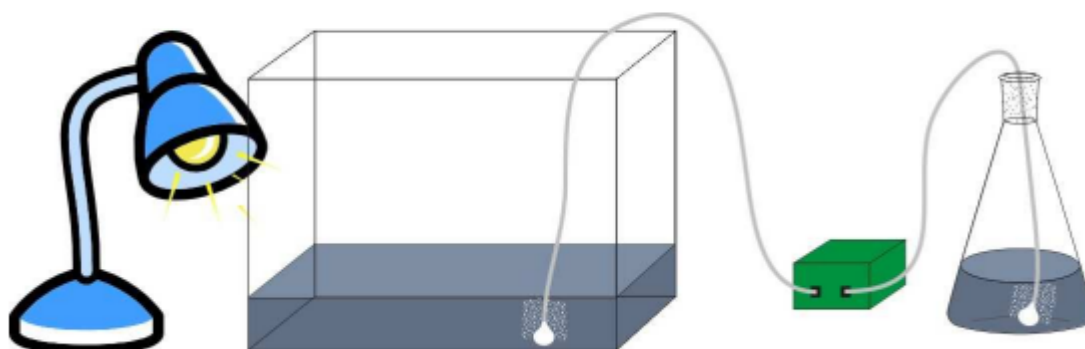


Figura 16: – Esquema do ensaio de citotoxicidade em *Artemia salina*

As substâncias avaliadas foram solubilizadas em DMSO 1% e acrescentada a solução salina aerada de forma a obter as seguintes concentrações: 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL e 31,25 µg/mL. O controle negativo foi feito com solução salina e DMSO 1%. Substâncias com baixa solubilidade foram levadas ao banho-maria e ultrassom.

Para cada diluição foram montadas triplicatas, sendo em cada frasco transparente de 10 ml adicionadas, com auxílio de uma pipeta Pasteur, dez larvas de *A. salina* em sua fase náuplio e 3 ml da diluição a ser testada. Um foco de luz produzido por lâmpada de 100 W (devido ao fototropismo positivo do microcrustáceo) e fundo escuro para contraste foram utilizados na transferência das larvas para o frasco-teste. Os frascos foram distribuídos aleatoriamente em uma bandeja e mantidos por 24h em temperatura e iluminação ambientes e protegidos de poeira e insetos.

Após tal período foi realizada a leitura com auxílio de lupa, foco de luz e fundo escuro de contraste, considerando-se mortos aqueles microcrustáceos que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Todo o experimento foi conduzido no Laboratório Químico de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba – LQPN-UFPB.

7 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland; Squires (1991) e NCCLS/CLSI (2002). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas fúngicas e bacterianas foram realizadas através da técnica da microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços. Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de RPMI/BHI duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão dos produtos preparados duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 1024 µg/mL até 2 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas de leveduras e de bactérias nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma cepa. Paralelamente, foram realizados os controles: micro-organismos (RPMI+leveduras/ BHI+ bactérias), meio de cultura (RPMI/CBHI) e droga padrão (RPMI+ inóculo fúngico+ nistatina 100UI) / (BHI+ inóculo bacteriano+ cloranfenicol 100ug/mL). As placas preparadas e asépticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de 35 ± 2 °C por 24 - 48 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do produto, capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento fúngico/ bacteriano verificado nos orifícios, quando em comparação com seu controle. O resultado foi expresso pela média aritmética das CIM's obtidas no ensaio realizado em duplicata.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL=fraca

7.1 MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram RPMI/sem bicarbonato (SIGMA-ALDRICH® /USA/France) e Caldo Brain Heart Infusion (CBHI) (DIFCO Laboratories/USA/France), os quais foram preparados segundo as descrições dos fabricantes.

7.2 MICRO-ORGANISMOS

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas:

- **Leveduras:** *Candida albicans* ATCC - 90028, *C. albicans* LM- 106, *Candida tropicalis* ATCC -13803, *C. tropicalis* LM – 31, *Candida parapsilosis* LM- 14, *C. parapsilosis* LM-02, *C. krusei* LM- 13 e *C. krusei* LM- 08
- **Bactérias:** *Staphylococcus aureus* ATCC-13150, *S. epidermidis* ATCC- 12228 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027.

Ao micro-organismos pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em Agar Sabouraud Dextrose (ASD)/leveduras e Brain Heart Infusion (BHI)/bactérias (DIFCO Laboratories/USA/France), os quais foram preparados segundo as descrições dos fabricantes. Todas as cepas foram mantidas em ASD e BHI à temperatura de 4 °C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24-48 horas em ASD/BHI, incubados a 35 ± 2 °C.

7.3 INÓCULO

Para preparação do inóculo, colônias obtidas de culturas das cepas de *Candida spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* mantidas em ASD/ ABHI, foram suspensas em solução de NaCl 0,85% estéril e ajustadas de acordo com o padrão 0,5 de McFarland para obtenção de $1-5 \times 10^6$ UFC/mL (NCCLS 2000; HADACECK; GREEGER, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ANTUNES et al., 2006; FREIRE et al., 2014).

REFERÊNCIAS

REFERENCIAS

ABELE, E.; POPELIS, J.; SHESTAKOVA, I.; DOMRACHEVA, I.; ARSENYAN, P.; LUKEVICS., E. **Chem. Heterocycl. Compd.**, 40, 742e746., 2004

ALAIN KRIEF.; MAHMOUD TRABELSI.; A WILLY DUMONT,A MICHEL DEROCK, Conditions-Driven Selective Synthesis of Selenides and Selenols from Elemental Selenium., **Synlett**, No. 10, 1751–1754 Thieme Stuttgart New York., 2004

ANDREADOU, I.; MENGE .; COMMANDEUR.; WORTHINGTON EA.; VERMEULEN NPE., Transition metal oxide nanopowder and ionic liquid: an efficient system for the synthesis of diorganyl selenides, selenocysteine and derivatives, **J Med Chem** 39:2040 , 1996

ANNA J.; MUKHERJEE.; SANJIO S.; ZADE, HARKESH B.; SINGH.; RAGHAVAN B. SUNOJ., Organoselenium Chemistry: Role of Intramolecular Interactions., **Chem. Rev.**, 110, 4357–4416., 2010

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

BŁASIAK, J.; SIKORA, A.; WOZNIAK, K.; DRZEWOSKI, J. Genotoxicity of streptozotocin in normal and cancer cells and its modulation by free radical. **Cell Biol. Toxicol.**, 20, 83-96, 2004.

BORGES, L. P.; CORRALO, V. B.; MORO, A. V.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J.B. T., ZENI, G. Protective effect of diphenyl diselenide on acute liver damage induced by 2-nitropropane in rats. **Toxicology**, 210, 1-8, 2005.

BORGES, L. P.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T.; ZENI, G. Acute liver damage induced by 2-nitropropane in rats: Effect of diphenyl diselenide on antioxidant defenses. **Chem. Biol. Interact.**, 2006.

BORGES, V.C.; ROCHA, J.B.; NOGUEIRA, C.W., Effect of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen on cerebral Na(+), K(+)- ATPase activity in rats. **Toxicology** 215: 191-197. 2005.

CEPLEANU, F., Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation [**Tese**]. Lausanne: Faculdade de Ciências da Universidade de Lausanne; 1993.

CLARK, L. C.; COMBS, G. F.; TURNBULL, B. W et al .Effects of selenium for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. **Journal of the American Medical Association**. 276, 1957-1985, 1991.

COMBS, G. F.; GRAY, P. G. Chemopreventive Agents: Selenium.**Pharmacol. Ther.**, 79, 179-192, 1998.

DOROFEENKO, Y.G.; ZUBAREVICH, L.A.; ZUBAREVICH, V.L.; ZUBAREVICH, Y.L.; SANOTSKII, I.V.; GRYAZNOV, L.E. RUSS. **PATENT** 2185819, 2002.

FACHINETO, R., PIVETTA, L., FARINA, M., PEREIRA, R. P., NOGUEIRA, C. W., ROCHA, J. B. T. Effect of ethanol and diphenyl diselenide exposure on the activity of aminolevulinate dehydratase from mouse liver and brain. **Food and Chemical Toxicology**.00-00. 2006.

FLEMER, S. Selenol Protecting Groups in Organic Chemistry: Special Emphasis on Selenocysteine Se-Protection in Solid Phase Peptide Synthesis, **Molecules**, 16, 3232. 2011.

FLEMING, J.; GHOSE, A.; HARRISON, P. R. Molecular mechanisms of cancer prevention by selenium compounds. **Nutr. Cancer**, 40, 42-49, 2001.

FLOHÉ L,; GUNZLER WA,; SCHOCK HH (1973) FEBS Lett 32:132; (b) Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG **Science** 179:588., 1973.

FREUDENDAHL, D. M.; SHAHZAD, S. A.; WIRTH, T. EUR, Synthesis of Arylseleno-1,2,3-triazoles via Copper Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions

of Arylseleno Azides with Alkynes, **J. Org. Chem.**, 1649e1664., 2009

FREUDENDAHL, D. M.; SHAHZAD, S. A.; WIRTH, T., Recent Advances in Organoselenium Chemistry (Eur. J. Org. Chem. 11/2009). **Eur. J. Org. Chem.**, 2009

GLADYSHEV, V. N.; JEANG, K. T.; STADMAN, T. C. Selenocysteine, identified as the penultimate C-terminal residue in human T-cell thioredoxin reductase, corresponds to TGA in the human placental gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, 1996

GLADYSHEV, V. N.; JEANG, K. T.; STADMAN, T. C. The mechanism of thioredoxin reductase from human placenta is similar to the mechanisms of lipoamide dehydrogenase and glutathione reductase and is distinct from the mechanism of thioredoxin reductase from Escherichia coli. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 93, 6146, 1996.

GOVINDASAMY MUGESH,;; WOLF-WALTHER DU MONT,;; HELMUT SIES,;; Chemistry of Biologically Important Synthetic Organoselenium Compounds., **Chem. Rev.**, 101, 2125–2179, 2001.

GULLIVER D.J.; HOPE E.G.; LEVASON W.; MURRAY S.G.; POTTER DM,;; MARSHALL GL ,; Synthesis and properties of two o-phenylenebis(telluroether) ligands, **J Chem Soc Perkin Trans**, 1 429, 1984.

HAUNG X,;; DUAN D., A Novel Synthetic Approach to β -Arylselenenyl Tertiary Alcohols by the One-Pot Reaction of Chloromethyl Selenides and Ketones Promoted by Samarium Diiodide, **Synlett**, 1191, 1998.

HOUGHTON P,;; FANG R,;; TECHATANAWAT I,;; STEVENTON G,;; HYLANDS PJ,;; LEE CC., The sulforhodamine B assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. **Methods.**; 42(4):377-87, 2007.

HU H., JIANG C.; LI G. AND LU J. PKB/AKT and ERK regulation of caspase-mediated apoptosis by methylseleninic acid in LNCaP prostate cancer cells. **Carcinogenesis** 26, 1374-1381., 2005.

IP C., BIRNINGER M., BLOCK E., KOTREBAI M., TYSON J. F., UDEN P. C. AND LISK D. J. Chemical speciation influences comparative activity of selenium-enriched garlic and yeast in mammary cancer prevention. **J Agric Food Chem** 48, 4452. 2000.

JANIÁK, C. Engineering coordination polymers towards applications, **Dalton Trans.**, 2781e2804, 2003.

JONES DN,; MUNDY D,; WHITEHOUSE RD,; Fragmentation of selenoxides: a new method for dehydrogenation of ketones, **Chem Commun**, 86,1970.

JONES, A. W.; WAHYUNINGSIH, T. D.; PCHALEK, K.; KUMAR, N.; BLACK, D. S. New reactivity patterns in activated indoles with 2-methyl substituents, **Tetrahedron**, 6110490e10500., 2005.

KACER F Ger Pat 557,249; Synthèse de nouveaux composés diarylséleniés, **Chem Abstr** 27:304 , 1933.

KATKE, S.A. .; AMRUTKAR, S.V.; BHOR, R.J; KHAIRNAR, M.V., Synthesis of biologically active 2-chloro-n-alkyl/aryl acetamide derivatives., International **Journal of Pharma Sciences and Research** (IJPSR) Vol.2(7), ,148-156., 2011

KLAYMAN D.L,; GRIFFIN T.S., New agents for the selective reduction of the carbon-carbon double bond of .alpha.,.beta.-unsaturated carbonyl compounds **J Am Chem Soc**, 95:197, 1973.

KLAYMAN, D. L., Organic Selenium Compounds, Their Chemistry and Biology; John **Wiley**: New York, NY, 1973.

KOWALSKA E.; NAROD S. A.; HUZARSKI T.; ZAJACZEK S.; HUZARSKA J.; GORSKI B. AND LUBINSKI J. Increased rates of chromosome breakage in BRCA1 carriers are normalized by oral selenium supplementation. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 14, 1302- 1306., 2005.

KRIEF A,; DELMOTTE C,; DUMONT W., Reaction of Organic Selenocyanates with Hydroxides: The One-Pot Synthesis of Dialkyl Diselenides from Alkyl Bromides, **Tetrahedron** 53:12147, 1997.

LEY SV,; O'NEIL IA,; LOW CMR., Ultrasonic formation and reactions of sodium phenylselenide, **Tetrahedron** 42:5363, 1986.

LI H.; STAMPFER M. J.; GIOVANNUCCI E. L.; MORRIS J. S.; WILLETT W. C.; GAZIANO J. M.; MA J. A prospective study of plasma selenium levels and prostate cancer risk. **J Natl Cancer Inst** 96, 696-703., 2004.

MACIEL MAM,; PINTO AC,; VEIGA JR VF., Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím Nova.**; 25(3):429-38., 2002.

MAEDA H,; MATSUYA T,; KAMBE N,; SONODA N,; FUJIWARA S,; SHIN-IKE T ., Imidoylation of acidic hydrocarbons with selenium and isocyanides: A new synthetic method for preparation of selenoimidates **Tetrahedron** 53:12159, 1997.

MASAYA TAKEHARA,; TATSUYA HOSHINO,; TAKUSHI NAMBA,; NAOKI YAMAKAWA,; TOHRU MIZUSHIMA., Acetaminophen-induced differentiation of human breast cancer stem cells and inhibition of tumor xenograft growth in mice., *Biochemical Pharmacology* 81 1124–1135, 2011.

MEOTTI, F.C.; BORGES, V.C.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.; NOGUEIRA, C.W., Potential renal and hepatic toxicity of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and Ebselen for rats and mice. **Toxicol Lett** 143: 9-16. 2003.

MEOTTI, F.C.; STANGHERLIN, E.C.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. **Environ Res** 94: 276-282. 2004.

MIYASHITA M.; HOSHINO M.; YOSHIKOSHI A., Organoselenium Chemistry **Tetrahedron Lett** 29:347, 1988.

MUGESH, G.; DU MONT, W.-W.; SIES, H. Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds. **Chem. Rev.**, 101, 2125e2179, 2001.

MUGESH, G.; SINGH, H. B., Chemoenzymatic approaches to obtain chiralcentered selenium compounds **Chem. Soc. Rev.**, 29, 347e357, 2000.

NAVARRO-ALARCÓN, M.; LOPES-MARTINEZ, M. C. Essentiality of selenium in the human body:relationship with different deseases. **Sci. Tot. Environ.**, 249, 347-371, 2000.

NICOLAOU K.C, PETASIS N.A, Selenium in natural products synthesis. **CIS**, Philadelphia, 1984.

NOGUEIRA C.W., ZENI G., ROCHA J.B.T.,. Organosellenium and organotellurium compounds: pharmacology and toxicology. **Chem. Rev.** 104: 6255–86., 2004.

NOGUEIRA, C. W.; QUINHONES, E. B.; JUNG, E. A.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of diphenyl diselenide. **Inflamm.Res.**, 52, 56-63, 2003a.

NOGUEIRA, C.W.; BORGES, V.C.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.T., Organochalcogens effects on δ -aminolevillinate dehydratase activity from human erythrocytic cells in vitro. **Toxicology** 191: 169–178, 2003b.

NOGUEIRA, C.W.; ZENI,G.; ROCHA, J.B.T. Organoseleniumand organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chem. Rev.**, 104,6255-6286, 2004.

PATAI S.; RAPPOPORT Z., The chemistry of organic selenium and tellurium compounds.**Wiley**, New York, 1986.

PAULMIER C., Selenium reagents and intermediates in organic synthesis. **Pergamon**, Oxford, 1986.

PORCIUNCULA L. O.; ROCHA J. B. T.; BOECK C. R. , VENDITE D.; SOUZA D. O., Ebselen prevents excitotoxicity provoked by glutamate in rat cerebellar granule neurons. **Neurosci. Lett.**, 299, 217-220, 2001.

PORCIUNCULA, L.O.; ROCHA, J.B.; CIMAROSTI, H.; VINADE, L.; GHISLENI, G., SALBEGO, C.G., SOUZA, D.O. Neuroprotective effect of ebselen on rat hippocampal slices submitted to oxygen-glucose deprivation: correlation with immuncontent of inducible nitric oxide synthase. **Neurosci Lett** 346: 101-104. 2003.

RADHAKRISHNA, P. M., Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Organoselenium Compounds., International Journal of Chemistry Vol. 2, No. 2; August 2010.

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

REDDI, A. S.; BOLLINENI, J. S. Selenium-deficient diet induces renal oxidative stress and injury via TGF-beta 1 in normal and diabetic rats. **Kidney Int.**, 59, 1342-1353, 2001.

REINERTH WA.; TOUR JM., biological importance of organoselenium-compounds, **J Org Chem** 63:2397 , 1998.

ROSSATO, J.; KELTZER, L. A.; CENTURIÃO, F. B., Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. **Neurochem. Res.**, 318, 137-140, 2002.

ROTRUCK, J. T.; POPE, A. L.; GANTHER, H. E.; GANRHER. H. E., Selenium:Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, 179,175-179, 1973.

SCHRAUZER GN.; SELEN.; BARTH.; HEIDELBERG.; FRANKENBERGER WT.; ENGBERG RA., Environmental chemistry of selenium. **Dekker**, New York., 1998.

SCHWARZ K.; FOLTZ CM.;selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration, **J Am Chem Soc** 79:3292 , 1957.

SEREDYUK M., PAVLENKO VA., ZNOVJYAK KO., GUMIENNA-KONTECKA E., PENKOVA L., Bis{4-[(3,5-dimethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)selanyl]-3,5-dimethyl-

1*H*-pyrazol-2-ium} chloride monohydrate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2012

SEREDYUK, M.; HAUKKA, M.; FRITSKY, I. O.; KOZLOWSKI, H.; KREMER, R.; PAVLENKO, V. A.; GÜTLICH, P. **DALTON TRANS.**, 3183e3194., 2007.

SHAMBERGER R.J., Biochemistry of selenium. **Plenum Press**, New York, 1983.

SHARPLESS K.B.; LAUER R.F.; Mild procedure for the conversion of epoxides to allylic alcohols. First organoselenium reagent **J Am Chem Soc** 95:2697, 1973.

SPALLHOLZ J.E.; MARTIN J.L.; GANTHER H.E. (eds) Selenium in biology and medicine. **AVI**, Westport, 1981.

SPALLHOLZ, J. E. On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. **Free Rad. Bio.Med.**, 17, 45-69, 1994.

SPALLHOLZ, J. E. Selenium and the prevention of cancer. Part I: Evidence for the carcinostatic activity of Se compounds. **Bull.Selenium-Tellurium Development Assoc.**, 1-6, 2001a.

SPALLHOLZ, J. E. Selenium and the prevention of cancer. Part I: Evidence for the carcinostatic activity of Se compounds. **Bull. Selenium-Tellurium Development Assoc.**, 1-6, 2001b.

SPALLHOLZ, J. E.; PALACE, V. P.; REID, T. W. Methioninase and selenomethionine but not Se-methylselenocysteine generates methylselenol And superoxide in an in vitro chemiluminescent assay: implications for the nutritional carcinostatic activity of selenoaminoacids. **Biochem. Pharmacol.**, 3, 547-554, 2004.

SPALLHOLZ, J. E.; SHRIVER, B. J.; REID, T. W. Dimethyldiselenide and methylseleninic acid generate superoxide in an in vitro chemiluminescence assay in the presence of glutathione: Implications for the anticarcinogenic activity of L-selenomethionine and L-

Se-methylselenocysteine. **Nutr. Cancer**, 40, 34-41, 2001a.

SPALLHOLZ, J. E.; SHRIVER, B. J.; REID, T. W., Dimethyldiselenide and methylseleninic acid generate superoxide in an in vitro chemiluminescence assay in the presence of glutathione: Implications for the anticarcinogenic activity of L-selenomethionine and L-Se-methylselenocysteine. **Nutr.Cancer**, 40, 34-41, 2001b.

SPALLHOLZ, J. E.; PALACE, V. P., REID, T. W. Methioninase and selenomethionine but not Se-methylselenocysteine generates methylselenol and superoxide in an in vitro chemiluminescent assay: implications for the nutritional carcinostatic activity of selenoaminoacids. **Biochem. Pharmacol.**, 3, 547-554, 2004.

STAPLETON, S. R., Selenium: an insulin-mimetic. **Cell. Mol. Life Sci.**, 57, 1874-1879, 2000.

VAN DEN BRANDT P. A.; ZEEGERS M. P.; BODE P. AND GOLDBOHN R. A. Toenail selenium levels and the subsequent risk of prostate cancer: a prospective cohort study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 12, 866-871., 2003.

WANG L, ZHANG Y , **J Chem Res (S)** 598 , 2001.

WEI W. Q.; ABNET C. C.; QIAO Y. L.; DAWSEY S. M.; DONG Z. W.; SUN X. D.; FAN J. H.; GUNTER E. W.; TAYLOR P. R.; MARK S. D. Prospective study of serum selenium concentrations and esophageal and gastric cardia cancer, heart disease, stroke, and total death. **Am J Clin Nutr** 79, 80-85., 2004.

WIRTH, T. TOP. CURR. Selenium and Tellurium Chemistry: From Small Molecules to Biomolecules, **Chem.**, 208., 2000.

WOGGON WD , In: Helmchen G, Hoffmann RW, Mulzer J, Schaumann E (eds) **HoubenWeyl. Thieme, Stuttgart**, E21, p 4947 , 1996.

YIKAI ZHANG,A, SHANYUAN ZHENG,B, SAI-MING NGAI, WENJIE ZHENG, JINYING LI, TIANFENG CHEN, XUEYUN ZHONG, A Novel Selenadiazole

Derivative Induces Apoptosis in Human Glioma Cells by Dephosphorylation of AKT., **Chem. Pharm. Bull.** 62(10) 994–999., 2014

ZASSO, F. B., GONÇALES, C. E. P., JUNG, E. A. C., ARALDI, D., ZENI, G., ROCHA, J. B. T., NOGUEIRA, C. W. On the mechanisms involved in antinociception induced by diphenyl diselenide. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 19, 283-289, 2005.

ZHUO H.; SMITH A. H.; STEINMAUS C. Selenium and lung cancer: a quantitative analysis of heterogeneity in the current epidemiological literature. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 13, 771-778., 2004.

ZYBILL CE ., Herrmann WA (ed) Synthetic methods of organometallic and inorganic chemistry. **Thieme, Stuttgart**, vol 4, p 124 , 1997.

ANTUNES, R. M. P.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S. V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, T. M. S. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 517-524, 2006.

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

FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L.A.L. ; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16 n.2, 2014.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

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

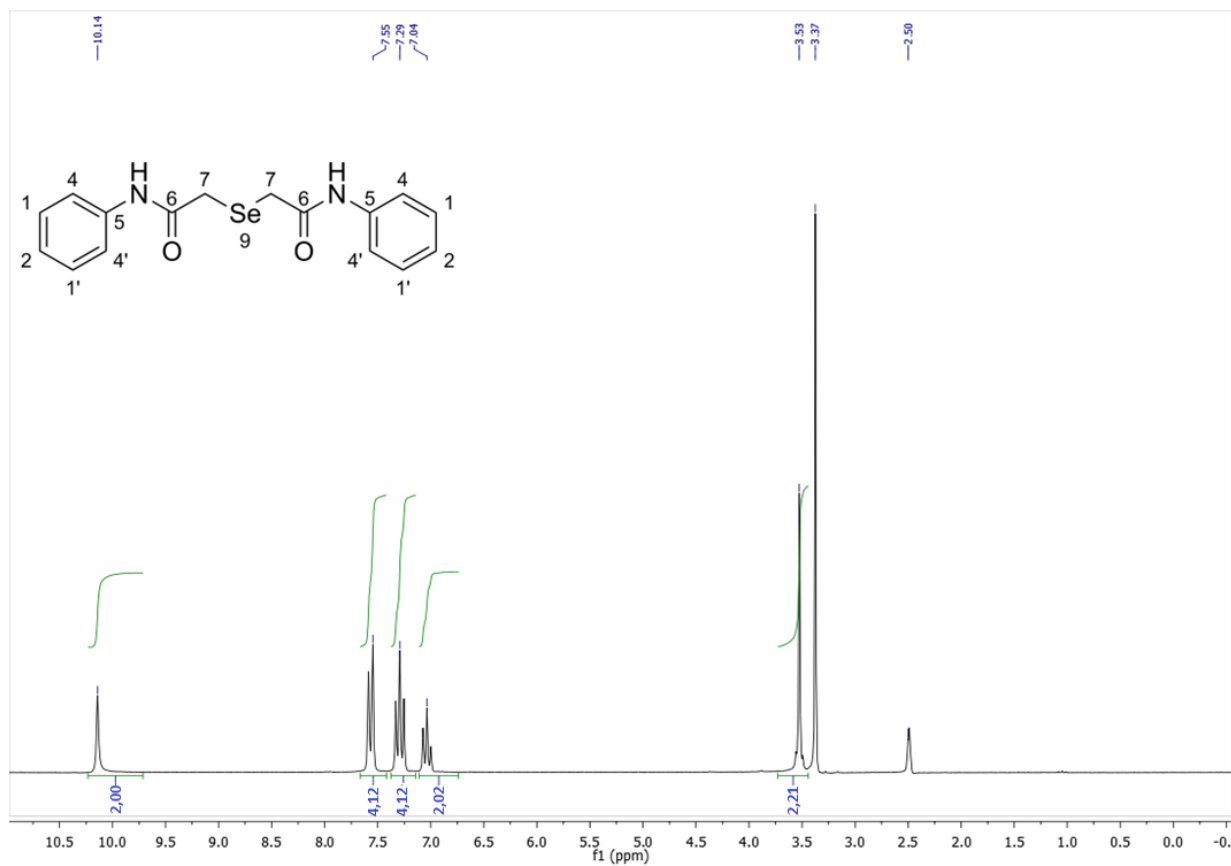
PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 1-7, 2014.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

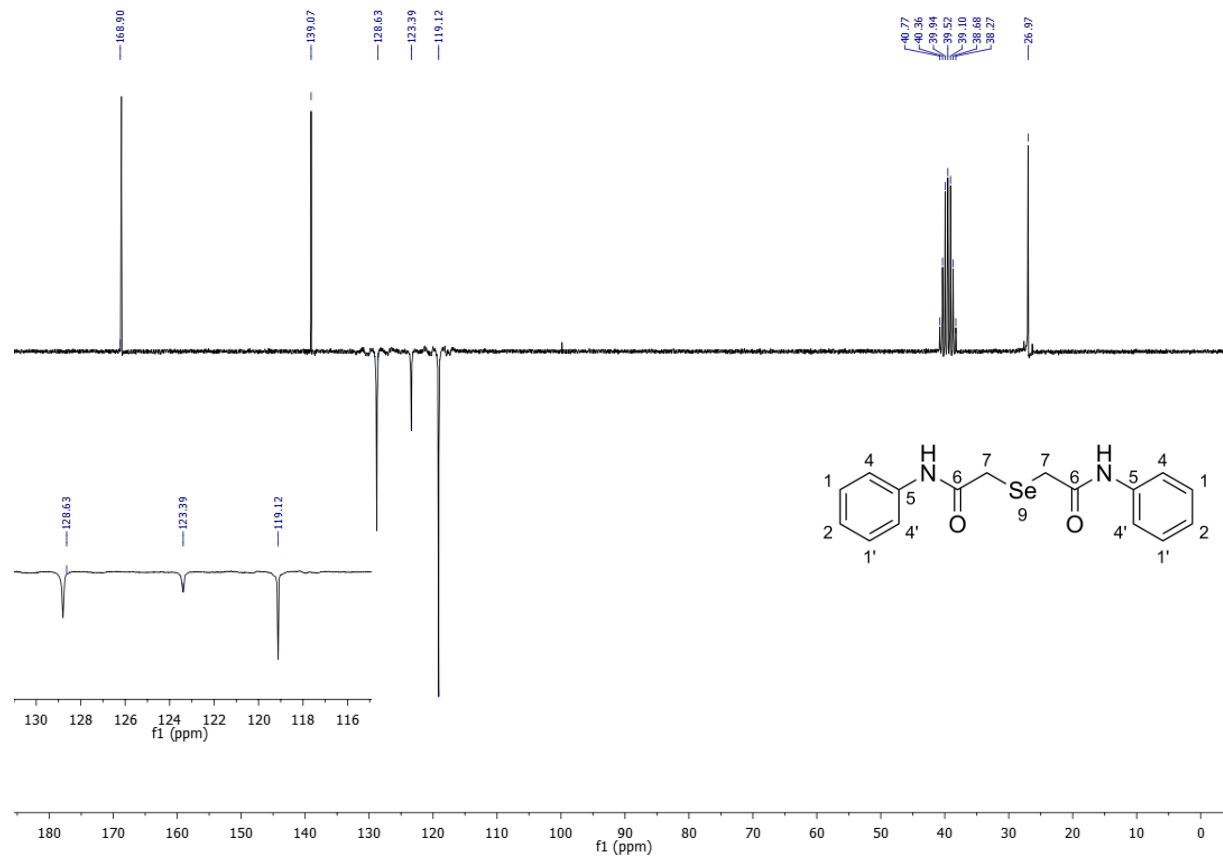
MORRISON, A. et al. Systematic review of trials of the effect of continued use of oral non-selective NSAIDs on blood pressure and hypertension. *Current Medical Research e Opinion*, [S. l.], v. 23, n. 10, p. 2395-2404, 2007.

APÊNDICE

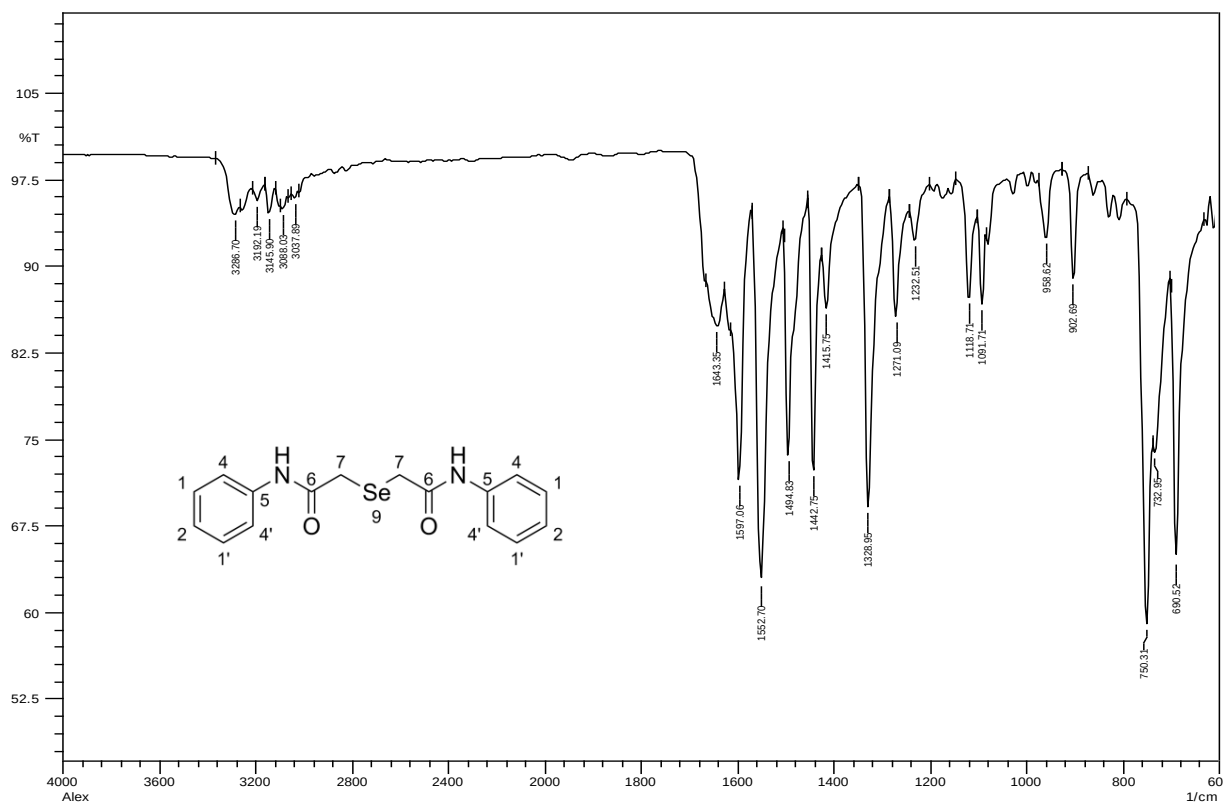
Espectro 7: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA1.



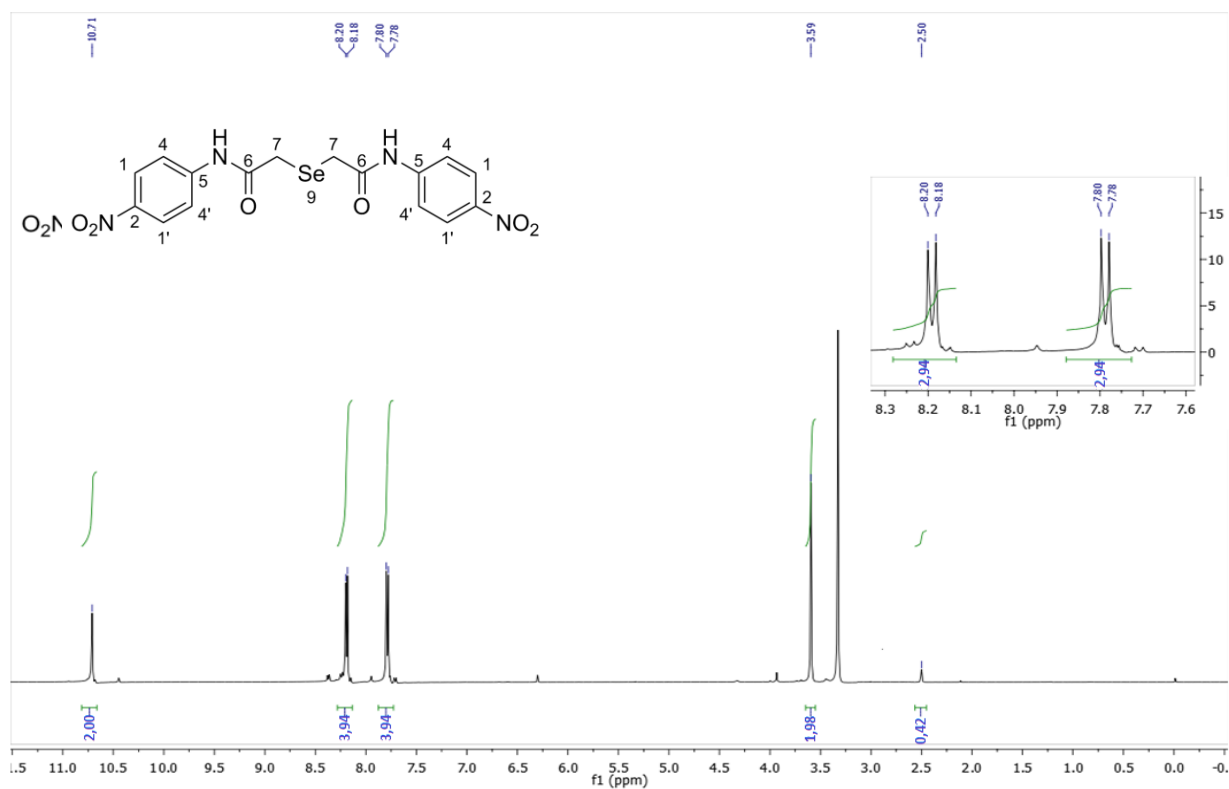
Espectro 8: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA1.



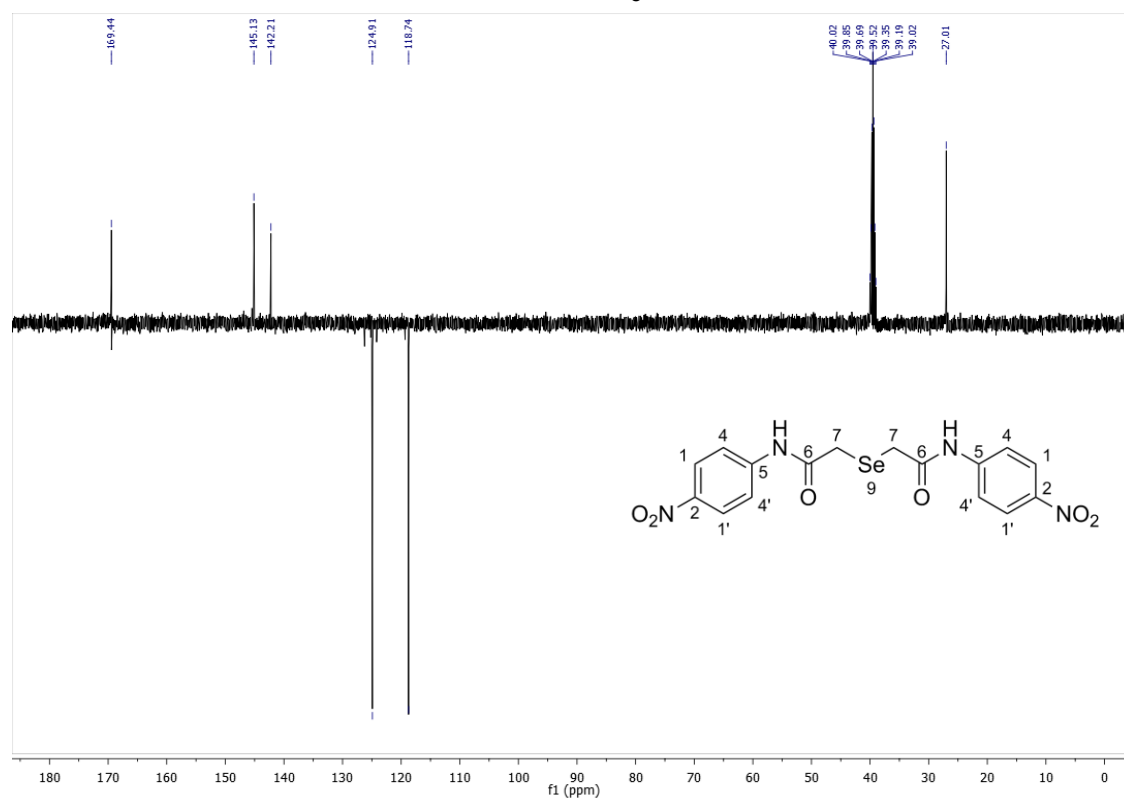
Espectro 9: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA1



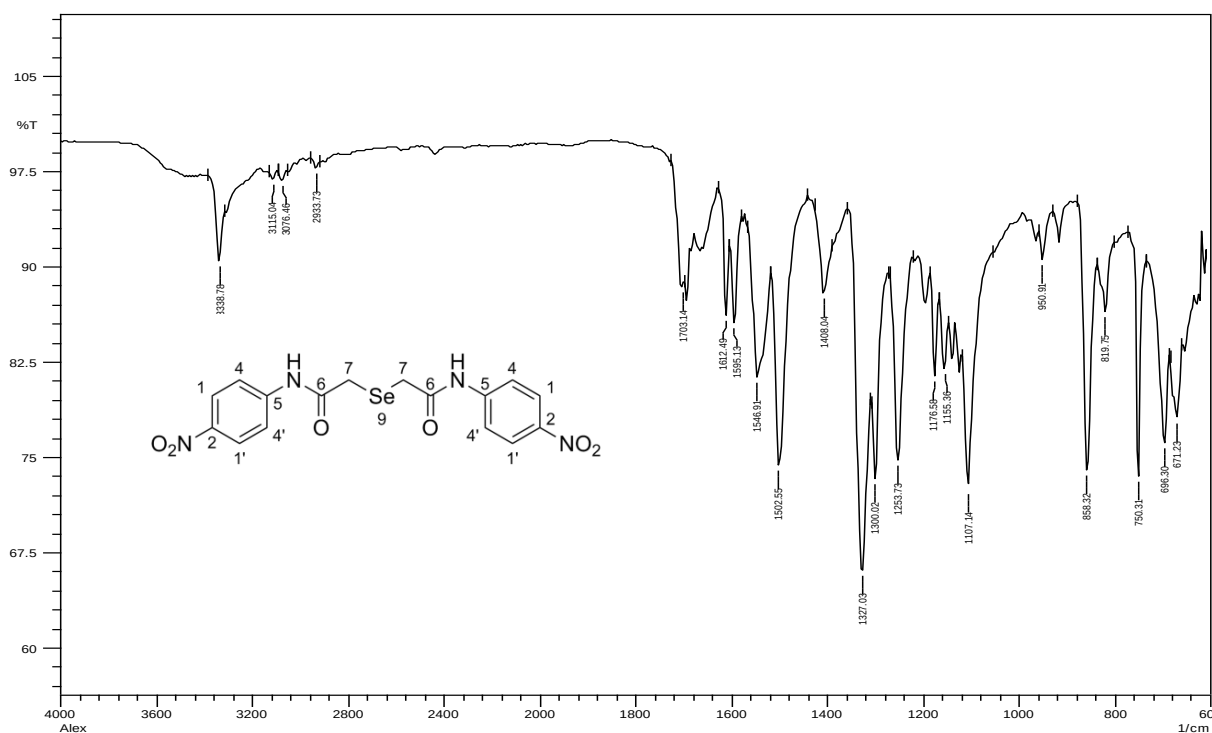
Espectro 10: – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA2



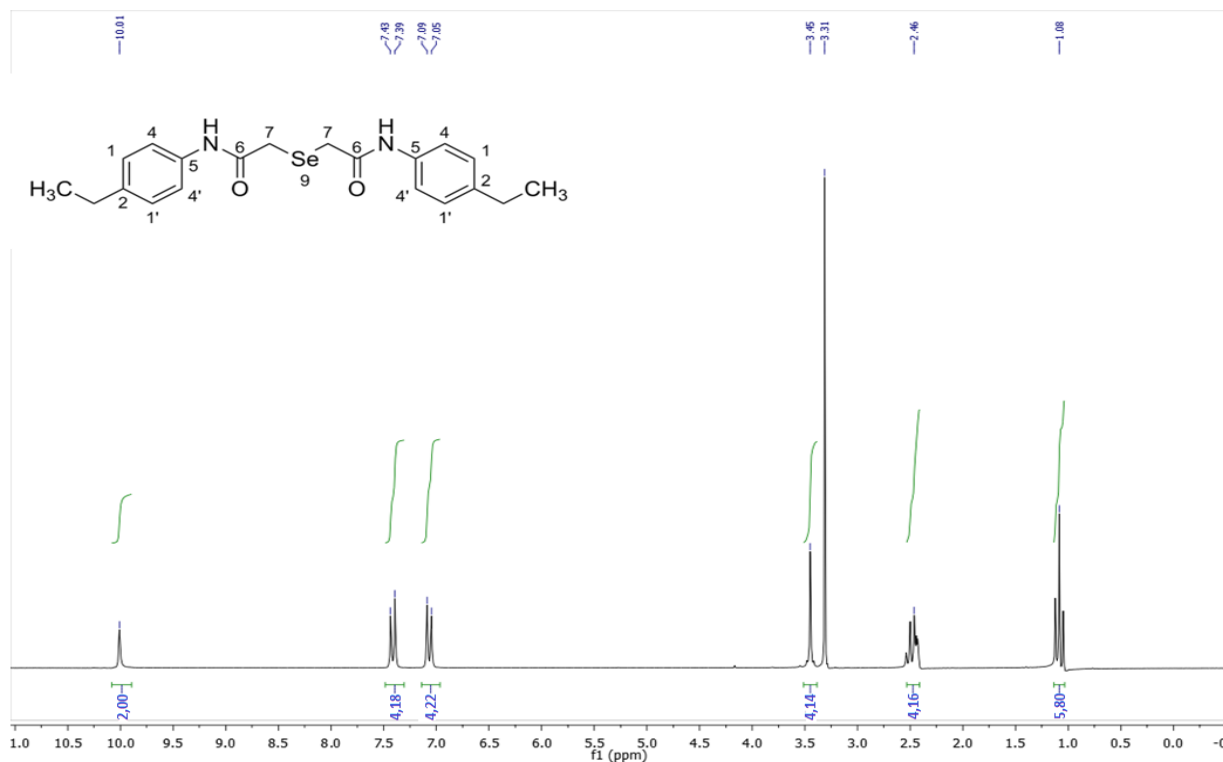
Espectro 11 Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) do composto SeA2 em DMSO-d_6



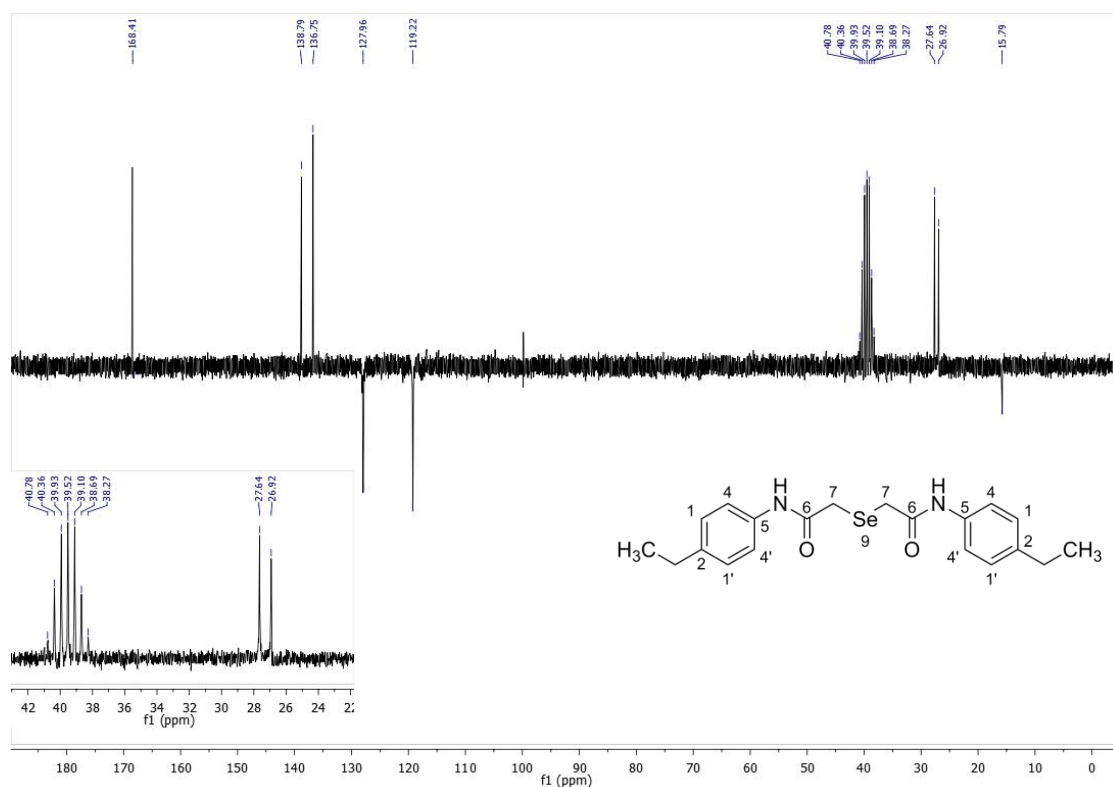
Espectro 12: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA2



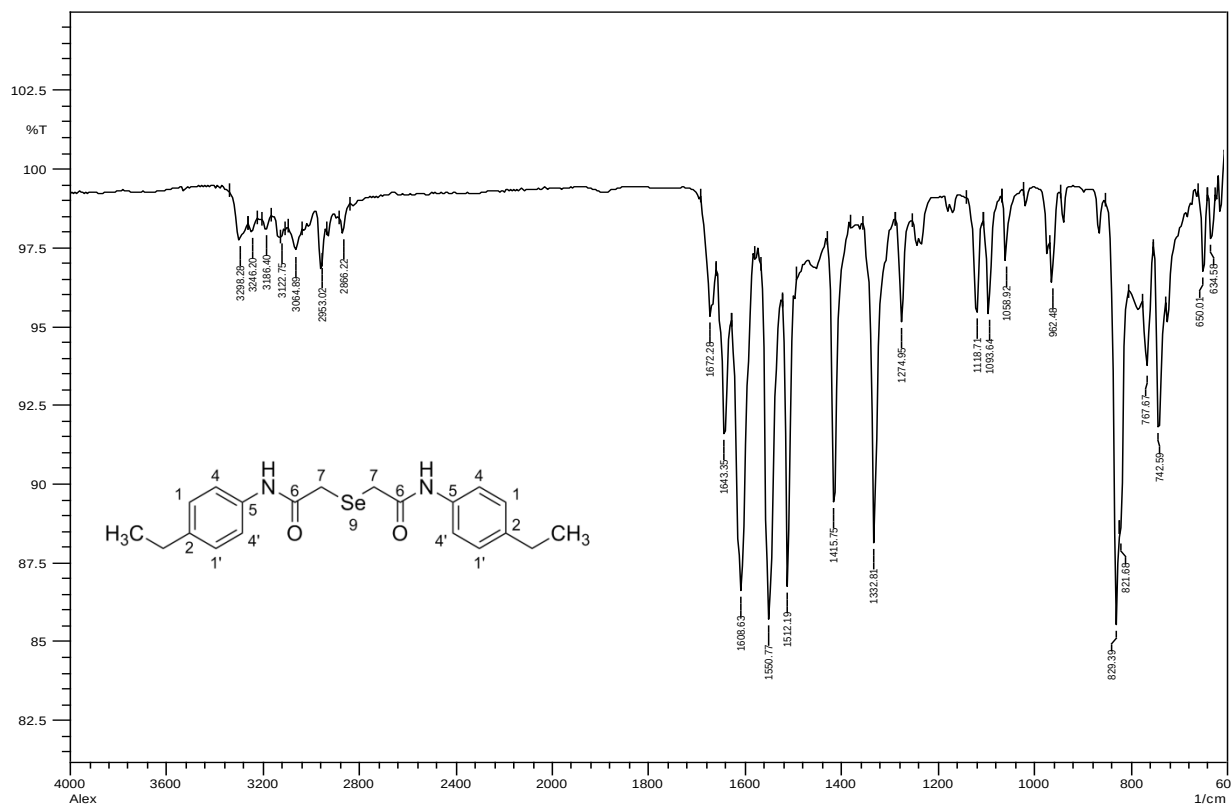
Espectro 13 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) do composto SeA3 em DMSO-d_6



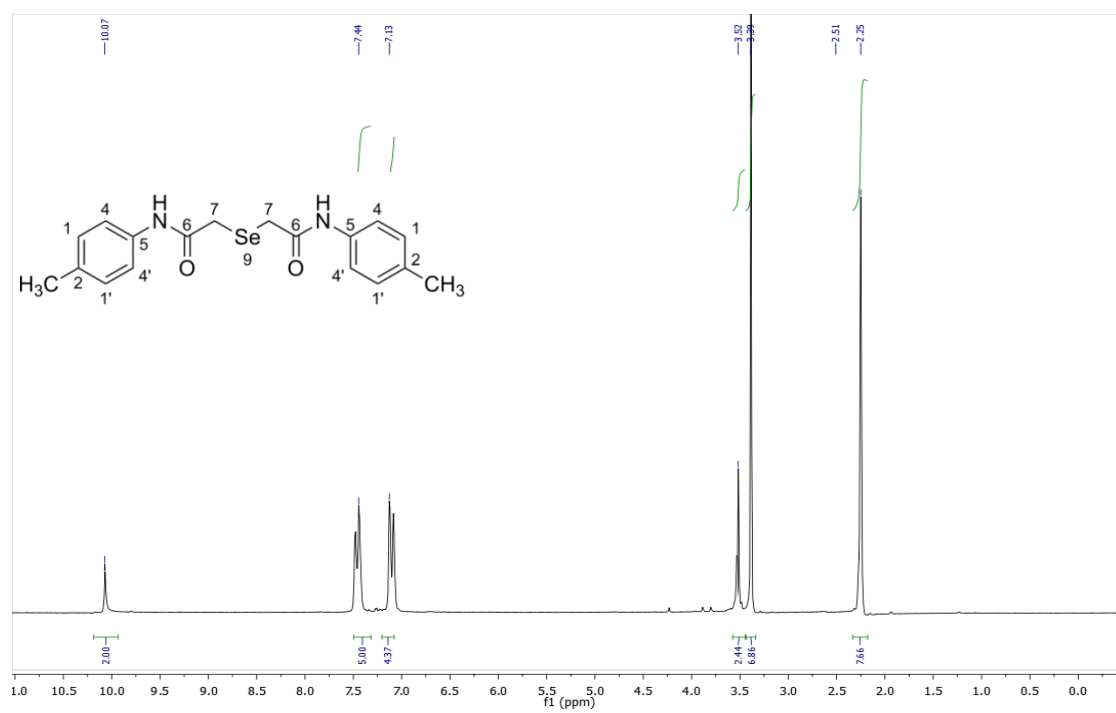
Espectro 14: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA3



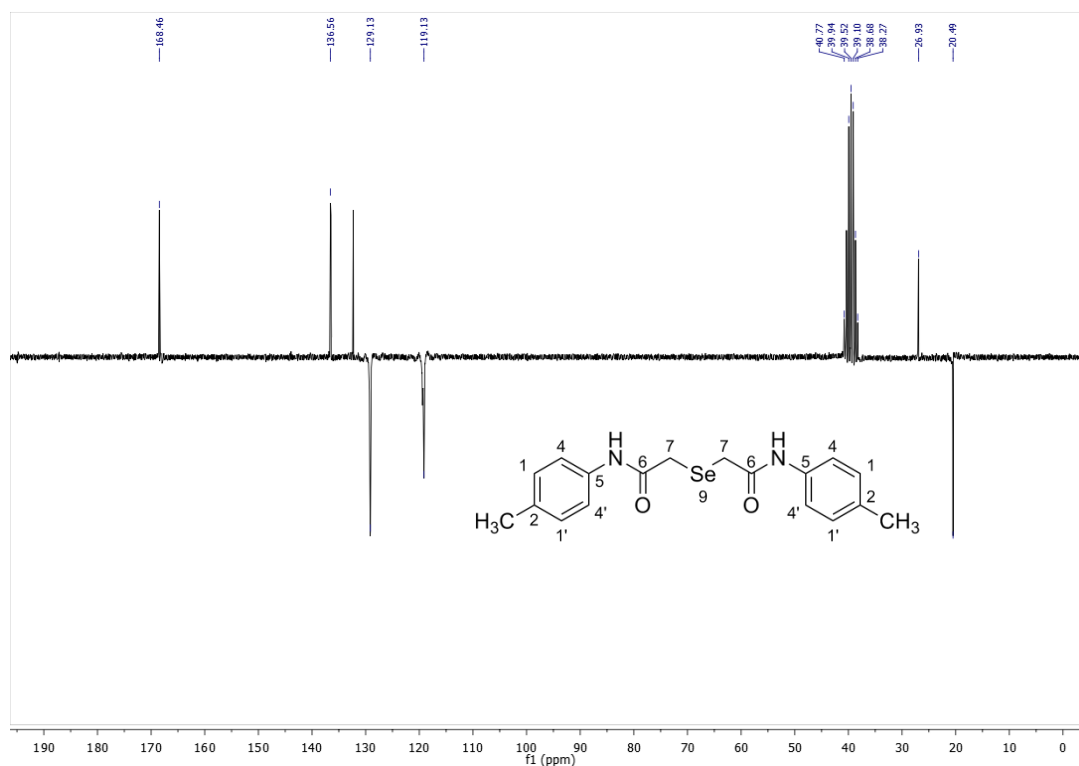
Espectro 15: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA3



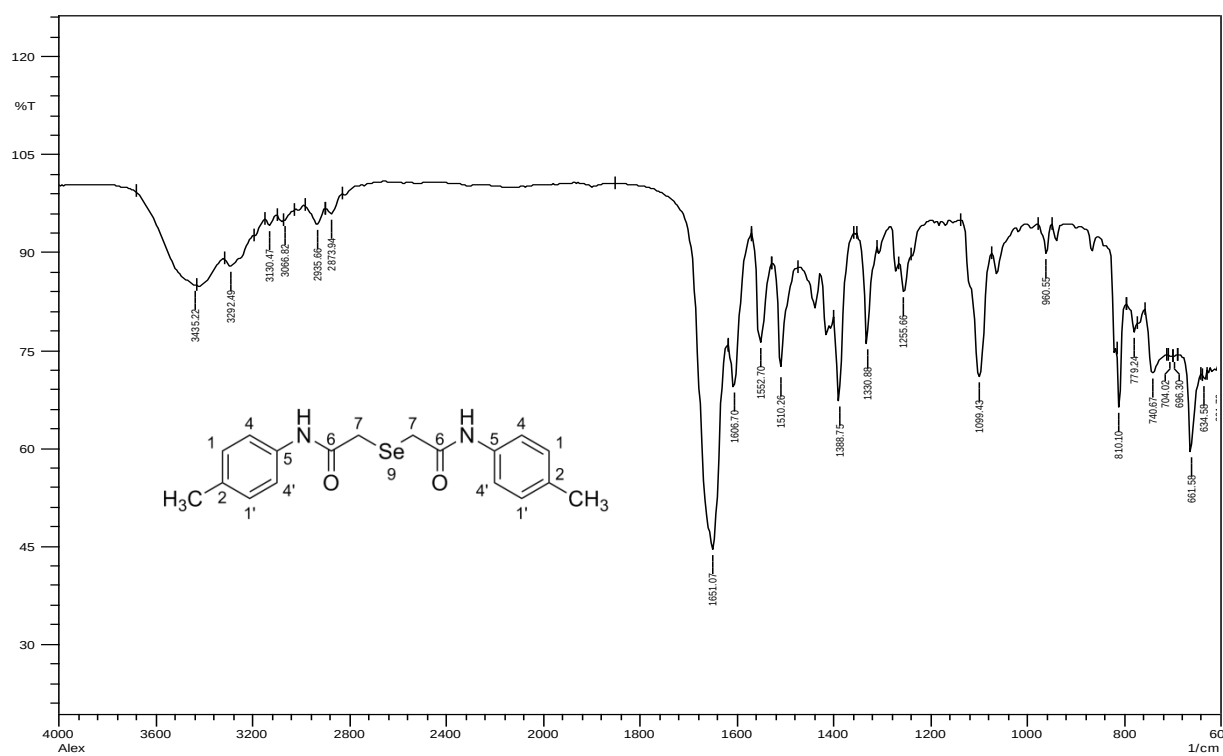
Espectro 16: Espectro 13 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA4



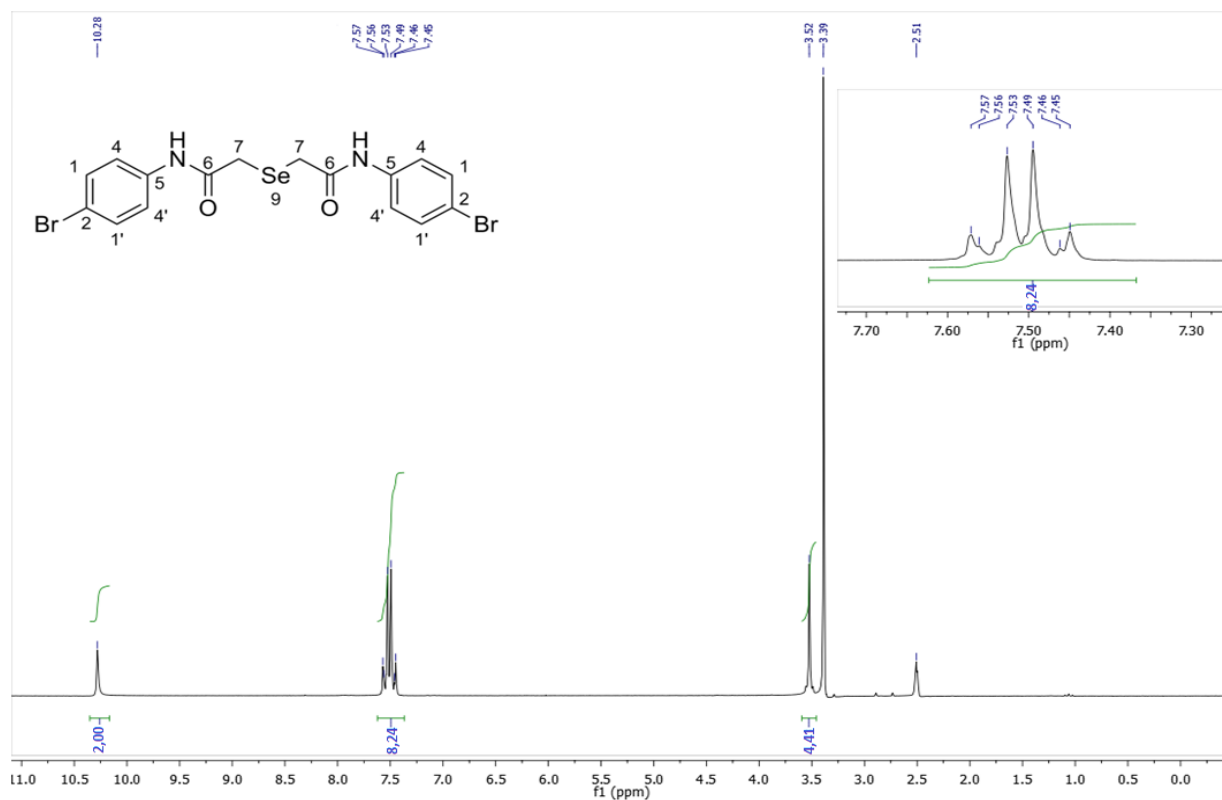
Espectro 17: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA4



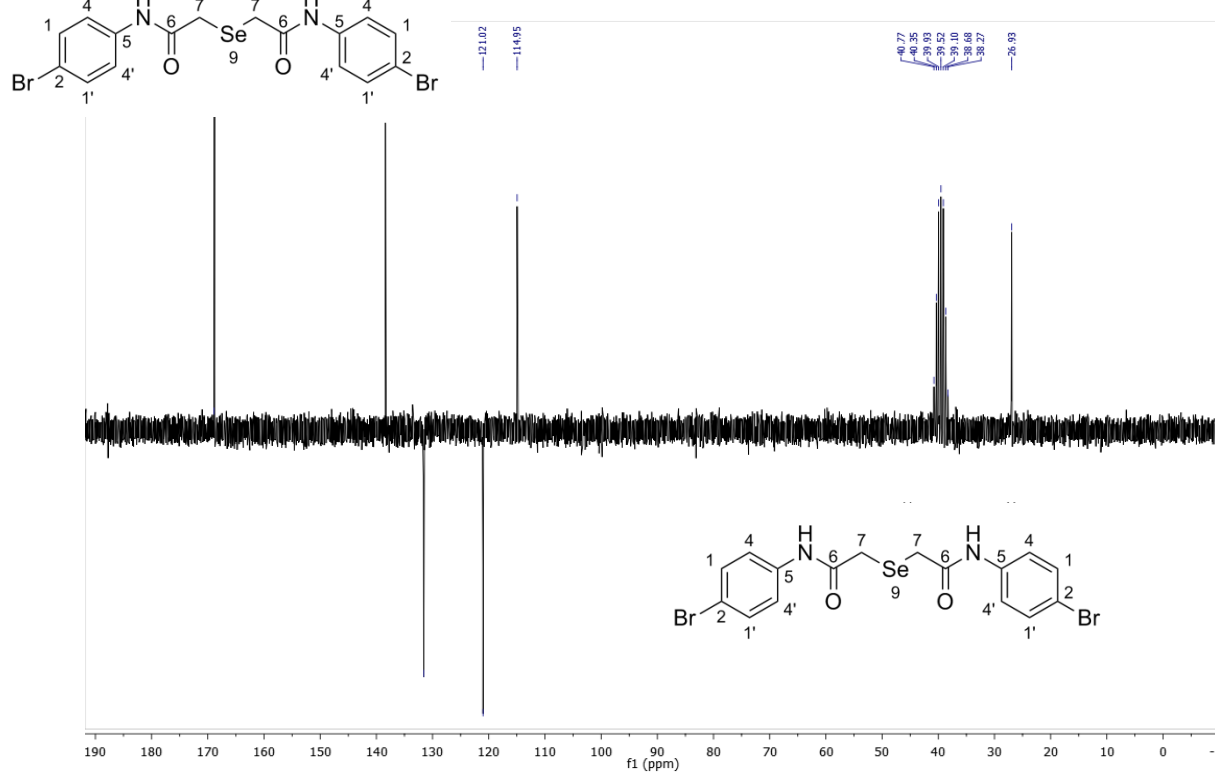
Espectro 18: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA4



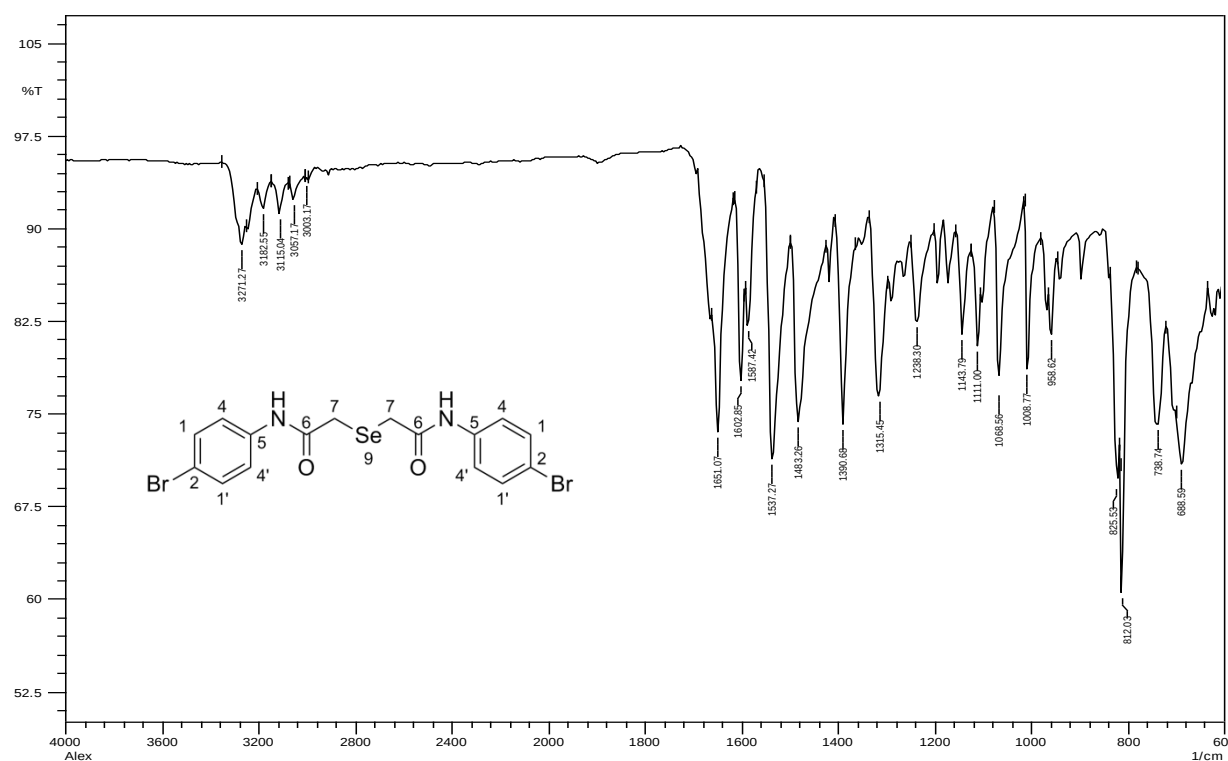
Espectro 19: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA5



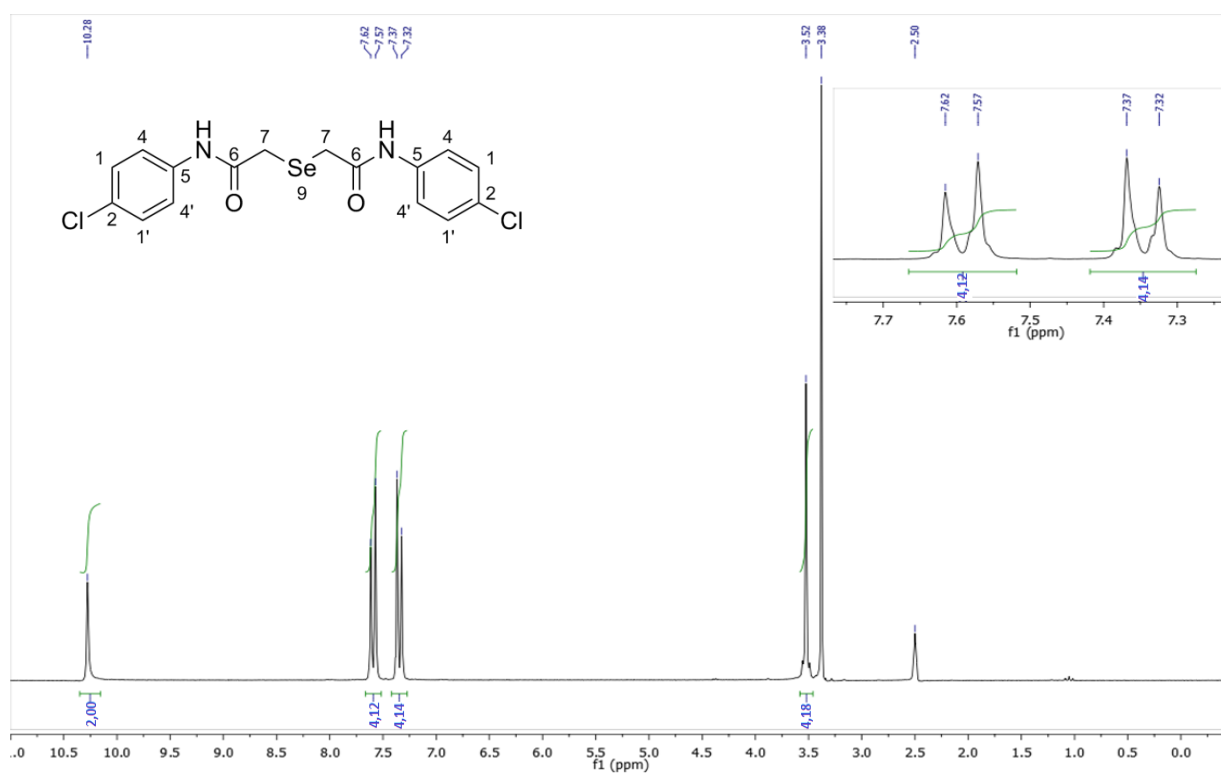
Espectro 20: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto SeA5



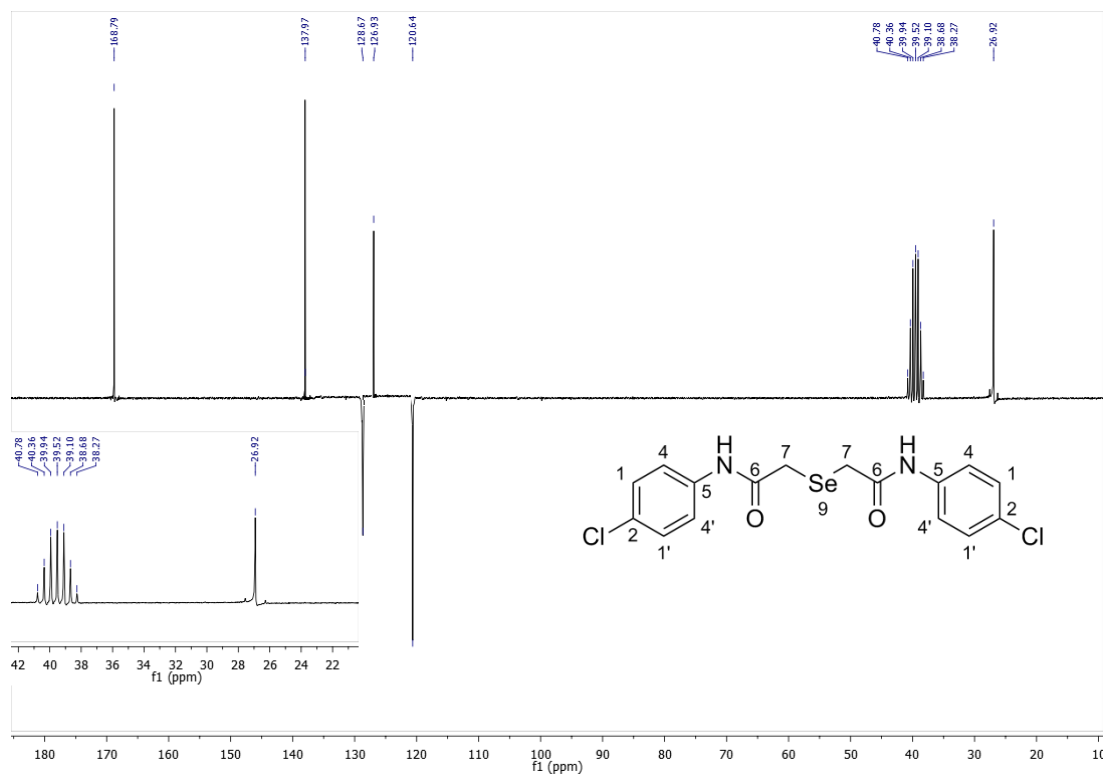
Espectro 21: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1})
do composto SeA5



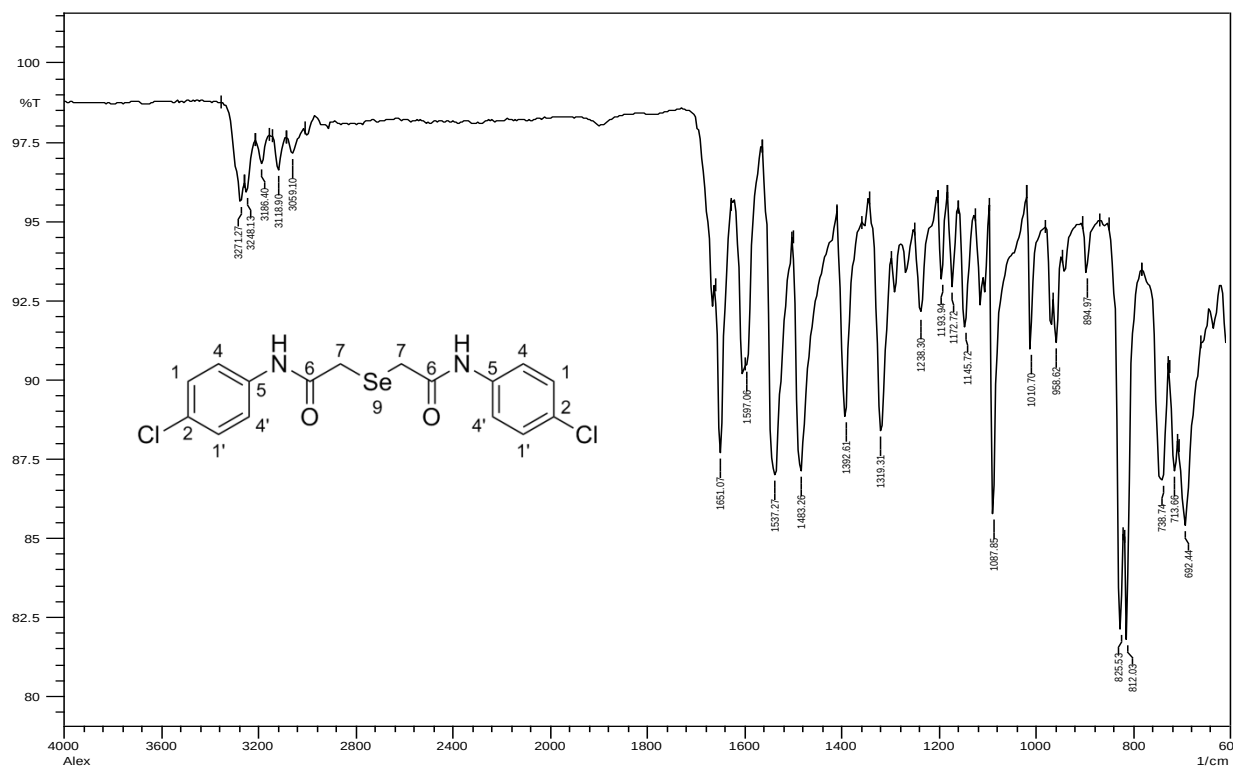
Espectro 22: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do
composto SeA6



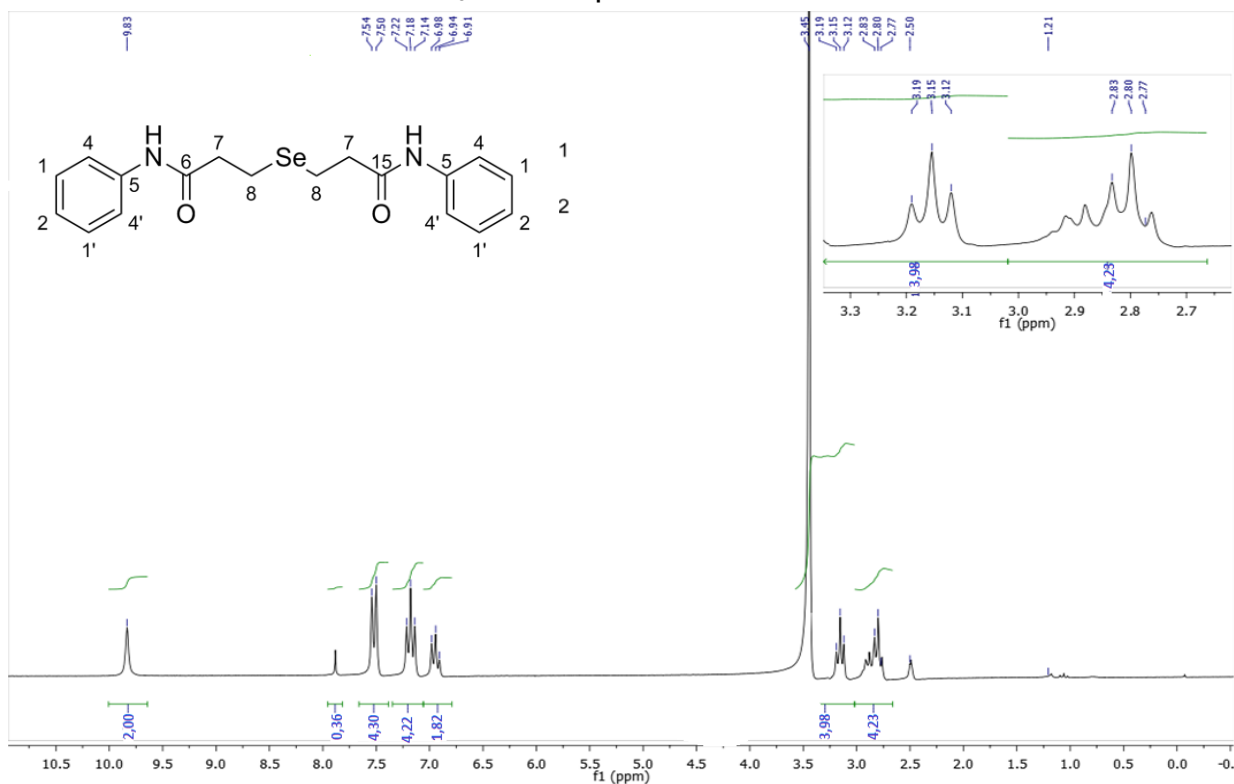
Espectro 23: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do compostoSeA6



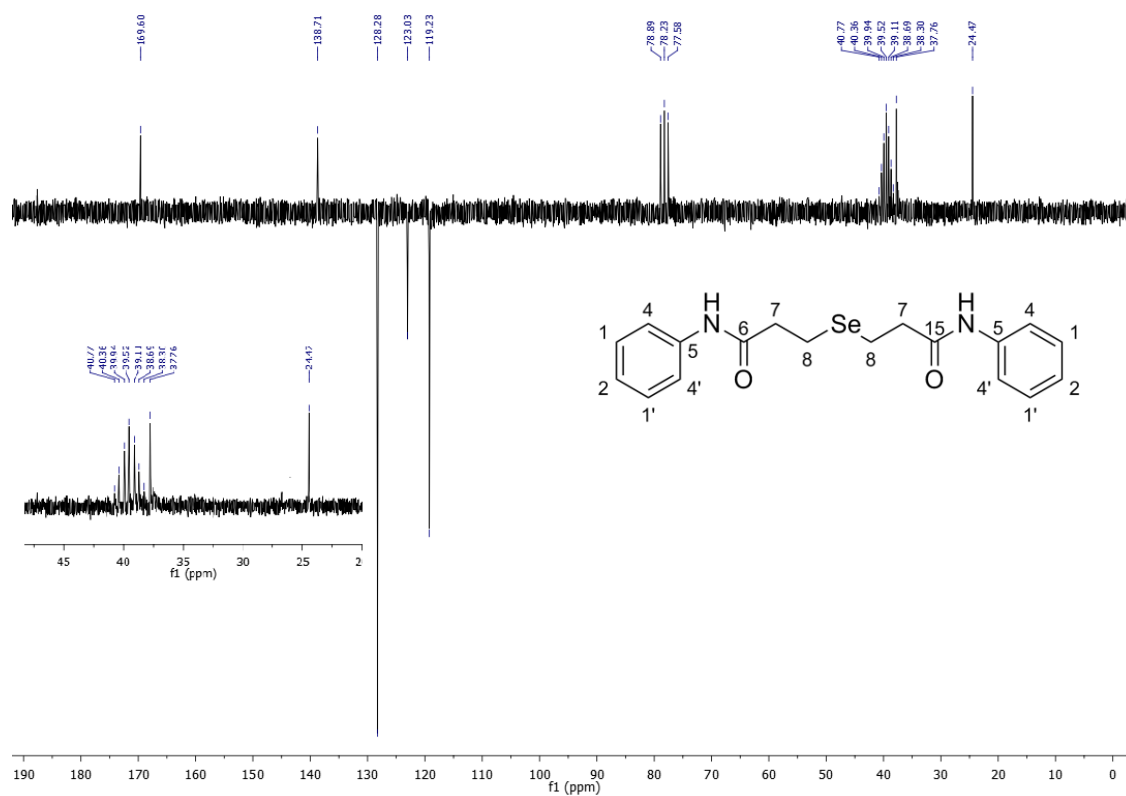
Espectro 24: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA6



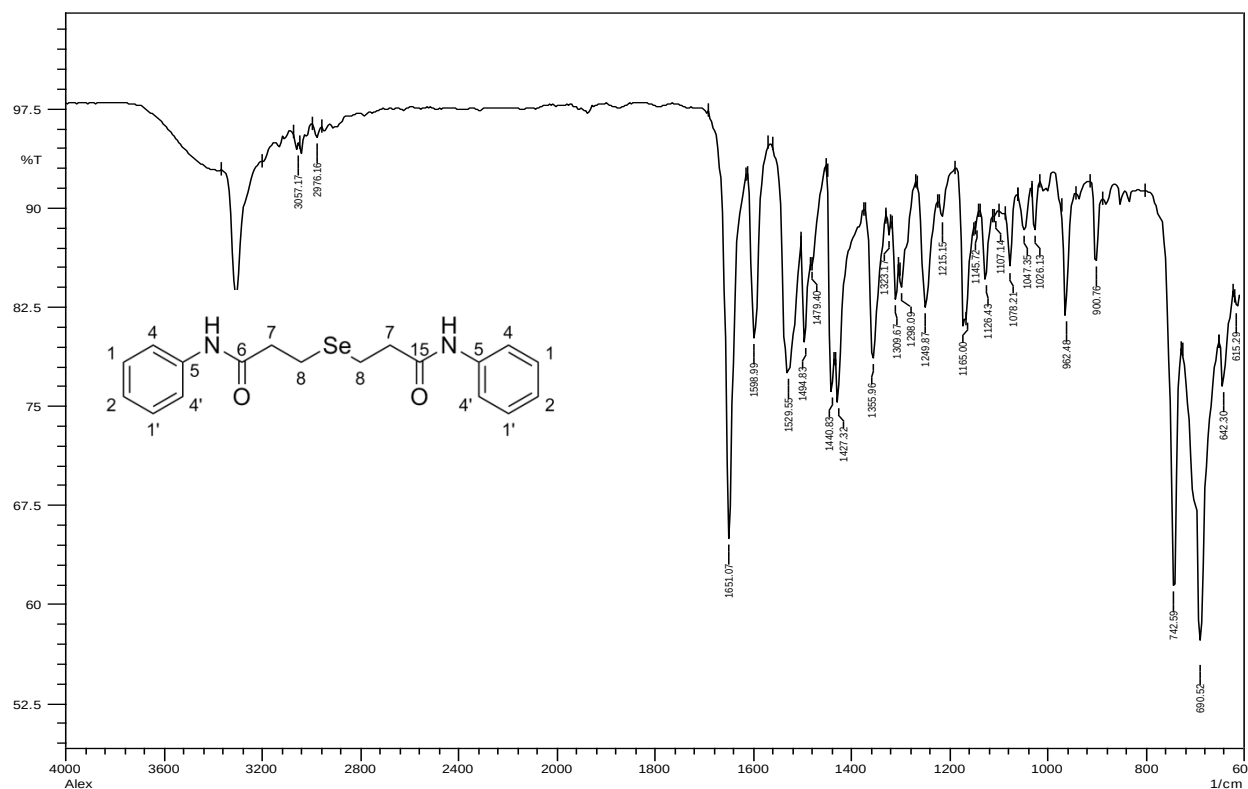
Espectro 25 : Espectro 13 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A1.



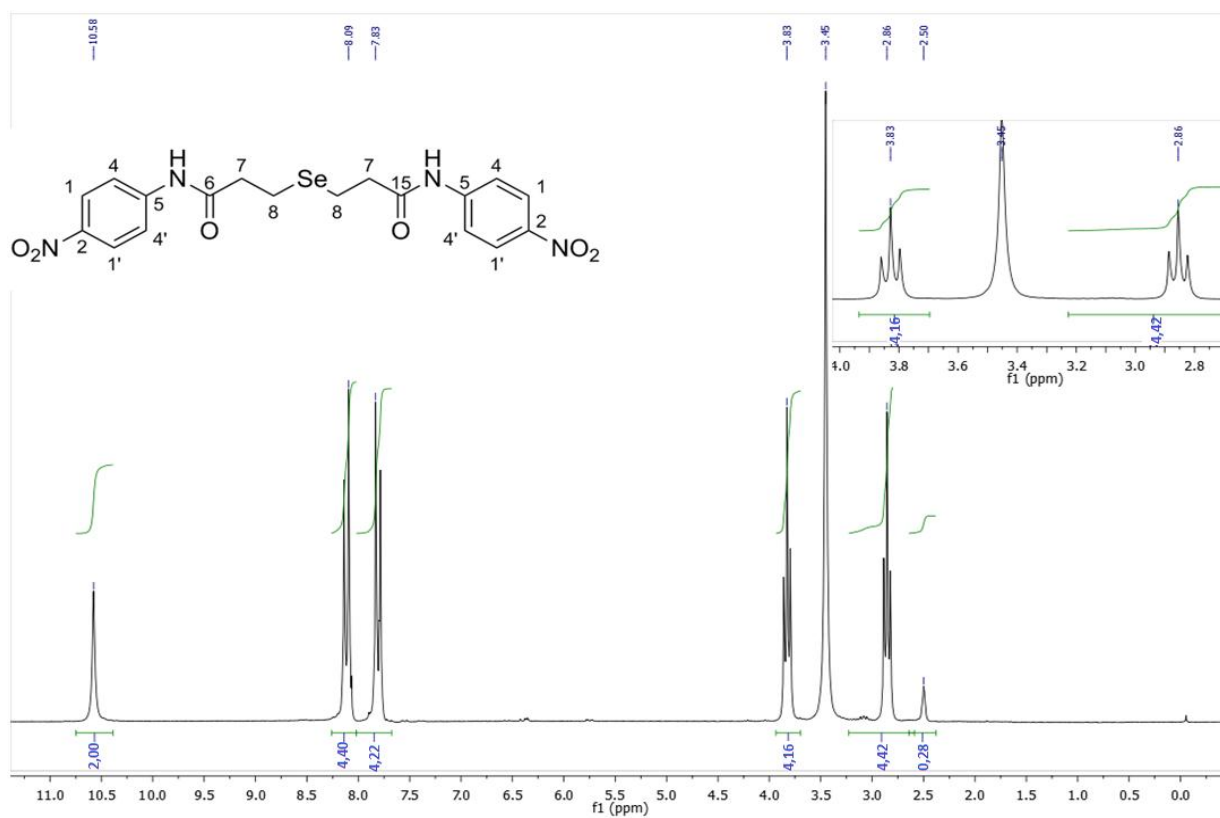
Espectro 26: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A1.



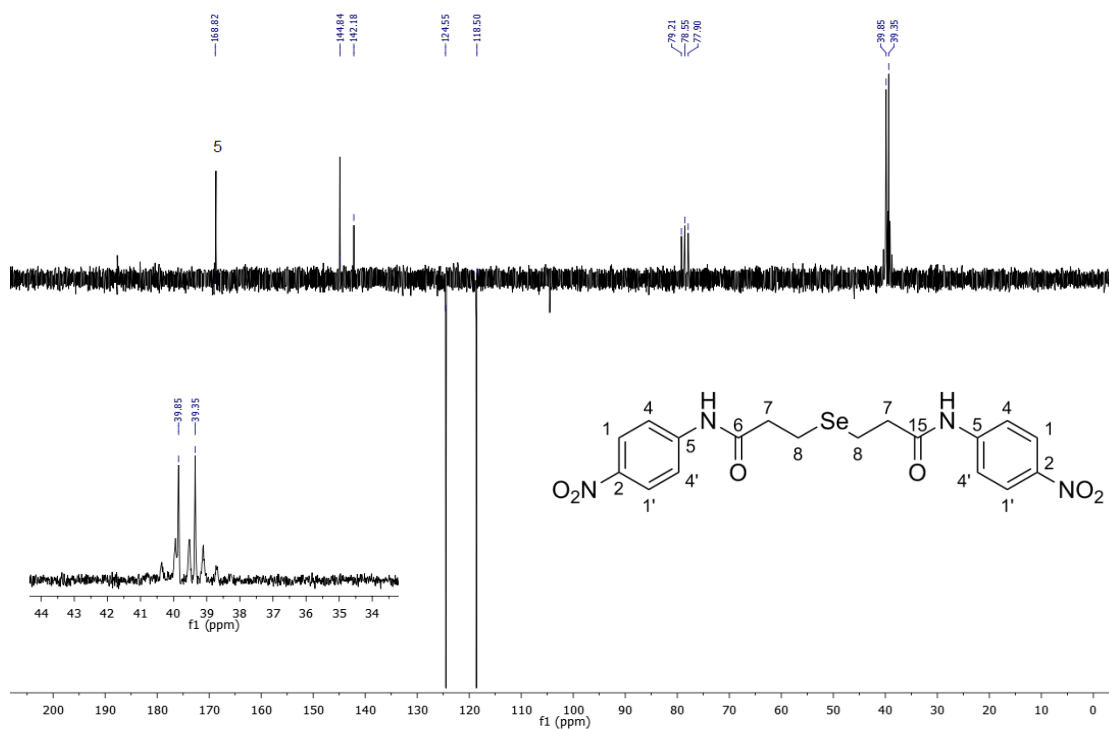
Espectro 27: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A1.



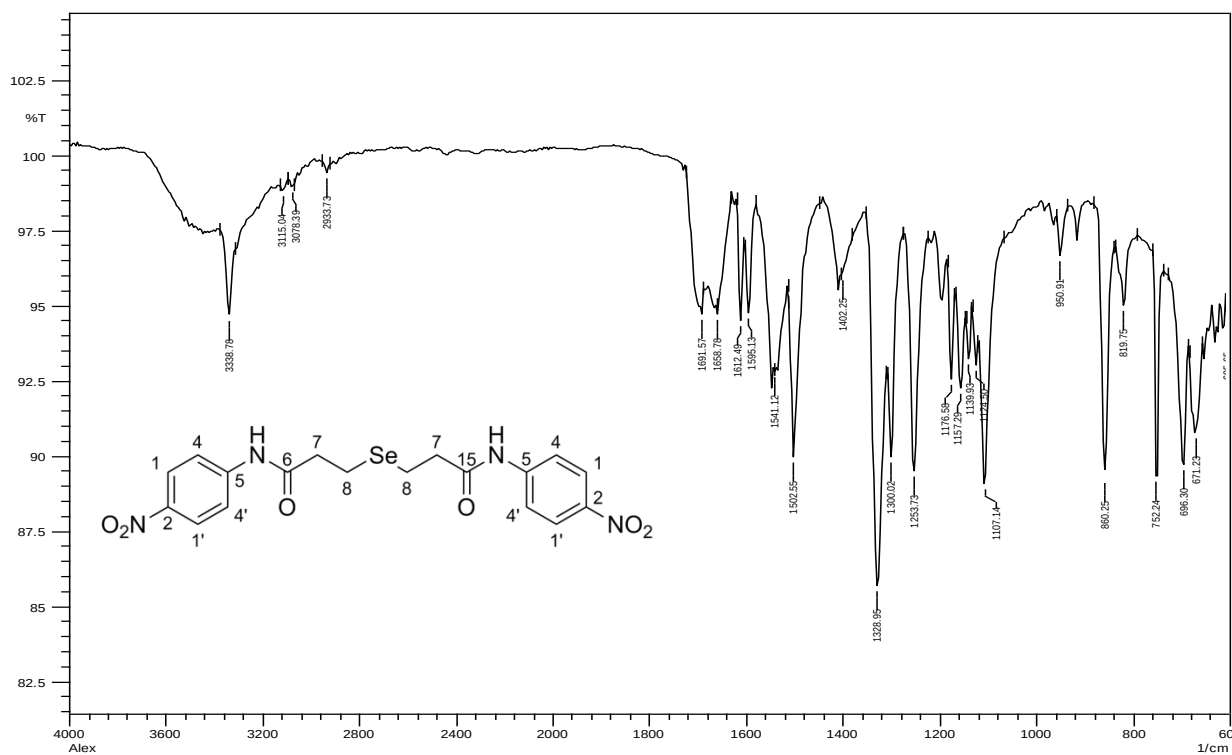
Espectro 28: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto Se2A2.



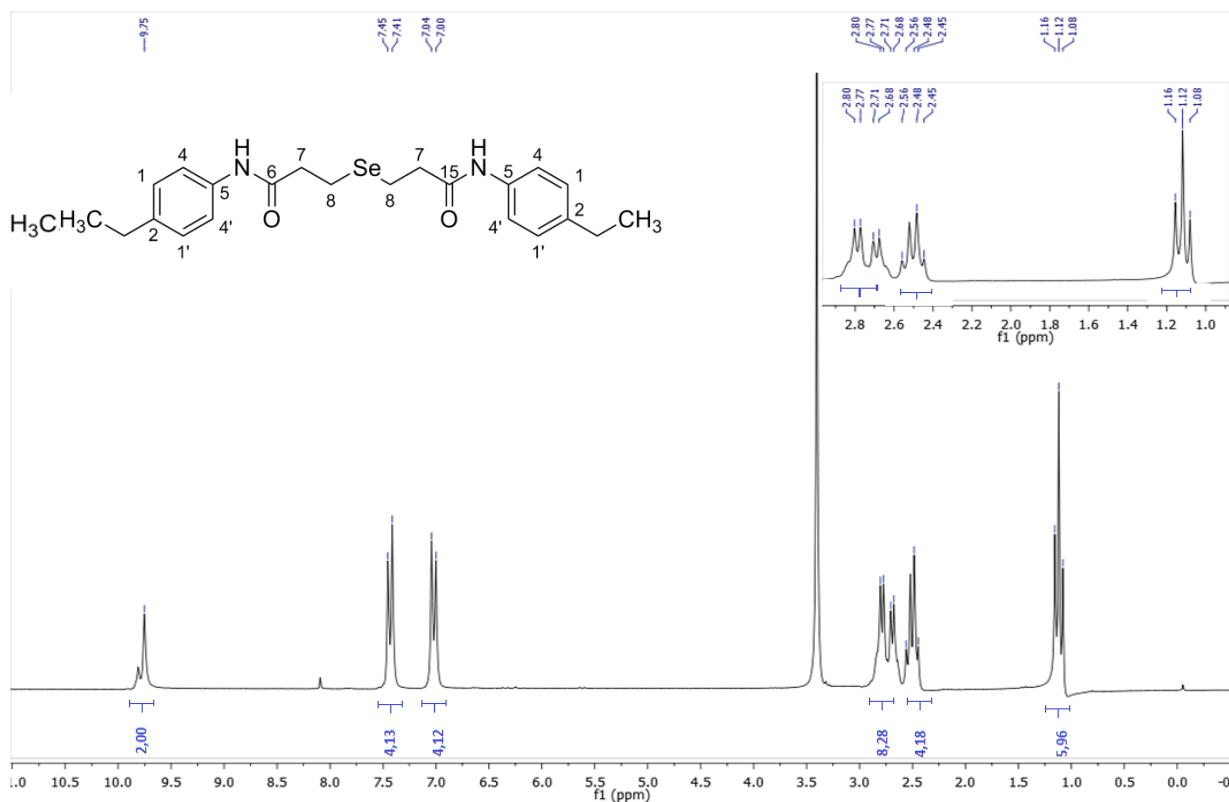
Espectro 29: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto Se2A2.



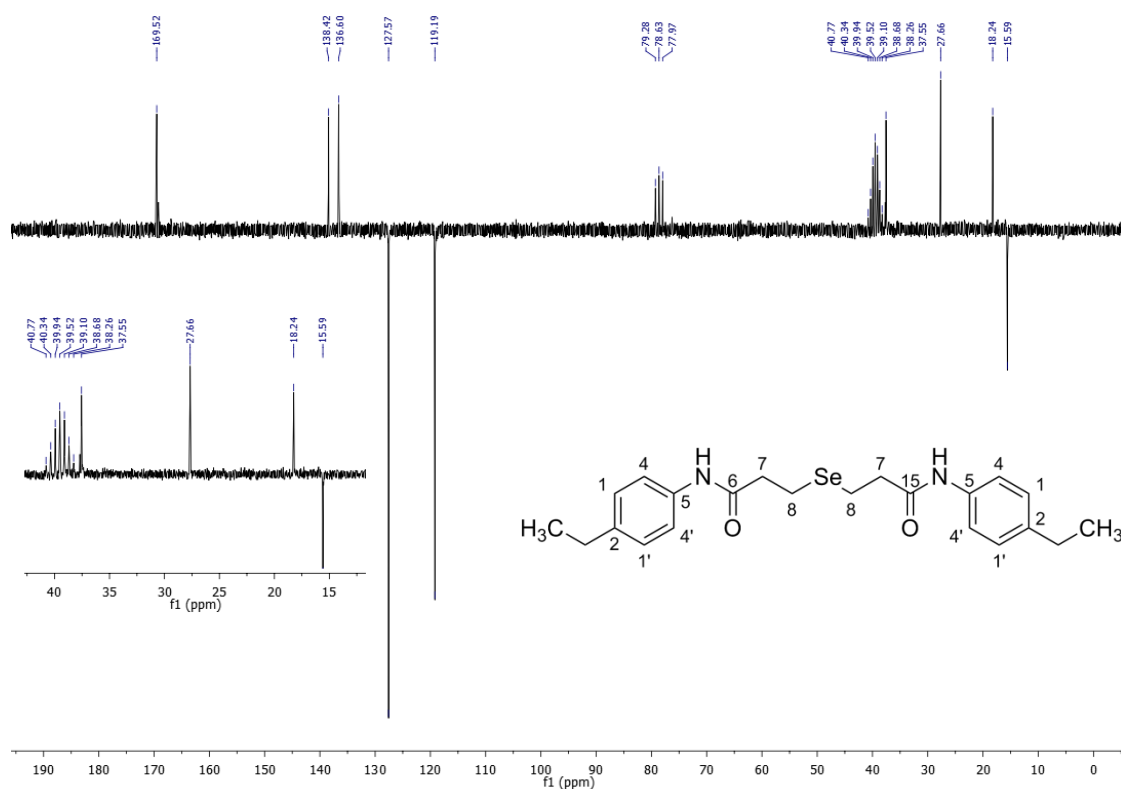
Espectro 30: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A2.



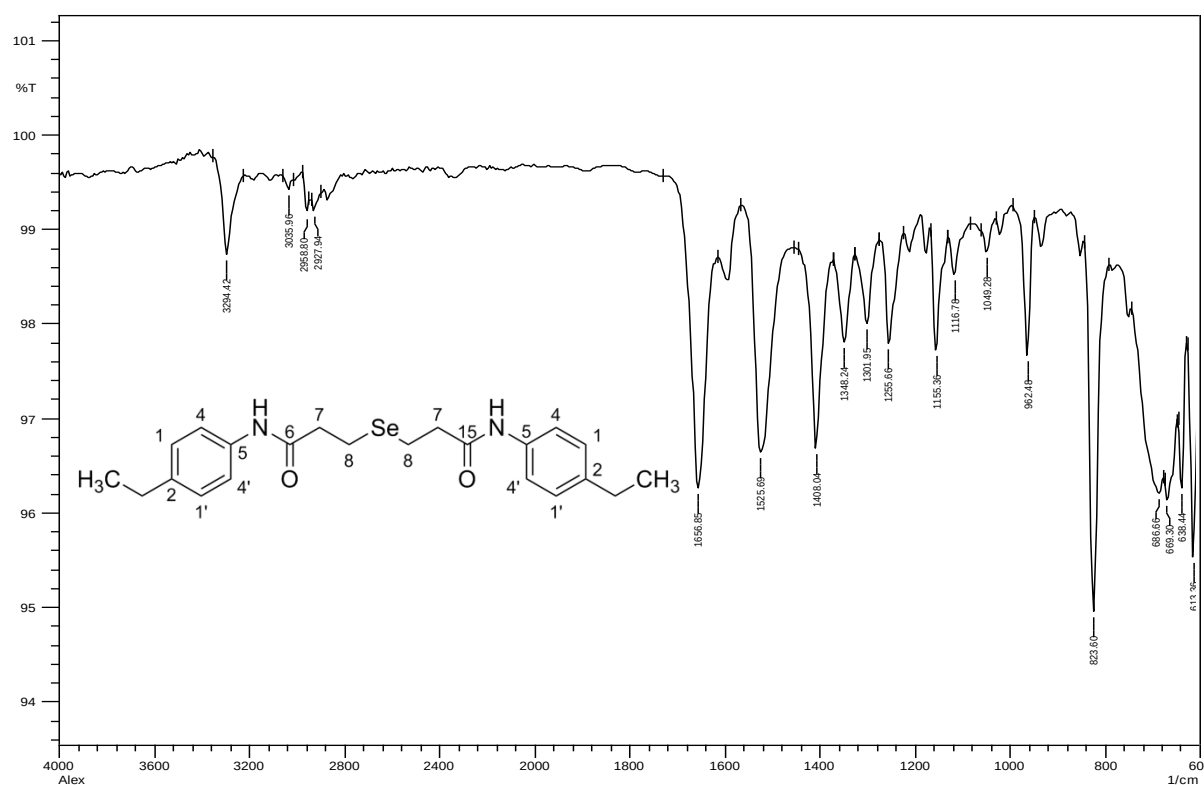
Espectro 31: – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A3.



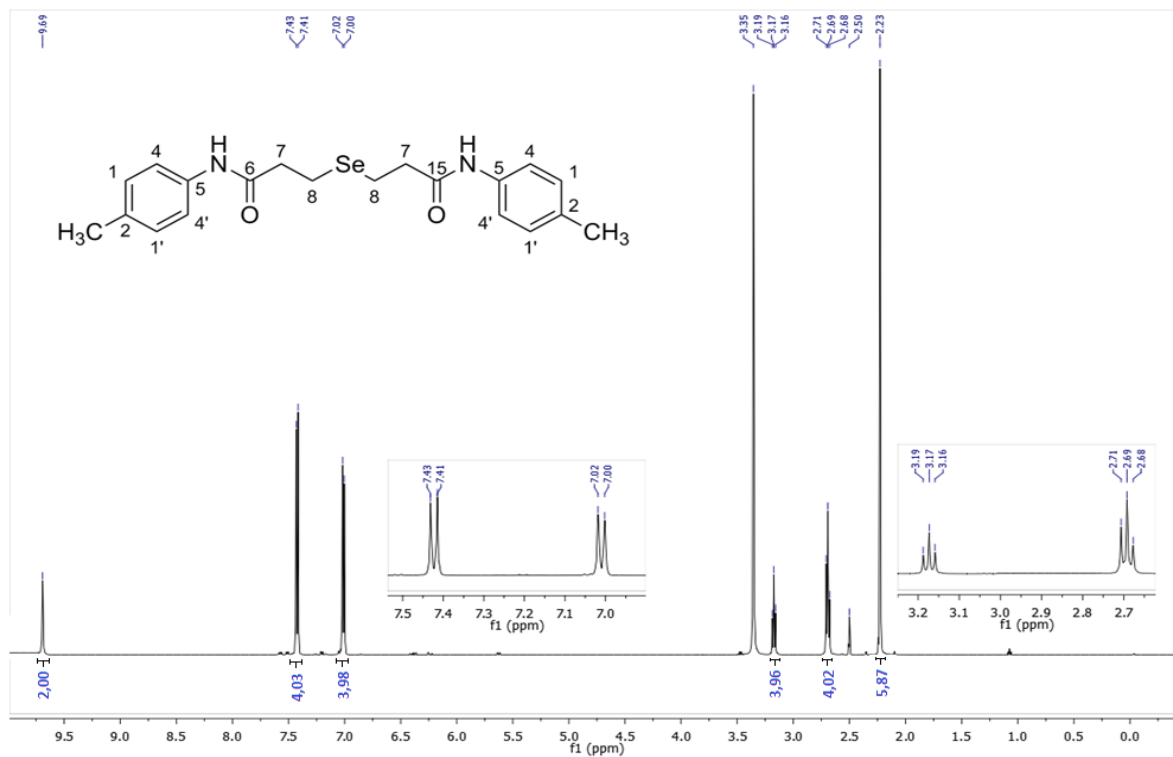
Espectro 32: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A3.



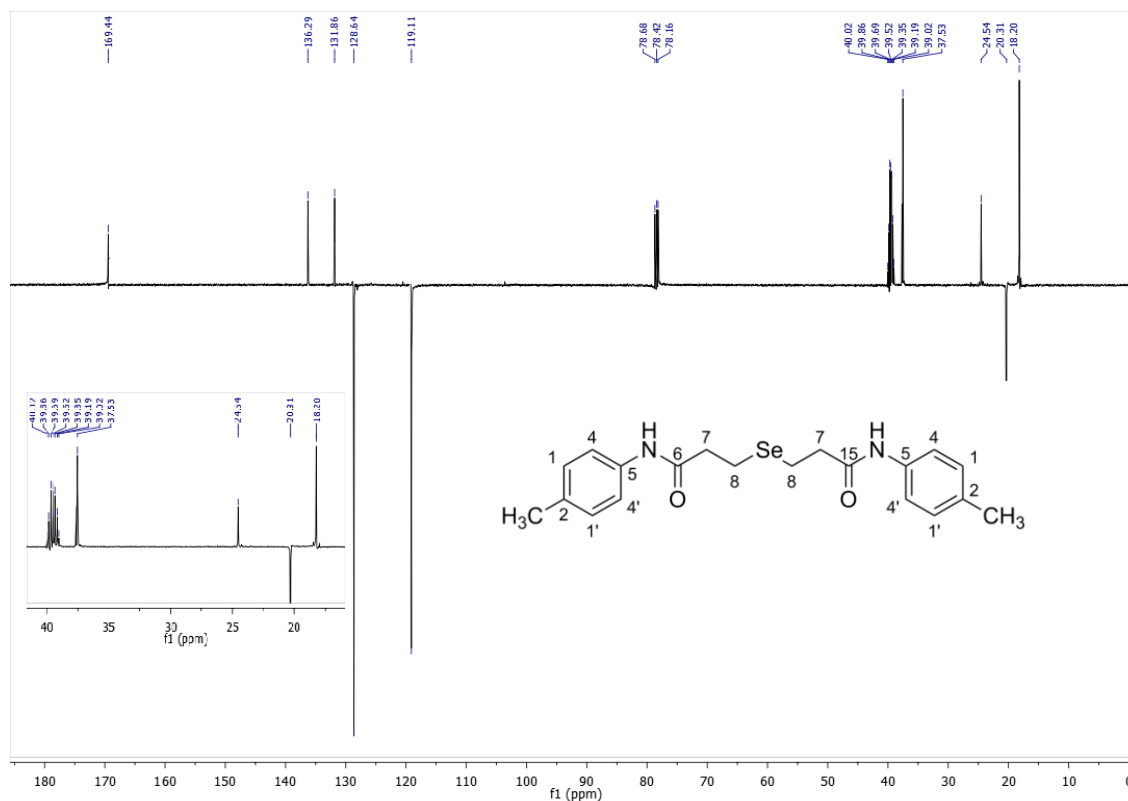
Espectro 33: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A2.



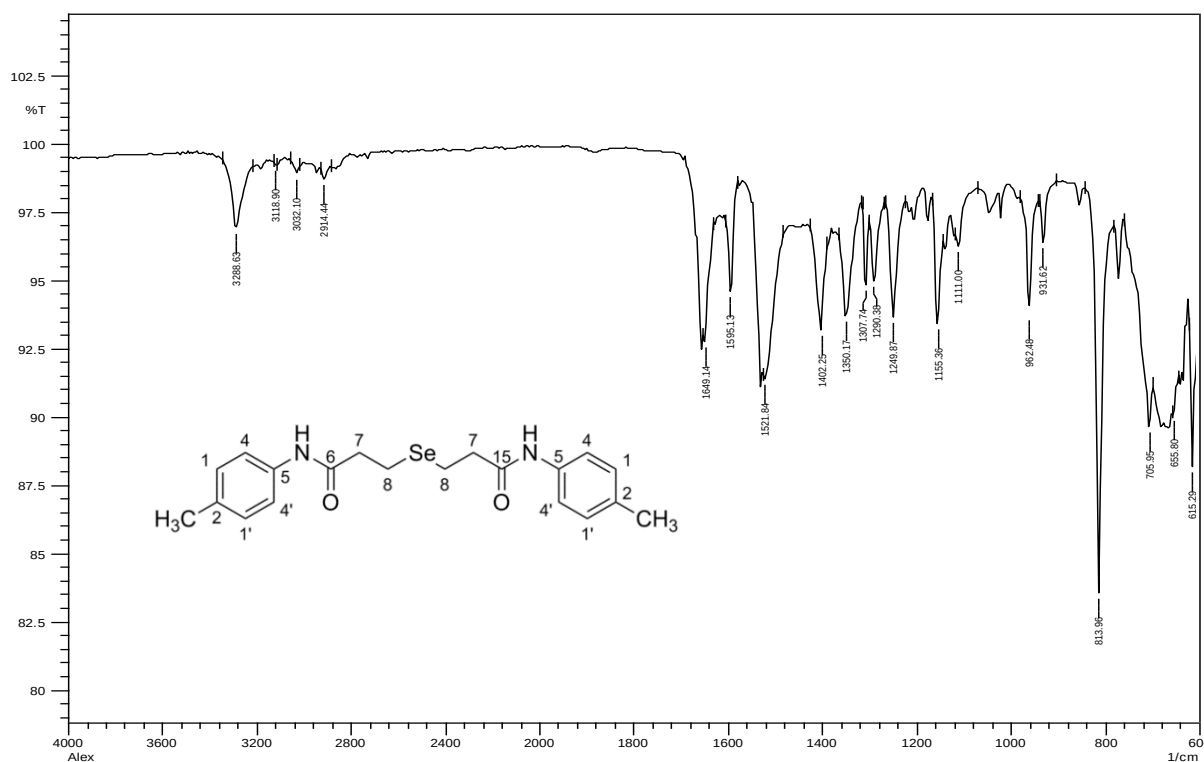
Espectro 34: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A4.



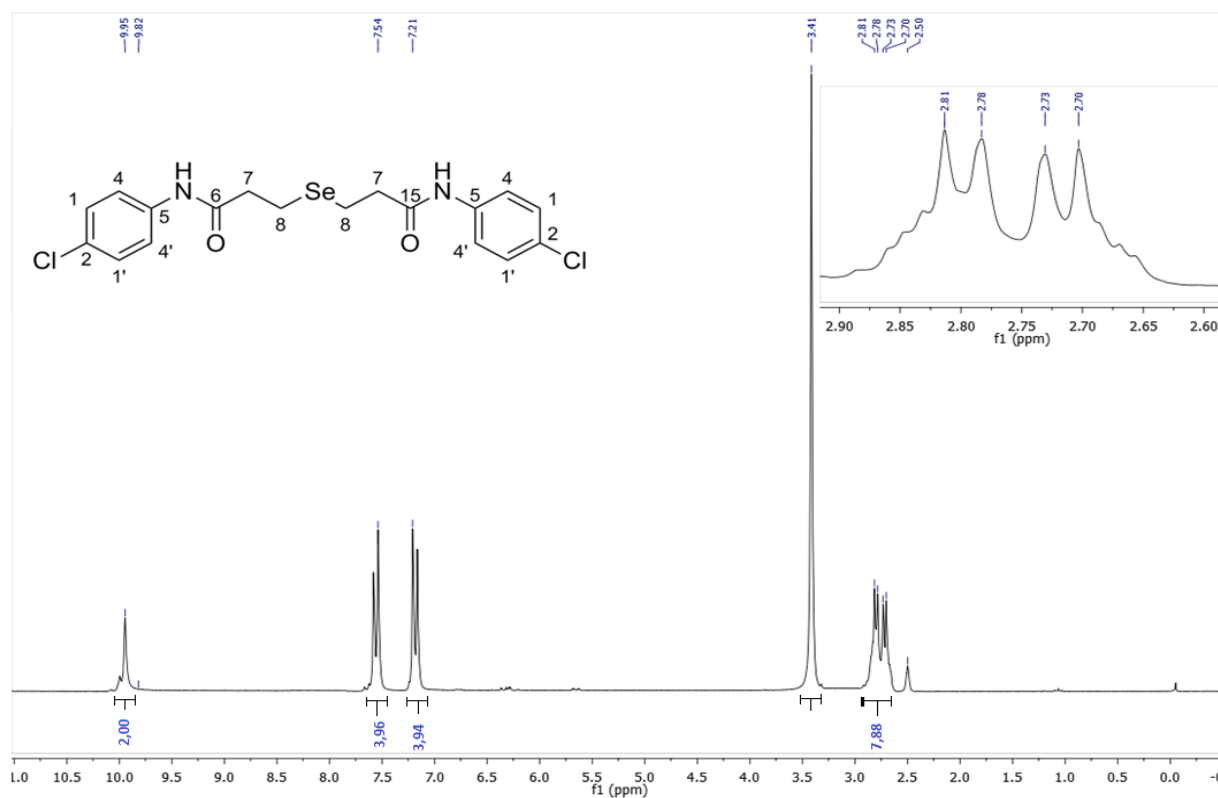
Espectro 35: Espectro 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A4.



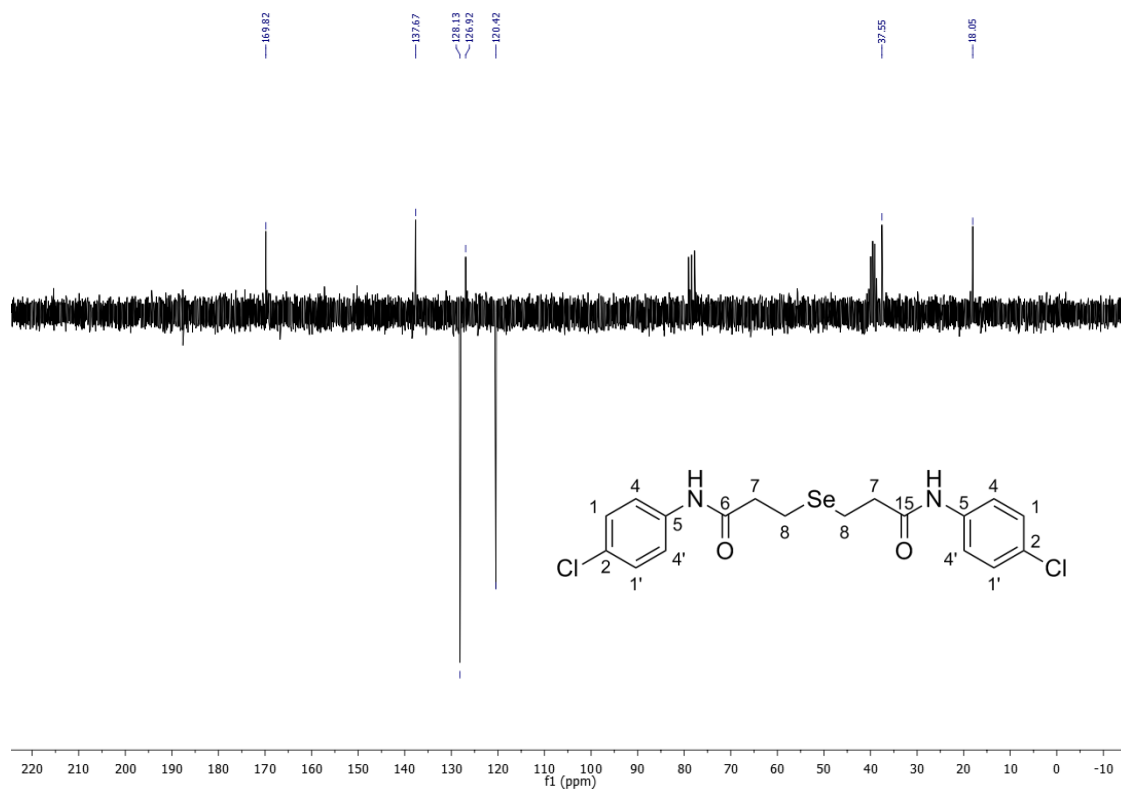
Espectro 36: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A4



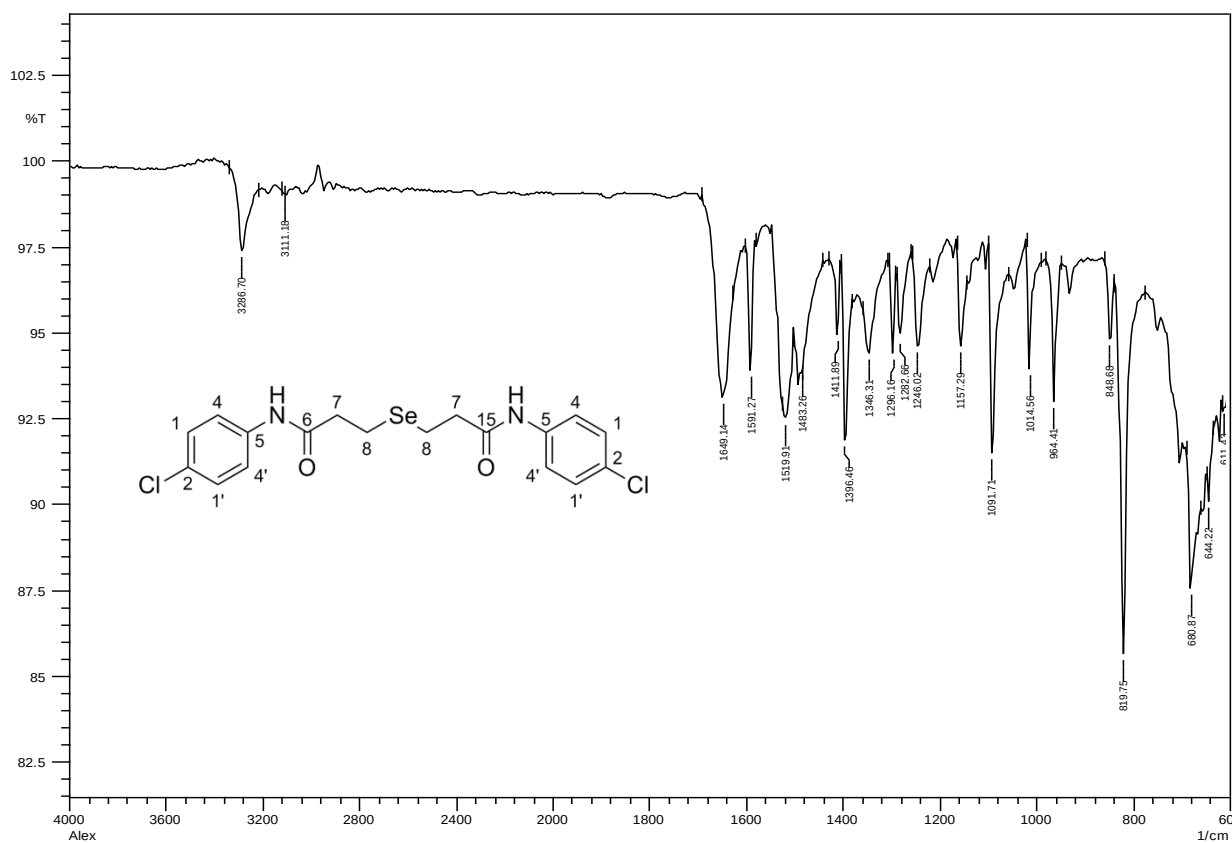
Espectro 37: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A6.



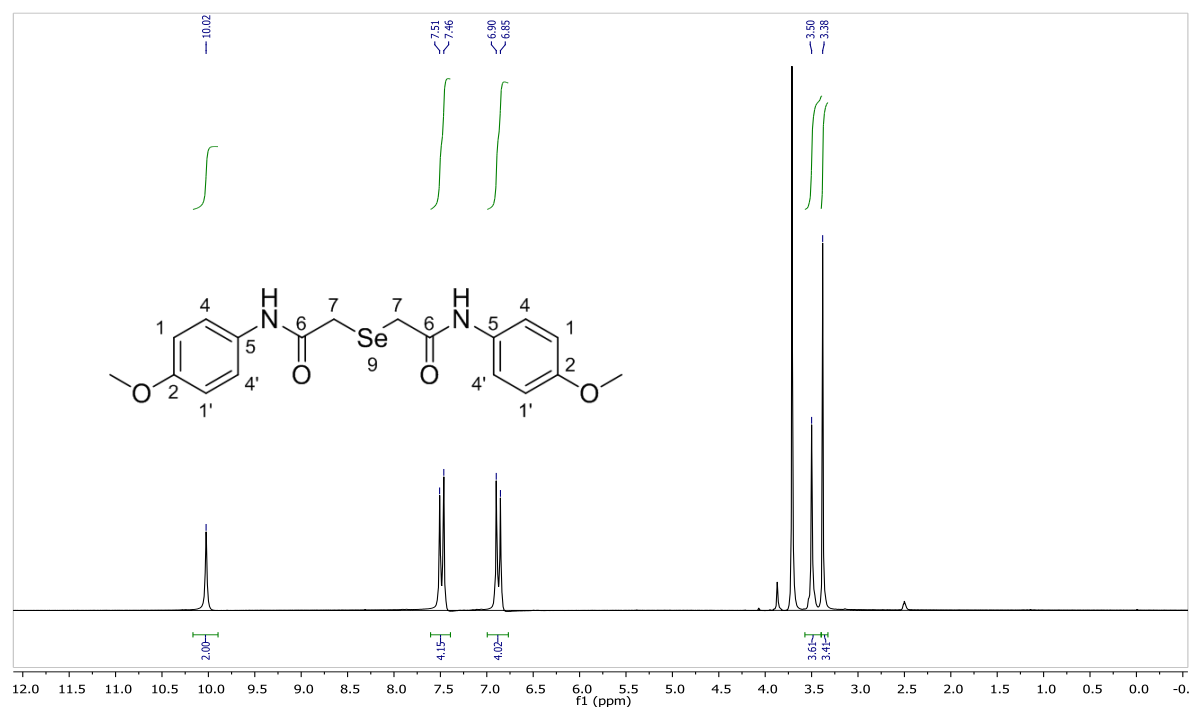
Espectro 38: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO- d_6 do composto Se2A6.



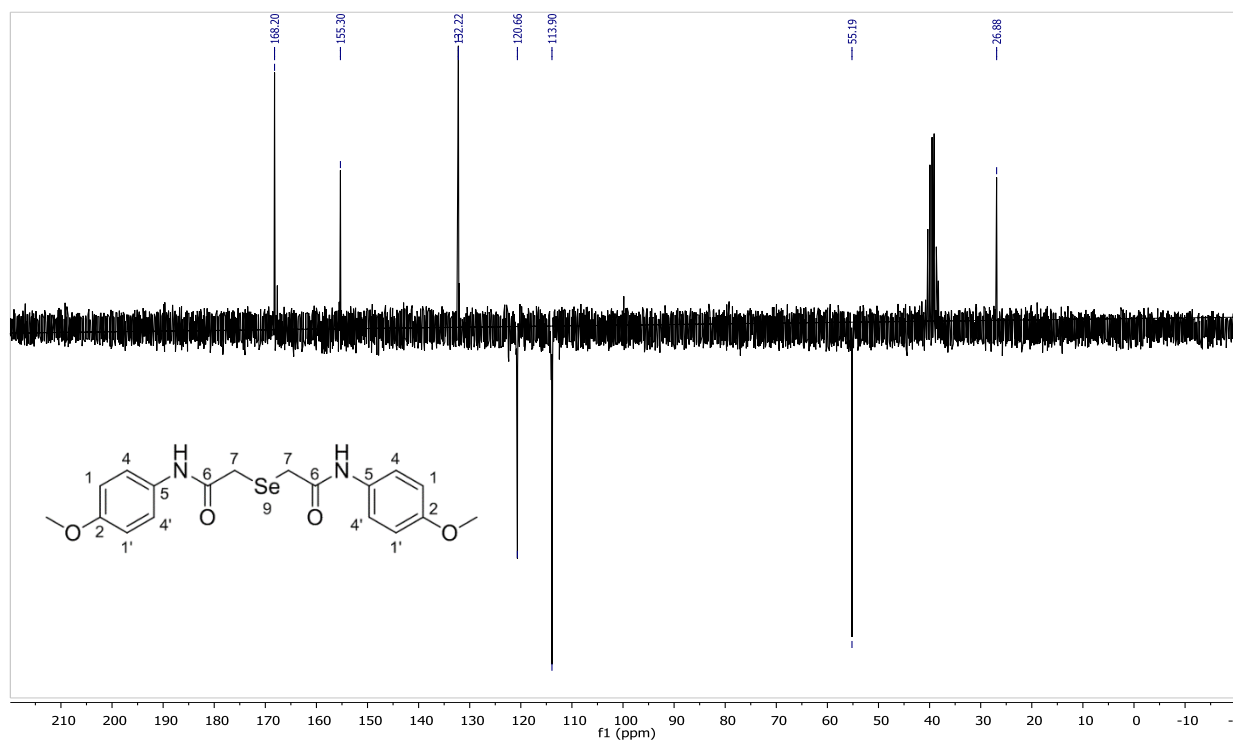
Espectro 39: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto Se2A6



Espectro 40: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em DMSO-d_6 do composto SeA7.



Espectro 41: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz) em DMSO-d_6 do composto Se2A6.



Espectro 42: Espectro de infravermelho em pastilha de KBr (cm^{-1}) do composto SeA7

