

Q. Or. 13



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

**FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Trabalho de Licenciatura

***Síntese de Compostos Biologicamente Activos
na Base de Sulfonamidas***

Leonildo Rogério Munguambe

Maputo Julho 2001

***Síntese de Compostos Biologicamente Activos
na Base de Sulfonamidas***

Autor : Leonildo Rogério Munguambe

Supervisor : Prof. Doutor Victor Skrypets

Co-Supervisor: Prof. Doutor Pavel Zakharov

U.E.M. DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BIBLIOTECA
R. E..... <i>410-T.L.</i>
DATA <i>14.07.06</i>
AQUISIÇÃO <i>DEFERTA</i>
COTA.....

Declaração de Honra

*Declaro pela minha honra, que o presente trabalho é de
minha autoria, tendo sido elaborado com base em recursos
aos quais faço referência ao longo do texto.*

Leonildo Rogério Munguambe
Leonildo Rogério Munguambe
Maputo Julho de 2001

Dedicatória

*Dedico este trabalho aos meus pais e a minha família,
pelo amor
e compreensão que sempre me deram.*

Dedicatória especial

Desejo dedicar este trabalho, e acima de tudo apresentar o meu agradecimento ao Professor Doutor Victor Skrypets, que hábil e incansavelmente transmitiu-me o seu saber ao longo do curso.

Reconhecimento

Desejo reconhecer o contributo das seguintes individualidades e instituições :

Professor Doutor Pavel Zakharov-Departamento de Química, Faculdade De de Ciências, U.E.M.

Doutora Rosa Felizarda da Costa - Instituto Nacional de Investigação Veterinária. (Directora Nacional)

Doutora Cristina Beatriz-Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, U.E.M.

Doutor Zeferino Munguambe-Agência Despachante Oficial Z.M. (Director)

Senhor Silvestre Benjamim Nhanchengo - Instituto Nacional de Saúde.

Senhor Erasmo Roque Mazive - Higest Moçambique, Lda.

Senhora Orpa Abílio Zita - Instituto Nacional de Investigação Veterinária.

Senhor Isac Famba-Departamento de Química, Faculdade de Ciências, U.E.M

Senhora Leonilde Maria Chilundo-Faculdade de Veterinária, U.E.M.

Senhor Felisberto Paninga-Instituto Nacional de Investigação Veterinária.

Abreviaturas:

Å	Angstrom ($1\text{Å} = 10^{-10}\text{ m}$)
Conc.	concentrado , concentração
ρ	densidade
DNA	Ácido disoxirribonucléico
Exp.	Experimental
$E_{\text{equiv.}}$	Equivalente de Neutralização
IV	Infravermelho
Teor.	Teórico
P.E.	Ponto de Ebulição
P.F.	Ponto de Fusão
ppm	partes por milhão
Rend	Rendimento
RNA	Ácido ribonucléico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
R_f	Factor de retenção
M	Massa Molar
K_{obs}	Constante de velocidade observada experimentalmente
pKa	Produto da constante de acidez

Interconverções:

Nome comercial	Nome Químico
Metham Sodium	Metilditiocarbamato de sódio
Carbofuran	2,3-Dihidro-2,2-dimetil-7- benzofuranil- -metilcarbamato
Fenamiphos	Etil 4-(metiltio)-m-tolil isopropilfosforo- -ditionato.
Oxamyl	Metil N',N'-dimetil-N-[(metilcarbamoil)oxy]- -1-thiooxamimidato

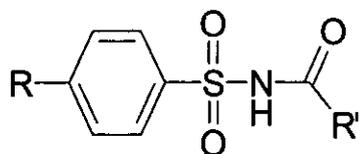
Índice

Declaração de Honra	II
Dedicatórias	III - IV
Reconhecimentos	V
Abreviaturas	VI
1. Resumo	1
2. Introdução	
2.1.Importância do problema	2
2.1.1.A Competitividade entre Fungos e outros parasitas do solo	7
3.Revisão Bibliográfica	
3.1.As Sulfonamidas	9
3.2.Síntese de Sulfonamidas	15
3.3.Agentes de Acetilação	18
3.4.Métodos de Confirmação Composicional dos compostos sintetizados	
3.4.1.A partir do ponto de fusão	21
3.4.2.A partir da determinação do Nitrogénio elementar	23
3.4.3.A partir do Equivalente de Neutralização	24
3.5.Métodos Espectrais de Confirmação estrutural	
3.5.1.A partir de espectros IV	25
3.5.2.A partir de espectros de RMN	26

4. Parte Experimental	28
4.1. Teste preliminar de Actividade Antifúngica	39
4.2. Interpretação de espectros IV	
4.2.1. Decifração do espectro IV de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida (1)	41
4.2.2. Decifração do espectro IV de N-Cloroacetil-p-toluenossulfonamida (2)	43
4.2.3. Decifração do espectro IV de N-acetil-p-toluenossulfonamida (3)	44
4.3. Interpretação de espectros de RMN	
4.3.1. Decifração do espectro de RMN de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida (1)	47
4.3.2. Decifração do espectro de RMN de N-Cloroacetil-p-toluenossulfonamida (2)	50
4.3.3. Decifração do espectro de RMN de N-acetil-p-toluenossulfonamida (3)	54
5. Cálculos e Resumo dos Resultados	
5.1. Demonstração do Cálculo de Rendimento	56
5.2. Tabela 7. Compostos Sintetizados	57
6. Conclusões e recomendações	58
7. Bibliografia	60
Anexos	
Anexo 1 - Micotoxinas	

1. Resumo

Foram sintetizados compostos orgânicos que apresentam actividade biológica e que são potencialmente antifúngicos. Tais compostos, designados por N-Acetilarenossulfonamidas apresentam a seguinte fórmula geral:



onde: R = H, CH₃, Cl, HOOC ; R' = CH₃, CH₂Cl, CCl₃, CN ;

Os compostos foram sintetizados a partir de sulfonamidas, através de reacções de acetilação do nitrogénio sulfonamídico. A acetilação foi realizada por ésteres (éster etilcianoacético), anidridos e cloretos dos ácidos: acético, monocloroacético e tricloroacético.

Foram sintetizados no total nove compostos potenciais antifúngicos, cujas estruturas e composição química foram confirmadas através de espectros Infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e por análise de nitrogénio elementar e equivalente de neutralização respectivamente. Foram realizados testes preliminares de actividade antifúngica cujos resultados foram satisfatórios.

Pretende-se que estes compostos sejam incorporados em rações animais de modo a inibirem o crescimento de fungos e consequentemente as micotoxinas. A Faculdade de Agronomia está a estudar a possibilidade de os mesmos compostos serem usados como nematicidas.

Objectivos

1. Sintetizar potenciais compostos com actividade antifúngica a partir de Sulfonamidas.
2. Realização de testes preliminares de actividade antifúngica.
3. Explorar a possibilidade de os mesmos compostos possuírem actividade nematicida.

2.Introdução

2.1. Importância do problema

Os fungos compreendem um largo e heterogéneo grupo de organismos heterotróficos vivendo como seres sapróficos ou parasitas, ou ainda associados simbioticamente a outros seres. Os fungos incluem organismos conhecidos na linguagem corrente como bolores, mofo ou leveduras. Os fungos filamentosos (bolores) são caracterizados por uma estrutura vegetativa filamentosa, tubular e multinuclear conhecida como *hifa*.

As *hifa*, muitas vezes, ramificam-se formando um conjunto que se designa por *micélio*. O material alimentar é absorvido através da superfície do *micélio*. Os fungos têm três tipos de reprodução: a reprodução vegetativa que ocorre quando o *micélio* divide-se em duas ou mais partes; a reprodução assexuada quando há rebentamento do esporângio libertando esporos que uma vez encontrando condições favoráveis germinam dando origem a novas plantas; a reprodução sexuada que ocorre quando há fusão de duas gâmetas dando origem a um reduzido esporo que se rodeia de uma membrana espessa e rugosa de cor negra. Este zigosporo é muito resistente e ao rebentar saem muitos *hifa* com esporângios na extremidade.

Na tradicional divisão dos seres vivos por dois reinos: vegetal e animal, os fungos aparecem agrupados no reino das plantas, não significando, no entanto, que estes sejam mais semelhantes as plantas do que aos animais. Os fungos diferem fundamentalmente das plantas no modo como obtêm o material alimentar. As plantas são autotróficas, isto é, utilizam a energia solar para sintetizar substâncias orgânicas complexas e com alto conteúdo energético a partir de tão simples materiais como o dióxido de carbono e água, conjuntamente com uma pequena quantidade de sais inorgânicos que providenciam nitrogénio e fósforo. Elas conseguem realizar este processo por causa do seu conteúdo clorofílico que actua como catalisador no processo fotossintético. Os fungos não são fotossintéticos. Eles secretam enzimas no substrato sobre o qual vivem.

As enzimas degradam complexas moléculas orgânicas, encontradas em resíduos animais e organismos mortos, sendo as moléculas mais simples absorvidas.

Uma outra característica dos fungos é a ausência de limites definidos entre as células, como resultado, grandes moléculas orgânicas e mesmo núcleos podem mover-se de célula para célula.

A ausência de mobilidade, terá sido a principal justificação da sua inclusão no reino vegetal. As plantas são, então, tão diferentes dos fungos como das amebas unicelulares e bactérias [1]. Devido a estas diferenças, actualmente os cientistas usam um sistema de divisão dos seres vivos em cinco reinos um dos quais é o reino Fungi. A tabela 1, apresenta as características dos reinos de organismos.

Tabela 1. Características dos cinco reinos de organismos [1]

Reino	Tipo de Célula	Organelas celulares	Tipo de nutrição
Monera	Procariótica	organelas sem membranas; plastos ausentes; mitocôndrias ausentes	absortiva ou fotossintética
Protista	Eucariótica	todas as organelas celulares	absortiva, ingestiva, fotossintética
Vegetal	Eucariótica com paredes	presentes, mas células mais simples	principalmente fotossintética
Fungi	Eucariótica	plastos e pigmentos fotossintéticos ausentes	absortiva
Animal	Eucariótica sem paredes	plastos e pigmentos fotossintéticos ausentes	ingestiva

Geralmente, os fungos que se desenvolvem nas sementes dividem-se em dois grupos: os fungos do campo e do armazenamento. Esta divisão baseia-se fundamentalmente na própria ecologia dos fungos bem como nas suas necessidades em humidade. Os fungos de campo invadem as sementes em maturação ainda na planta ou no momento da colheita.

São exemplos desta classe de fungos os seguintes: *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Clasdosporium*, *Diplodium*, e *Fusarium*. Todos requerem um substrato com um alto teor em humidade (22-23%).

Os fungos do armazenamento desenvolvem-se em condições de humidade e temperatura determinadas pelo armazém, a maioria destes fungos são os *Penicillium* e *Aspergillus*.

No processo do seu metabolismo, os fungos produzem adicionalmente ao dióxido de carbono, água e todos os outros complexos materiais requeridos para a sua estrutura celular e processos vitais, um largo número de substâncias de variada complexidade cujas funções, de algumas delas, não são ainda conhecidas. A benéfica actividade dos fungos na produção de metabólitos de grande importância comercial e industrial, como por exemplo, na indústria panificadora, na indústria de bebidas, na indústria farmacêutica e outras, contrasta no entanto, com o efeito nocivo e destrutivo de alguns destes metabólitos – as **micotoxinas**.

As micotoxinas são metabólitos tóxicos dos fungos apresentando actividade biológica (são carcinogénicas) e química (podem sofrer reacções de hidroxilação).

Causam graves doenças aos animais e ao Homem, tais como a cirrose do fígado

- causada por aflatoxinas [2] que são metabólitos dos fungos *Aspergillus parasiticus* e *flavus* ; abortos, infertilidade, cegueira e outras doenças causadas por zearalenone e os trichothocenes produzidas pelos fungos da espécie *Fusarium*.

A literatura apresenta uma grande variedade de micotoxinas cujos fungos dos quais provêm já foram identificados.

Os três principais géneros de fungos toxicogénicos são os *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As principais toxinas produzidas por estes fungos são as aflatoxinas, as ochratoxinas, citrinina, trichothecenes e zearalanone (anexo 1).

As micotoxinas são compostos quimicamente estáveis e de elevada toxicidade mesmo a concentrações baixas (na ordem dos ppm). Podem infestar a maior parte das comodidades: amendoim, milho, trigo, arroz, rações animais, frutos, sumos, carnes, leite e derivados, etc. Por causa da sua estabilidade os seus resíduos podem ser detectados nos tecidos animais (carne e derivados) e ainda em muitos produtos de origem animal (ovos, leite e derivados) desde que os animais tenham consumido ração contaminada.

A contaminação das rações é evidente uma vez que, na maior parte dos casos, as rações são preparadas a partir de sementes deterioradas, as que normalmente são rejeitadas do consumo humano. As micotoxinas resistem a temperatura na qual os alimentos são confeccionados, por isso, podem entrar facilmente na dieta alimentar.

O interesse em micotoxinas e micotoxicoses (doenças causadas por micotoxinas), foi estimulado pela descoberta em 1960, de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hypogaea*) infectado por *Aspergillus flavus*. [3, 4] A importância da descoberta tornou-se relevante quando cedo reconheceu-se que a toxicidade não era confinada a amostras de uma restrita proveniência, mas que podia ser detectada em amostras de amendoim de muitos Países produtores de amendoim. Além do amendoim, reconheceu-se que os *Aspergillus flavus* também infectavam o milho. Teria então, na Inglaterra, eclodido uma estranha doença em perus que foi denominada "Turkey X disease" que causou uma perda de aproximadamente cem mil aves. Mas, na mesma altura, eclosões epidémicas semelhantes foram registadas em patinhos e pintos. Blount (1961), examinou a incidência da doença em perus (pequenos), Asplin e Carnaghan (1961), em patinhos e galinhas em diferentes zonas, tendo observado que o factor comum de intoxicação era a inclusão na ração, de farinha de amendoim proveniente do Brasil. Blount, analisou cuidadosamente as investigações acerca da presença de agentes tóxicos então conhecidos em amostras de farinha de amendoim realizadas por diversos laboratórios, mas não pôde demonstrar a presença de qualquer agente tóxico específico. Nessa altura, uma semelhante doença estava causando severas percas de patinhos no Kénia. Exames no fígado dos patinhos mortos mostravam que a doença era semelhante a aquela causada pela farinha de amendoim do Brasil. A ração dos patinhos continha farinha de amendoim produzida localmente. Quando esta farinha foi substituída as percas pararam. Esta era a primeira indicação de que o problema não se confinava apenas no amendoim brasileiro.

As condições naturais favoráveis ao desenvolvimento de micotoxinas estão ligadas aquelas que favorecem ao crescimento de fungos: o alto teor em humidade (acima dos 70%), a temperatura entre os 22 aos 23 °C, o pH entre 4 a 5, as condições de stress (seca ou cheias), e a natureza do substrato.

O limite máximo de humidade ao qual as sementes devem ser secas e armazenadas ainda não é conhecido, mas as evidências mostram que se situa entre os 9 a 15% [5].

As aflatoxinas são derivados de difuranocoumarina. Existem na forma de quatro principais metabólitos fúngais que são a aflatoxina B₁ (AFB₁) e a aflatoxina B₂ (AFB₂) assim designadas por causa da sua fluorescência azul sub luz ultravioleta (fig.1 e fig.2 do anexo 1).

A letra B significa Blue o que quer dizer azul na língua inglesa. E aflatoxina G₁ (AFG1) e aflatoxina G₂ (AFG2) que fluorescem uma coloração esverdeada.(fig.3 e fig.4).

A letra G significa Greenish o que quer dizer esverdeado na língua inglesa. As aflatoxinas M₁ (AFM1) e M₂ (AFM2) resultam da hidroxilação das AFB1 e AFB2 respectivamente e podem ser encontradas no leite daí a designação M de Milk que significa leite na língua inglesa.(fig.5 e fig.6 do anexo 1). Dentre estas a AFB1 é a mais carcinogénica.

O mecanismo de acção das aflatoxinas é semelhante ao das outras micotoxinas. A literatura indica que suprimem a síntese do RNA- mensageiro. A sua acção tem lugar principalmente no núcleo ao inibir a acção do precursor a RNA dependente do DNA. Como resultado da inibição do RNA-nuclear deduz-se que há também alteração do RNA-citoplasmático.

É provável que seja inibida a síntese proteica através da depressão na síntese do RNA-mensageiro. A alteração da síntese proteica está provavelmente relacionada com as lesões precoces observadas no fígado dos animais e do Homem infectados por aflatoxinas. As aflatoxinas influem na capacidade de resistência às infecções e no desenvolvimento de imunidade adquirida [6].

As micotoxinas constituem um sério problema económico e de saúde pública em Moçambique, embora não existam referências estatísticas oficiais que ilustrem tal situação, mas são frequentes os casos de doença de fígado e crê-se que provavelmente estejam relacionados com micotoxinas. Além disso, há a salientar as percas económicas resultantes da redução da capacidade germinativa das sementes bem como da morte de animais domésticos motivada por micotoxinas.

Nos Países em desenvolvimento, o problema das micotoxinas e das micotoxicoses ainda não está inteiramente estudado e solucionado. Em muitos casos, a produção de rações é feita com sementes deterioradas e provavelmente infectadas. Por outro lado, a maior parte da população não tem acesso a alimentos devidamente inspeccionados.

Torna-se necessário encontrar outras vias de solucionar o problema, não bastando somente analisar e rejeitar os alimentos contaminados.

Este trabalho surge da necessidade de investigação de potenciais compostos antifúngicos a serem incorporados em rações animais com o objectivo de inibirem o crescimento dos fungos e conseqüentemente as micotoxinas.

2.1.1. A competitividade entre os Fungos e os Parasitas do Solo

Os parasitas que vivem no solo, poderão de uma forma significativa contribuir para a perda da qualidade dos cereais, tal qual de outras culturas, parasitando-os precocemente antes da colheita.

Por outro lado, sementes quebradas são mais susceptíveis ao ataque de fungos e consequentemente das micotoxinas que as inteiras.

Entre outros, os nemátodos são potenciais parasitas a considerar. Fazem parte do filo Nemátoda (*Nemathelminthes*).

Os nemátodos caracterizam-se através de um corpo cilíndrico, delicado, frequentemente afilado nas extremidades. Coberto por uma cutícula dura, apresentando somente músculos longitudinais, produzindo movimentos de flexão, mas não alongamento ou contração, apresentam um anel nervoso anterior e seis cordões longitudinais, sexos separados [7].

Os nemátodos de vida livre são encontrados no mar, na água doce e no solo.

Ocorrem desde as regiões polares até as tropicais em todos os tipos de ambientes, incluindo o do deserto, fontes de águas termais, altas elevações montanhosas e grandes profundidades oceânicas. A ampla maioria dos nemátodos de vida livre é constituída de animais bentônicos que vivem nos espaços intersticiais de algas e especialmente nos sedimentos aquáticos e nos solos. Além das espécies de vida livre, existem muitos nemátodos parasitas. As formas parasitas apresentam todos os graus de parasitismo e atacam todos os grupos vegetais e animais.

Os nemátodos já eram conhecidos desde os tempos remotos como parasitas dos seres humanos, citam-se como exemplo, o parasita dos intestinos *Ascaris*; nos vasos linfáticos, a filaria; nos músculos, a loa loa; e a *Onchocerca* na vista.

Com o desenvolvimento de microscópios potentes ampliou-se a possibilidade de estudo de uma larga população de nemátodos microscópicos dos quais fazem parte muitos parasitas das plantas. Os nemátodos das plantas habitam e desenvolvem-se em diversas partes da planta tais como as flores, as folhas, o caule e as raízes e têm uma grande variedade de hábitos alimentares. Algumas espécies alimentam-se somente da parte

superficial do tecido da planta, outras penetram mais fundo enquanto outras induzem os seus hospedeiros a produzirem fontes nutricionais especiais aos quais os parasitas subsistem.

Os danos causados por uma pequena população de nemátodos são usualmente insignificantes, mas uma larga população acaba inutilizando ou matando o seu hospedeiro. Adicionalmente, alguns nemátodos reduzem a capacidade das plantas resistirem a infestação por fungos [8]. Muitas espécies de nemátodos microscópicos vivem na parte interna ou superficial das raízes das plantas. Algumas, como o nemátodo da beterraba de açúcar, *Heterodera schachtii*, são restritas a uma ou poucas espécies de plantas, mas outras são menos específicas. Os nemátodos comuns das raízes, normalmente depositam os seus ovos nas raízes ou no solo e os jovens após eclosão penetram nas raízes pequenas para alimentarem-se dos tecidos internos. As raízes reagem formando pequenas galhas de tecido cicatricial – as ‘galhas de raízes’- ao redor dos vermes. O macho adulto é delgado (1.2 a 1.5 mm de comprimento) e a fêmea toma a forma de uma gota esbranquiçada (0.8 por 0.5 mm) com um corpo dilatado que produz de 500 a 1000 ovos. A fecundação pode ocorrer mas é desnecessária. Os ovos são postos em uma secreção gelatinosa amarela. O ciclo vital requer aproximadamente três meses a uma temperatura de 15 °C ou menos de um mês no solo a 27 °C . As galhas das raízes causam enfraquecimento ou morte da planta causando prejuízos económicos.

Os nemátodos são levados para solos limpos com as plantas, solo, estrume, equipamento agrícola, ou mesmo água de irrigação proveniente de fontes infectadas.

Torna-se praticamente impossível evitar a sua dispersão. Uma vez estabelecidos são de difícil erradicação.

Durante os anos 1950, alguns compostos com propriedades nematicidas como é o caso do 1,3-dicloropropeno (D-D) e do dibrometo de etileno (EDB) foram descobertos e contribuíram no combate dos nemátodos. Actualmente, o uso de nematicidas é uma prática comum na agricultura moderna, sendo no entanto necessário encontrar um equilíbrio económico entre o aumento do custo de produção causado pelo uso de nematicidas e o preço da colocação do produto no mercado, tornando-o competitivo e rentável. Muitas vezes este equilíbrio não é possível ou a penas alguns agricultores com recursos financeiros



estáveis poderão usar nematicidas enquanto uma grande parte da população que pratica uma agricultura de subsistência, fica impossibilitada. Por isso, há a considerar outros métodos de prevenção, como por exemplo a rotação de culturas. Cada espécie de fitonemátodos tem uma gama de hospedeiros que pode ser larga, mas não significando no entanto que sejam todas as plantas. Os agricultores devem fazer a rotação de culturas de modo a manter a quantidade de fitonemátodos abaixo dos níveis devastadores.

Os nematicidas dividem-se em dois grupos: os fumigantes e os não-fumigantes.

Os fumigantes são líquidos voláteis que se volatilizam e dissolvem-se na solução do solo.

A sua alta pressão de vapor distribue o gás em todas as direcções através dos poros do solo.

São usados dois tipos de fumigantes:

1. Hidrocarbonetos alifáticos halogenados (dibrometo de etileno, 1,3-dicloropropeno)
2. Metilisocisotiocianato e seus derivados (metham sodium, brometo de metil)

Os não fumigantes também subdividem-se em dois grupos:

1. Organofosfatos (fenamiphos)
2. Carbamatos (oxamyl, carbofuran).

Considera-se aqui a possibilidade de N-acetilarenossulfonamidas possuírem uma acção nematicida.

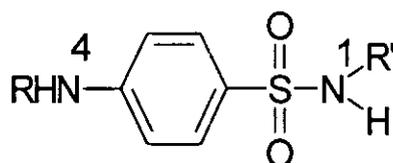
3. Revisão bibliográfica

3.1. As sulfonamidas

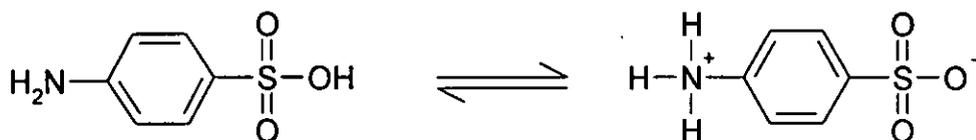
A literatura não referencia compostos com actividade antifúngica anteriormente preparados na base de sulfonamidas. Mas, é referenciado que o grupo sulfonil possui propriedades antifúngicas [9], para além da actividade biológica do grupo sulfanilamido ($p\text{-NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH-}$) [10]. A escolha de sulfonamidas como base de preparação de compostos biologicamente activos com potenciais propriedades antifúngicas deveu-se as suas propriedades terapêuticas anteriormente demonstradas bem como a sua baixa toxicidade para os animais e para o Homem.

Tsyganov (1947), salienta que alguns derivados de sulfonamidas com baixa toxicidade para os animais, apresentam no entanto, uma alta toxicidade para as bactérias e para as plantas.

Alexander, et al (1960) apresentam compostos com actividade terapêutica na base de sulfonamidas, tais como os derivados da sulfanilamida como sendo compostos de reconhecida actividade contra infecções bacterianas [11] . As sulfonamidas são compostos orgânicos com a seguinte fórmula geral:

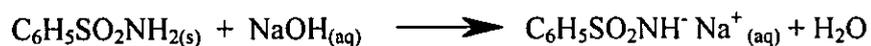


São derivadas do ácido sulfanílico e existem tanto na forma iónica como na forma molecular :

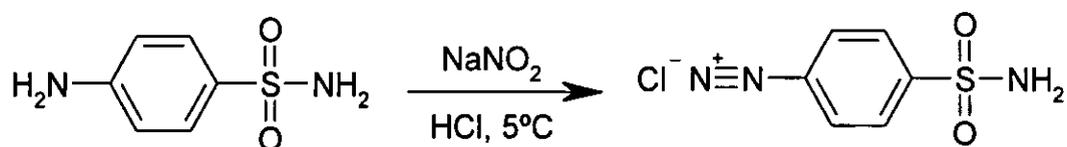


O nitrogénio sulfonamídico e o nitrogénio anilínico são designados, respectivamente por N¹ e N⁴. O grupo para-aminobenzenosulfonil (p-NH₂C₆H₄SO₂-) é designado por **sulfanil**, o grupo para-aminosulfanilamido (p-NH₂C₆H₄SO₂NH-), **sulfanilamido** e o grupo NH₂SO₂- **sulfamil**.

As sulfonamidas são sólidos cristalinos com pontos de fusão bem definidos. São muito pouco solúveis em água. Apresentam propriedades ácidas fracas e dissolvem-se em bases fortes formando sais solúveis em água:



Reagem lentamente com o ácido nitroso (HNO_2), tal propriedade é fundamental na diazotação do nitrogénio anilínico (N^4), sem atacar o nitrogénio sulfonamídico (N^1):



Vários parâmetros físico-químicos têm sido correlacionados com a actividade terapêutica das sulfonamidas [12], por exemplo: o pKa , a ligação com as proteínas, a distribuição da carga electrónica, e outros. Infelizmente um único parâmetro não consegue explicar a acção das sulfonamidas, por exemplo para o caso do pKa propõe-se que a actividade máxima é encontrada naquelas sulfonamidas que possuem valores de pKa entre 6.0 e 7.5

$$\text{pKa} = \text{pH} + \log [\text{HA}] / [\text{A}^-]$$

Quando a sulfonamida está 50 % dissociada $[\text{HA}] / [\text{A}^-] = 1$ e $\log 1 = 0$; $\text{pKa} = \text{pH}$. De acordo com alguns autores este é o pH de actividade máxima, pois as sulfonamidas penetram na parede celular como moléculas não dissociadas, mas actuam na forma iónica. Esta é apenas uma hipótese, porque existem autores que defendem que muitas sulfonamidas com valores de pKa fora do limite sugerido têm alta actividade terapêutica, especialmente aquelas com substituentes que retiram electrões ao nitrogénio sulfonamídico.

Woods (1940), formulou as bases que permitiram ter-se uma compreensão clara acerca do mecanismo de acção das sulfonamidas ao observar que a diminuição no crescimento de certos microorganismos, pela acção da sulfanilamida era inibida pelo ácido p-aminobenzóico [13]. Ele concluiu que os dois compostos competiam antagonicamente em algum processo metabólico essencial, devido a sua semelhança estrutural. (fig 7 e 8). De facto, as distâncias interatómicas nos dois compostos são muito próximas: a distância interatómica entre átomos de oxigénio é de 2.3\AA no grupo benzóico e de 2.4\AA no grupo sulfamil. A distância interatómica entre os átomos de oxigénio do grupo benzóico e do hidrogénio do grupo amina é de 6.7\AA no ácido p-aminobenzóico. Na sulfanilamida, por seu lado, a distância interatómica entre o átomo de oxigénio do grupo sulfamil e o de hidrogénio do grupo amina é de 6.9\AA

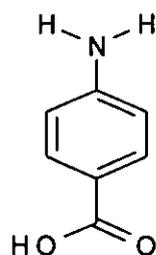


Fig.7 Ácido p-amino benzoico

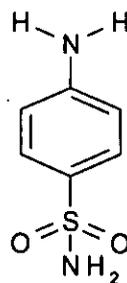


Fig.8 Sulfanilamida

Por isso, muitos compostos derivados da sulfanilamida (por substituição do átomo de hidrogénio ligado ao nitrogénio sulfonamidico) foram preparados mantendo à semelhança deste metabólito essencial: anel benzênico com apenas dois substituentes orientados em posição para um do outro.

De uma maneira geral, as sulfonamidas mostram-se eficazes no tratamento de doenças causadas pelos seguintes microorganismos:

Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pasteurella pestis, Diplococcus pneumoniae, Salmonella typhi, S. enteritidis, S. typhimurium, S. schöottimulleri, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Shigrla sonnei, S. Flexneri, litéria monocytogeneses, Pseudomonas aeruginosa, Brucella meliteuses, B. Abortus, B. Suis, Proteus vulgaris, Vibrio cholerae, Bacillus austracis, B. Subllis, Corynrbacterium diphtheriae, Haemoplillus infflenza, H. Duereyi, Francisella tulerensis, Neisseria gonorrhoeae e N. meningitidis.[12]

A eficácia terapêutica mostrada pelas sulfonamidas no tratamento de doenças causadas por estes microorganismos deve-se fundamentalmente à inibição da produção do ácido fólico (Fig.9) a partir do ácido p-aminobenzóico, pelas bactérias. Por causa dessa incapacidade a bactéria morre.

Os seres humanos não são intoxicados pela terapia com sulfonamidas porque obtêm o ácido fólico a partir de fontes da dieta alimentar e não a partir do ácido p-aminobenzóico.

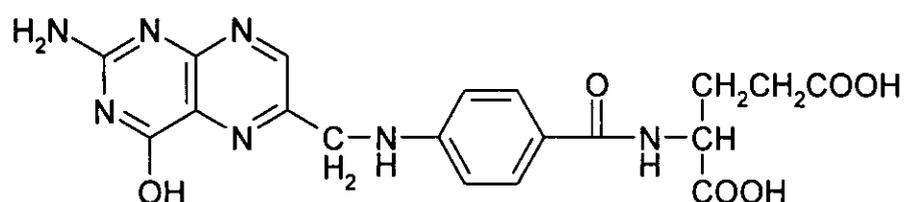
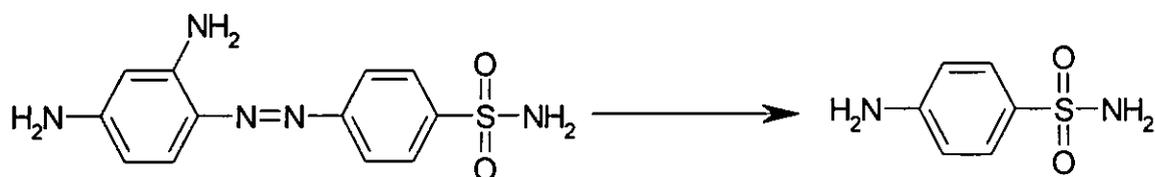


Fig.9 Ácido Fólico

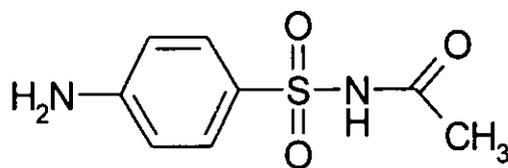
Alguns exemplos de sulfonamidas [11] e sua aplicação na medicina veterinária são mostrados abaixo:

a. Sulfanilamida.

Possue acção antiestropomicida. Segundo Pauster (1936), o prontossil decompõe-se no corpo humano produzindo a sulfanilamida:

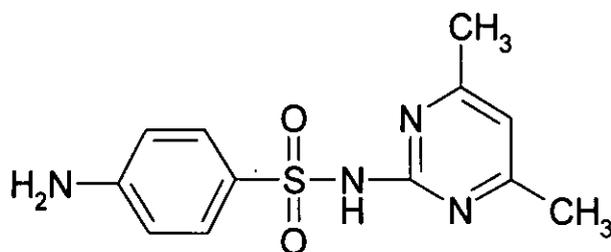


b. Sulfacetamida



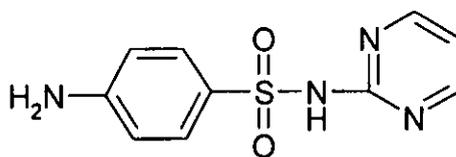
A sulfacetamida é um composto neutro. É usado como anti-séptico oftalmológico.

c. Sulfadimidina



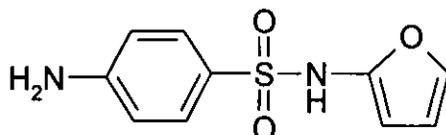
É uma sulfonamida que se absorve rapidamente e elimina-se com relativa lentidão. Isto porque cerca de 80% da dose administrada, uma vez filtrada através do glúmero é reabsorvida nos tubos renais. É acetilada em menor proporção que a sulfanilamida. O derivado acetilado é mais hidrosolúvel. Esta sulfonamida é útil na prática veterinária no tratamento de coccidiosi fecal das aves. O tratamento é feito incorporando sulfamiridina sódica na água do abeberamento.

d. Sulfadiazina



Absorve-se facilmente no intestino. É acetilada em proporções variadas pelas diversas espécies de animais e excreta-se facilmente pela urina. A elevada concentração que atinge na urina torna-a prática no tratamento de infecções do tracto urinário. Os tubos renais absorvem uma proporção importante dela.

e. Sulfafurazol

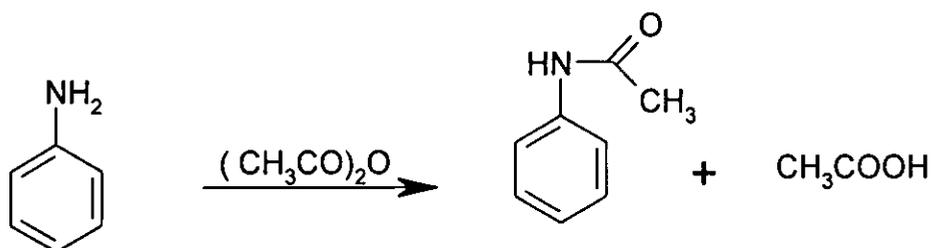


Tem propriedades similares as restantes sulfonamidas, tendo a vantagem de actuar contra algumas bactérias Gram. negativas. Este composto resulta particularmente eficaz contra infecções originadas por *E. coli*, *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas aeruginosa*. As infecções causadas por cocos não respondem positivamente ao tratamento com esta sulfonamida. É também usada no controlo de infecções do tracto urinário, uma vez que os metabólitos procedentes da degradação desta sulfonamida são bem solúveis na urina que os outros compostos desta série.

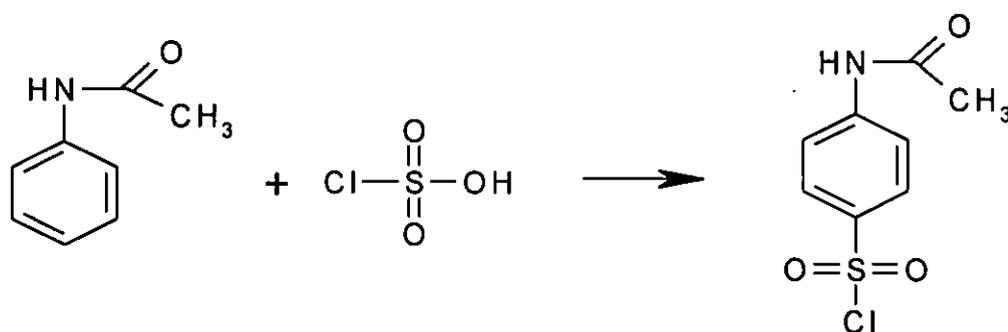
3.2. Síntese de Sulfonamidas

As sulfonamidas preparam-se pela reacção da anilina com o ácido clorossulfónico (ClSO_3H) seguida da reacção com amoníaco ou com uma amina apropriada. Em primeiro lugar protege-se o nitrogénio por acetilação, resultando um composto intermediário que por hidrólise ácida ou alcalina dá a sulfonamida pretendida. Os esquemas de reacção vêm abaixo:

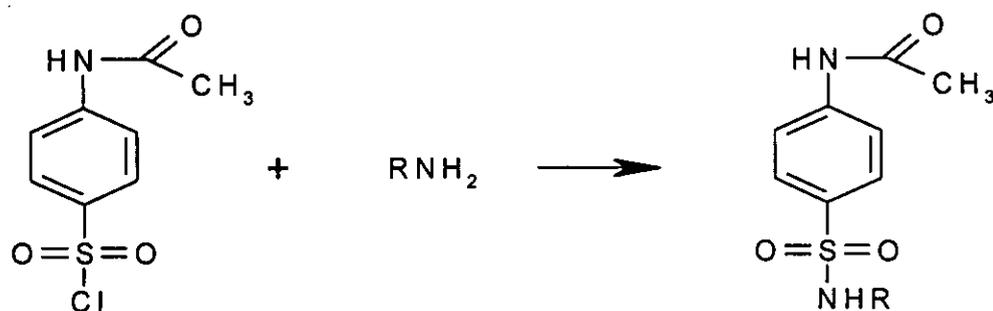
a. Protecção do nitrogénio



b. Reacção do composto intermediário com o ácido clorossulfónico

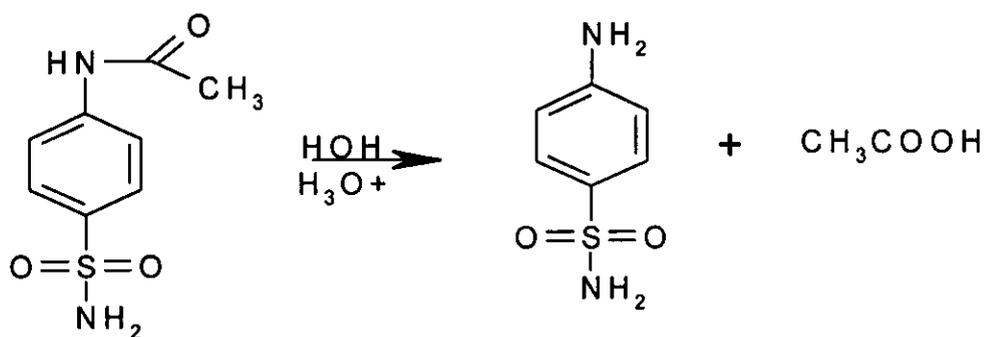


c. Reacção com amoníaco ou uma amina



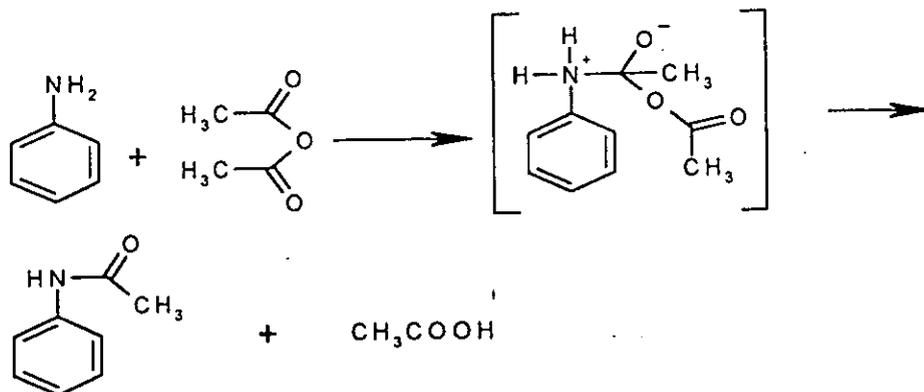
R = H ou anel heterocíclico

d. Hidrólise ácida

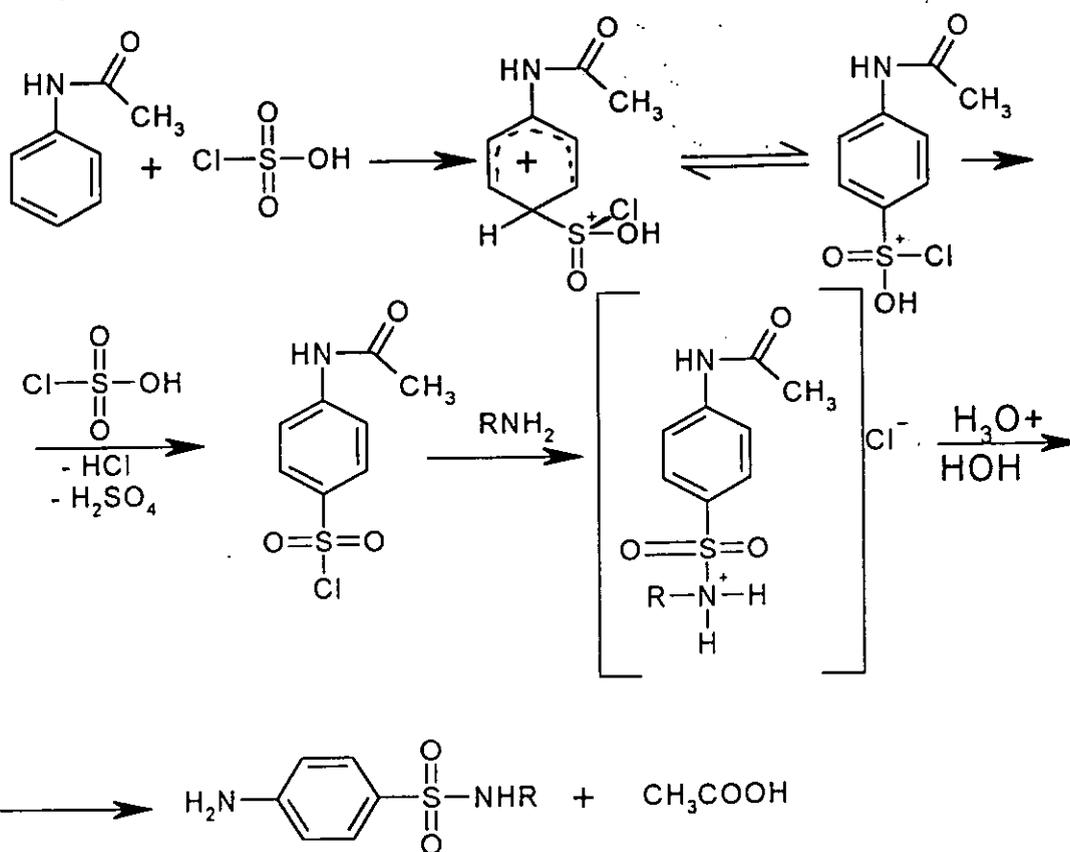


Provável Mecanismo :

- protecção do nitrogénio



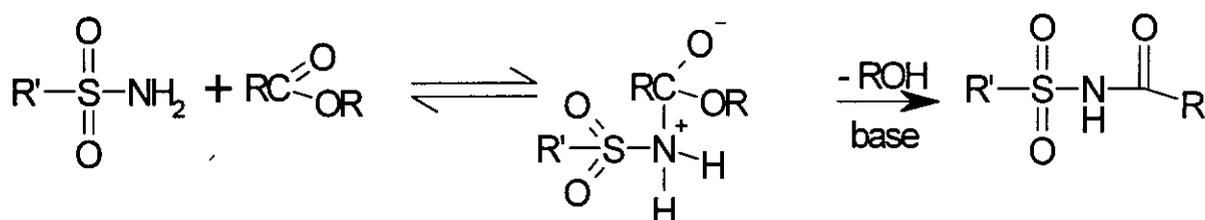
- reacção do intermediário com o ácido clorossulfónico e hidrólise



3.3. Agentes de Acetilação

O mecanismo de acetilação do grupo sulfamil ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) não é diferente do mecanismo de acetilação das amins primárias e secundárias.

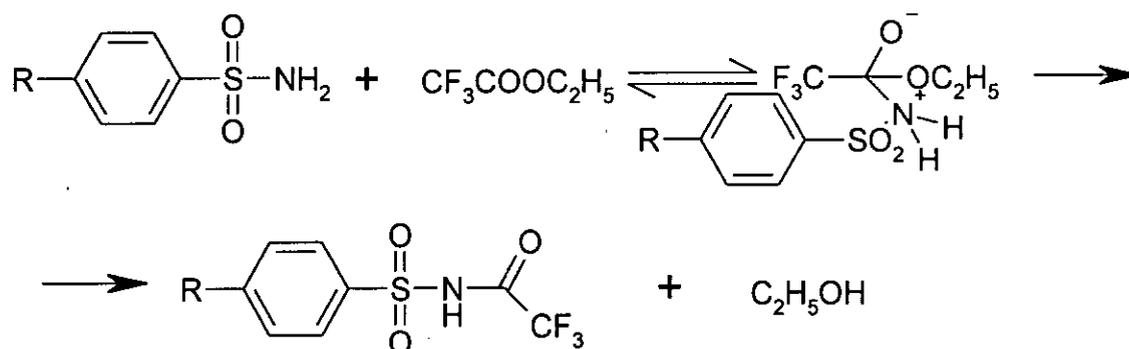
Os agentes de acetilação podem ser os ésteres, os cloretos de ácido e os anidridos. Os cloretos de ácido reagem rapidamente que os ésteres e os anidridos [14], este facto foi observado experimentalmente ao longo deste trabalho. A acetilação do grupo sulfamil por ésteres obedece ao seguinte mecanismo:



A literatura apresenta alguns métodos de preparação de ésteres (derivados) que podem ser usados na acetilação de sulfonamidas, por exemplo o trifluoroacetato de etil.

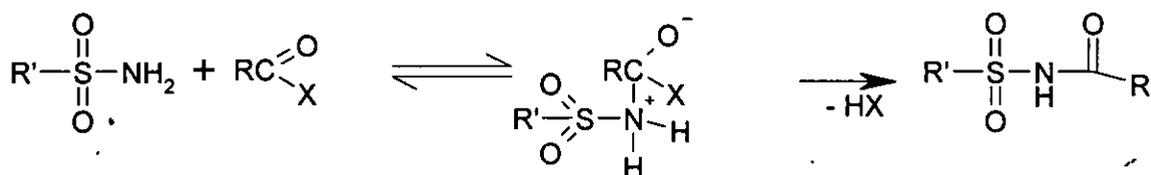
Reid (1947), apresenta um método modificado de síntese do trifluoroacetato de etil. [15]

Na prática a acetilação das sulfonamidas por ésteres deverá ocorrer de seguinte modo:



R = CH₃, Cl, COOH .

O mecanismo de acetilação do grupo sulfamil das sulfonamidas por haletos de ácido é semelhante ao dos ésteres, envolvendo um pré-equilíbrio de formação de um intermediário tetraédrico seguida pela sua decomposição em produtos:



X = F, Cl, Br, I.

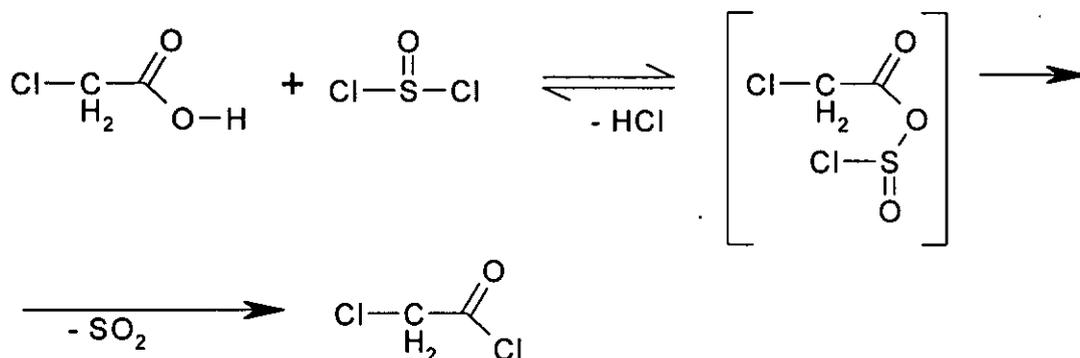
Bender e Jones (1962), estudaram o efeito da variação do haleto na velocidade da reacção. Os resultados são sumariamente mostrados na tabela abaixo, e sugerem que o passo mais lento é a decomposição do intermediário tetraédrico que envolve a quebra da ligação carbono-haleto (C-X). [14]

Tabela 2. Reacção entre haletos de benzoil e morfolina [14]

Composto Benzoil	K _{obs} (l/mol.s)
Fluoreto	1.06
Cloreto	2.64 x 10 ³
Brometo	6.66 x 10 ⁴
Iodeto	2.39 x 10 ⁵

Barnett (1921) , apresenta um método de preparação de Cloreto de cloroacetil a partir de ácido monocloroacético e do cloreto de sulfúrio (SO₂Cl₂) [16]. A tentativa de síntese de Cloreto de cloroacetil, usando este método não produziu resultados satisfatórios. tendo-se substituído o cloreto de sufúrio pelo cloreto de tionila (SOCl₂)(parte experimental). Com o cloreto de tionila os resultados são satisfatórios. Durante o processo ocorre a libertação e HCl

e SO₂, provavelmente o mecanismo da reacção é o seguinte:



Os anidridos são menos reactivos que os cloretos de ácido, mas mesmo assim são usados como agentes de acetilação. Swarts (1922), apresenta um método de síntese de anidrido trifluoracético a partir do ácido trifluoracético [16] :

O anidrido trifluoracético é preparado tratando o ácido trifluoracético com o pentóxido de fósforo (semelhantemente como no caso da preparação do anidrido acético a partir do ácido acético) aos 100°C . O ponto de ebulição é 39.5-40.5°C, solidifica numa mistura de Et₂O-CO₂ e seu ponto de fusão é -65°C.

3.4. Métodos de Confirmação Composicional dos Compostos Sintetizados

3.4.1. A partir do Ponto de Fusão

O ponto de fusão de uma substância orgânica pode ser determinado através da introdução de uma pequena quantidade de substância num tubo capilar introduzindo-o no aparelho para determinação do ponto de fusão. Aquece-se lentamente e observa-se a que temperatura a fusão da substância inicia e a que temperatura ela é completa. As substâncias puras têm pontos de fusão estreitos, isto é a diferença entre a temperatura na qual inicia a fusão e aquela na qual termina é muito pequena (0.5 a 1.0 °C), mas as substâncias impuras exibem uma larga faixa de temperaturas de fusão (10 a 20°C). As impurezas baixam o ponto de fusão e

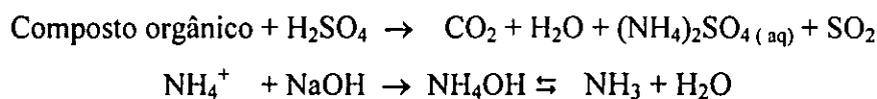
alargam a faixa de fusão. Se uma substância A apresentar um ponto de fusão de 142-143°C contiver uma outra substância B como impureza e que apresenta um ponto de fusão de 120-121°C, a substância A terá finalmente um ponto de fusão abaixo de 142°C. O mesmo acontece quando a substância B contiver A como impureza, o ponto de fusão final será menor que 120°C. Uma dada substância C pode ter o mesmo ponto de fusão que a A, mas se ao misturem-se partes iguais das duas observar-se um abaixamento no valor do ponto de fusão conclui-se que as duas substâncias não são as mesmas. Desta forma o ponto de fusão pode ser usado não apenas como critério de pureza mas também como critério de identificação qualitativa.

3.4.2. A partir da determinação de Nitrogénio elementar

Comparando o valor teórico composicional do nitrogénio elementar com o valor determinado experimentalmente, pode-se chegar a uma conclusão acerca da composição química do composto sintetizado. Se o composto sintetizado é o esperado então os dois valores não deverão diferir em mais de 10 %.

Neste trabalho, usou-se o método de Kjeldahl [17, 18]

O método baseia-se na oxidação de compostos orgânicos pelo ácido sulfúrico, na presença de um catalisador, dando dióxido de carbono e água, libertando nitrogénio na forma de amoníaco. O amoníaco libertado é recolhido numa solução de ácido bórico que depois é titulada com uma solução padrão de ácido sulfúrico.



Considerações:

- a. **Catalisador.** A adição do catalisador é essencial na redução do tempo de digestão, evitando a perda de amoníaco, para isso é adicionado selénio na mistura catalítica. O sulfato de potássio embora esteja em maior proporção a sua função não é catalítica, mas sim, elevar o ponto de ebulição da mistura de ácido sulfúrico

e ácido fosfórico (acima dos 380 °C) favorecendo desse modo as condições de degradação.

- b. **Tempo e temperatura.** Uma temperatura baixa de digestão causa uma baixa conversão de nitrogénio em sulfato de amónia e uma temperatura muito alta, ou longo período de digestão por sua vez provocam a perda de amoníaco.

Material:

1. Unidade de Digestão
2. Unidade de Destilação
3. Tubos de digestão Kjeldahl de 500ml
4. Erlenmeyers de 250 ml
5. Balões Volumétricos de 1000 e 2000 ml
6. Balança analítica.

Reagentes

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica reconhecida e isentos de nitrogénio ou seus compostos. A água deve ser destilada ou de pureza equivalente.

1. Catalisador:

Misture 138 g de sulfato de potássio anidro, com 12 gramas de sulfato de cobre pentahidratado, e 50 gramas de selénio em pó (catalisador de Kjeldahl)

2. Ácido Sulfúrico conc.- Ácido ortofosfórico conc. (9:1)
3. Solução de Hidróxido de Sódio- Dissolva 450 g de hidróxido de sódio em 1000 ml de água destilada.
4. Solução de ácido Bórico- Dissolva 80 gramas de ácido bórico num volume de 2000 ml de água destilada.
5. Solução do Indicador: Misture partes iguais de uma solução 0.16 % de Vermelho de metilo em etanol e outra de 0.04% de verde de bromocresol em água.
- Pode usar-se o 'Mixed indicator 5 for Nitrogen titrations' se houver'.

6. Preparar uma solução padronizada de ácido sulfúrico 0.2 N. Use uma ampola de 1N ou 0.5 M de ácido sulfúrico para um volume de 1000ml. Dessa solução (0.5 M) pipete 200 ml e prefaça o volume de 1000 ml com água destilada.

Procedimento:

1. Pese 0.5 gramas da amostra num balão de digestão.
2. Adicione aproximadamente 5 g de catalisador e 15 ml de $H_2SO_4-H_3SO_4$ (9:1) (pode ser um pouco mais).
3. Aqueça no digestor a 420 °C até a obtenção de uma mistura verde transparente clara. (45 minutos são suficientes)
4. Deixe arrefecer e adicione 50 ml de água.
5. Prepare a solução para recolher o destilado: deite 7.5 ml de indicador (5) para cada litro de ácido bórico (4) . Deite num erlenmayer de 250 ml, 100 ml desta solução.
7. Adicione cuidadosamente 20 a 25 ml da solução de hidróxido de sódio (3), pelas paredes do tubo de digestão e destile, até obter um volume final de 200 ml.
8. Titular com a solução de ácido sulfúrico 0.2 N até a mudança de cor, de verde para vermelho. A diferença entre os valores dos volumes obtidos na titulação da mesma amostra, feita pelo mesmo analista na mesma altura não deve exceder 0.2 ml, caso contrário é preciso repetir o teste.

Nota: depois de padronizar o ácido, certifique o método todo bem como os instrumentos analisando ureia (NH_2CONH_2 , N = 46.65 %).

Cálculo:

1000 ml de NH_4OH 1N ----- 1000 ml de H_2SO_4 1N

1 ml de NH_4OH 1N ----- 1 ml de H_2SO_4 1N

mas 1000 ml de NH_4OH contêm 14 g de nitrogénio. Isto é 1 ml conterà 14g de N / 1000
então 1ml de H_2SO_4 = 14g de N / 1000

V ml de H₂SO₄ de conc. normal igual a A = $14 \times A \times V / 1000$

Logo :

$$\% N = 1.4 \times V \times A / W$$

Onde:

V é o volume de H₂SO₄ 0.2 N gasto na titulação

A é a normalidade do H₂SO₄, neste caso 0.2 N

W é o peso da amostra, neste caso 0.5 g

Simplificando : $\% N = 0.56 \times V$

3.4.3. A partir do equivalente de Neutralização

É uma determinação indirecta da massa molar. Para os casos em que o composto estudado tem um hidrogénio substituível, pode se confirmar facilmente a sua massa molar através da determinação do equivalente de neutralização (*E_{quiv}*).

O equivalente de neutralização determinou-se pesando exactamente 0.3 g do composto em estudo e dissolvendo em 50 ml de etanol aquoso 50 % v/v e titulando a solução com hidróxido de sódio 0.1 N com indicador de fenolftaleína [19].

Cálculo:

$$E_{equiv} = m \times 1000 / V_{ml} \times N = M / n.^{\circ} H^{+}$$

Onde:

E_{quiv} é o equivalente de neutralização

m é a massa da amostra

V_{ml} é o volume de NaOH em ml gasto na titulação

N é a normalidade do NaOH

M é a massa molar

n.^o H⁺ número de hidrogeniões substituíveis

3.5. Métodos Espectrais de Confirmação Estrutural

3.5.1. A partir de espectros de Infravermelho

Os compostos orgânicos absorvem energia electromagnética na região do infravermelho, dando espectro infravermelho. A radiação infravermelha não tem energia suficiente para causar a excitação de electrões, mas ela faz com que os átomos e os grupos funcionais vibrem em torno das ligações químicas que as unirem, absorvendo energia. Contudo, nem todas as vibrações moleculares resultam em absorção de energia infravermelha, para tal é preciso que o momento dipolar da molécula varie ao mesmo tempo que a vibração ocorre. As vibrações mais usuais em química orgânica ocorrem na região compreendida entre 2.5 a 20 μm ($1 \mu\text{m} = 10^{-4} \text{cm}$) coberta por muitos espectrofotómetros. A posição de uma banda de absorção no espectro pode ser expressa em microns (μm), mas usualmente expressa-se em termos de recíproco do comprimento de onda, cm^{-1} . A região usual de um espectro de infravermelho é entretanto, entre 4000cm^{-1} a alta frequência e 500cm^{-1} a baixa frequência. O espectro infravermelho, é uma propriedade característica de um composto orgânico, ajuda a identificar a estrutura de um novo composto, através da identificação dos grupos estruturais presentes, porque os diferentes grupos estruturais dão origem a bandas de absorção características, quer dizer, cada um destes grupos absorve luz em certas frequências que pouco variam de composto para composto. A absorção de radiação na região do infravermelho é causada por rotações e vibrações da molécula as quais condicionam uma série de bandas de absorção a baixa energia, cujas posições são características para alguns elementos estruturais de cada molécula. Estas bandas fazem com que estas vibrações com frequências abaixo de 1500cm^{-1} sejam pouco usuais na identificação de compostos orgânicos por causa da semelhança de umas com as outras. Frequentemente observam-se bandas que não correspondem a nenhuma das vibrações fundamentais da molécula. Ocasionalmente são úteis na identificação de compostos orgânicos, mas as mais usuais são aquelas que constituem a região acima dos 1500cm^{-1} . A decifração de um espectro infravermelho, não é tarefa fácil.

É preciso preocupar-se acima de tudo com a atribuição das bandas características, normalmente estas aparecem na mesma posição ou pouco variam de posição numa série de compostos orgânicos da mesma família. Os dados sobre a posição de bandas características podem ser consultados na bibliografia, mas mesmo assim persistem dificuldades por causa da sobreposição de bandas sendo muito frequente confundir bandas características com não características. Por isso, não é necessário nem possível atribuir a um específico grupo estrutural cada uma das bandas que aparecem no espectro infravermelho.

A **tabela 3** mostra frequências características de alguns elementos estruturais.

Tabela 3. frequências características de alguns grupos estruturais [20]

Grupo	Banda (ν_{cm-1})
Amidas: N-H	$\nu^{ass} = 3440 - 3420$ $\nu^{cis} = 3180 - 3140$ $\nu^{trans} = 3960 - 3440$ $\nu^{trans,cis} = 3100 - 3070$
C=C	$\nu^{arom} = 1525 - 1475$
C-H	$\nu^{arom} = 3080 - 3030$
-CH ₂ -	$\nu^{ass} = 2940 - 2915$ $\nu^{sim} = 2870 - 2845$
-CH ₃	$\nu^{ass} = 2975 - 2950$ $\nu^{sim} = 2885 - 2860$
R-SO ₂ -N=	$\nu^{ass} = 1370 - 1300$ $\nu^{sim} = 1180 - 1140$
C=O (Amidas)	$\nu^{II} = 1570 - 1515$ $\nu^{I} = 1680 - 1630$

ass = assimétrico, sim= simétrico, I= primeira banda das amidas primárias, II=segunda banda das amidas secundárias

3.5.2. A partir de Espectos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Alguns núcleos atômicos têm um spin nuclear (S), e por isso, esses núcleos comportam-se como barras magnéticas.

$$S = (I(I+1))^{1/2} \hbar \quad (1)$$

onde I é número quântico de Spin e $\hbar =$ constante de planck dividida por 2π isto é $6.625 \times 10^{-34} / 2\pi$ J.s

Em presença do campo magnético aplicado, os núcleos magnéticos podem orientar-se em $2I + 1$ posições. No campo de aplicação da RMN, o núcleo de hidrogénio ^1H e o de ^{13}C são os mais importantes, cada um deles tem Spin igual a $1/2$. Entretanto estes núcleos podem tomar uma das duas orientações possíveis: uma orientação na qual o Spin alinha-se com o campo magnético aplicado e outra na qual a orientação do Spin é contrária ao campo magnético aplicado. A diferença em energia entre estas orientações é dada pela fórmula:

$$\Delta E = \hbar \gamma B_0 / 2\pi \quad (2)$$

Sendo γ uma constante característica do núcleo denominada relação magnetogirica, cujo valor é $2,675 \times 10^8$ Hz T^{-1} para o protão. B_0 é a intensidade do campo magnético exterior estático aplicado [em Tesla 'T' ou weber/m^2 ; $1\text{T} = 10^4$ G (gauss)].

O número do núcleo no estado de baixa energia (N_α) e no de alta energia (N_β) diferirão numa magnitude determinada pela constante de distribuição de Boltzmann (k):

$$k = R / N = 1.138 \times 10^{-23} \text{ J/K} \quad (2)$$

Onde R é a constante dos gases ideais = 8.314 J / (mol.K)

e N número de Avogadro = 6.022×10^{23} mol $^{-1}$

$$N_\beta / N_\alpha = \exp(- \Delta E/kT) \quad (3)$$

Quando um sinal de radio frequência é aplicado ao sistema, esta distribuição é mudada se a radio frequência coincide com a frequência na qual os núcleos magnéticos estão presentes naturalmente no campo magnético B_0 : alguns dos núcleos no estado N_α são promovidos do estado de baixa energia, para o estado de alta energia, e N_β aumenta. A frequência é dada por: $\nu = \gamma B_0 / 2\pi$ (4)

E depende tanto do campo magnético aplicado como da natureza do núcleo em questão, isto é do ambiente electrónico deste núcleo.

4. Parte Experimental

Experiência 1

Síntese de Cloreto de Cloroacetil (ClCH_2COCl)

Reagentes:

1. Ácido monocloroacético (ClCH_2COOH), $M = 94.50 \text{ g/mol}$
2. Cloreto de tionila (SOCl_2), $\rho = 1.631 \text{ g/cm}^3$, $M = 118.97 \text{ g/mol}$
3. Cloreto de Sulfurila (SO_2Cl_2), AR, $\rho = 1.680 \text{ g/cm}^3$, $M.M = 134.97 \text{ g/mol}$

Material:

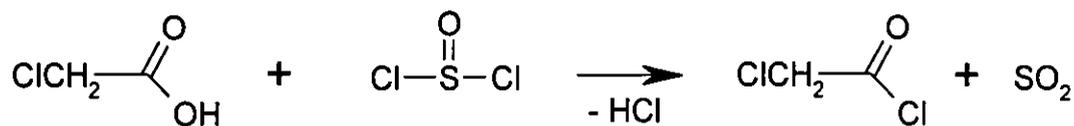
1. Balões de 250 ml
2. Condensadores
3. Adaptadores (conforme a necessidade)
4. Banho-maria com termostato regulável

Procedimento:

Considerando a modificação feita no método de Barnett, a síntese de cloreto de cloroacetil processou-se de modo seguinte:

Misturam-se 95 g (1.00 mol) de ácido monocloroacético ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H}$) e 130g (0.963 mol) de cloreto de tionila (SOCl_2) e refluxa-se durante 2 a 3 horas em banho-maria até que a libertação de SO_2 e HCl torne-se lenta. O cloreto de cloroacetil formado é separado do ácido que não reagiu por destilação (P.E. = $108\text{-}110^\circ\text{C}$).

Reacção:



Resultado:

Obteve-se 91.26 g de Cloreto de Cloroacetil, o que corresponde a um rendimento de 80.8% .

Experiência 2

Síntese de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida ($C_6H_5SO_2NHCOC_2H_4Cl$)

Reagentes:

1. Cloreto de Cloroacetil (preparado na exp.1)
2. Benzenossulfonamida

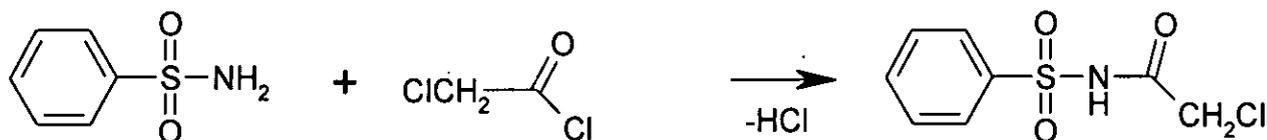
Procedimento:

Pesam-se 20.72 g (0.132 mol) de benzenossulfonamida e junta-se num balão de 250 ml com 0.15 mol (16.95 g) de Cloreto de cloroacetil.

Refluxa-se durante 3 a 4 horas e deixa-se repousar durante a noite. Formam-se cristais.

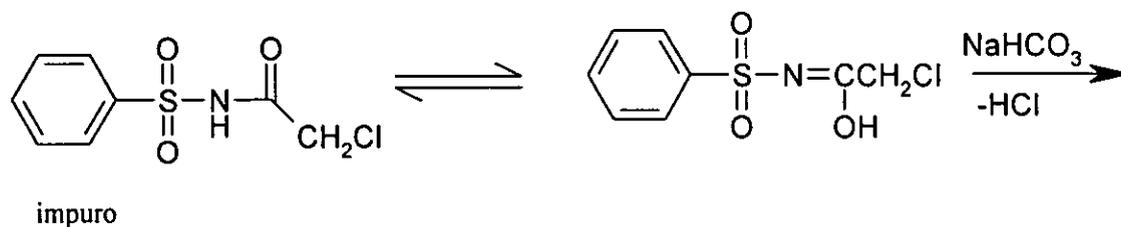
Filtra-se por sucção lavando com éter de petróleo. Os cristais obtidos são reprecipitados em hidrogenocarbonato de sódio a 10% e recristalizam-se em etanol aquoso com carvão activado.

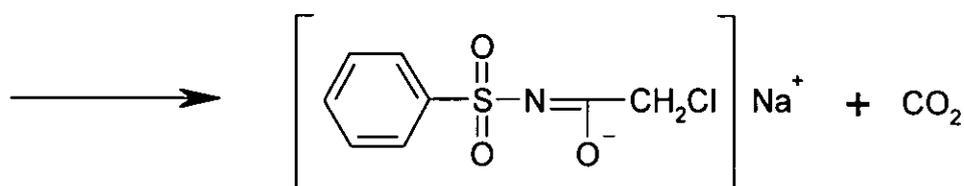
Reacção:



Reprecipitação:

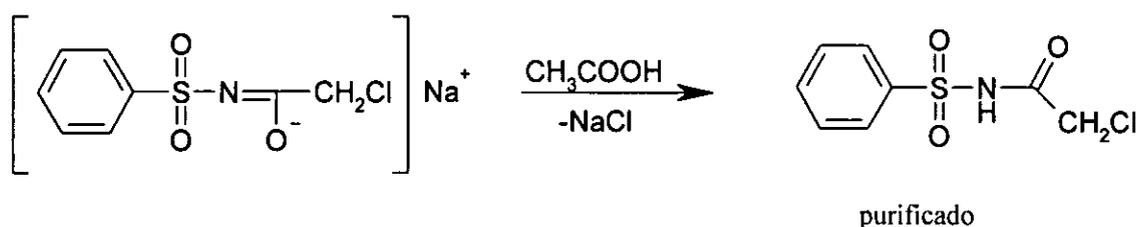
O N-cloroacetilbenzenossulfonamida foi dissolvido em bicarbonato de sódio a 10%, observa-se a libertação de dióxido de carbono de acordo com o esquema de reacção abaixo:





O término da libertação de dióxido do carbono indica o fim da reacção.

Adiciona-se 0.25g de carvão activado, aquece-se à fervura durante 5 minutos e filtra-se gravitacionalmente. Acidifica-se o filtrado com ácido acético ou clorídrico até a formação do precipitado:



Deixam-se secar os cristais e recristaliza-se em etanol aquoso e determina-se o ponto de fusão.

Resultados:

P.F. = 104-105 °C

Obteve-se 22.51 g de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 73.08 %.

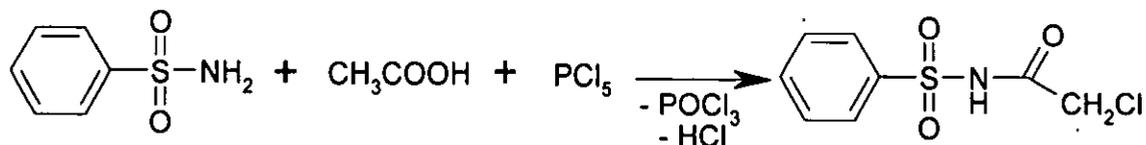
A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 6.05 %, a percentagem teórica é igual a 5.99 %.

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 230.80, a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 231.0

O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.91.

A síntese do mesmo composto substituindo o cloreto de cloroacetil pelo ácido acético e pentacloroeto de fósforo dá um rendimento comparativamente inferior.

Reacção :



Procedimento:

Pesam-se para um balão de destilação 1.57g (0.01 mol) de benzenossulfonamida e 2.08g (0.01 mol) de pentacloreto de fósforo e deitam-se 0.6 g ~ 1 ml (0.01 mol) de ácido glacial acético (densidade = 1.05 g / cm³). Deitam-se 40 ml de dicloroetano seco e refluxa-se durante 3 a 4 horas. Reprecipita-se em NaHCO₃ 10% e recristaliza-se em etanol aquoso.

Resultados:

P.F. = 104-105 °C

Obteve-se 0.79g de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 33.83 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 6.05 %, a percentagem teórica é igual a 5.99 % .

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 230.80 , a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 231.0 . O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.91 .

Experiência 3

Síntese de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida

(p-CH₃-C₆H₄SO₂NHCOCH₂Cl)

Pesam-se 16.84g (0.098 mol) de p-toluenossulfonamida e juntam-se num balão de destilação com a capacidade de 250 ml, com 33.36g (0.295 mol) de cloreto de cloroacetil e refluxa-se durante 3 a 4 horas.Reprecipita-se e recristaliza-se.

Resultados:

P.F. = 96-98 °C

Obteve-se 20.22g de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 82.97 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a

5.71 %, a percentagem teórica é igual a 5.65 % .

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 247.90 , a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 248.0 . O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.82 .

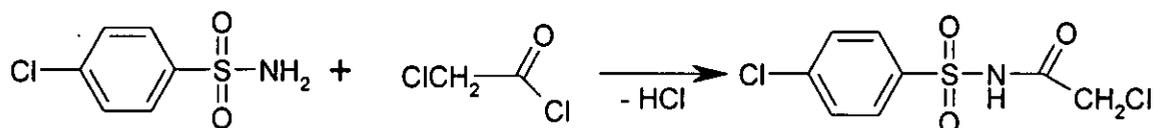
A repetição da síntese deste composto substituindo o cloreto de cloroacetil por quantidades molares equivalentes de p-toluenossulfonamida, ácido glacial acético e pentacloreto de fósforo, como na experiência 2, também resulta num rendimento inferior, de aproximadamente 35.00 % .

Experiência 4

Síntese de N-cloroacetil-p-clorobenzenossulfonamida

(p-Cl-C₆H₄SO₂NHCOCH₂Cl)

Reacção:



Procedimento:

Para um balão de destilação pesam-se 46,86g (0.245 mol) de p-clorobenzenossulfonamida, deitam-se 45.63g (0.40 mol) de cloreto de cloroacetil e refluxa-se durante 3 a 4 horas.

Reprecipita-se e cristaliza-se do mesmo modo que nas experiências anteriores.

Resultados:

P.F. = 138-139 °C

Obteve-se 22.37g de N-cloroacetil-p-clorobenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 35.03 %.

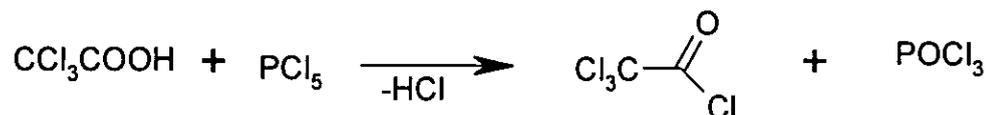
A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 5.29 %, a percentagem teórica é igual a 5.22 % .

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 267.90 , a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 268.0 . O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.61 .

Experiência 5

Síntese de Cloreto de Tricloroacetil (CCl_3COCl)

Reacção:



Procedimento:

Pesam-se 32.7g (0.2 mol) de ácido tricloroacético, para um balão de destilação e juntam-se 41.65g (0.2 mol) de pentacloreto de fósforo. Adiciona-se 40 ml de tetracloreto de carbono e refluxa-se em banho Maria durante duas horas. Deverá ocorrer uma dissolução total dos reagentes acompanhada de libertação de HCl. Separa-se o oxitricloreto de fósforo (POCl_3) do cloreto de tricloroacetil por destilação.

O P.E. de POCl_3 é 107.2 °C enquanto o CCl_3COCl tem P.E. igual a 117-118 °C.

Resultado:

Obteve-se 16 g de CCl_3COCl , o que corresponde a um rendimento de 43.96%.

Experiência 6

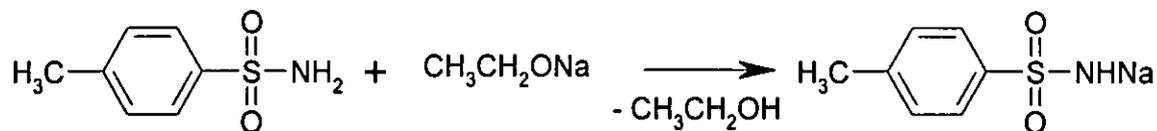
Síntese de N-tricloroacetil-p-toluenossulfonamida

($\text{p-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NHCOCCl}_3$)

Procedimento:

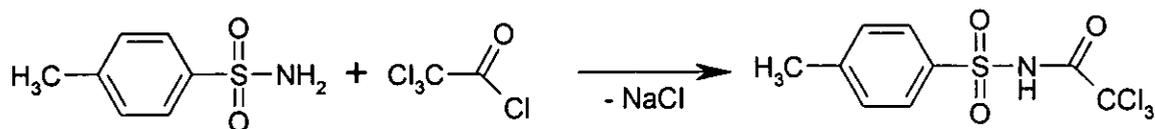
Num balão de 250 ml, introduzem-se 40 ml de etanol absoluto e lançam 1.84g (0.08 mol) de sódio metálico. Quando a dissolução do sódio metálico terminar, adicionam-se 13.68g (0.08 mol) de p-toluenossulfonamida e aquece-se brandamente com refluxo durante 10 minutos. Evapora-se o excesso de etanol na estufa e tritura-se o sal sódico de p-toluenossulfonamida.

Reacções:



Colocam-se 6.55g (0.036 mol) de CCl_3COCl com 30 ml de benzeno num funil de separação e ajusta-se num balão de três bocas contendo 6.948g (0.036 mol) de sal sódico de p-toluenossulfonamida. Aquece-se refluxando durante 3 a 4 horas a uma temperatura de 40 a 45 °C enquanto goteja-se a suspensão CCl_3COCl -benzeno. Deixa-se esfriar e filtra-se lavando com éter de petróleo frio. O produto é extraído no aparelho de Soxhlet com éter de petróleo.

Reacção:



Resultados:

P.F. = 125-130 °C

Obteve-se 1.80g de N-tricloroacetil-p-toluenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 14.00 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 4.87 %, a percentagem teórica é igual a 4.42 % .

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 316.20 , a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 316.5 . O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.89 .

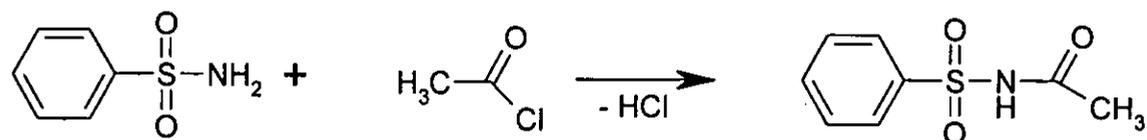
Experiência 7

Síntese de N-Acetilbenzenossulfonamida ($\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{NHCOCH}_3$) [19]

Procedimento:

15.7 g (0.1 mol) de benzenossulfonamida são refluxadas com 15.63g (0.25mol = 17.8 ml) de cloreto de acetil durante 3 a 4 horas. (Adicionam-se mais 0.25 mol de ácido glacial acético para cobrir toda a sulfonamida) Depois da remoção do excesso de cloreto de acetil, por destilação, a mistura reaccional fria é adicionada gelo. Filtra-se o produto, lavando com água fria. O produto é dissolvido em NaHCO_3 10% morno com carvão activado filtra-se e acidifica-se até a reprecipitação.

Reacção:



Resultados:

P.F. = 124-125 °C

Obteve-se 12.50 g de N-Acetilbenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 62.81%.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 7.00 %, a percentagem teórica é igual a 7.03 %.

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 198.70, a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 199.0. O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.91.

São necessárias 5 a 6 horas para conseguir a acetilação de benzenossulfonamida com anidrido acético, entretanto o rendimento é o mesmo.

Experiência 8

Síntese de N-acetil-p-toluenossulfonamida (p-H₃C-C₆H₄SO₂NHCOCH₃)

Procedimento:

42.75 g (0.25 mol) de p-toluenossulfonamida, são refluxadas durante 3 a 4 horas com 49.06g (0.625 mol = 44.6 ml) de cloreto de acetil. Depois da remoção de excesso de cloreto de acetil procede-se como na experiência 7.

Resultados:

P.F. = 135-137 °C

Obteve-se 40.00 g de N-acetil-p-toluenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 75.12 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 6.59 %, a percentagem teórica é igual a 6.57 %.

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 212.80, a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 213.0. O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente

acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.93 .

Experiência 9

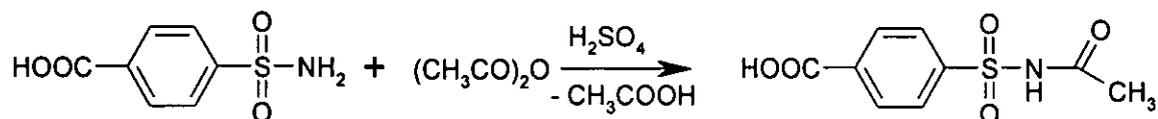
Síntese de N-acetil-p-carboxibenzenossulfonamina

(p- HOOC-C₆H₄SO₂NHCOCH₃)

Procedimento:

14 g (0.07 mol) de p-carboxibenzenossulfonamina, são refluxadas com 35.7 g (0.35 mol = 33ml) de anidrido acético, durante 5 a 6 horas. Adiciona-se uma gota de ácido sulfúrico concentrado. Deixa-se arrefecer e lança-se gelo na mistura raccional. Filtra-se por sucção o precipitado formado e dissolve-se em NaHCO₃ 10%. Recristaliza-se em etanol aquoso.

Reacção:



Resultados :

P.F. = 187-189 °C

Obteve-se 13.6 g de N-acetil-p-carboxibenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 80.33 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 5.99 %, a percentagem teórica é igual a 5.79 % .

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 242.0 , a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 243.0 . O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.87 .

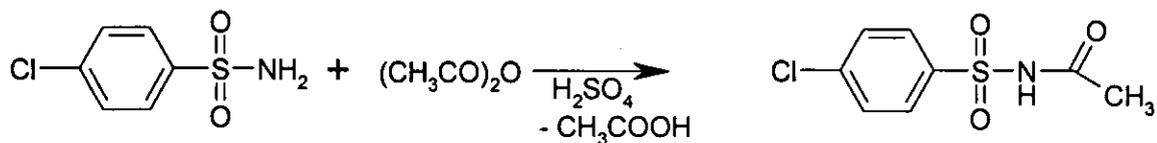
Experiência 10

Síntese de N-acetil-p-clorobenzenossulfonamida

(p-Cl-C₆H₄SO₂NHCOCH₃)

Realizou-se esta síntese do mesmo modo que na experiência 9. Pesam-se 0.07 mol de p-clorobenzenossulfonamida.

Reacção:



Resultados

P.F. = 194-195 °C

Obteve-se 14.30 g de N-acetil-p-clorobenzenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 87.52 %.

A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 6.05 %, a percentagem teórica é igual a 5.99 %.

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 232.60, a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 233.5. O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.86.

Experiência 11

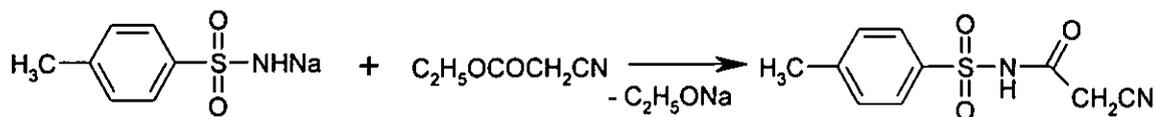
Síntese de N-cianoacetil-p-toluenossulfonamida

(p-CH₃-C₆H₄SO₂NHCOCH₂CN)

Procedimento:

Introduz-se num balão de destilação, 34.2g (0.2 mol) de sal sódico de p-toluenossulfonamida (que se obtém como descrito na experiência 6) e adicionam-se 0.2 mol de éster etilcianoacético (densidade = 1.06 g/cm³) mais um excesso em 25%. Adicionam-se 50 ml de metanol absoluto e refluxa-se durante 4 a 5 horas. Obtém-se uma cor vermelha intensa. Destila-se o metanol absoluto, e o resíduo é dissolvido em água. Neutraliza-se. Filtra-se a sulfonamida que não reagiu. O filtrado acidifica-se e deixa-se repousar. Forma-se um precipitado vermelho. Recristaliza-se várias vezes em etanol aquoso com carvão activado.

Reacção:



Resultados

P.F. = 186-187 °C

Obteve-se 12.0 g de N-cianoacetil-p-toluenossulfonamida, o que corresponde a um rendimento de 30.23 %.

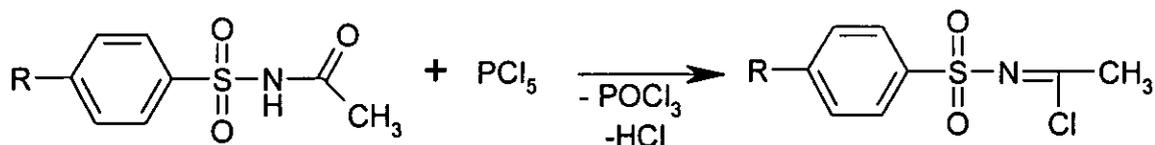
A % de Nitrogénio determinada experimentalmente pelo método de Kjeldahl é igual a 6.59 %, a percentagem teórica é igual a 6.57 %.

A massa molar experimental ($E_{\text{quiv exp}}$) é igual a 212.80, a teórica ($E_{\text{quiv teor}}$) é igual a 213.0. O valor de R_f determinado em placa de sílica gel 60 F₂₅₄ usando como eluente acetona-clorofórmio 1:1 é igual a 0.29.

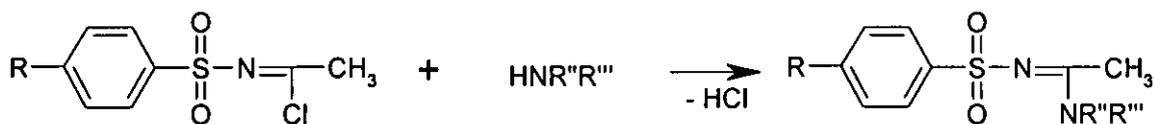
Experiência 12

Obtenção de Arenossulfonilacetimidoil cloreto

As sulfacetamidas obtidas foram posteriormente utilizadas na síntese de amidinas: misturam-se quantidades molares iguais de sulfacetamida e pentacloreto de fósforo em tetracloreto de carbono e refluxa-se durante 40 minutos, ocorrendo uma dissolução total dos compostos iniciais. Filtra-se, rapidamente a solução à quente por sucção. Transfere-se o filtrado para um erlenmayer e adiciona-se n-hexano até o aparecimento de turvação. Deixa-se na geleira durante 10 horas. Filtram-se os cristais formados lavando com n-hexano frio. Guarda-se o produto no excicador com secagem a vácuo.



O imidoil cloreto formado é muito reactivo e pode facilmente reagir com aminas primárias e secundárias dando amidinas:



4.1. Teste Preliminar de Actividade Antifúngica

1. Faz-se o cultivo de Fungos. (*Aspergillus, Fusarium, etc*):

Preparação da solução mãe- Pesar-se 10 g de ração animal para um erlenmayer seco e esterilizado e deitam-se 90 ml de água peptonada. Agita-se durante 5 minutos e fazem-se diluições. A água peptonada prepara-se dissolvendo 1 g de peptona e 8.5 g de NaCl em um litro de água destilada.

Diluições:

- a - 1 ml de solução mãe para 9 ml de água peptonada, agita-se
- b - 1 ml de solução 'a' para 9 ml de água peptonada, agita-se
- c - 1 ml de solução 'b' para 9 ml de água peptonada, agita-se.

1 ml da diluição 'c' (conc. = 10^{-3} g/ml) é distribuído em 4 placas de petri (0.25 ml cada) que contêm o meio de cultivo **Cooke Rose Bengal Agar** (meio sintético). Incuba-se a 22 °C durante 4 dias.

Composição do meio:

Bacto soytone	5 g
Bacto Dextrose	10 g
Dihidrogeno fosfato de potássio ..	1 g
Sulfato de Magnésio.....	0.5 g
Bacto Agar	20 g
Rose Bengal	0.035 g

2. Prepara-se o meio **Potato Dextrose Agar** (PDA) contendo diferentes concentrações do composto cuja actividade antifúngica pretende-se testar.

Cozem-se 200g de batata em 1 L de água destilada, filtra-se através de gaze, prefaz-se o volume até 1 L e adiciona-se 20 g de glicose e 15 a 20 g de agar. Distribui-se o meio em 5 tubos, cada um com 6 ml.

3. Prepara-se uma solução do composto em estudo com a concentração de 40 mg / L.

Pesam-se 2 mg de composto em estudo e dissolvem-se em 50 ml de bicarbonato de sódio a 10 %.

$$C = m / V = 2 \text{ mg} / 50 \cdot 10^{-3} \text{ L} = 40 \text{ mg/L} = 40 \text{ ppm}$$

Donde C é a conc. em mg/L, m é a massa em mg e V é o volume em litros.

Desta solução pipitam-se 5 ml e diluem-se em 5 ml de bicarbonato de sódio a 10 %, obtendo-se uma concentração final de 20 mg/L ,

$$C_f = d \times C_i \text{ e } d = V_p / V_t$$

$$C_f = (5/10) \times 40 = 20 \text{ mg/L}$$

Donde: C_f = conc. final

d = factor de diluição

C_i = conc. inicial

V_p = volume pipitado cuja conc. é C_i

V_t = volume total da solução

em seguida pipitam-se 0.32 ml e deitam-se no tubo com 6 ml de PDA, agita-se e deixa-se secar em posição inclinada. Neste tubo a concentração do composto em estudo em PDA é igual a 1 mg/L:

$$V_p = 0.32 \text{ ml}$$

$$V_t = 0.32 \text{ ml} + 6 \text{ ml} = 6.32 \text{ ml}$$

$$d = 0.32/6.32 = 0.05$$

$$C_f = 0.05 \times 20 \text{ mg/L} = 1 \text{ mg/L}$$

Pipetam-se 0.86 ml da solução de 40 mg/ L para o Segundo tubo, a concentração final é 5 mg/ L ; pipetam-se 2 ml da solução de 40g/ L para o terceiro tubo e 3.6 ml para o quarto tubo.(O quinto tubo serve de teste em branco.)

N.º do tubo de ensaio	1	2	3	4	5
Conc. do composto em estudo (ppm)	1	5	10	15	0

Depois da secagem dos tubos em posição inclinada, inoculam-se, em condições de acépcia, quantidades iguais de fungo da mesma espécie.

Incuba-se a 22° C durante 4 dias.

Resultado:

No tubo em branco houve crescimento de fungos.

Nos tubos onde a conc. é de 1 ppm e 5 ppm verificou-se um ligeiro crescimento de fungos. A partir dos 10 ppm não se regista nenhum crescimento de fungos.

4.2. Interpretação de espectros de Infravermelho (IV)

A decifração de espectros de Infravermelho faz-se comparando os dados bibliográficos referentes aos grupos estruturais esperados no composto analisado e cuja fórmula estrutural hipotética é conhecida com os dados espectrais do mesmo.

4.2.1. Decifração do espectro IV de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida (1).

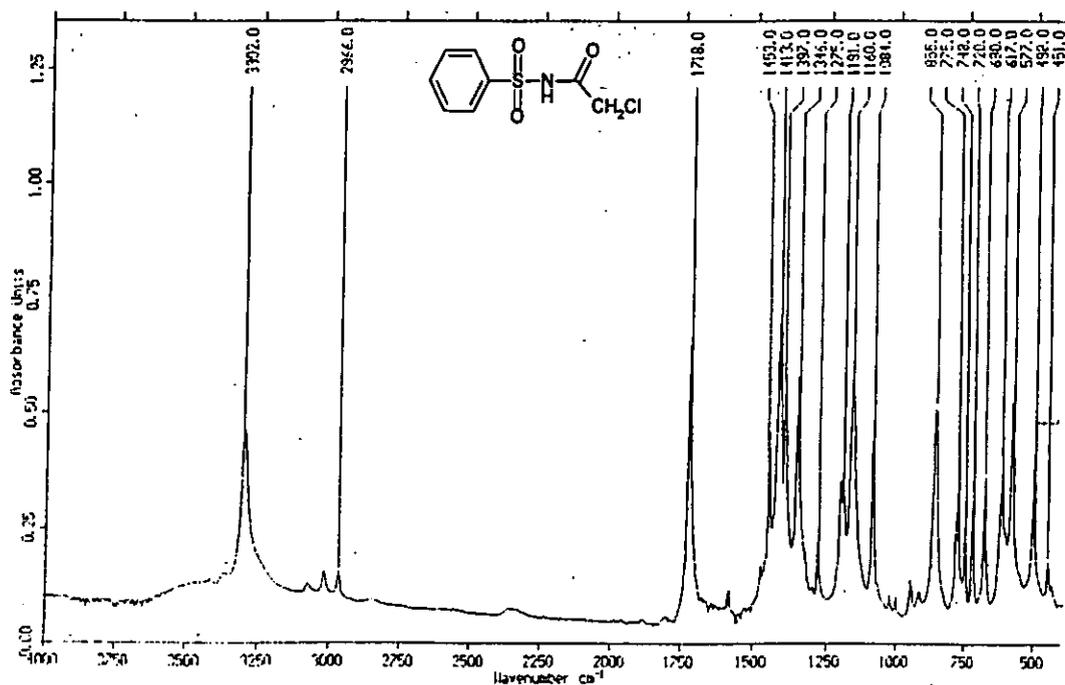
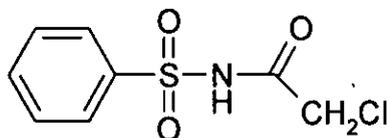


Tabela 4.

Banda (ν cm^{-1})	grupo estrutural:
3472.8 (larga)	OH das formas tautoméricas II e III*
3367.7 (cis, trans)	NH-
3302.0 (trans)	NH-
3075.0 (Aromático, <u>para</u>)	C-H
3015.0 (Aromático, <u>meta</u>)	C-H
2966.0 (Aromático, <u>orto</u>)	C-H
2844.0 (simétrica)	CH ₂ -
1718.0 (primeira banda amidica)	C=O
1575.3 (Aromático)	C-C
1453.0 (Aromático)	C-C
1418.0 (Aromático)	C-C
1160.0 (Aromático, no plano)	C-H
1346.0 (assimétrico)	R-SO ₂ N<
1191.0 (simétrica)	R-SO ₂ N<
1084.0 (Aromático, no plano)	C-H
775.0 (Aromático, fora do plano)	C-H
748.0 (Aromático, fora do plano)	C-H
720.0 (Aromático, fora do plano)	C-H
680.0 (Aromático, fora do plano)	C-H

* ver estruturas tautoméricas na página 49

A atribuição de algumas bandas do composto 1 com a estrutura esperada :



Sugere que de facto tenha se sintetizado o composto esperado, uma vez detectadas as bandas que caracterizam os principais grupos estruturais do mesmo. Mas, não podemos

ainda, tomar uma decisão conclusiva acerca da estrutura deste composto, por exemplo não sabemos quantos prótons aromáticos existem ou se de facto o anel benzénico é monosubstituído. Estas e outras questões serão devidamente explicadas através dos dados espectrais de Ressonância Magnética Nuclear.

4.2.2. Decifração do espectro IV de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida (2)

Fig.10 espectro Infravermelho de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida

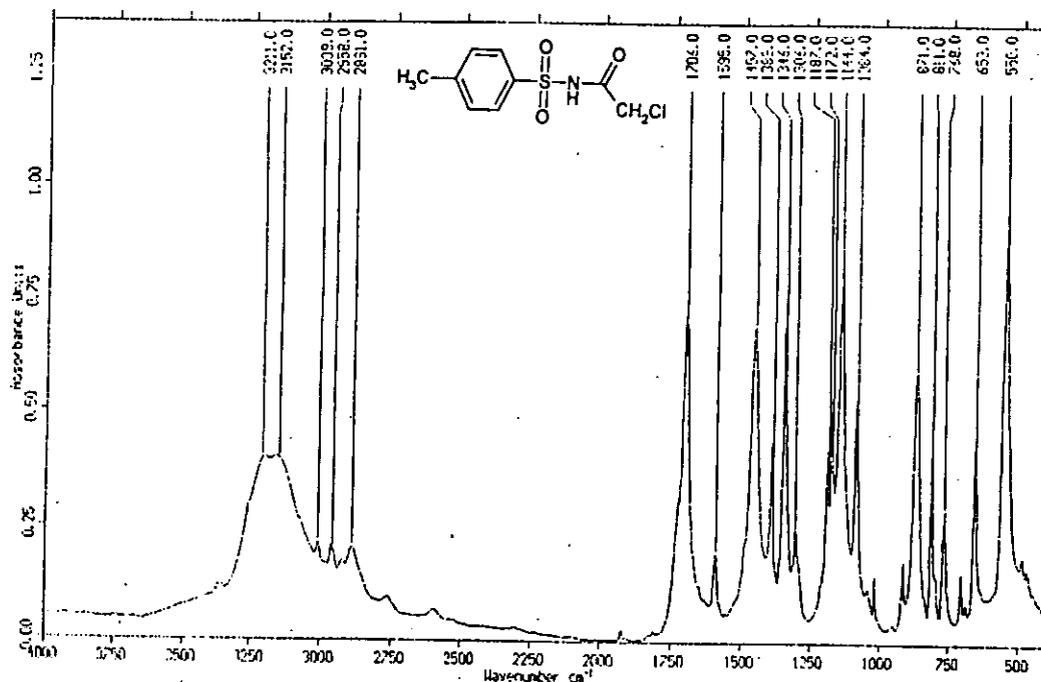


Tabela 5.

Banda (ν cm ⁻¹)	grupo estrutural:
3500.0 (larga)	OH das formas tautoméricas II e III**
3358.7 (cis, trans)	NH-
3211.0 (trans)	NH-
3152.0 (cis)	NH-
3009.0 (Aromático, meta)	C-H
2958.0 (Aromático, orto)	C-H

continuação da tabela 5.

Banda (ν cm^{-1})	grupo estrutural:
2920.8 (assimétrica)	CH ₃ -
2891.0 (simétrica)	CH ₂ -
1706.0 (primeira banda amídica)	C=O
1595.0 (segunda banda amídica)	C=O
1457.0 (Aromático)	C-C
1346.0 (assimétrico)	R-SO ₂ N<
1187.0 (simétrica)	R-SO ₂ N<
1084.0 (Aromático, no plano)	C-H

** ver formas tautoméricas na página 51

4.2.3. Decifração do espectro IV de N-acetil-p-toluenossulfonamida (3)

Fig. 11 espectro Infravermelho de N-acetil-p-toluenossulfonamida

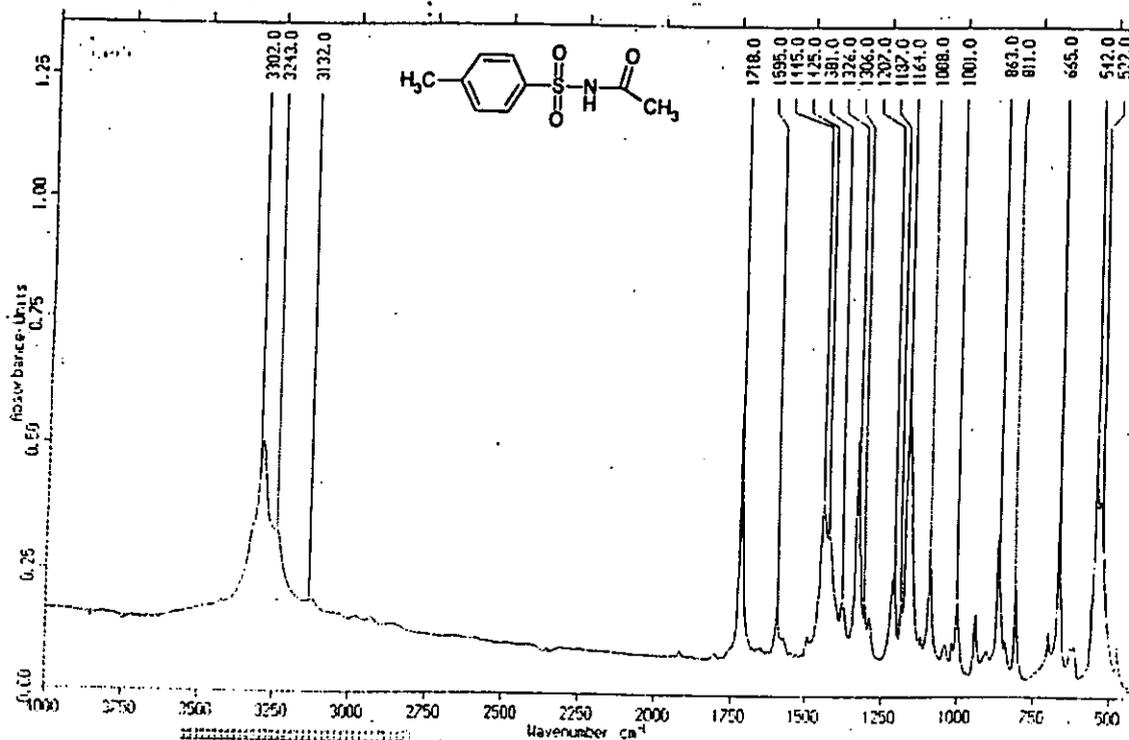


Tabela 6.

Banda (ν cm ⁻¹)	grupo estrutural:
3437.5 (larga)	OH das formas tautoméricas II e III***
3302.0 (trans)	NH-
3243.0 (cis)	NH-
3132.0 (aromático)	C-H
1718.0 (primeira banda amidica)	C=O
1595.0 (segunda banda amídica)	C=O
1445.0 (Aromático)	C-C
1425.0 (Aromático)	C-C
1381.0 (assimétrico)	R-SO ₂ N<
1326.0 (assimétrico)	R-SO ₂ N<
1187.0 (simétrica)	R-SO ₂ N<
1164.0 (Aromático, no plano)	C-H
1088.0 (aromática no plano)	C-H

*** ver estruturas tautoméricas na página 54

Observa-se que determinados grupos estruturais comuns aos compostos 1, 2 e 3 suas bandas aparecem quase na mesma posição, isto é, são bandas de frequências características as que pertencem aos seguintes elementos estruturais: NH- e C-H. As não características, mas inalteráveis nos três compostos são as pertencentes aos seguintes grupos estruturais: C=O ; R-SO₂N< e C=C .

4.3. Interpretação de espectros de Ressonância Magnética Nuclear

Num espectro de RMN, a intensidade do campo magnético é representada, ao longo do espectro, na parte inferior através de uma escala delta (δ) cujas unidades são dadas em partes por milhão (ppm). A intensidade do campo magnético cresce de esquerda para a direita, contrariamente a escala de deslocamento químico que decresce no mesmo sentido

(Fig.12) Os sinais à esquerda do espectro ocorrem em campo baixo e aqueles a direita, estão em alto campo magnético, por exemplo, um sinal observado a $\delta = 3$ ppm ocorre a um campo magnético mais alto do que o observado a $\delta = 6$ ppm.

Os aspectos que são tomados em consideração na interpretação de espectros de RMN são dentre muitos os seguintes:

1. Identificação dos diferentes tipos de prótons (aromáticos e alifáticos).

Contrariamente aos espectros de infravermelho, onde aparecem bandas não características, nos espectros de RMN é fundamental que todos os sinais no espectro do composto estudado sejam decifrados porque todos eles caracterizam os grupos funcionais ou elementos estruturais do composto em estudo. Através de uma análise comparativa entre os deslocamentos químicos no espectro do composto registado e os dados bibliográficos, pode se chegar a importantes conclusões acerca da estrutura do composto. O número de sinais deverá ser concordante com os diferentes tipos de prótons que o composto apresenta. A sua intensidade integral é proporcional ao número de prótons no grupo correspondente. A multiplicidade dos sinais revela uma informação importante acerca do número de prótons dos grupos vizinhos. Os efeitos de acoplamento spin-spin são transmitidos primariamente, através dos electrões de ligação e comumente não são observados quando os prótons acoplados se acham separados por mais de três ligações σ .

Para o caso dos compostos aqui sintetizados, a prova da presença do anel benzénico na sua estrutura é a existência e o número de prótons aromáticos. Os deslocamentos químicos dos prótons aromáticos situam-se entre 7.00 a 8.30 ppm.

2. Decifração de sinais de RMN através dos seus deslocamentos químicos

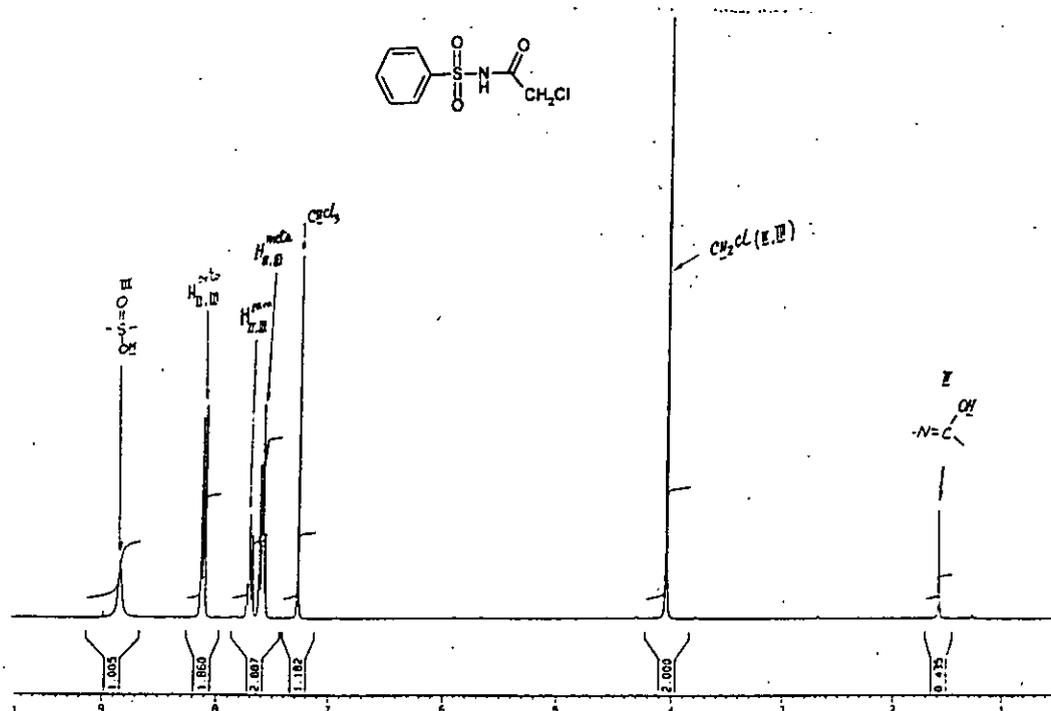
Os deslocamentos químicos são medidos em referência à absorção dos prótons de compostos padrões, os quais são usados para a calibração dos instrumentos. Neste trabalho foi usado como composto de referência o resto de clorofórmio (CHCl_3) resultante da dissolução do composto analisado em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

Nos espectros de RMN aqui analisados, podemos verificar o sinal protónico de clorofórmio (CHCl_3) com o deslocamento químico $\delta = 7.25$ ppm.

É comum usar o tetrametilsilano ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$) como composto de referência, devido a grande diferença de electronegatividades dos átomos de silício e de carbono ocorre um sinal mensurável e com deslocamento químico $\delta = 0$ ppm.

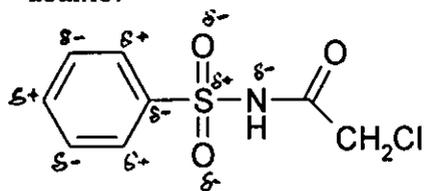
4.3.1. Decifração do espectro de RMN de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida (1).

Fig. 12 espectro de RMN de N-Cloroacetilbenzenossulfonamida

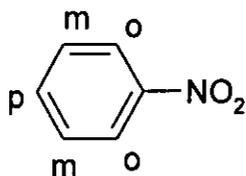


A existência do anel benzénico no composto sintetizado é confirmada pela presença no seu espectro de sinais de cinco prótons aromáticos. O grupo de átomos ligado ao anel

benzénico é director meta. A distribuição de carga orienta-se de acordo com o esquema abaixo:

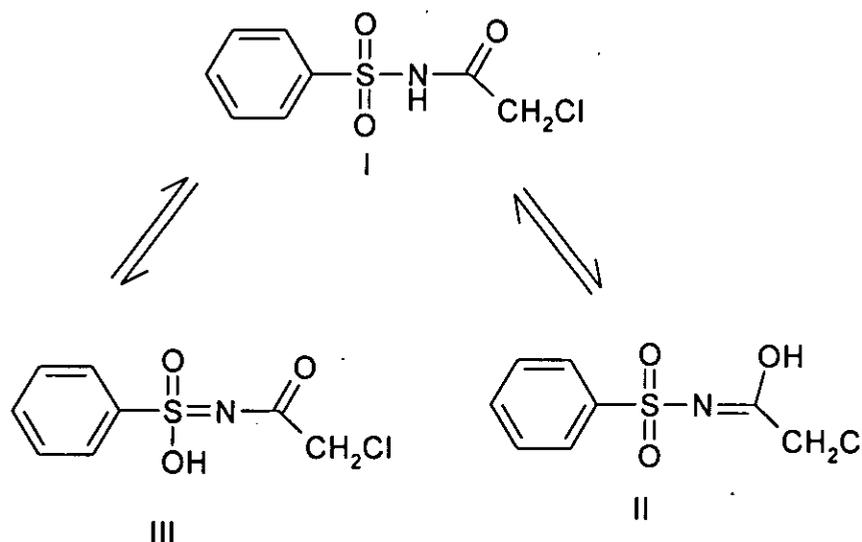


Um excesso de carga negativa (δ^-) origina um deslocamento químico no sentido do campo magnético aplicado mais forte, tal como um excesso de carga positiva (δ^+) originará um deslocamento no sentido do campo magnético mais fraco. Por isso, atribuem-se os seguintes deslocamentos para os protões aromáticos deste composto: os protões orto apresentam $\delta = 8.15$ ppm, o protão para apresenta $\delta = 7.71$ ppm ; os protões meta apresentam $\delta = 7.62$ ppm. Comparando com os dados bibliográficos dos deslocamentos dos protões aromáticos no anel benzénico monosubstituído temos: $\delta_o = 8.22$ ppm , $\delta_m = 7.41$ ppm, $\delta_p = 7.50$ ppm e o número de componentes de sinais indicam que **Jmp = Jom**, isto é, a multiplicidade dos sinais de meta e para protões é tripleto e a de orto protões é duplete.



O sinal do grupo metilénico ($\delta = 4.05$ ppm) aparece deslocado para um campo mais fraco, devido a influência do grupo carbonilo e do cloro. Se analisarmos os dados tabelados [20], verificamos que o sinal do grupo metilénico ligado ao grupo carbonilo aparece tabelado com $\delta = 2.47$ ppm, o sinal do mesmo grupo ligado ao cloro está tabelado com $\delta = 3.57$ ppm. Tanto o grupo carbonilo como o cloro têm efeito indutor negativo, ambos retiram electrões da ligação C-H reduzindo a densidade dos electrões σ . O resultado é que o protão desprotegido absorverá em campos aplicados mais baixos, por isso o deslocamento do grupo metilénico é $\delta = 4.05$ ppm. No espectro observamos um singlete com uma intensidade igual a 2.00, o que indica a ausência de átomos adjacentes protonados.

Para o N-Cloroacetilbenzenossulfonamida dissolvido em solvente polar (clorofórmio deuterado) coexistem duas formas tautoméricas: tautomeria sulfonyl-sulfônica (estrutura III) e tautomeria cetoenólica (estrutura II)



A tautomeria sulfonyl-sulfônica origina um próton com propriedades ácidas mais acentuadas do que o próton originado pela tautomeria cetoenólica, isto devido a influência dos átomos de oxigênio e do enxofre na atracão de electrões, por isso, o sinal do próton do grupo estrutural correspondente encontra-se deslocado para campos mais fracos, $\delta = 8.88$ ppm. No caso da tautomeria cetoenólica o deslocamento protónico é igual a 1.65 ppm. O sinal do grupo N-H não é mensurável, por isso não aparece neste espectro. Por causa da ocorrência de formas tautoméricas, o sinal protónico, por exemplo dos prótons orto será dado pela soma das contribuições individuais de cada forma. Se dividirmos esse valor pelo número total de prótons correspondentes obteremos o valor do sinal de cada próton. Neste caso, o sinal protónico não é o mesmo para todos os prótons, como havemos de demonstrar :

$$I_H^{\text{arom}} = (I_H^{\text{ort}} + I_H^{\text{meta}} + I_H^{\text{para}}) / 5 = 1.860 + 2.887 / 5 = 0.95 \text{ (unidades arbitrárias)}$$

$$I_H^{\text{Alf}} = I_H^{\text{III}} + I_H^{\text{II}} + I_H^{\text{I}} = 1.005 + 0.435 + 0 = 1.44$$

$I = 1.44 / 0.95 = 1.52$ este é o valor médio do sinal do próton móvel neste composto.

I_H^{arom} = intensidade total dos prótons aromáticos

I_H^{ort} , I_H^{meta} , I_H^{para} = intensidades integrais de orto, meta e para prótons respectivamente lidas no espectro.

I_H^{Alf} = intensidade do próton alifático

I_H^{III} = intensidade do sinal protónico do grupo $\underline{HO} - S = O$ da forma tautomérica III

I_H^{II} = intensidade do sinal protónico do grupo $\underline{HO} - C=N-$ da forma tautomérica II

I_H^I = intensidade do sinal protónico do grupo $-N-\underline{H}$ na forma tautomérica I

A percentagem das formas tautoméricas I, II e III calculada a partir do valor de I_H^I , I_H^{II} e I_H^{III} considerando que estas intensidades têm coeficiente igual em relação a percentagem do próton móvel (I_H^{Alf}) distribuído entre os sinais, é a seguinte :

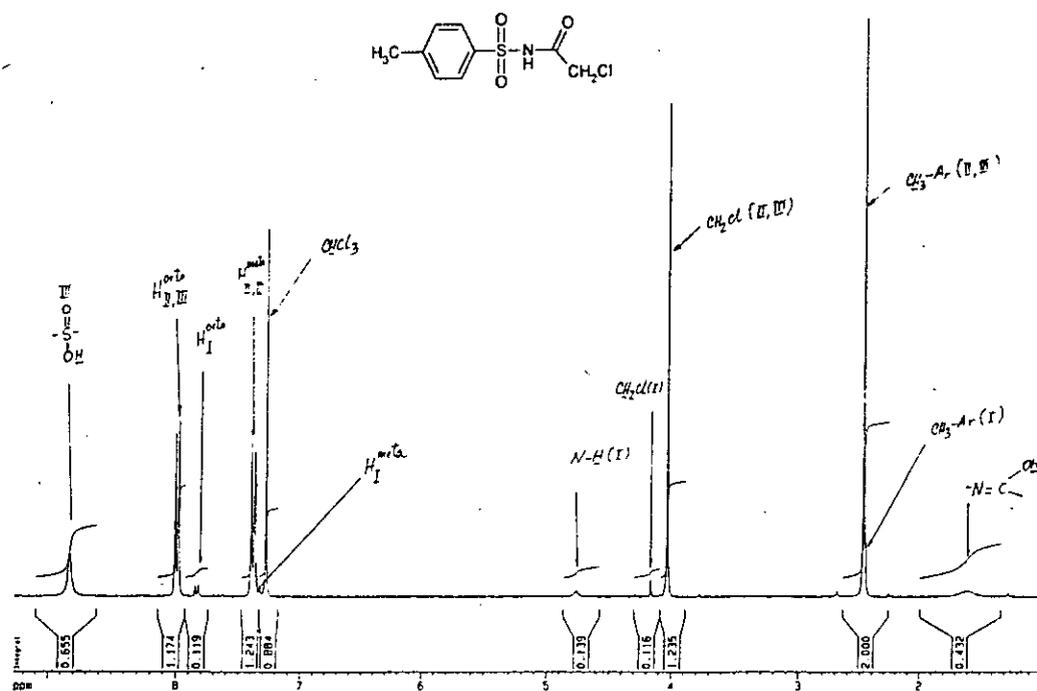
$$\% A^{III} = 1.005 / 1.44 * 100 \% = 69.79 \%$$

$$\% A^{II} = 100 \% - 69.79 \% = 30.21 \%$$

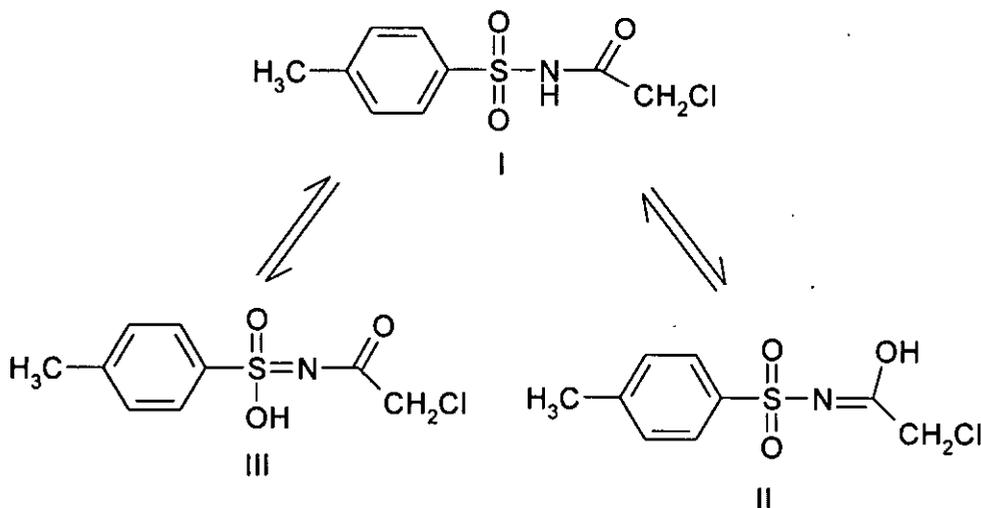
$$\% A^I = 0 \% \text{ (não é mensurável)}$$

4.3.2. Decifração do espectro de RMN de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida (2)

Fig. 13 espectro de RMN de N-cloroacetil-p-toluenossulfonamida



Consideremos a ocorrência de três formas tautoméricas em solução deste composto:



No espectro deste composto, é mensurável o sinal do próton móvel da forma I com deslocamento químico $\delta = 4.78$ ppm, e ao mesmo tempo aparecem os sinais $\delta = 7.85$ ppm, $\delta = 7.35$ ppm e $\delta = 2.44$ ppm que pertencem logicamente aos sinais de orto e meta prótons respectivamente e ao grupo $\text{CH}_3\text{-Ar}$ da forma I, pois este sinal, não aparece no espectro do composto 1, onde não é mensurável o sinal prótonico do grupo N-H da forma I. A confirmação evidente da existência do anel benzênico dissustituído, é a presença de dois sinais de prótons aromáticos orto e meta.

No espectro, o $\delta = 8.05$ ppm corresponde aos prótons orto das formas tautoméricas II e III cuja intensidade integral é igual a 1.174 (unidades arbitrárias) e o $\delta = 7.42$ ppm corresponde aos prótons meta das formas II e III.

A densidade electrónica da ligação N-H é maior neste composto que no primeiro, tornando o aparecimento da forma I detectável.

O sinal do grupo metilénico ligado ao cloro aparece no espectro com $\delta = 4.05$ ppm para as formas II e III e $\delta = 4.20$ ppm para a forma I.

Neste espectro é possível observar um sinal originado pelo grupo metil na posição para do anel benzénico ($\text{CH}_3\text{-Ar}$). Pode-se chegar facilmente a conclusão de que este sinal é originado por três prótons fazendo uma relação entre a intensidade deste sinal cujo

$\delta = 4.05$ ppm e a intensidade do grupo CH_2Cl , isto é $2.00 / 1.235 = 1.62$ que é um valor muito próximo ao da relação do número dos seus prótons, quer dizer $3 / 2 = 1.5$.

Da mesma maneira, a intensidade de um próton aromático é a contribuição das intensidades das três formas tautoméricas:

$$I_{\text{H}}^{\text{arom}} = (I_{\text{H}}^{\text{ort}} + I_{\text{H}}^{\text{meta}}) / 4$$

$$I_{\text{H}}^{\text{arom}} = (1.174 + 0.119 + 1.243) / 4 = 0.634$$

$$I_{\text{H}}^{\text{Alf}} = I_{\text{III}} + I_{\text{II}} + I_{\text{I}} = 0.655 + 0.139 + 0.432 = 1.226$$

Isto prova que em Ressonância Magnética Nuclear protónica de impulsos, os sinais a partir de um próton são diferentes o que não permite calcular certamente as percentagens das formas I, II e III.

Calcula-se à nível semiquantitativo a percentagem da forma tautomérica I:

$$1.226 \text{ ----- } 100 \%$$

$$0.139 \text{ ----- } \% A^{\text{I}}$$

$$\% A^{\text{I}} = 11.26 \%$$

Calculando da mesma maneira tem-se que a $\% A^{\text{II}} = 35.24 \%$ e $\% A^{\text{III}} = 53.50 \%$.

A percentagem quase real da forma I é calculada através da média das intensidades dos orto prótons, do grupo metilénico e do grupo $\text{CH}_3\text{-Ar}$:

a) através das intensidades dos orto prótons :

$$I_{\text{II, III}} + I_{\text{I}} = 1.174 + 0.119 = 1.293$$

$$1.293 \text{ ----- } 100 \%$$

$$0.119 \text{ ----- } x$$

$$x = 9.20 \%$$

b) através do sinal do grupo metilénico (CH_2Cl):

$$I_{\text{II,III}} + I_{\text{I}} = 0.116 + 1.235 = 1.351$$

$$1.351 \text{ ---- } 100 \%$$

$$0.116 \text{ ---- } y$$

$$y = 8.59 \%$$

c) através da altura (H) do sinal (medida no espectro) do grupo $\text{CH}_3\text{-Ar}$

$$H_{\text{II,III,I}} = 149 \text{ mm} ; H_{\text{I}} = 12.81 \text{ mm} ;$$

$$149 \text{ mm} \text{ ----- } 100 \%$$

$$12.81 \text{ mm} \text{ ---- } z$$

$$z = 8.60 \%$$

A percentagem real será a média dos três valores (x , y e z):

$$\% A^{\text{I}} = (9.20\% + 8.59\% + 8.60\%) / 3 = 8.80 \%$$

$$\% A^{\text{II,III}} = 100\% - 8.8\% = 91.20 \%$$

Calcula-se $\% A^{\text{II}}$ e $\% A^{\text{III}}$ separadamente :

$$\% A^{\text{II}} + \% A^{\text{III}} = 0.655 + 0.432 = 1.087$$

$$1.087 \text{ ----- } 91.20 \%$$

$$0.432 \text{ ----- } \% A^{\text{II}}$$

$$\% A^{\text{II}} = 36.25 \%$$

$$\text{e } \% A^{\text{III}} = 91.20 \% - 36.25 \% = 54.95 \%$$

Comparando os dados semiquantitativos das formas I, II e III e os quase reais (em parênteses) podemos chegar a conclusão de que o cálculo semiquantitativo, reflecte bem a percentagem das formas tautoméricas I, II e III:

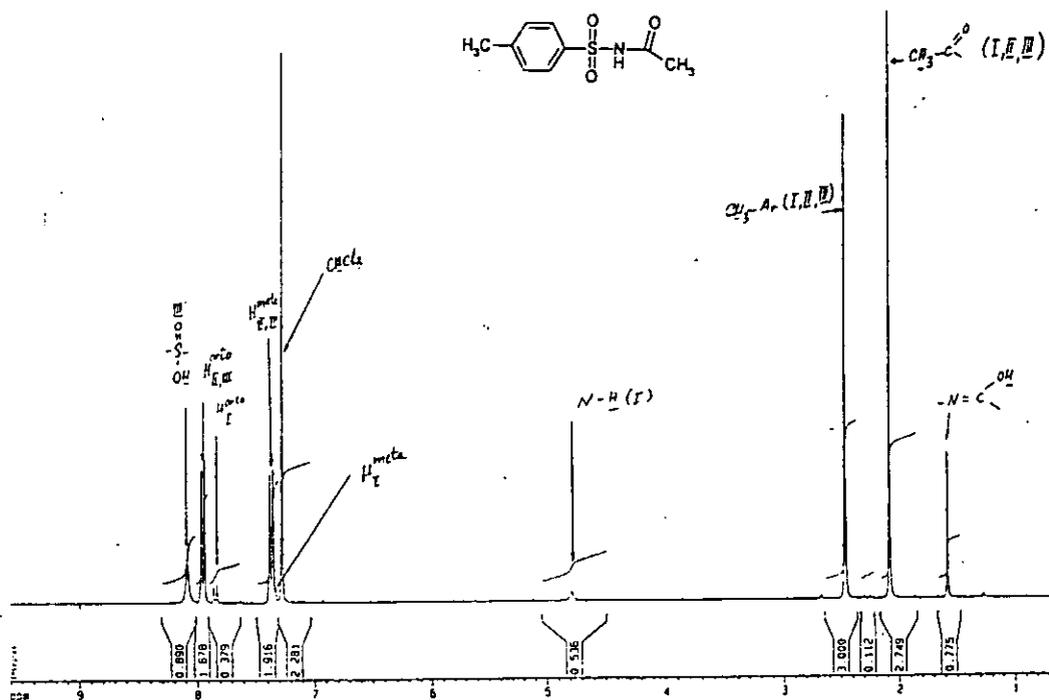
$$\% A^{\text{I}} = 11.34 \% (8.8 \%)$$

$$\% A^{\text{II}} = 35.24 \% (36.25\%)$$

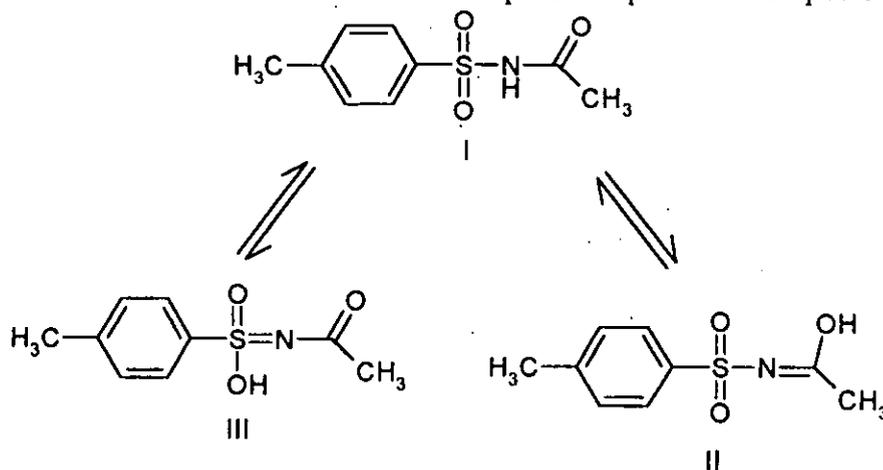
$$\% A^{\text{III}} = 53.43 \% (54.95 \%)$$

4.3.3. Decifração do espectro de RMN de N-acetil-p-toluenossulfonamida (3)

Fig.14 espectro de RMN de N-acetil-p-toluenossulfonamida



Consideremos as formas tautoméricas possíveis para este composto:



Neste espectro, não temos o sinal do grupo CH_2Cl , mas sim o do grupo acetil ($-\text{COCH}_3$) cujo $\delta = 2.08$ ppm que correspondente as três formas. A sua intensidade integral é igual a 2.749.

Podem fazer-se as mesmas interpretações que no espectro do composto 2.

Como nos casos anteriores calculamos a intensidade de um próton aromático e alifático.

$$I_{\text{H}}^{\text{arom}} = (I_{\text{H}}^{\text{ort}} + I_{\text{H}}^{\text{meta}}) / 4 = (1.678 + 0.378 + 1.916) / 4 = 0.993$$

$$I_{\text{H}}^{\text{Alf}} = I_{\text{III}} + I_{\text{II}} + I_{\text{I}} = 0.890 + 0.536 + 0.775 = 2.201$$

Pela diferença dos resultados podemos perceber que prótons de natureza química diferente têm diferentes intensidades.

Para cada forma tautomérica calcula-se semiquantitativamente a percentagem respectiva das formas I, II e III :

$$2.201 \text{ ---- } 100 \%$$

$$0.536 \text{ ---- } \% A^{\text{I}}$$

$$\% A^{\text{I}} = 24.4 \%$$

$$\text{Da mesma forma tem se } \% A^{\text{II}} = 35.2 \% \text{ e } \% A^{\text{III}} = 40.4 \%$$

Calcula-se a percentagem real da forma tautomérica I com base em orto prótons das formas I, II e III:

$$1.678 + 0.379 = 2.057$$

$$2.057 \text{ ---- } 100 \%$$

$$0.379 \text{ ---- } \% A^{\text{I}}$$

$$\% A^{\text{I}} = 18.4 \% ; \% A^{\text{II, III}} = 100 \% - 18.4 \% = 81.6 \%$$

$$\text{Mas, } I_{\text{III}} + I_{\text{II}} = 0.890 + 0.775 = 1.665$$

Então as percentagens reais $\% A^{\text{III}}$ e $\% A^{\text{II}}$ podem ser calculadas :

$$1.665 \text{ ---- } 100 \%$$

$$0.890 \text{ ---- } \% A^{\text{III}}$$

$$\% A^{\text{III}} = 43.62 \%$$

$$\text{e } \% A^{\text{II}} = 81.6 \% - 43.62 \% = 37.98 \%$$

Comparativamente :

$$\% A^{\text{I}} = 24.4 \% (18.4 \%)$$

$$\% A^{\text{II}} = 35.2 \% (37.98 \%)$$

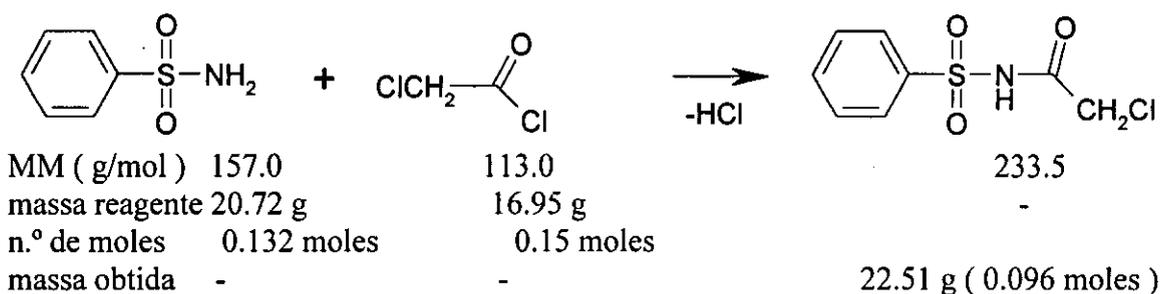
$$\% A^{\text{III}} = 40.4 \% (43.62 \%)$$

Observamos que as percentagens das formas tautoméricas calculadas pelo método semiquantitativo são próximas das percentagens reais (em parênteses). Portanto, conclui-se que o cálculo semiquantitativo pode ser usado para tomar uma decisão prática sobre a forma tautomérica que possui actividade biológica. Foi observado que a forma tautomérica III aparece em maior percentagem em ambos compostos (1, 2 e 3). Além, deste facto o teste preliminar de actividade antifúngica foi realizado dissolvendo o composto numa solução básica. A forma III apresenta propriedades ácidas mais acentuadas que a II, sendo por isso, mais provável a sua actividade em meio básico.

5. Cálculos e Resumo dos Resultados

5.1. Demonstração do Cálculo de Rendimento

Tomando como exemplo, para o cálculo do rendimento experimental, dos compostos aqui sintetizados, a síntese de N-cloroacetilbenzenossulfonamida, descrita na experiência 2:

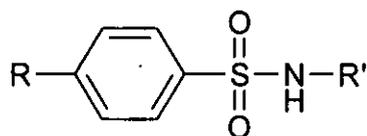


$$\text{Rend}_t = (20.72 \times 233.5) / 157.0 = 30.82 \text{ g}$$

$$\eta = (\text{massa obtida} / \text{Rend}_t) \times 100 \% = (22.51 \text{ g} / 30.82 \text{ g}) \times 100 \% = 73.04 \%$$

onde Rend_t é o rendimento teórico e η é o rendimento experimental.

5.2.Tabela 7. Compostos Sintetizados



N.º	R	R'	P.F. (°C)	Rend (%)	% N teor	% N exp	M exp <i>E</i> _{equiv} exp	M teor <i>E</i> _{equiv} teor
1	H	-COCH ₃	124 -125	62.81	7.03	7.00	198.7	199.0
2	-Cl	-COCH ₃	193.7- 194.5	87.52	5.99	6.05	232.6	233.5
3	-CH ₃	-COCH ₃	135-137	75.12	6.57	6.59	212.8	213.0
4	H	-COCH ₂ Cl	104-105	73.04	5.99	6.05	230.8	231.0
5	-Cl	-COCH ₂ Cl	138- 139	35.03	5.22	5.29	267.9	268.0
6	-CH ₃	-COCH ₂ Cl	96-98	82.97	5.65	5.71	247.9	248.0
7	-CH ₃	-COCCl ₃	125-130	14.00	4.42	4.87	316.2	316.5
8	-CH ₃	-COCN	182-187	30.23	12.49	11.93	223.9	224.0
9	HCOO-	-COCH ₃	187-189	80.33	5.79	5.99	242.0	243.0

6. Conclusões e recomendações

1. Os compostos sintetizados correspondem as estruturas esperadas, isto é, as sínteses descritas na parte experimental decorreram com sucesso.
2. Através da determinação do nitrogénio elementar e do equivalente de neutralização, foi possível avaliar qualitativamente a composição dos compostos sintetizados: analisando os dados da tabela 7, é possível notar que não existe uma diferença significativa entre os teores de nitrogénio teóricos e os experimentais, assim como entre os valores da massa molar.
3. Através da determinação do ponto de fusão e do R_f (pela técnica de TLC) confirmou-se a pureza dos compostos sintetizados.
4. Os espectros de Infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear, confirmam a identidade estrutural destes compostos.
5. No decurso da análise de espectros de RMN, foi possível verificar que a forma tautomérica sulfonil-sulfónica era a que manifestava predominantemente propriedades antifúngicas.
6. Através do teste preliminar de determinação da actividade antifúngica, foi possível, concluir que de facto os compostos sintetizados possuem actividade antifúngica, esperando-se entretanto a confirmação da sua actividade nematicida, pela Faculdade de Agronomia da U.E.M.

7. A toxicidade destes compostos para o Homem, não foi ainda estudada, recomenda-se que um estudo profundo seja realizado antes do seu uso como agentes antifúngicos.

8. Recomenda-se que o Departamento de Química, colabore com instituições que já possuem experiência na área de **Toxicologia Alimentar**, nomeadamente na área de Micotoxinas, através da elaboração e realização de projectos conjuntos, de modo a incentivar a investigação e formação de quadros nacionais neste campo e reactivar a ramo opcional de **Química Alimentar**. O Instituto Nacional de Investigação Veterinária, é uma instituição com potenciais capacidades neste campo, devido ao crescente apoio que tem recebido de instituições internacionais, como por exemplo, a Agência Australiana de Desenvolvimento Internacional, pelo que é um parceiro recomendável.

7. Bibliografia

1. Storer, T.I.; Usinger, R.L.; Stebbins, R.C.; Nybakken, J.W. (1984). Zoologia Geral, 6.^a edição, pp 270-271.
2. Kellerman, T.S., Coetzer, J.A.W., Naude, T.W. (1988). Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa. pp 2-4. Cape Town, University Press
3. Allcroft, R.; Carnaghan, R.B.; (1963). Biological Effects. Chemistry and Industry, pp 50-53, Central Veterinary Laboratory, Weybridge.
4. Armbrrecht, B.H.; Hodges, F.A. Mycotoxins. Studies on Aflatoxin Derived from Contaminated Peanut Meal and Certain Strains of *Aspergillus Flavus*. Journal of Association of Official Agricultural Chemists **46**, 805 (1963).
5. Brook, P.J., White, E.P. (1966). Fungus Toxins Affecting Mammals. pp 170-195. New Zealand, Plant Diseases Division, Department of Scientific and Industrial Research.
6. Couto, J.R. (1986). Introducción a la Toxicología Veterinaria. Pp 357-387. 1.^a edição. Editorial Tebar Flores. Madrid .
7. Storer, T.I.; Usinger, R.L.; Stebbins, R.C.; Nybakken, J.W. (1984). Zoologia Geral, 6.^a edição, pp 281-283.
8. Dropkin, V.H. (1989). Introduction to Plant nematology. 2.^a Edição. John Wiley and sons. pp 277-283.
9. Cremlyn, R.J.; Nunes, R.J. (1985) Phthalimidobenzenesulphonyl Derivates. Quimica Nova. pp 61-62
10. Tsyganov, S.V.; Kiritsa, R.S.; Some Problems in the Action of Sulfonamides drugs. Chemical Abstracts **41**, 5687f (1947).
11. Alexander, F. (1960). Introducción a la Farmacología Veterinaria. 3.^a Edição. Editorial Acribia. Zaragoza. pp 304-305.

12. Korolkovas, A.; Burckhalter, J.H. (1988). Química Farmacêutica. pp546-559. 2.a Edição. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.
13. Solomons, T.W. (1983). Química Orgânica 3. pp 877-879. 3.^a Edição. Livros técnicos do Brasil Editora, Rio de Janeiro.
14. Patai, S. (1968). The Chemistry of the Amino Group. 1.^a Edição. Jerusalem, The Hebrew University, Interscience Publisers.
15. Reid, C.J. Modified Synthesis of Ethyl Trifluoroacetate. Journal of The American Chemical Society. **69**, 2069 (1947)
16. Swarts, F. Trifluoroacetic acid. Chemical Abstracts **17**, 769 (1923)
17. Dixon, J.P. (1968). Modern Methods in Organic Microanalysis. 1.^a Edição. pp 57-67, D. Van Nostrand Company Ltd, London . U.K.
18. Meyer, L.H. (1960). Food Chemistry. 1.^a Edição. Pp 131-132, Reinhold Publishing Corporation, London. U.K.
19. Openshaw, H.T.; Sprig, F.S. Preparation and Properties of Sulphonacetamides: A Method for the Separation of Sulphonamides from N-Alkylsulphonamides. Journal of The American Chemical Society. 234-235 (1945).
20. Williams, D.H.; Fleming, I. (1995). Spectroscopic Methods in Organic Chemistry. 5.^a Edição. pp 29-79, The McGraw-Hill Companies, U.K.

Anexo 1. Propriedades físico-químicas de algumas micotoxinas

Fungo : *Aspergillus flavus e Aspergillus parasiticus*

Metabólitos : AFB1, AFB2, AFM1, AFM2, AFG1, AFG2.

Toxicidade : 7.2 mg / kg

Efeito: cirrose de fígado, câncer de fígado.

Ocorrência: Amendoim, milho, rações animais, leite e derivados.

Estruturas moleculares :

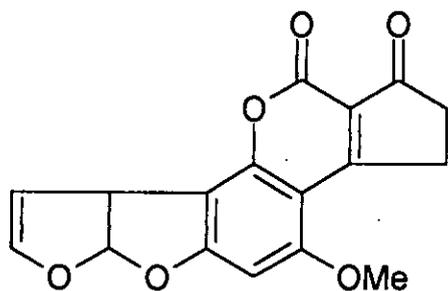


fig.1 AFB1

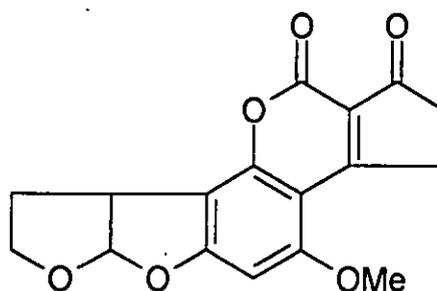


fig.2 AFB2

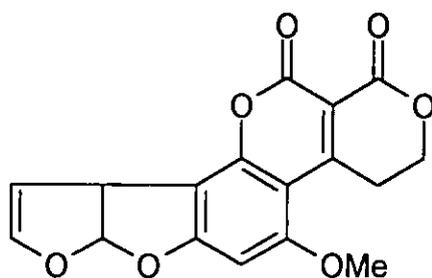


fig.3 AFG1

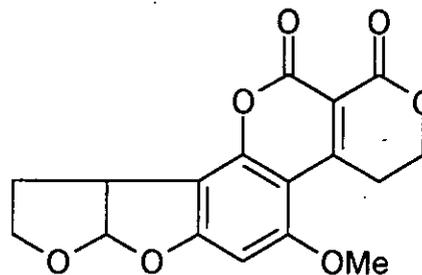


fig.4 AFG2

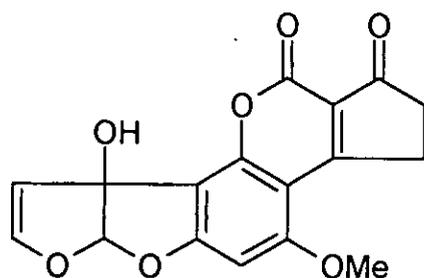


fig.5 AFM1

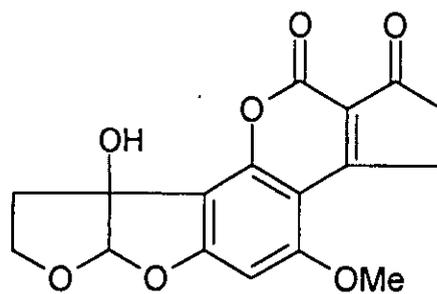


fig.6 AFM2

Anexo 1. Propriedades físico-químicas de algumas micotoxinas

Parâmetros espectrofotométricos

Micotoxina	Fór. Mol.	M.M.	Solv.	Abs.(ε)	λmáx.(nm)
AFB1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312.28	benz-acetonitrilo (98:2 V/V)	19800	353
AFB2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.30	Clorofórmio	20600	353
AFB2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.30	benz-acetonitrilo (98:2 V/V)	20900	355
AFG1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.28	benz-acetonitrilo (98:2 V/V)	17100	355
AFG2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.30	benz-acetonitrilo (98:2 V/V)	18200	357
AFM1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.28	Clorofórmio	19950	357
OTA	C ₂₀ H ₁₉ NO ₆	403.82	benz-acetonitrilo (98:1 V/V)	5550	333
OTB	C ₂₀ H ₁₉ NO ₆	369.38	benz-acetonitrilo (98:1 V/V)	6000	320
Patulin	C ₇ H ₆ O ₄	154.12	álcool absoluto	14540	276
Patulin	C ₇ H ₆ O ₄	154.12	Metanol	12880	275
Zearalenone	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.31	álcool etílico	29700	236
Zearalenone	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.31	álcool etílico	13909	274
Zearalenone	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.31	álcool etílico	6020	316
Esterigmatocistina	C ₁₈ H ₁₄ O ₆	326.31	benz	15200	325

benz = benzeno

Anexo 1. Propriedades físico-químicas de algumas micotoxinas

Fungo : *Aspergillus ochraceus*

Metabólitos : Ochratoxina A (OTA) e Ochratoxina B (OTB)

Toxicidade: 20 mg/ kg

Efeito: destruição pulmonar

Ocorrência : Cevada, milho, rações animais

Estruturas moleculares :

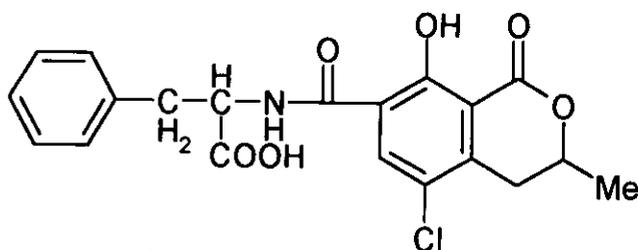


fig.7 OTA

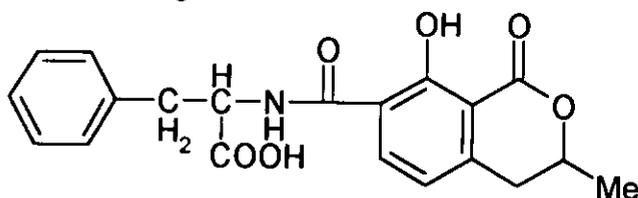


fig.8 OTB

Fungo : *Aspergillus clavatus* e *Penicilium urticae*

Metabólitos : Patulin

Toxicidade: 35 mg/kg

Efeito: hemorragia cerebral.

Ocorrência: Sumos e fruta em putrefação

Estrutura molecular :

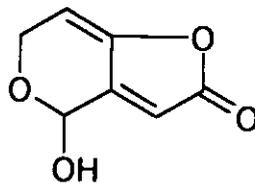


fig.9 Patulin

Anexo 1. Propriedades físico-químicas de algumas micotoxinas

Fungo : *Fusarium graminearum*

Metabólitos : Zearalenone

Toxicidade : 0.1 mg/ kg

Efeito : Estrogenismo, infertilidade, abortos, cegueira.

Ocorrência: rações animais, cereais

Estrutura molecular :

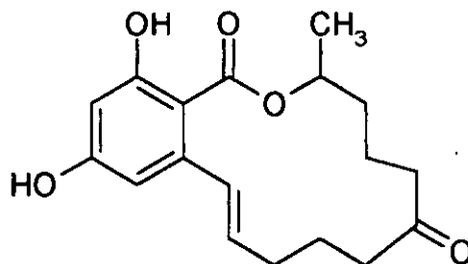


fig.10 Zearalenone

Fungo : *Aspergillus visicolor*

A. nidulans

Metabólitos : Esterigmatocistina

Toxicidade: 120 mg/kg

Efeito: câncer de fígado

Estruturas moleculares :

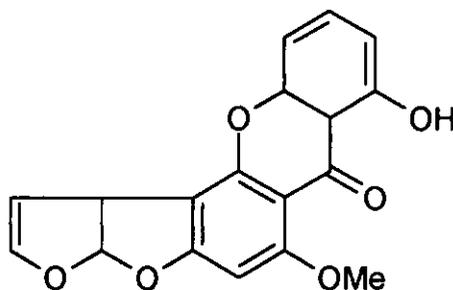


fig.11 Esterigmatocistina