

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
TIOSEMICARBAZIDAS, TIOSEMICARBAZONAS E
CLORIDRATOS MESOIÔNICOS DA CLASSE 1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-
AMINIDAS**

VOLUME I

CAMILLA MORETTO DOS REIS

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
TIOSSEMICARBAZIDAS, TIOSSEMICARBAZONAS E
CLORIDRATOS MESOIÔNICOS DA CLASSE 1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-
AMINIDAS

CAMILLA MORETTO DOS REIS

Sob orientação da Professora Dr^a

Aurea Echevarria Aznar Neves Lima

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Síntese Orgânica.

Seropédica, RJ

Agosto de 2012

547
R375s
T
Reis, Camilla Moretto dos, 1980-
Síntese e avaliação da atividade
biológica de tiossemicarbazidas,
tiossemicarbazonas e cloridratos
mesoiônicos da classe 1,3,4-
tiadiazólio-2-aminida / Camilla
Moretto dos Reis - 2012.
108 f. : il.

Orientador: Aurea Echevarria Aznar
Neves Lima.

Tese (doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso
de Pós-Graduação em Química.

Bibliografia: f. 89-95.

1. Química orgânica - Teses. 2.
Síntese orgânica - Teses. 3. Compostos
orgânicos - Teses. 4. Aldeídos -
Teses. I. Lima, Aurea Echevarria Aznar
Neves, 1950-. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Química. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

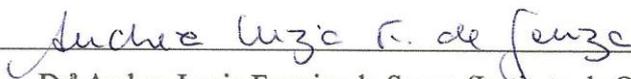
CAMILLA MORETTO DOS REIS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no curso de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Síntese Orgânica.

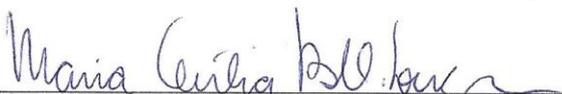
TESE APROVADA EM 03 / 08 / 2012



Dr^a Aurea Echevarria Aznar Neves Lima (Departamento de Química – UFRRJ) – Orientadora



Dr^a Andrea Luzia Ferreira de Souza (Instituto de Química – UFRJ)



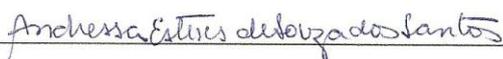
Dr^a Maria Cecília Bastos Vieira de Souza (Instituto de Química – UFF)



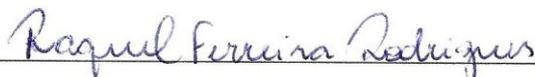
Dr. Cedric Stephan Graebin (Departamento de Química – UFRRJ)



Dr^a Catarina De Nigris Del Cistia (Departamento de Química – UFRRJ)



Dr^a Andressa Esteves de Souza dos Santos (Departamento de Química – UFRRJ)



Dr^a Raquel Ferreira Rodrigues (Departamento de Imunologia – FIOCRUZ)

Que darei eu ao SENHOR, por todos os benefícios que me tem feito?

Salmos 116:12

Dedico este trabalho ao meu Deus, que é poderoso para fazer infinitamente mais do que tudo que um dia pedi ou pensei.

Dedico também aos meus pais Sebastião e Aparecida e agradeço pela oportunidade, incentivo e apoio e, ao meu esposo Dyego pela compreensão, confiança e amor.

AGRADECIMENTOS

À Professora Aurea Echevarria, pela oportunidade, estímulo, compreensão, paciência, amizade e orientação que tornaram possível a realização deste trabalho.

Ao Professor Marco Edilson Freire de Lima pela disponibilização do seu laboratório e de seus reagentes para execução de parte deste trabalho.

Aos Professores e amigos Cláudio Eduardo e Andressa Esteves, pela ajuda, paciência e companhia nos almoços e lanches da tarde.

Aos amigos Danilo e Ana Paula pela ajuda, amizade sincera e pelas orações.

Aos amigos e companheiros de laboratório André, Carla, Jorge, Cristiane, Artur e Roberta pela amizade e companheirismo nos anos de trabalho.

A todos os professores pertencentes ao Curso de Pós-Graduação que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação acadêmica.

À coordenação do curso de Pós-Graduação e a todos os funcionários pelas inúmeras colaborações.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao CNPQ, pela oportunidade de crescimento profissional e de vida.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Rendimentos e pontos de fusão obtidos para as tiouréias <i>p</i> -X-fenil-substituídas....	54
Tabela 2: Rendimentos obtidos para os isotiocianatos <i>p</i> -fenil-substituídos.....	55
Tabela 3: Rendimentos obtidos nas diferentes metodologias para as tiossemicarbazidas sintetizadas.....	59
Tabela 4: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ¹ H das tiossemicarbazidas sintetizadas.....	62
Tabela 5: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³ C das tiossemicarbazidas sintetizadas.....	63
Tabela 6: Valores de CE ₅₀ (μM) obtidos nos ensaios para avaliação do potencial antioxidante das tiossemicarbazidas.....	65
Tabela 7: Rendimentos para tiossemicarbazonas sintetizadas nas diferentes metodologias...	69
Tabela 8: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ¹ H das tiossemicarbazonas sintetizadas.....	72
Tabela 9: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³ C das tiossemicarbazonas sintetizadas.....	74
Tabela 10: Valores de MIC (μg/mL) das tiossemicarbazonas ativas frente aos fungos <i>C. albicans</i> e <i>A. parasiticus</i>	75
Tabela 11: Rendimentos obtidos para os cloridratos mesoiônicos preparados por irradiação de micro-ondas.....	77
Tabela 12: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ¹ H das tiossemicarbazonas sintetizadas.....	79
Tabela 13: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³ C das tiossemicarbazonas sintetizadas.....	80
Tabela 14: Valores de IC ₅₀ (μM) para as células Daudi e K562.....	82
Tabela 15: Cargas parasitárias (parasitas/mg de tecido) em diferentes órgãos de ratos BALB/c infectados com as espécies de <i>Leishmania</i> após o tratamento com os compostos mesoiônicos testados.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Obtenção de tiossemicarbazida utilizando a reação de isotiocianatos com hidrazinas.....	2
Figura 2: Obtenção de tiossemicarbazida utilizando a redução de tiossemicarbazonas.....	2
Figura 3: Exemplo de síntese de tiossemicarbazida partindo de hidrazinas e derivado do ácido tiocarbônico.....	2
Figura 4: Reação de obtenção de tiossemicarbazida a partir de cianohidrazina e sulfeto de hidrogênio.....	3
Figura 5: Exemplo geral de reação para a obtenção de tiossemicarbazidas.....	3
Figura 6: Reação de obtenção de 1,2,4-triazol-3-tiona a partir da ciclização de tiossemicarbazidas.....	4
Figura 7: Reação para obtenção de derivados da classe 4-tioazolidinonas a partir de tiossemicarbazidas.....	4
Figura 8: Reação para obtenção de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio a partir de tiossemicarbazidas.....	4
Figura 9: Síntese de mesoiônicos utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida.....	5
Figura 10: Reação de obtenção de tiossemicarbazonas derivadas da 1-indanona.....	5
Figura 11: Arranjos estruturais das tiossemicarbazonas.....	7
Figura 12: Formas tautoméricas das tiossemicarbazonas.....	7
Figura 13: Comprimentos de ligação entre os átomos da estrutura geral da tiossemicarbazona.....	8
Figura 14: Reação geral de obtenção de tiossemicarbazonas com catálise ácida.....	8
Figura 15: Síntese de tiossemicarbazonas derivadas do benzaldeído, cinamaldeído substituído e de aldeídos heterocíclicos.....	8
Figura 16: Obtenção de tiossemicarbazonas pelo método dos multicomponentes.....	9
Figura 17: Obtenção de tiossemicarbazonas via irradiação de micro-ondas.....	9
Figura 18: Obtenção de tiossemicarbazonas pelo método dos multicomponentes via irradiação de micro-ondas.....	9
Figura 19: Reação de cicloadição 1,3-dipolar do 2,4-difenil-3-metil-1,3-oxadiazólio-5-olato com propiolato de metila.....	14
Figura 20: Reação de abertura de anel da deidroditizona.....	14
Figura 21: Síntese de mesoiônicos utilizando <i>N</i> -tioacilidrazinas e dicloretos de isocianetos de arila.....	16
Figura 22: Síntese de mesoiônicos utilizando cloretos de ácido e tiossemicarbazidas substituídas.....	16
Figura 23: Síntese de mesoiônicos utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida.....	17
Figura 24: Síntese de mesoiônicos utilizando <i>N</i> -alquil- <i>N</i> -tioacetilidrazinas com isotiocianatos substituídos com grupos alquila ou benzila.....	17
Figura 25: Síntese de mesoiônicos utilizando dibromodiazobutadienos substituídos e <i>N</i> -tiobenzoilidrazinas, também substituídas.....	17
Figura 26: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de micro-ondas.....	21
Figura 27: <i>N</i> -alquilação de tiossemicarbazonas via irradiação de micro-ondas assistida por solvente orgânico.....	21
Figura 28: Reação de substituição nucleofílica aromática via irradiação de micro-ondas.....	22

Figura 29: Condensação de Knoevenagel com irradiação de micro-ondas na ausência de solvente.....	22
Figura 30: Reação de preparação de derivados da classe pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridina-6-onas por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente.....	23
Figura 31: Reação de preparação de tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente.....	23
Figura 32: Reação de preparação de 4-aril-3,4-di-hidrocomarinas via irradiação de micro-ondas catalisada por triflato de ítrio.....	23
Figura 33: Reação de preparação de pirazóis via irradiação de micro-ondas na presença de um catalisador inorgânico.....	24
Figura 34: Polarização da molécula da água com o campo magnético.....	25
Figura 35: Retrossíntese para a obtenção das tiossemicarbazidas e cloridratos mesoiônicos.....	53
Figura 36: Retrossíntese para a obtenção das tiossemicarbazonas.....	53
Figura 37: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção das tiouréias <i>p</i> -X-fenil-substituídas.....	54
Figura 38: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos isotiocianatos <i>p</i> -X-fenil-substituídos.....	56
Figura 39: Esquema de síntese para as tiossemicarbazidas <i>N</i> ₁ , <i>N</i> ₄ -dissubstituídas.....	56
Figura 40: Estrutura das tiossemicarbazidas <i>N</i> ₄ -substituídas sintetizadas.....	56
Figura 41: Esquema de síntese para as tiossemicarbazidas <i>N</i> ₄ -substituídas.....	57
Figura 42: Estrutura das tiossemicarbazidas <i>N</i> ₁ , <i>N</i> ₄ -substituídas sintetizadas.....	57
Figura 43: Mecanismo proposto para a obtenção das tiossemicarbazidas.....	60
Figura 44: Gráfico do percentual antioxidante <i>versus</i> concentração (μM) para as tiossemicarbazidas <i>N</i> ₄ -substituídas.....	64
Figura 45: Gráfico do percentual antioxidante <i>versus</i> concentração (μM) para as tiossemicarbazidas <i>N</i> ₁ , <i>N</i> ₄ -dissubstituídas.....	64
Figura 46: Esquema de síntese para as tiossemicarbazonas.....	65
Figura 47: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do cinamaldeído.....	66
Figura 48: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído.....	66
Figura 49: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do 2,6-dimetoxipiridina-3-carboxaldeído.....	67
Figura 50: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do quinolina-4-carboxaldeído.....	67
Figura 51: Mecanismo proposto para obtenção das tiossemicarbazonas.....	70
Figura 52: Esquema de síntese dos cloridratos mesoiônicos.....	75
Figura 53: Estrutura dos cloretos mesoiônicos sintetizados.....	76
Figura 54: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando SOCl ₂ como ácido de Lewis.....	77
Figura 55: Estruturas químicas dos compostos mesoiônicos testados.....	81
Figura 56: Efeito do composto mesoiônico 108 sobre as células Daudi nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.....	81
Figura 57: Efeito do composto mesoiônico 108 sobre a linhagem K562 nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.....	82
Figura 58: Valores médios de porcentagem de células hipodiplóides nas linhagens das células Daudi (A) e K562 (B) na cultura de 24 horas na presença do mesoiônicos 108	83

Figura 59: Efeito dos compostos mesoiônicos sobre a linhagem Jurkat na cultura de 72 horas onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.....	83
Figura 60: Efeito dos compostos mesoiônicos sobre a linhagem Jurkat na cultura de 72 horas onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.....	84
Figura 61: Inibição da enzima TryR em extrato solúvel de <i>L. amazonensis</i> na forma promastigota por derivados mesoiônicos testados na concentração de 1µM.....	86
Figura 62: Inibição da enzima TryR em extrato solúvel de <i>L. infantum</i> e <i>L. braziliensis</i> , na forma promastigota, e de <i>T. cruzi</i> na forma epimastigota por derivados mesoiônicos testados na concentração de 1µM.....	86

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

Å	Angstrom
CE ₅₀	Concentração efetiva necessária para reduzir 50% do radical livre DPPH
céls/mL	Células por mililitro
d	duplete
dd	duplo duplete
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
D.O	Densidade ptica
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EDTA	cido Etilenodiamino tetra-acético
GHz	Gigahertz
IC ₅₀	Concentração inibitória de 50% das células viáveis
HEPES	cido 4-(2-hidroxitil)-1-piperazinaetanossulfnico
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
m	Multiplete
MeOD	Metanol deuterado
MHz	Megahertz
MIC	Concentração mínima inibitória
MTT	Brometo de 3,4,5-dimetiazol-2,5difeniltetrazol
MO	Micro-ondas
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotdio fosfato
PF	Ponto de fusão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrognio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s	Simpleto
t	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
UFC mL ⁻¹	Unidades Formadoras de Colnias por mililitro
v/v	Porcentagem volume por volume (Unidade de Concentração)
δ	Deslocamento químico
v	Estiramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Tiossemicarbazidas.....	1
1.1.1 Métodos de síntese das tiossemicarbazidas.....	2
1.1.2 Tiossemicarbazidas como intermediários sintéticos.....	3
1.1.3 Atividade biológica das tiossemicarbazidas.....	5
1.2 Tiossemicarbazonas.....	6
1.2.1 Síntese das Tiossemicarbazonas.....	8
1.2.2 Atividade biológica das tiossemicarbazonas.....	9
1.3 Compostos Meso-iônicos.....	12
1.3.1 A classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminada.....	14
1.3.2 Síntese de meso-iônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminada.....	15
1.3.3 Atividade biológica dos compostos meso-iônicos.....	17
1.4 Novas Metodologias para a Síntese Orgânica.....	19
1.4.1 Uso das micro-ondas em síntese orgânica.....	21
1.4.2 Ação das micro-ondas.....	25
2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS.....	27
2.1 Objetivos específicos.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Material.....	29
3.1.1 Equipamentos.....	29
3.1.2 Reagentes e solventes.....	29
3.2 Metodologias Sintéticas.....	30
3.2.1 Procedimento geral para a síntese das tiouréias <i>p</i> -fenil-substituídas.....	30
3.2.1.1 Caracterização espectroscópica das tiouréias <i>p</i> -fenil-substituídas.....	30
3.2.2 Procedimento geral para a síntese dos isotiocianatos <i>p</i> -fenil-substituídos.....	31
3.2.3 Procedimento geral para a síntese das tiossemicarbazidas.....	32
Metodologia A: Agitação a temperatura ambiente.....	32
Metodologia B: Irradiação de micro-ondas.....	32
Metodologia C: Reação sólido-sólido.....	32
3.2.3.1 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazidas.....	33
3.2.4 Procedimento Geral para a Síntese das Tiossemicarbazonas.....	36
Metodologia A: Refluxo.....	36
Metodologia B: Irradiação de micro-ondas com solvente.....	37
Metodologia C: Irradiação de micro-ondas sem solvente.....	37
3.2.4.1 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazonas.....	38
3.2.5 Procedimento Geral para a Síntese dos Cloridratos Meso-iônicos por Micro-ondas.....	46
3.2.5.1 Caracterização espectroscópica dos cloridratos meso-iônicos.....	47
3.3 Ensaio Biológicos.....	50
3.3.1 Atividade antioxidante.....	50
3.3.1.1 Método do DPPH.....	50
3.3.2 Atividade antifúngica.....	50
3.3.3 Viabilidade celular.....	51
3.3.3.1 Frente às linhagens K562 e Daudi.....	51
3.3.3.2 Frente à linhagem Jurkat.....	51
3.3.4 Atividade anti- <i>Leishmania</i>	52
3.3.4.1 Tratamento via subcutânea.....	52
3.3.4.2 Tratamento tópico.....	52

3.3.4.3 Tratamento via intraperitoneal.....	52
3.3.4.4 Inibição da enzima tripanotona redutase (TryR).....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1 Preparação das Tiossemicarbazidas.....	53
4.1.1 Síntese das tiouréias <i>p</i> -X-fenil-substituídas.....	54
4.1.1.1 Caracterização espectroscópica das tiouréias.....	55
4.1.2 Síntese dos isotiocianatos <i>p</i> -X-fenil-substituídos.....	55
4.1.3 Síntese das tiossemicarbazidas.....	56
4.1.3.1 Síntese das tiossemicarbazidas utilizando agitação a temperatura ambiente (metodologia 1).....	57
4.1.3.2 Preparação das tiossemicarbazidas por irradiação de micro-ondas (metodologia 2).....	58
4.1.3.3 Preparação das tiossemicarbazidas em ausência de solvente (metodologia 3).....	58
4.1.4 Proposta do mecanismo de reação para a obtenção das tiossemicarbazidas.....	59
4.1.5 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazidas.....	60
4.1.5.1 Infravermelho.....	60
4.1.5.2 Ressonância magnética nuclear de ¹ H.....	61
4.1.5.3 Ressonância magnética nuclear de ¹³ C.....	62
4.1.6 Atividade antioxidante.....	63
4.2 Síntese das tiossemicarbazonas.....	65
4.2.1 Preparação das tiossemicarbazonas pela metodologia tradicional (metodologia 1).....	67
4.2.2 Preparação das tiossemicarbazonas por irradiação de micro-ondas com uso de solvente (metodologia 2).....	68
4.2.3 Preparação das tiossemicarbazonas por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente (metodologia 3).....	68
4.2.4 Proposta do mecanismo para a preparação das tiossemicarbazonas.....	69
4.2.5 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazonas.....	70
4.2.5.1 Infravermelho.....	70
4.2.5.2 Ressonância magnética nuclear de ¹ H.....	71
4.2.5.3 Ressonância magnética nuclear de ¹³ C.....	72
4.2.6 Atividade antifúngica.....	74
4.3 Preparação dos Cloridratos Meso-iônicos por Irradiação de Micro-ondas.....	75
4.3.1 Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclicização.....	77
4.3.2 Caracterização Espectroscópica dos Cloridratos Meso-iônicos.....	78
4.3.2.1 Infravermelho.....	78
4.3.2.2 Ressonância magnética nuclear de ¹ H.....	78
4.3.2.3 Ressonância magnética nuclear de ¹³ C.....	79
4.3.3 Avaliação da atividade biológica.....	80
4.3.3.1 Ação citotóxica frente à linhagem Daudi.....	81
4.3.3.2 Comparação do efeito do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (108) sobre as células K562 e Daudi.....	82
4.3.3.3 Análise do ciclo celular.....	82
4.3.3.4 Ação citotóxica dos cloridratos meso-iônicos na linhagem Jurkat.....	83
4.3.3.5 Avaliação da atividade anti- <i>Leishmania</i> frente a <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>	84
4.3.3.6 Inibição da enzima tripanotona redutase (TryR) nos extratos solúveis de <i>L. amazonensis</i> , <i>L. infantum</i> , <i>L. braziliensis</i> e <i>T. cruzi</i>	85
5 CONCLUSÕES.....	87
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89

RESUMO

REIS, Camilla Moretto. **Síntese e avaliação da atividade biológica de tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas e cloridratos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas**. 2012. 110p Tese (Doutor em Ciências, Química Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Nos dias atuais as demandas por processos sintéticos mais limpos e eficientes têm sido consideradas muito relevantes, devido especialmente aos aspectos ambientais. Assim, este trabalho de tese relata a síntese de uma série de 20 tiossemicarbazidas, sendo nove da classe das N_4 -substituídas, obtidas a partir da reação de diferentes isotiocianatos com hidrazina hidrato e onze da classe das N_1, N_4 -dissubstituídas obtidas a partir da reação de diferentes isotiocianatos com fenil hidrazina. Utilizou-se a metodologia tradicional por agitação a temperatura ambiente, a irradiação de micro-ondas e a maceração sólido-sólido para a preparação desses compostos, sendo esta última metodologia a que apresentou os melhores rendimentos para os compostos sintetizados em apenas 2 minutos de reação. A atividade antioxidante das tiossemicarbazidas foi avaliada experimentalmente pelo método do DPPH, indicando atividade significativa para a maioria dos derivados testados.

As tiossemicarbazidas N_4 -substituídas foram os precursores sintéticos de 36 derivados da classe das tiossemicarbazonas, que também foram obtidas por três metodologias diferentes a partir da reação de diferentes aldeídos aromáticos com as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas. Utilizou-se a metodologia tradicional por refluxo, a irradiação de micro-ondas na presença de solvente orgânico e a irradiação de micro-ondas na ausência de solvente, esta última metodologia foi a que permitiu a obtenção dos produtos com melhores rendimentos em apenas 3 minutos de reação. Todos os 36 derivados das tiossemicarbazonas foram testados frente aos fungos *Aspergillus parasiticus* e *Candida albicans*, apresentando moderada atividade para alguns dos derivados ensaiados.

As tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas foram os precursores sintéticos dos cloridratos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. Onze derivados mesoiônicos foram obtidos via irradiação de micro-ondas, a partir das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas com diferentes aldeídos aromáticos. Foram avaliadas, também, as atividades citotóxicas de alguns dos mesoiônicos sintetizados nas linhagens leucêmicas humanas K562 e Jurkat, assim como na linhagem de linfoma Daudi, obtendo-se resultados bastante promissores e satisfatórios para alguns dos compostos ensaiados. Além disso, os compostos mesoiônicos foram ensaiados quanto à atividade *in vivo* frente a *L. amazonensis* e *L. infantum* e também frente à enzima tripanotiona redutase de *L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *T. cruzi* mostrando atividade significativa indicando a potencial utilização desses compostos como agentes anti-parasitários.

Palavras-chave: Tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas, 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, reação sólido-sólido e micro-ondas.

ABSTRACT

REIS, Camilla Moretto. **Synthesis and evaluation of biological activity of tiossemicarbazidas, thiosemicarbazones and mesoionic hydrochlorides of 1,3,4-class tiadiazólio-2-aminidas.** 2012. 110p Thesis (Doctor of Science, Organic Chemistry). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

Nowadays the demand for cleaner and more efficient synthetic processes have been deemed very important, especially due to environmental aspects. Thus, this thesis describes the synthesis of a series of 20 tiossemicarbazidas, nine class of N_4 -substituted obtained from the reaction of isothiocyanates with different hydrazine hydrate and eleven Class of N_1, N_4 -disubstituted obtained from the reaction of isothiocyanates with different phenyl hydrazine. We used the traditional method by stirring at room temperature, the microwave irradiation and solid-solid maceration for preparing such compounds, the latter methodology to that presented the best performances for the compounds synthesized in only two minutes of reaction. The antioxidant activity of tiossemicarbazidas was evaluated experimentally by the method of DPPH, indicating significant activity for most of the derivatives tested.

The tiossemicarbazidas N_4 -substituted synthetic precursors were derived from the class of 36 thiosemicarbazones, which have also been obtained by three different methodologies from the reaction of different aromatic aldehydes with tiossemicarbazidas N_4 -substituted. The methodology used by traditional reflux, the microwave irradiation in the presence of organic solvent and microwave irradiation in the absence of solvent, the latter method was allowed to obtain products with better results with only 3 minutes of reaction. All 36 of thiosemicarbazones derivatives were tested against the fungi *Candida albicans* and *Aspergillus parasiticus*, with moderate activity for some of the derivatives tested.

The tiossemicarbazidas N_1, N_4 -disubstituted are synthetic precursors of the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide hydrochlorides mesoionic class. Eleven mesoionic derivatives were obtained by microwave irradiation, from tiossemicarbazidas N_1, N_4 -disubstituted with different aromatic aldehydes. We also evaluated the cytotoxic activities from some of the synthesized mesoionic lines K562 human leukemia and Jurkat, as well as in the line of Daudi lymphoma, obtaining satisfactory and very promising results for some of the compounds tested. Furthermore, the compounds mesoionic were tested for in vivo activity against *L. amazonensis* and *L. infantum* and also opposite the trypanothione reductase enzyme *L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. braziliensis* and *T. cruzi* showing significant activity indicating the potential use of these compounds as anti-parasitic agents.

Keywords: Tiossemicarbazidas, thiosemicarbazones, 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, solid-solid reaction and microwave.

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço do uso de novas tecnologias na Química, especialmente em Química Orgânica, torna-se necessário abordar formas de transferência de energia inovadoras, mais eficientes e que agridam menos o meio ambiente. Sendo assim, metodologias que utilizam energia de micro-ondas têm sido muito usadas para efetuar transformações químicas com grande sucesso por minimizarem o tempo de aquecimento e ocorrerem em solventes menos agressivos ao meio ambiente ou em sua ausência (REIS, 2008).

Têm sido reportadas na literatura diversas reações orgânicas conduzidas com sucesso em forno de micro-ondas, entre elas, a preparação de compostos heteropolares como as tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas (KANG *et al.*, 2011), assim como uma variedade de compostos heterocíclicos (RODRIGUES-SANTOS & ECHEVARRIA, 2011; KUMAR *et al.*, 2011).

As tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas são classes que têm despertado grande interesse na comunidade científica, por apresentarem variadas atividades, além de serem usadas como intermediários sintéticos para a preparação de compostos heterocíclicos. As tiossemicarbazonas estudadas neste trabalho de tese foram preparadas por uma rota sintética que tem como intermediários as tiossemicarbazidas.

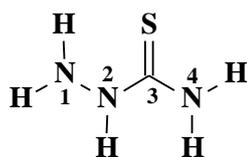
Dentre os heterocíclcos obtidos a partir das tiossemicarbazidas, podemos citar os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas. Essa classe de compostos apresentam variadas aplicações e já tem sido estudada por nosso grupo de pesquisa há vários anos.

Neste trabalho de tese apresenta-se, também, o estudo de diferentes metodologias para a preparação de tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas, buscando adequar a síntese desses compostos aos conceitos da Química Verde, assim como a obtenção de cloridratos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas via irradiação de micro-ondas. A avaliação biológica desses compostos também foi alvo deste estudo.

1.1 Tiossemicarbazidas

As tiossemicarbazidas constituem uma classe de compostos orgânicos que tem sido muito estudada por apresentar diversas atividades biológicas, tais como antitumoral (YOUSEF *et al.*, 2011), anticonvulsivante (KULANDASAMY *et al.*, 2010), anti-inflamatória (RAMAN *et al.*, 1993), antibacteriana (SIWEK *et al.*, 2010), entre outras. Outra promissora aplicação destes compostos está relacionada à sua capacidade de inibição da corrosão (EBENSO *et al.*, 2010).

O esqueleto básico das tiossemicarbazidas é formado por carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, onde os átomos de hidrogênio podem ser substituídos por grupos alquila ou arila (**1**).



1

As variadas possibilidades de substituição nos nitrogênios fornecem dezessete classes diferentes de tiossemicarbazidas, sendo três classes mono-substituídas, cinco di-substituídas,

cinco tri-substituídas, três tetra-substituídas e uma penta-substituída (KATRITZKY *et al.*, 2006).

1.1.1 Métodos de síntese das tiossemicarbazidas

As tiossemicarbazidas podem ser obtidas por diferentes rotas sintéticas, no entanto, a metodologia mais usada para a preparação desses compostos é através da reação de isotiocianatos com hidrazinas, como o exemplo mostrado na figura 1 (TROTSKO *et al.*, 2012).

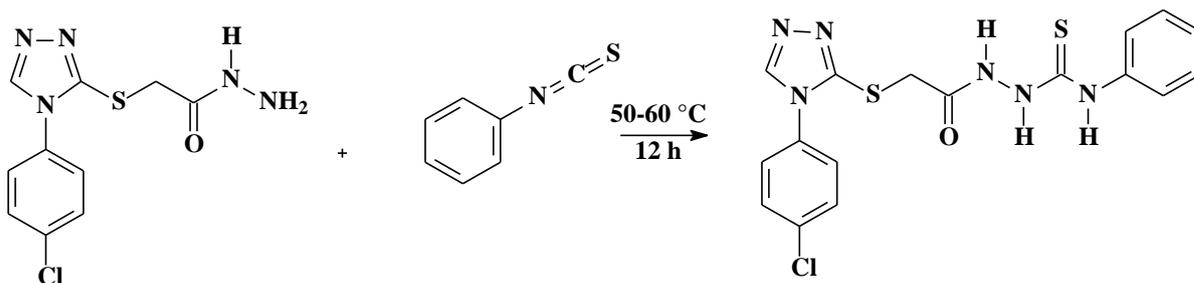


Figura 1: Obtenção de tiossemicarbazida utilizando a reação de isotiocianatos com hidrazinas (TROTSKO *et al.*, 2012).

Yamoto e colaboradores demonstraram a preparação de tiossemicarbazidas a partir da redução de tiossemicarbazonas utilizando boroidreto de sódio (NaBH_4). Esta rota sintética possibilita a obtenção de derivados mono, di e tri-substituídos (YAMAMOTO *et al.*, 1983). A figura 2 mostra um exemplo para a rota citada.

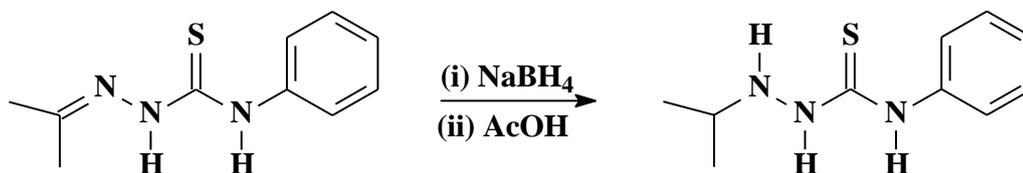


Figura 2: Obtenção de tiossemicarbazida utilizando a redução de tiossemicarbazonas (YAMAMOTO *et al.*, 1983).

Tiossemicarbazidas também podem ser preparadas a partir da reação de hidrazinas com derivados do ácido tiocarbônico (JENSEN *et al.*, 1968), como mostrado na figura 3.

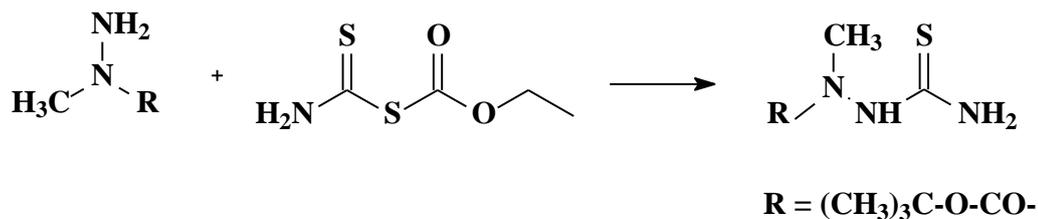


Figura 3: Exemplo de síntese de tiossemicarbazida partindo de hidrazinas e derivado do ácido tiocarbônico (JENSEN *et al.*, 1968).

A reação de cianohidrazinas com sulfeto de hidrogênio é uma metodologia que permite a obtenção de tiossemicarbazidas mono, di e até tri-substituídas (KATRITZKY *et al.*, 2006), como mostrado na figura 4.

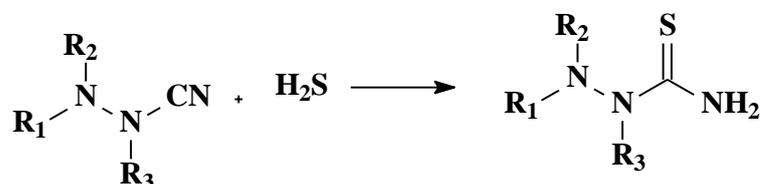


Figura 4: Reação de obtenção de tiossemicarbazida a partir de cianohidrazina e sulfeto de hidrogênio (KATRITZKY *et al.*, 2006).

Outra metodologia descrita na literatura para a preparação de tiossemicarbazidas di e tri-substituídas é a reação de compostos que contém a função C=S e aminas e, em seguida, com hidrazinas para obter tiossemicarbazidas di e trissubstituídas (KATRITZKY *et al.*, 2006). A figura 5 mostra um exemplo geral de reação para o método citado.

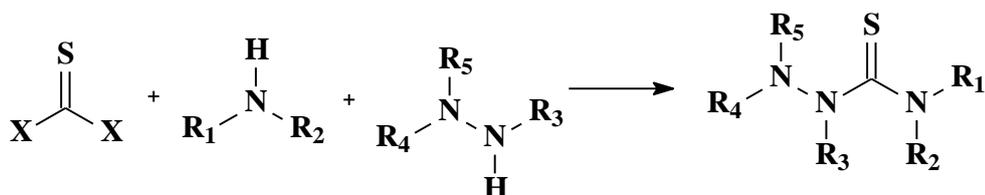


Figura 5: Exemplo geral de reação para a obtenção de tiossemicarbazidas (KATRITZKY *et al.*, 2006).

1.1.2 Tiossemicarbazidas como intermediários sintéticos

As tiossemicarbazidas são compostos versáteis, que têm sido extensivamente utilizados na síntese de diferentes sistemas de anéis heterocíclicos e também de compostos alifáticos heteropolares. Cada vez mais tem sido relatado na literatura procedimento simples e eficientes para a preparação de derivados de tiossemicarbazidas (HASSAN *et al.*, 2012).

Plech e colaboradores relataram, recentemente, a síntese de uma série de compostos heterocíclicos da classe dos 1,2,4-triazóis obtidos a partir da ciclização, em meio básico, de tiossemicarbazidas derivadas da 3-clorofenil-carbonil hidrazina. A figura 6 mostra a reação de ciclização para a obtenção dos triazóis (PLECH *et al.*, 2011).

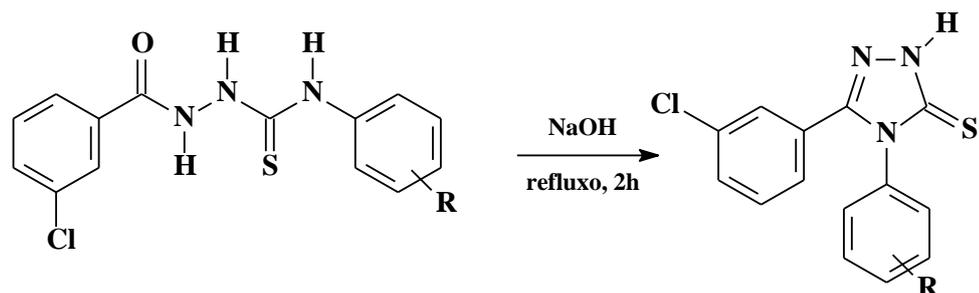


Figura 6: Reação de obtenção de 1,2,4-triazol-3-tiona a partir da ciclização de tiossemicarbazidas (PLECH *et al.*, 2011).

Liesen e colaboradores relataram a síntese de duas diferentes classes de compostos heterocíclicos a partir de reações com tiossemicarbazidas (LIESEN *et al.*, 2010). Derivados da classe 4-tiazolidinonas foram preparados a partir da reação da respectiva tiossemicarbazida com anidrido maleico (Figura 7) e derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio foram obtidos a partir da ciclização em meio ácido das respectivas tiossemicarbazidas (Figura 8).

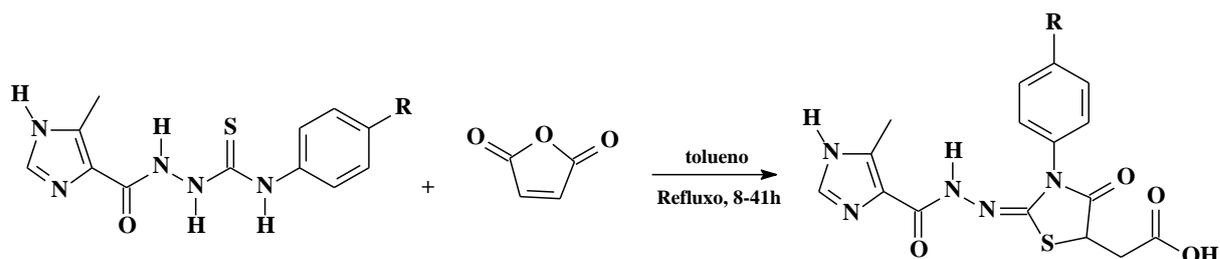


Figura 7: Reação para obtenção de derivados da classe 4-tiozolidinonas a partir de tiossemicarbazidas (LIESEN *et al.*, 2010).

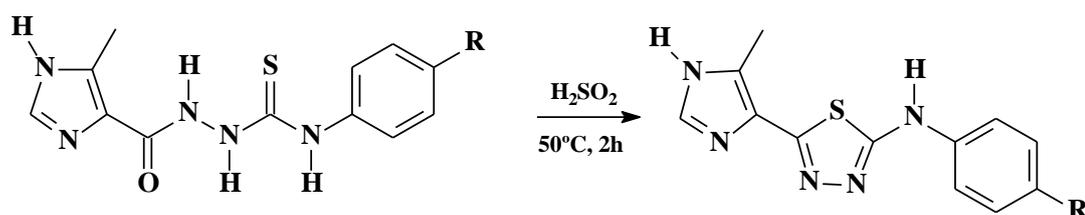


Figura 8: Reação para obtenção de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio a partir de tiossemicarbazidas (LIESEN *et al.*, 2010).

Compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida também podem ser obtidos a partir da reação de uma tiossemicarbazida N_1, N_4 -di-substituída com aldeídos na presença de um ácido de Lewis, conforme figura 9 (FERREIRA *et al.*, 2008).

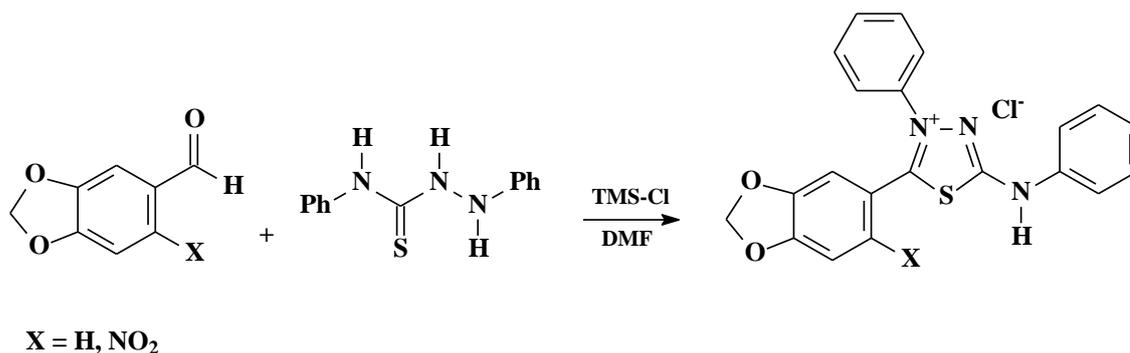


Figura 9: Síntese de mesoiônicos utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida (FERREIRA *et al.*, 2008).

Recentemente, Capputo e colaboradores relataram a síntese de uma série de tiossemicarbazonas derivadas da 1-indanona (CAPPUTO *et al.*, 2011), conforme figura 10.

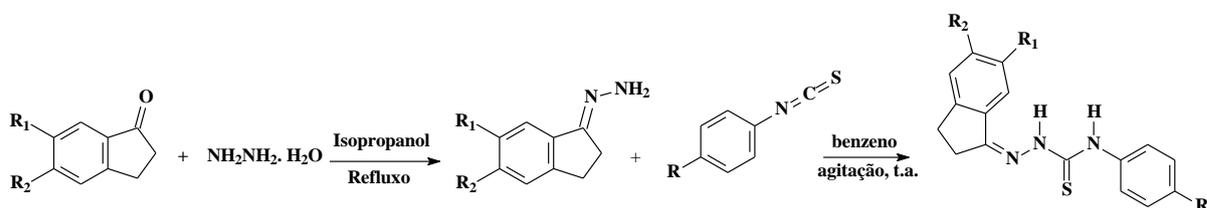
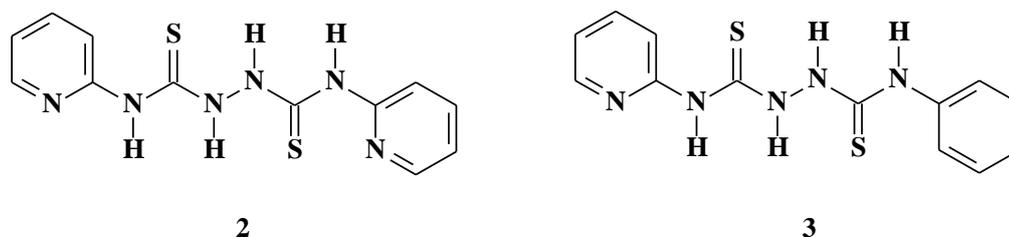


Figura 10: Reação de obtenção de tiossemicarbazonas derivadas da 1-indanona (CAPPUTO *et al.*, 2011).

1.1.3 Atividade biológica das tiossemicarbazidas

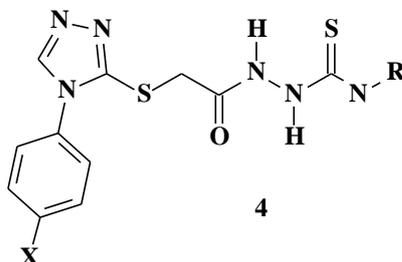
O mecanismo de ação das tiossemicarbazidas para algumas atividades biológicas tem sido atribuído à capacidade de inibição da biossíntese de DNA, possivelmente, através do bloqueio da enzima ribonucleotídeo difosfato redutase, ligando-se às bases nitrogenadas do DNA, impedindo a replicação dessas bases, gerando lesões de ruptura oxidativa nas cadeias de DNA (YOUSEF *et al.*, 2011).

Yousef e colaboradores relataram recentemente a ação antitumoral de uma série de tiossemicarbazidas testadas *in vitro* e *in vivo* frente ao carcinoma de Erlich. Os resultados mostraram que os derivados (2) e (3) promoveram um aumento significativo na sobrevivência dos animais testados (YOUSEF *et al.*, 2011).

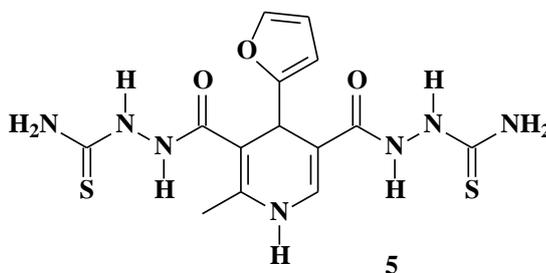


Trotsko e colaboradores relataram, recentemente, a avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de uma série de tiossemicarbazidas (4) contra bactérias das espécies

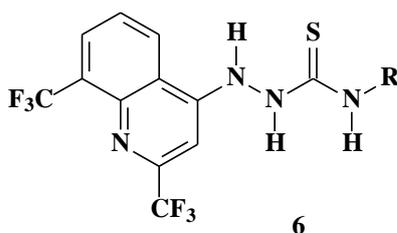
Staphylococcus aureus, *Staphylococcus epidermidis* e *Micrococcus luteus*. Os resultados mostraram uma concentração mínima inibitória (MIC) desses compostos na faixa de 125 - 250µg/mL para a espécie *Micrococcus luteus*, e 250 µg/mL para a espécie *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (TROTSKO *et al.*, 2011).



A atividade anticoagulante das tiossemicarbazidas também foi relatada recentemente. Em 2011, Kumar e colaboradores publicaram resultados promissores de ação anticoagulante de uma série de tiossemicarbazidas, sendo o derivado (5) o mais ativo (KUMAR *et al.*, 2011).



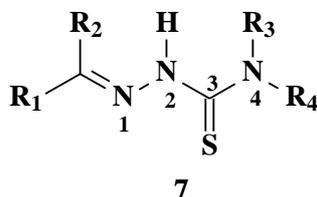
Em 2010, Eswaran e colaboradores relataram significativa atividade antituberculose de tiossemicarbazidas derivadas da quinolina (6) (ESWARAN *et al.*, 2010).



1.2 Tiossemicarbazonas

As tiossemicarbazonas são compostos de considerável interesse científico, devido as suas importantes propriedades químicas e biológicas, tais como antitumoral, antibacteriana, antiviral, antiprotozoária, citotóxica, dentre outras (TENÓRIO *et al.*, 2005). Suas propriedades têm sido extensivamente estudadas na Química Medicinal em razão de suas atividades biológicas e do provável mecanismo de ação que envolve a capacidade quelante dessas substâncias. As tiossemicarbazonas podem formar complexos metálicos, e em alguns casos é possível modular a atividade através do desenho do ligante ou através da escolha do metal (BERALDO, 2004).

O esqueleto básico das tiossemicarbazonas, assim como os das tiossemicarbazidas, é formado por carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, onde os átomos de hidrogênio também poderão ser substituídos por grupos alquila ou arila (7).



Casas e colaboradores mostraram que tiossemicarbazonas não substituídas no N-4 apresentam a estrutura básica, C=N—NH—CS—NH₂, aproximadamente planar, com o átomo de enxofre em posição *anti* ao nitrogênio do grupo azometino (C=N). Fatores eletrônicos e estéricos contribuem para este arranjo. Entretanto, possivelmente o fator mais importante é que o átomo de enxofre, em posição *anti*, possibilita a ocorrência de ligação de hidrogênio intramolecular entre o nitrogênio do grupo azometino e os hidrogênios da tioamida, como mostra a estrutura (I) na figura 11 (CASAS *et al.*, 2000).

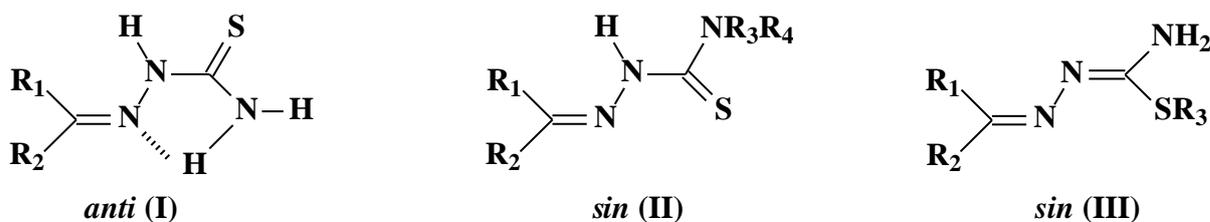


Figura 11: Arranjos estruturais das tiossemicarbazonas.

Este arranjo muda significativamente se forem adicionados grupos substituintes na posição N-4, favorecendo a conformação *sin* entre o átomo de nitrogênio do grupo azometino e o átomo de enxofre (Figura 11, II). Tiossemicarbazonas substituídas com grupos alquila no átomo de enxofre, adotam a conformação *sin* (Figura 11, III) (CHATTOPADHYAY *et al.*, 1989).

Tiossemicarbazonas são sistemas com extensa deslocalização eletrônica, principalmente quando há grupos aromáticos ligados ao carbono do grupo azometino (PALENIK *et al.*, 1974). Devido a esta grande deslocalização eletrônica, compostos desta classe podem coexistir nas formas tiona ou tiol, em equilíbrio tautomérico (TENÓRIO *et al.*, 2005), como mostra a Figura 12.

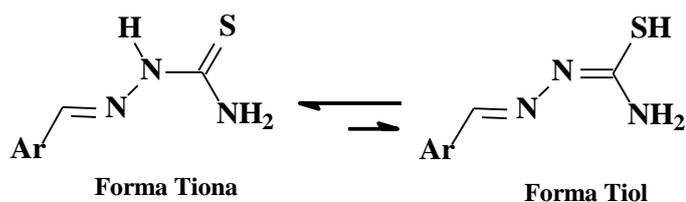


Figura 12: Formas tautoméricas das tiossemicarbazonas (TENÓRIO *et al.*, 2005).

Outro aspecto estrutural que afeta a deslocalização eletrônica é o comprimento de ligação. O fragmento N-C-N apresenta um comprimento de ligação muito próximo ao observado para as duplas ligações (C=C, 1,201–1,246 Å) (ALLEN *et al.*, 1983), enquanto que na ligação C-S (1,685 Å) ocorre exatamente o inverso, indicando que o átomo de enxofre permite um maior envolvimento das duas ligações C-N na deslocalização dos elétrons π (CASAS *et al.*, 2000). A Figura 13 mostra os comprimentos de ligação das tiossemicarbazonas.

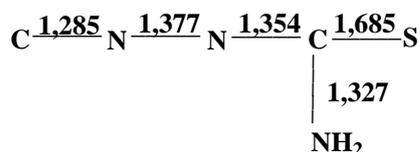


Figura 13. Comprimentos de ligação entre os átomos da estrutura geral da tiossemicarbazona (CASAS *et al.*, 2000).

1.2.1 Síntese das Tiossemicarbazonas

As tiossemicarbazonas são geralmente obtidas pela reação de condensação quimiosseletiva de tiossemicarbazidas com aldeídos ou cetonas (Figura 14). Do ponto de vista sintético, apresentam como característica principal sua versatilidade de obtenção, assim como sua vasta aplicação como intermediários de muitos processos de síntese, em especial de compostos heterocíclicos. Em geral, estas moléculas apresentam baixo custo de síntese, além de grande economia de átomos, uma vez que, com exceção da água que é liberada na sua obtenção, todos os outros átomos dos compostos reagentes estarão presentes na molécula final (DU *et al.*, 2002).

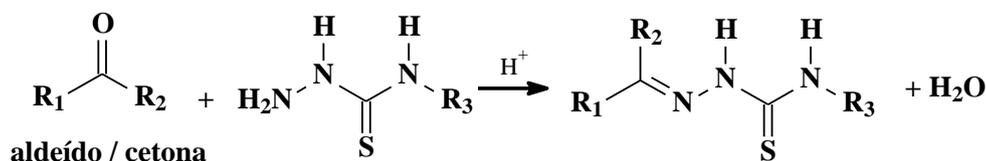


Figura 14: Reação geral de obtenção de tiossemicarbazonas com catálise ácida.

Recentemente, Soares e colaboradores relataram a síntese com catálise ácida de uma série de tiossemicarbazonas preparadas a partir da reação da tiossemicarbazida com aldeídos derivados do benzaldeído e do cinamaldeído (Figura 15) (SOARES *et al.*, 2011).

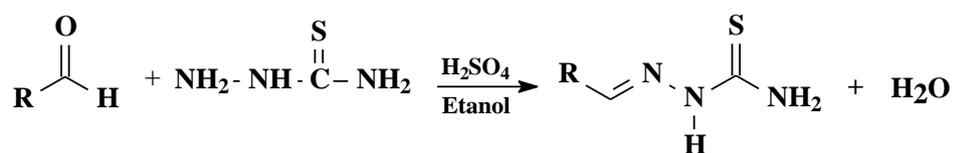


Figura 15: Síntese de tiossemicarbazonas derivadas do benzaldeído, cinamaldeído substituído e de aldeídos heterocíclicos (SOARES *et al.*, 2011).

Em 2009, Cunha e Silva mostraram a obtenção de várias tiossemicarbazonas pela reação multicomponente (Figura 16). Neste método a tiossemicarbazida, gerada *in situ*, reage com o composto carbonílico já presente no meio reacional para formar a tiossemicarbazona correspondente (CUNHA & SILVA, 2009).

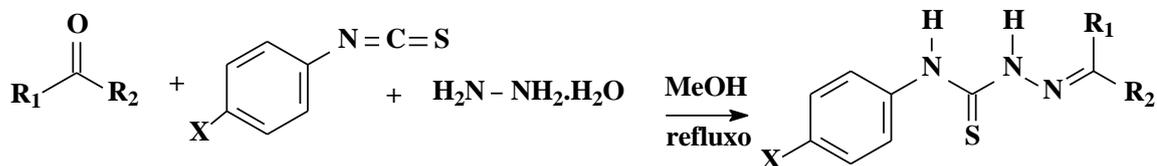


Figura 16: Obtenção de tiossemicarbazonas pelo método dos multicomponentes (CUNHA & SILVA, 2009).

A preparação das tiossemicarbazonas via irradiação de micro-ondas também tem sido relatada na literatura. Siriam e colaboradores apresentaram a síntese de uma série de tiossemicarbazidas derivadas do 4-nitro-furfural preparadas por irradiação de micro-ondas (Figura 17) (SIRIAM *et al.*, 2009).

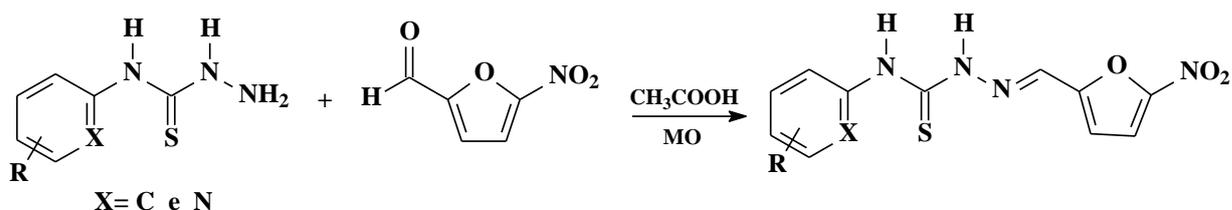


Figura 17: Obtenção de tiossemicarbazonas via irradiação de micro-ondas (SIRIAM *et al.*, 2009).

Recentemente, Capputo e colaboradores relataram a síntese de uma série de tiossemicarbazonas preparadas pelo método dos multicomponentes via irradiação de micro-ondas (CAPPUTO *et al.*, 2011), conforme figura 18.

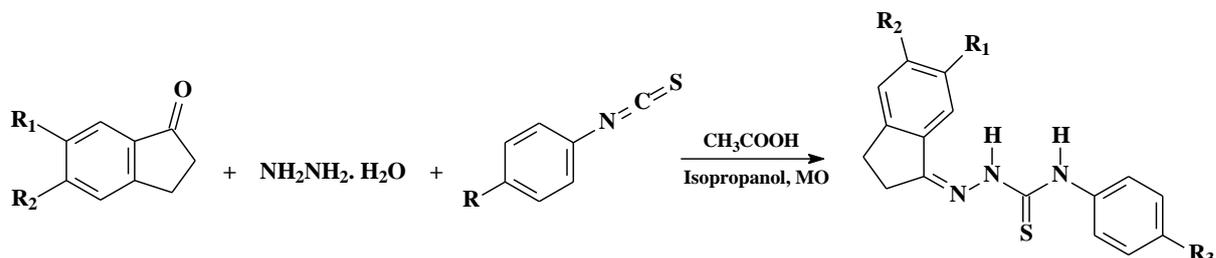


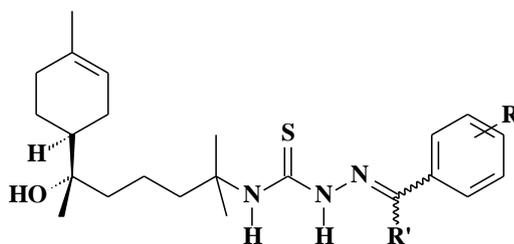
Figura 18: Obtenção de tiossemicarbazonas pelo método dos multicomponentes via irradiação de micro-ondas (CAPPUTO *et al.*, 2011).

1.2.2 Atividade biológica das tiossemicarbazonas

Como mencionado anteriormente, as tiossemicarbazonas pertencem a uma classe de substâncias bastante conhecida por suas aplicações importantes na pesquisa de novos fármacos, em função de seu largo espectro de ação. Alguns autores atribuem esta propriedade

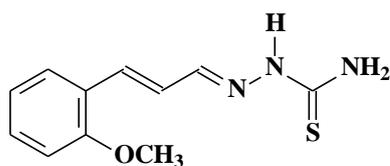
à alta afinidade que as tiossemicarbazonas apresentam pela enzima ribonucleotídeo redutase, responsável pelo passo crucial na síntese do DNA e, conseqüentemente, da divisão celular (TENÓRIO *et al.*, 2005). Outros consideram que suas propriedades biológicas são devidas à capacidade que apresentam de formar complexos com cátions metálicos, formando quelatos. Neste sentido, as tiossemicarbazonas apresentam-se como ligantes versáteis tanto na forma neutra quanto na forma aniônica, podendo formar ligação coordenada com metais através do átomo de enxofre e do átomo de nitrogênio azometino (C=N) (BHARTI *et al.*, 2003). Por outro lado, Greenbaum e colaboradores sugeriram que o mecanismo de ação das tiossemicarbazonas é ainda complexo e deve acontecer através da inibição de múltiplos alvos (GREENBAUM *et al.*, 2004).

Silva e colaboradores relataram promissora ação antitumoral de uma série de tiossemicarbazonas derivadas do (-)- α -bisabolol (**8**), que é um sesquiterpeno natural abundante na flora brasileira. As linhagens celulares testadas foram: leucemia (K562), melanoma (UACC-62), câncer de mama (MCF7 e NCI-ADR), pulmão (NCI-460), ovário (OVCAR), próstata (PCO-3) e cólo de útero (HT-29) (SILVA *et al.*, 2010).



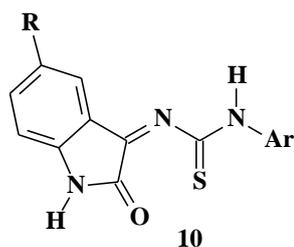
8

Recentemente, Soares e colaboradores relataram significativa ação de uma série de tiossemicarbazonas testadas frente à forma tripomastigota de *Trypanosoma cruzi*. Dentre os compostos testados o derivado (**9**) foi o que apresentou melhor atividade e este foi testado, *in vitro*, frente à forma amastigota de *Trypanosoma cruzi*, apresentando também ação significativa (SOARES *et al.*, 2011).

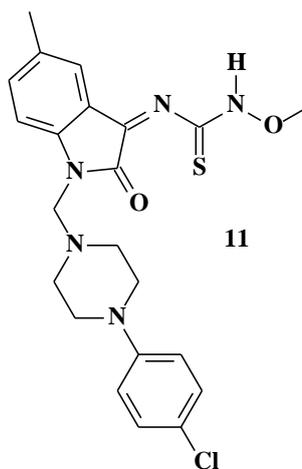


9

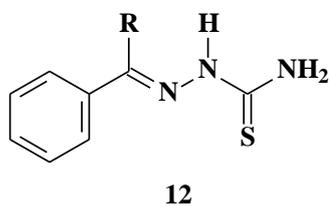
A atividade antiviral de derivados da classe das tiossemicarbazonas também vem sendo alvo de muitos estudos. Em 2011, Kang e colaboradores relataram significativa ação antiviral de tiossemicarbazonas derivadas da isatina (**10**) testadas frente ao vírus de herpes simplex tipo 1 e tipo 2 (HSV-2). Estudos da correlação entre a estrutura e a atividade concluíram que o grupo tiocarbonyl é essencial para a potencial ação antiviral dos compostos testados (KANG *et al.*, 2011).



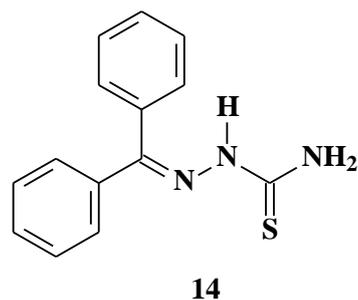
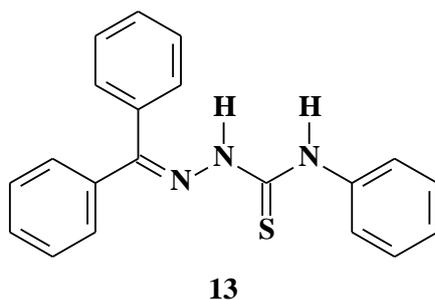
Tiossemicarbazonas derivadas da isatina também tiveram suas atividades anti-HIV e anti-tuberculose avaliadas. Os resultados indicaram o derivado (**11**) como sendo o mais ativo dentre os compostos testados (BANERJEE *et al.*, 2011).



Liu e colaboradores relataram a avaliação da inibição da enzima tirosinase por uma série de tiossemicarbazonas derivadas de diferentes cetonas (**12**), demonstrando ação inibitória para todos os derivados testados (LIU *et al.*, 2008). A tirosinase é a enzima chave envolvida na síntese da melanina e é responsável pelo o escurecimento (cor marrom) nas frutas e nos vegetais, em plantas protegendo os ferimentos contra a ação dos insetos e patógenos (SHIMIZU *et al.*, 2000). O mecanismo de ação proposto para essa inibição baseia-se na formação de um complexo entre as moléculas das tiossemicarbazonas e os íons de cobre presente no centro ativo da enzima (LIU *et al.*, 2008).

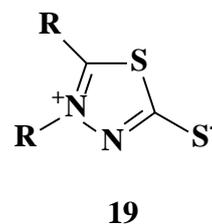
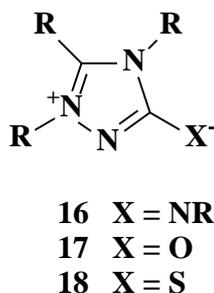
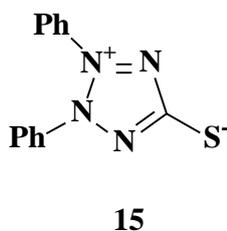


A atividade antimalárica de uma série de benzoiltiossemicarbazonas foi avaliada frente ao *Plasmodium falciparum*, indicando promissora atividade para os derivados (**13**) e (**14**) (PINGAEW *et al.*, 2010).



1.3 Compostos Meso-iônicos

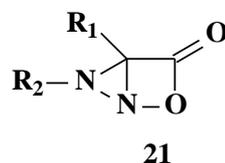
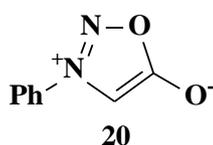
O primeiro composto meso-iônico (**15**) foi sintetizado em 1882 por Emil Fischer e Emil Besthorn (OLLIS *et al.*, 1985). Durante o período de 1895 a 1905, Max Busch, despertado pelo trabalho inicial de Fischer, descreveu a preparação e as propriedades químicas de alguns compostos meso-iônicos (**16-19**) (NEWTON & RAMSDEN, 1982).



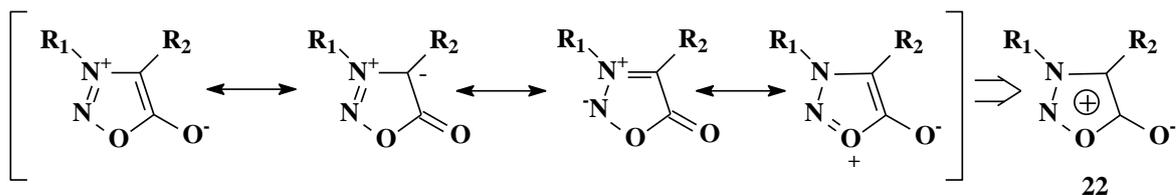
Em 1935, Earl e Mackney, sintetizaram o primeiro composto meso-iônico da classe das sidnonas (**20**), tendo esse nome por ter sido sintetizado pela primeira vez na cidade de Sidney, na Austrália (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Esses primeiros compostos sintetizados foram representados por Busch, com estruturas bicíclicas, e somente em 1938, Schömberg propôs que os compostos meso-iônicos fossem representados como híbridos de ressonância (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Segundo Kier e Roch, Baker e Ollis em 1946, propuseram que as sidnonas, até então com estrutura de lactonas (**21**), também fossem representadas como híbridos de ressonância das diversas formas canônicas possíveis (**22**) (KIER & ROCHE, 1967).



Foi Simpson, em 1946, baseando-se nas estruturas propostas por Schömberg, que sugeriu o nome de compostos meso-iônicos (mesomérico + iônico) para essa classe de substâncias (KIER & ROCHE, 1967).



Baker e Ollis em 1957 (OLLIS & RAMSDEN, 1976) definiram como mesoiônicos os compostos que apresentassem, em sua estrutura, as seguintes características:

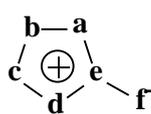
- ✓ Um anel aromático heterocíclico com cinco ou seis elementos, incapaz de ser representado apenas por uma estrutura covalente;
- ✓ Todos os átomos compartilhando um sexteto de elétrons π apresentando considerável energia de ressonância;
- ✓ Presença de uma carga positiva no anel heterocíclico, balanceada por uma carga negativa localizada em um átomo ou grupo exocíclico;
- ✓ Anel deveria ser planar, ou quase, possuindo considerável caráter aromático.

Em 1976 foi proposta por Ollis e Ramsden uma modificação nesta definição. O termo “mesoiônico” ficaria restrito a anéis heterocíclicos com cinco membros: “*um composto pode ser apropriadamente classificado como mesoiônico quando for constituído por um anel heterocíclico de cinco membros, o qual não pode ser satisfatoriamente representado por uma estrutura covalente ou polar, e que possua um sexteto de elétrons π associados aos cinco átomos que formam o anel*” (OLLIS & RAMSDEN, 1976).

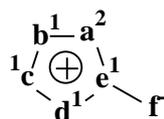
Essa definição pode ser estendida a uma grande variedade de sistemas com anéis de 5-membros, sendo que o “conceito de mesoiônico” (mesomérico + iônico) pode ser usado para anéis maiores e também condensados (OLLIS *et al.*, 1985).

Trabalhos fundamentados em estudos de difração de raios-X, cálculos teóricos e de reatividade química, permitiram propor um novo conceito para os mesoiônicos (ECHEVARRIA *et al.*, 1992; KAI-CHUNG *et al.*, 1993). Esse conceito sugere que o anel deve constituir um sistema planar ou quase planar, juntamente com o átomo α -exocíclico e ainda possuir uma substancial separação de carga levando à valores de momento dipolar em torno de 5 D.

Conforme definição, os compostos mesoiônicos são representados pela estrutura química genérica (**23**) onde **a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** podem ser: carbono, nitrogênio, oxigênio, enxofre e selênio com seus respectivos substituintes (OLLIS & RAMSDEN, 1976; NEWTON & RAMSDEN, 1982). Esses compostos podem ser classificados em tipo A (**24**) e tipo B (**25**), de acordo com a natureza dos átomos que compõem o anel e com a origem dos elétrons π , onde os números sobrescritos correspondem ao número de elétrons com que cada átomo contribui para formar os orbitais π .

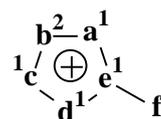


23



24

Tipo A



25

Tipo B

Os dois tipos gerais de compostos mesoiônicos apresentam propriedades químicas distintas. Compostos mesoiônicos do tipo A participam de reações de cicloadição 1,3-dipolar, conforme figura 19.

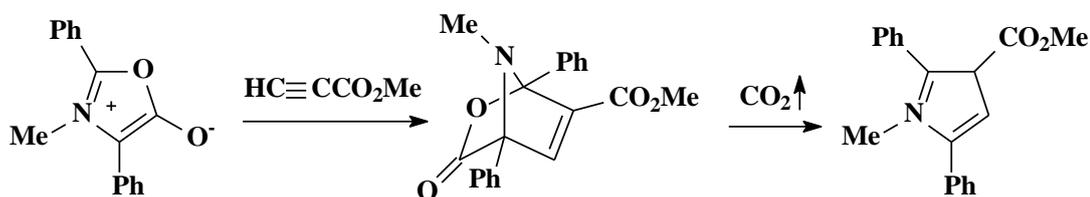


Figura 19: Reação de cicloadição 1,3-dipolar do 2,4-difenil-3-metil-1,3-oxadiazólio-5-olato com propiolato de metila (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Os compostos do tipo B apresentam uma característica importante, que é o fato de sofrerem abertura no anel, fornecendo o tautômero acíclico correspondente, conforme apresentado na figura 20 (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

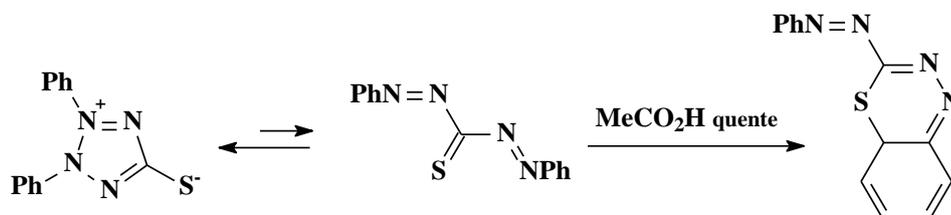
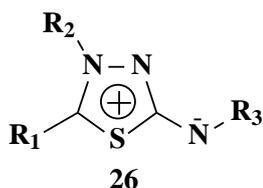


Figura 20: Reação de abertura de anel da dehidrotizona (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

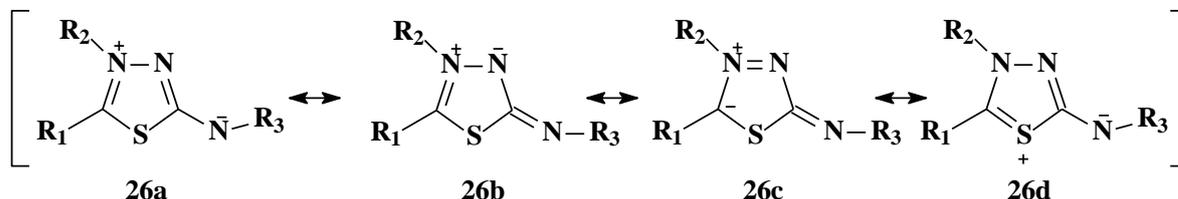
Neste trabalho de tese o sistema heterocíclico mesoiônico estudado foi o 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, sendo assim, esta classe de compostos terá seus estudos destacados a seguir.

1.3.1 A classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida

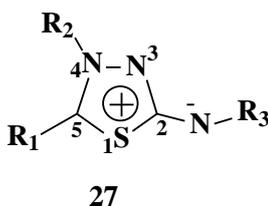
Os compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas (**26**), são heterocíclis do tipo A, também descritos como pertencentes ao grupo das betaínas, mais especificamente betaínas mesoméricas heterocíclicas conjugadas. As betaínas mesoméricas são moléculas conjugadas que podem ser representadas por estruturas dipolares, em que as cargas positivas e negativas estão em conjugação mútua e associadas ao sistema de elétrons π (OLLIS *et al.*, 1985). Mas, assim como as sidnonas, a classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas também é representada por um híbrido de ressonância das diversas formas canônicas (GRYNBERG *et al.*, 1997).



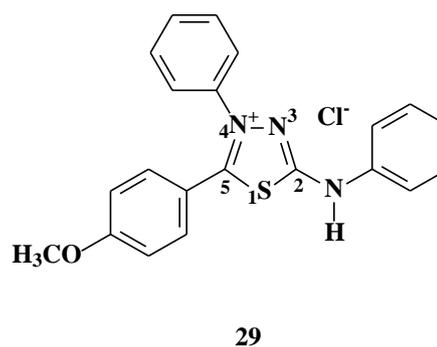
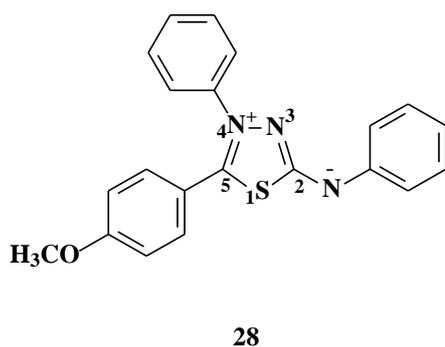
A aromaticidade desses compostos está associada à deslocalização dos elétrons, como mostrado nas estruturas de ressonância **26a** - **26d**. Em função de seu comportamento físico e químico, a aromaticidade desses compostos é variável e poderiam ser representados, também, como betaínas heteroaromáticas, como a estrutura geral **26**.



Os compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida apresentam uma nomenclatura relativamente simples, no que diz respeito a numeração do anel heterocíclico. Nestes compostos há um átomo de enxofre, que recebe o número 1, obedecendo à sequência de prioridade utilizada em compostos heterocíclicos: oxigênio, enxofre e nitrogênio (DA SILVA, 1997). A estrutura **27** ilustra a numeração adotada na literatura para esta classe de compostos.



Echevarria e colaboradores, em 1992, através de difração de raios-X e cálculos teóricos, estudaram o composto mesoiônico 4-fenil-5-(4'-metoxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (**28**) e seu cloridrato (**29**) (ECHEVARRIA *et al.*, 1992). Os resultados desses estudos sugeriram que em **28** e **29**, a carga positiva está associada com o átomo de N-4 e seu grupo fenila, enquanto a negativa formalmente localizada no átomo de N-exocíclico.



1.3.2 Síntese de mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida

Existem diversas metodologias para a síntese de compostos mesoiônicos, específicas para cada classe desses heterociclos. Neste trabalho, foram sintetizados compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. Assim, algumas das principais rotas de síntese para compostos dessa classe serão descritas a seguir.

Ollis e Ramsden, em 1971, relataram a primeira síntese de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas, que consiste na reação de *N*-tioacilidrazinas com dicloretos de isocianetos de arila produzindo os respectivos cloridratos, que originam as correspondentes bases livres a partir do tratamento das soluções em clorofórmio com amônia gasosa. A figura 21 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese (OLLIS & RAMSDEN, 1971).

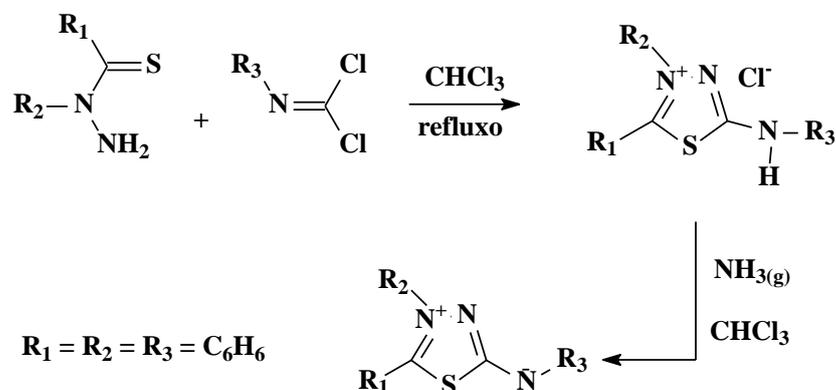


Figura 21: Síntese de mesoiônicos utilizando *N*-tioacilidrazinas e dicloretos de isocianetos de arila (OLLIS & RAMSDEN, 1971).

Outro método utilizado para a obtenção dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas é através da reação de desacilação anidra dos intermediários acil-tiossemicarbazidas, obtidos a partir dos correspondentes cloretos de ácidos e tiossemicarbazidas substituídas (MACIEL *et al.*, 1998). A figura 22 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese.

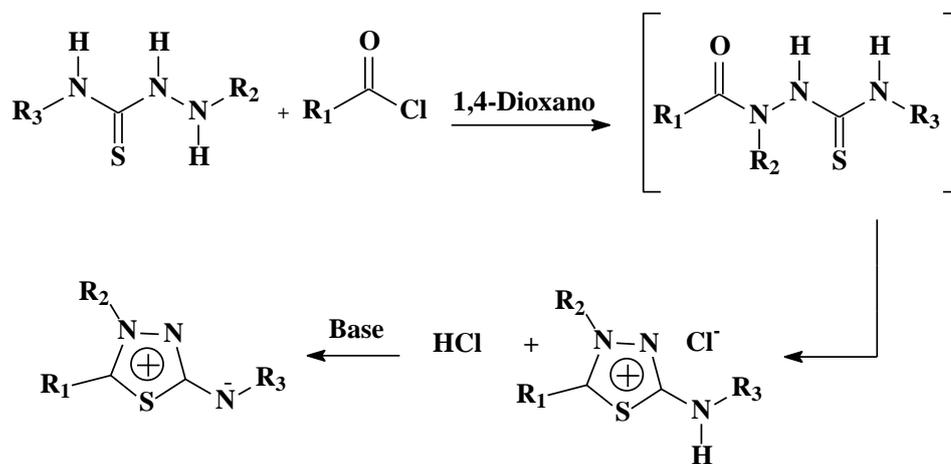


Figura 22: Síntese de mesoiônicos utilizando cloretos de ácido e tiossemicarbazidas substituídas (MACIEL *et al.*, 1998).

Ferreira e colaboradores relataram a síntese de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminidas utilizando, como produtos de partida, a 1,4-difeniltiossemicarbazida e aldeídos aromáticos, tratados com cloreto de trimetilsilano (FERREIRA *et al.*, 2008). A figura 23 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese.

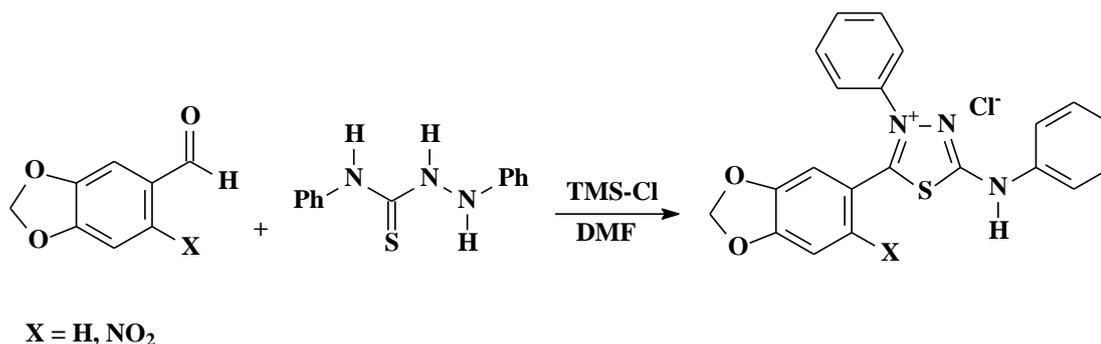


Figura 23: Síntese de mesoiônicos utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida (FERREIRA *et al.*, 2008).

Outra metodologia citada na literatura para a síntese de compostos mesoiônicos da classe em questão envolve a condensação de *N*-alquil-*N*-tioacetilidrazinas com isotiocianatos substituídos com grupos alquil ou benzil substituídos (NEWTON *et al.*, 1982). A figura 24 mostra um exemplo para a rota citada.

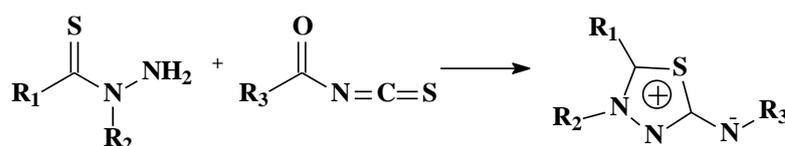


Figura 24: Síntese de mesoiônicos utilizando *N*-alquil-*N*-tioacetilidrazinas com isotiocianatos substituídos com grupos alquila ou benzila (NEWTON *et al.*, 1982).

Há também na literatura a descrição de metodologia para a síntese de mesoiônicos da classe dos tiadiazólio-aminidas onde os produtos de partida são dibromodiazobutadienos substituídos e *N*-tiobenzoilidrazinas, também substituídas (NEWTON *et al.*, 1982). A figura 25 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese.

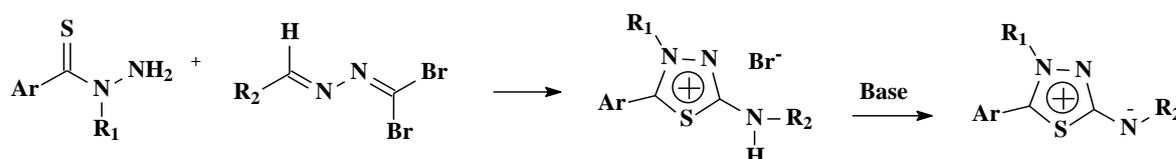


Figura 25: Síntese de mesoiônicos utilizando dibromodiazobutadienos substituídos e *N*-tiobenzoilidrazinas, também substituídas (NEWTON *et al.*, 1982).

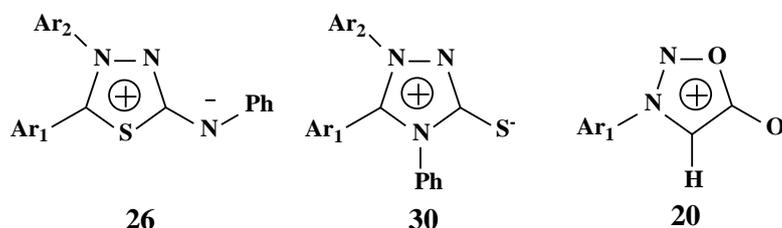
1.3.3 Atividade biológica dos compostos mesoiônicos

O grande potencial de atividade biológica apresentada pelos compostos mesoiônicos abre uma perspectiva interessante para a busca de novos fármacos para o tratamento de diversas doenças.

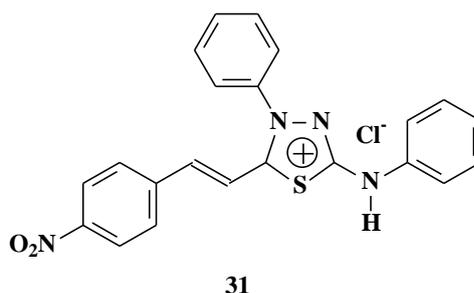
Os pesquisadores no campo da química medicinal possuem um considerável interesse nos compostos mesoiônicos devido a determinadas características estruturais que estes

possuem. A atividade biológica desses compostos tem sido relacionada ao caráter aromático planar do anel heterocíclico, ao seu tamanho relativamente pequeno, à variação da densidade eletrônica em torno do anel e à possibilidade de diferentes padrões de distribuição eletrônica em função dos variados sistemas heterocíclicos. A estrutura dotada de carga positiva e negativa, bem separadas, possibilita a interação com várias biomoléculas, entre as quais os ácidos nucleicos e proteínas, fator este importante que contribui ao grande potencial desses compostos como agentes medicinais (NEWTON *et al.*, 1982; SHINZATO *et al.*, 1989).

Derivados da classe 1,3,4-triazólio-5-tiolato foram testados frente a fungos dermatófitos, bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras mostrando atividade bastante interessante, o que levou a ensaiar diferentes compostos mesoiônicos, das classes dos 1,3,4-triazólio-5-tiolatos (**30**), 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas (**26**) e 1,2,3-oxadiazólio-5-olatos (**20**, sidnonas) frente a células tumorais *in vitro* e *in vivo*. Os resultados obtidos foram significativos, sendo que foram observados a inibição do crescimento dos tumores ensaiados e o aumento da sobrevivência dos animais tratados (ECHEVARRIA *et al.*, 1987; GRYNBERG *et al.*, 1992). Os tumores ensaiados foram: carcinoma de Ehrlich, Sarcoma 180, leucemia L1210 e o tumor B10MCII.

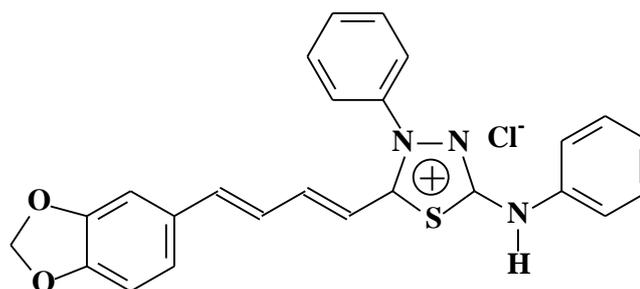


Senff-Ribeiro e colaboradores relataram significativa atividade do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**31**) contra o modelo B16-F10 de melanoma murino. Este mesoiônico também apresentou efeitos citotóxicos e anti-proliferativos em linhagens celulares de melanoma humano possibilitando o registro de patente em 2004 (SENN-RIBEIRO *et al.*, 2004).



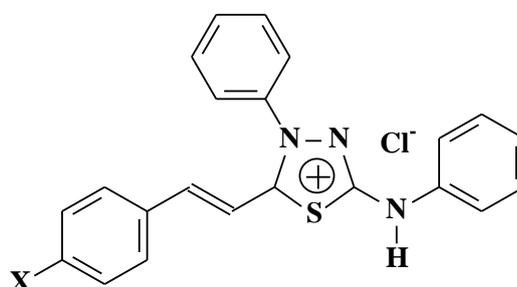
Foi relatado, também, a ação antiparasitária significativa de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (**26**) frente aos parasitos causadores da leishmaniose, especificamente a *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania chagasi* (DA SILVA *et al.*, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2007).

Além disso, Ferreira e colaboradores relataram significativa ação antiparasitária *in vivo* e *in vitro* do composto mesoiônico cloreto de 4-fenil-5-[4'-(3,4-metilenodioxifenil)-1(e)-3(e)-butadienil]-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**32**) frente ao *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da doença de Chagas (FERREIRA *et al.*, 2008).



32

Compostos heterocíclicos derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas-*para*-estiril-substituídos (**33**), na forma de seus cloridatos, foram também testados frente as enzimas DNA topoisomerase I e topoisomerase II α , apresentando satisfatória ação inibitória (DA SILVA, 2007).



33

1.4 Novas Metodologias para a Síntese Orgânica

A química tem uma grande participação no mundo atual com os inúmeros produtos fundamentais para melhoria das condições de vida da humanidade. A sua presença pode ser destacada desde os diversos combustíveis aos mais complexos medicamentos. As atividades produtivas na área de química são normalmente de risco e potenciais causadoras de poluição, visto que se utilizam substâncias muitas vezes tóxicas ou inflamáveis e, após um processo químico, normalmente gera-se um “lixo tóxico” que precisa ser tratado, os resíduos químicos (SILVA *et al.*, 2005).

A preocupação com estes inconvenientes pode ser claramente observada, pois, nos últimos anos, cresce continuamente a pressão sobre as indústrias químicas, tanto através da sociedade civil, como das autoridades governamentais, no sentido de aprimorar o desenvolvimento de processos, que sejam cada vez menos prejudiciais ao meio ambiente. A emissão de contaminantes pode ser minimizada através de diversos caminhos, tais como o emprego de reagentes alternativos apropriados, o aumento da seletividade para maximizar o uso dos materiais de partida, a utilização de catalisadores para facilitar a separação do produto final da mistura, bem como a reciclagem dos reagentes e catalisadores empregados no processo (PRADO, 2003).

No mundo todo há um consenso da necessidade de preservação do meio ambiente e inserida neste contexto está a Química Verde, também conhecida como Química Limpa. Esta estratégia visa desenvolver metodologias e processos que usem e gerem a menor quantidade de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente (SILVA *et al.*, 2005).

Os produtos ou processos da Química Verde podem ser divididos em três grandes categorias (LENARDÃO *et al.*, 2003):

I) O uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima;

II) Aumento da eficiência de energia, ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto;

III) Evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas.

A Química Verde é, na realidade, uma filosofia. Há tempos atrás um desafio sintético consistia em chegar à molécula alvo. Quando se aplica a ideia da Química Verde, o desafio sintético envolve chegar à molécula alvo com uma metodologia que agrida o mínimo ao meio ambiente, com o mínimo de etapas e economia de átomos (SILVA *et al.*, 2005).

Podemos encontrar na literatura vários exemplos e estudos de novas metodologias para a síntese de compostos orgânicos que obedecem aos princípios da Química Verde. Uma das áreas de pesquisa que tem apresentado grande aumento de interesse neste contexto é a aplicação de reagentes suportados em matrizes sólidas, como meio alternativo de se utilizar catalisadores. A preparação de catalisadores sólidos permite sua aplicação nas reações com a grande vantagem de sua fácil separação do meio reacional e capacidade em ser reciclado (PRICE *et al.*, 2000).

Muitas reações orgânicas têm sido conduzidas usando catalisadores sólidos ácidos e básicos juntamente com a irradiação de micro-ondas, permitindo que sejam feitas na ausência de quaisquer solventes orgânicos. O princípio destas reações é a irradiação sobre os reagentes em conjunto com catalisadores sólidos (VARMA, 1999).

Outro método de grande interesse é o desenvolvimento do processo químico na ausência de solventes é a aplicação de fluidos supercríticos ao processo. A utilização da água em condições extremas, a temperaturas acima de 200 °C forma um fluido supercrítico, o qual permite a solubilização de compostos orgânicos. Esta solubilização permite o desenrolar das reações orgânicas, na ausência total de solventes orgânicos indesejáveis ao meio ambiente (BANDGAR *et al.*, 1999).

Outros processos de catálise também são aplicados para a obtenção de maior eficiência e menor geração de subprodutos. Recentes avanços nas pesquisas dos processos de foto-oxidações catalíticas mostram a grande potencialidade da aplicação da fotocatalise seletiva em procedimentos que se enquadram nos princípios fundamentais da Química Verde (GONZALEZ *et al.*, 1999).

O uso da atividade microbiana para catalisar reações químicas pode ser aplicado em diversas sínteses com sucesso. As reações biocatalisadas representam uma alternativa às rotas clássicas de síntese com significantes reduções nos impactos ambientais gerados pelos processos tradicionais (DE SANTIS *et al.*, 2002).

O aprimoramento de compostos comerciais com o objetivo da diminuição de sua toxicidade também tem sido destaque na “ciência verde atual” (PRADO, 2003).

A utilização de sistemas bifásicos em transformações catalíticas de substratos orgânicos tem-se mostrado como alternativa promissora aos processos catalíticos homogêneos e heterogêneos. Os processos bifásicos apresentam atividades e seletividades similares aos processos homogêneos, com a grande vantagem da possibilidade da reutilização dos catalisadores como nos processos heterogêneos. Assim, os processos bifásicos aliam as vantagens dos processos homogêneo e heterogêneo (DUPONT, 2000).

Neste trabalho de tese foi utilizada como uma das metodologias alternativas de síntese a irradiação de micro-ondas, sendo assim, esta técnica será mais bem discutida a seguir.

1.4.1 Uso das micro-ondas em síntese orgânica

Nos dias atuais as demandas por processos sintéticos mais limpos e eficientes têm sido consideradas muito relevantes devido a aspectos ambientais, e uma condição para o desenvolvimento das reações que parece bastante adequada em escala preparativa, consiste no uso de irradiação de micro-ondas levando a aceleração de diversas reações. Neste sentido, devido à eficiência das micro-ondas levarem ao aquecimento de meios de reação, estes têm sido muito utilizados em diversas transformações orgânicas reduzindo seus tempos de realização, muitas vezes de dias e horas para minutos ou segundos (SILVA *et al.*, 2006).

Os primeiros relatos de reações orgânicas conduzidas em forno de micro-ondas doméstico surgiram em 1986 em dois trabalhos independentes de Gedye e Guigere (SANSEVERINO, 2002). A figura 26 ilustra exemplos das primeiras reações assistidas por micro-ondas.

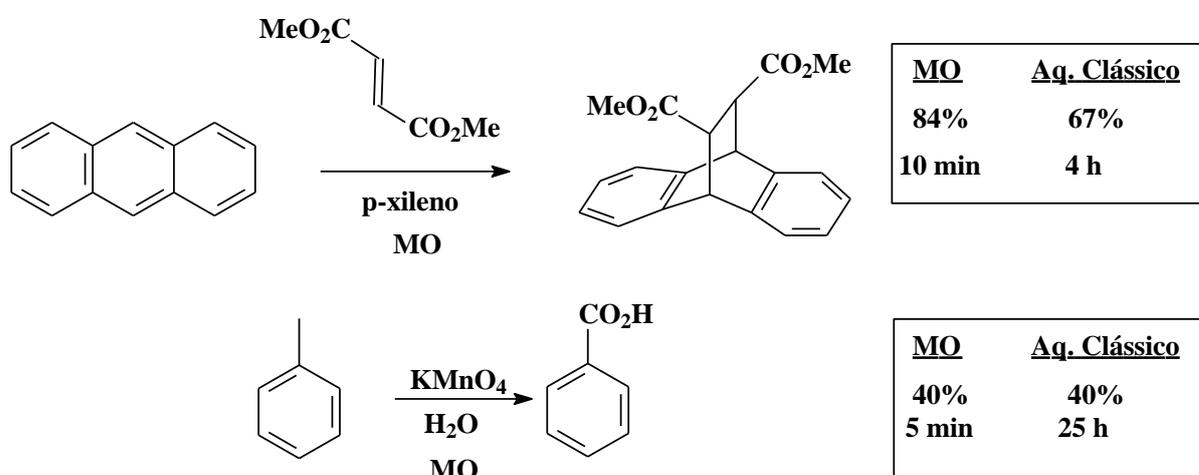


Figura 26: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de micro-ondas (SANSEVERINO, 2002).

Inúmeros trabalhos se seguiram após estes relatos iniciais, sendo reportadas na literatura diversas reações orgânicas conduzidas com sucesso em forno de micro-ondas.

Kang e colaboradores relataram a reação de *N*-alquilação de uma série de tiossemicarbazonas derivadas da isatina que foram preparadas em apenas 20 minutos de reação via irradiação de micro-ondas usando dimetilformamida como solvente orgânico, conforme indicado na figura 27 (KANG *et al.*, 2011).

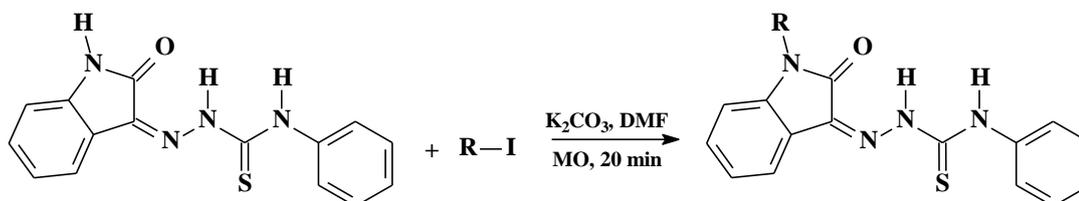


Figura 27: *N*-alquilação de tiossemicarbazonas via irradiação de micro-ondas assistida por solvente orgânico (KANG *et al.*, 2011).

Reações de substituição nucleofílica aromática também têm sido estudadas por esta metodologia. Recentemente, Karuehanon e colaboradores relataram a síntese de derivados heterocíclicos da classe 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina, via irradiação de micro-ondas usando água como solvente orgânico (Figura 28) (KARUEHANON *et al.*, 2012).

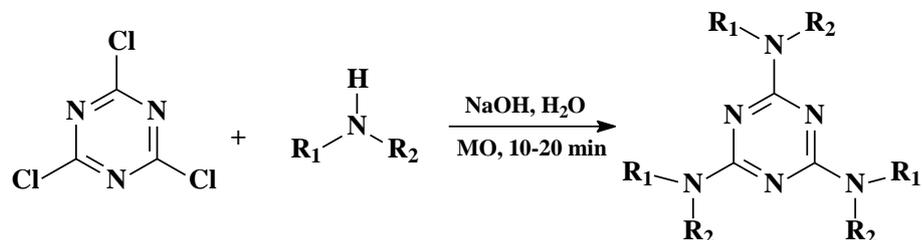


Figura 28: Reação de substituição nucleofílica aromática via irradiação de micro-ondas (KARUEHANON *et al.*, 2012).

As reações orgânicas em micro-ondas na ausência de solvente, também têm sido muito estudadas, onde em diversos casos são obtidos rendimentos maiores e uma maior seletividade do que quando as mesmas reações são realizadas com solvente, e uma das razões para esses resultados envolve o fato das moléculas no estado cristalino estarem arranjadas de forma regular e com maior proximidade, do que quando em solução (SANSEVERIANO, 2000).

Biradar e Sasidhar publicaram, recentemente, a síntese de análogos do indol-3-carboxaldeído preparados via condensação de Knoevenagel, onde todos os derivados descritos foram obtidos por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente. A figura 29 ilustra as reações estudadas (BIRADAR & SASIDHAR, 2011).

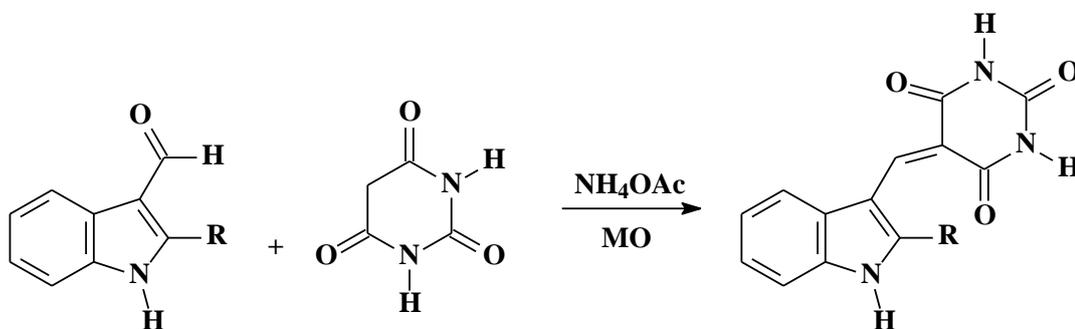


Figura 29: Condensação de Knoevenagel com irradiação de micro-ondas na ausência de solvente (BIRADAR & SASIDHAR, 2011).

Diferentes classes de compostos heterocíclicos, também, estão sendo preparados via irradiação de micro-ondas. Recentemente, derivados da classe pirazolo[3,4-b]piridina-6-onas foram preparados por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente em apenas 15 minutos de reação, conforme mostrado na figura 30 (RODRIGUES-SANTOS & ECHEVARRIA, 2011).

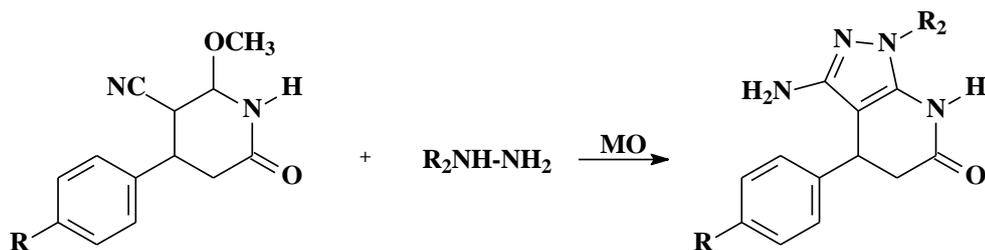


Figura 30: Reação de preparação de derivados da classe pirazolo[3,4-*b*]piridina-6-onas por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente (RODRIGUES-SANTOS & ECHEVARRIA, 2011).

A síntese, via irradiação de micro-ondas na ausência de solvente, de compostos heteropolares, como as tiossemicarbazonas (LIU *et al.*, 2010), também tem sido relatada na literatura (Figura 31).

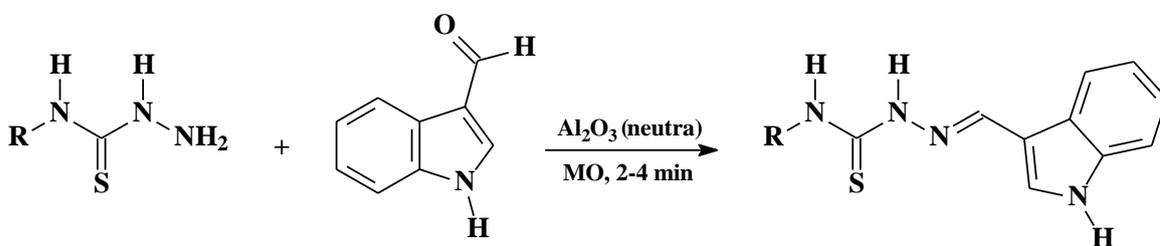


Figura 31: Reação de preparação de tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente (LIU *et al.*, 2010).

A utilização de catalizadores inorgânicos associados à irradiação de micro-ondas é uma técnica que tem sido muito utilizada. Rodrigues-Santos e Echevarria relataram a preparação de uma série de 4-aryl-3,4-di-drocoumarinas que foram obtidas via irradiação de micro-ondas usando como catalisador o triflato de ítrio, conforme figura 32 (RODRIGUES-SANTOS & ECHEVARRIA, 2007).

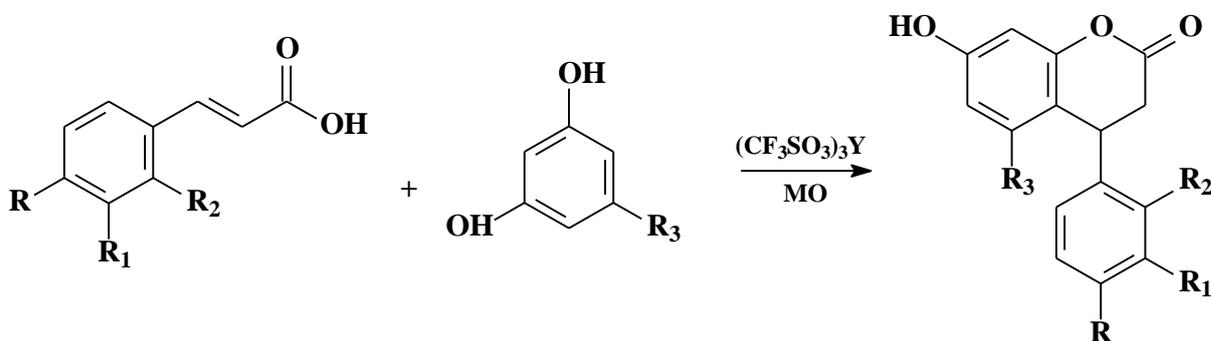


Figura 32: Reação de preparação de 4-aryl-3,4-di-hidrocoumarinas via irradiação de micro-ondas catalisada por triflato de ítrio (RODRIGUES-SANTOS & ECHEVARRIA, 2007).

Recentemente, Kumari e colaboradores relataram a síntese de pirazóis que foram obtidos via irradiação de micro-ondas, na ausência de solvente, usando um catalisador inorgânico (figura 33) (KUMARI *et al.*, 2012).

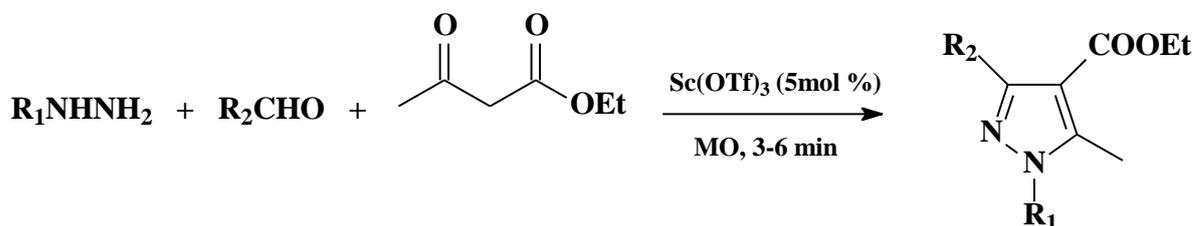


Figura 33: Reação de preparação de pirazóis via irradiação de micro-ondas na presença de um catalisador inorgânico (KUMARI *et al.*, 2012).

As principais vantagens da utilização da energia de micro-ondas sobre o aquecimento convencional para uma reação química são (SANSEVERINO, 2002):

- ✓ A temperatura em uma reação onde alguma substância presente absorva bem as micro-ondas pode ser maior do que no aquecimento convencional;
- ✓ O reator ou recipiente da reação pode ser transparente às micro-ondas, sendo assim, a energia é absorvida somente pelos reagentes ou solventes ou até seletivamente por apenas um dos constituintes da reação.
- ✓ A energia é transferida diretamente para a amostra, não havendo contato físico com a fonte de aquecimento.
- ✓ Há a possibilidade de maiores rendimentos, maior seletividade e menor decomposição térmica, vantagens bem documentadas na literatura para várias reações orgânicas em sistemas homogêneos e heterogêneos.

Reações orgânicas com aquecimento por micro-ondas podem ser conduzidas em diferentes fornos de micro-ondas. São reportadas na literatura reações realizadas em fornos de micro-ondas domésticos sem modificações, também em reatores de micro-ondas conhecidos como micro-ondas científicos, e ainda aquelas conduzidas em forno de micro-ondas doméstico com modificações específicas adequadas para a reação a ser estudada (SANSEVERINO, 2002).

O surgimento do reator de micro-ondas para condução de reações orgânicas ocorreu como consequência direta do estudo das reações em forno doméstico, que demonstrou o grande potencial desta técnica. Estes aparelhos apresentam vantagens marcantes sobre o forno de micro-ondas doméstico, tais como: possibilidade de realização de refluxo, controle de temperatura e pressão, que não é possível no forno doméstico e que evita decomposição térmica em certas reações. A segurança operacional também apresenta-se muito maior, já que o forno de micro-ondas de cozinha não foi fabricado para o uso em laboratório. Outro fator importante, é que esses reatores operam de forma diferente que o forno de micro-ondas doméstico, onde a distribuição de micro-ondas no interior do forno não é homogênea (forno multimodo), já nos equipamentos de micro-ondas científicos, a distribuição é homogênea (monomodo). Além disso, a potência em um forno de micro-ondas doméstico não é, na realidade, passível de variação, pois o que ocorre é uma interrupção sequencial da irradiação que corresponde aos níveis de potência do seletor, sendo assim, a amostra está submetida sempre a mesma potência, mas por períodos de tempo diferentes. Assim, os reatores de micro-

ondas são mais eficientes do ponto de vista energético, e garante uma maior reprodutibilidade nos experimentos (LOUPY *et al.*, 1998).

Evidentemente, já existem no mercado diferentes fornos de micro-ondas que se adaptam a diversas finalidades, porém ainda com preços elevados que impossibilitam seu uso como equipamento de rotina em laboratório. Assim, muitos pesquisadores têm optado por desenvolver projetos próprios de fabricação de fornos de micro-ondas ou utilizar fornos domésticos para fins laboratoriais, com ou sem adaptações (SILVA, *et al.*, 2006).

A utilização do aquecimento por micro-ondas é ainda relativamente novo, mas já existe um interesse real na utilização desta técnica na indústria para síntese orgânica, na destruição de rejeitos orgânicos e na área de processamento de materiais (SANSEVERINO, 2002).

1.4.2 Ação das micro-ondas

A aceleração de reações por exposição às micro-ondas pode ser compreendida por dois fatores: efeitos térmicos e efeitos específicos. Os efeitos térmicos, também denominado de aquecimento dielétrico, podem ser explicados por dois mecanismos principais. O primeiro deles é chamado rotação de dipolo, e relaciona-se com o alinhamento das moléculas, que tem dipolos permanentes ou induzidos, com o campo elétrico aplicado. Quando o campo é removido às moléculas voltam a um estado desordenado, e a energia que foi absorvida para esta orientação nestes dipolos é dissipada na forma de calor. Como o campo elétrico na frequência de 2,45 GHz, que é a da micro-onda, oscila $4,9 \times 10^9$ vezes por segundo, ocorre um pronto aquecimento destas moléculas. Uma representação esquemática é mostrada na Figura 34, onde se usou a água como exemplo (SANSEVERINO, 2002).

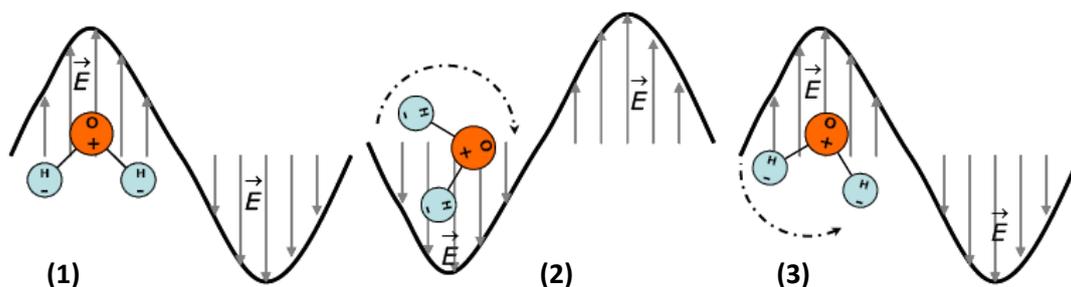


Figura 34: Polarização da molécula da água com o campo magnético (SANSEVERINO, 2002).

O segundo mecanismo é chamado de condução iônica, e o calor é gerado através de perdas por fricção, que acontecem através da migração de íons dissolvidos quando sob a ação de um campo eletromagnético. Estas perdas dependem do tamanho, carga, condutividade dos íons dissolvidos e interação destes últimos com o solvente (SANSEVERINO, 2002).

A lei de Arrhenius (equação 1) pode ser usada para compreender os efeitos específicos das micro-ondas (PERREUX & LOUPY, 2001).

$$K = A \exp(-\Delta G^\ddagger / RT) \text{ equação 1}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \text{ equação 2}$$

K = constante de velocidade

\neq = estado de transição

T = temperatura

A = fator de correção (relacionado a colisão)

ΔS = entropia

R = constante

ΔG = energia de gibbs

ΔH = entalpia

Primeiramente, há um aumento do fator pré-exponencial A, que representa a probabilidade de impactos moleculares. A eficiência das colisões pode ser efetivamente influenciada pelas mutuas orientações de moléculas polares envolvidas na reação. Este fator é dependente da frequência vibracional. O segundo fator é a diminuição da energia de ativação (ΔG^\ddagger), que deve ser compreendido pela magnitude do termo ($-T\Delta S$), da equação 2, onde este termo aumentaria em reações assistidas por micro-ondas, sendo o estado de transição mais organizado, quando comparado a sistemas clássicos de aquecimento em detrimento da polarização (PERREUX & LOUPY, 2001).

Estes mecanismos de aquecimento têm sido utilizados para explicar as diversas vantagens proporcionadas pela irradiação de micro-ondas em relação ao aquecimento convencional nas reações orgânicas, justificando o elevado número de publicações que relatam reações sendo conduzidas, com sucesso, assistidas por irradiação de micro-ondas.

Além das vantagens proporcionadas pelo aquecimento por micro-ondas na síntese de compostos orgânicos, esta técnica pode ser considerada como um processo promissor dentro dos princípios da Química Verde. Sendo assim, esta metodologia, foi alvo de estudos neste trabalho de tese.

2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

Nos últimos anos, questões ambientais têm merecido destaque na mídia nacional e internacional. O mundo está em um processo de conscientização com relação à proteção do meio ambiente e, atualmente, procura por progressos baseados no desenvolvimento sustentável. Uma estratégia neste contexto, para o desenvolvimento da Química, é a Química Verde ou Química Limpa. Cada vez que conseguimos cumprir com alguns dos quesitos da Química Verde para a realização dos processos químicos, estamos caminhando para a utilização mais consciente dos nossos recursos naturais, e para a manutenção da vida no planeta (SILVA *et al.*, 2005).

A literatura destaca vários exemplos e estudos de novas metodologias para a síntese de compostos orgânicos que obedecem aos princípios da Química Verde. As reações aceleradas por irradiação de micro-ondas, na presença e na ausência de solventes, tem se mostrado como metodologia alternativa eficiente para diversas transformações orgânicas.

A Leishmaniose é uma infecção parasitária, considerada uma doença negligenciável pela OMS (Organização Mundial da Saúde) que carece de uma atenção especial, principalmente no Brasil que tem seu território quase todo tomado com a manifestação cutânea e mucotânea, e mais recentemente, a visceral. Os antimoniais, que foram introduzidos no tratamento clínico no início do século passado, ainda são usados na quimioterapia atual. O número de pacientes que contém o parasito resistente aos fármacos utilizados em clínica cresce a cada dia, sendo que os de segunda escolha, fungizona®, lomidina® e paromomicina assim como os de primeira, são extremamente tóxicos (RODRIGUES-SANTOS 2008).

O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo. A OMS estima que, na ausência de qualquer intervenção, 84 milhões de pessoas vão morrer de câncer entre 2005 e 2015. O consumo de tabaco e álcool, alimentação inadequada e sedentarismo são os principais fatores de risco de câncer em todo o mundo. Os tumores que causam mais mortes a cada ano são o pulmão, estômago, fígado, cólon e mama. O tratamento do câncer requer uma seleção cuidadosa de uma ou mais modalidades terapêuticas, tais como cirurgia, radioterapia ou quimioterapia (WHO, 2012). As neoplasias que, atualmente, são mais susceptíveis ao tratamento quimioterápico são aquelas que possuem alta porcentagem de células em processo de divisão. Por outro lado, os tumores sólidos, que apresentam divisão celular relativamente lenta, em geral, respondem pouco aos agentes quimioterápicos existentes e o tratamento curativo, utilizando qualquer uma das modalidades terapêuticas, é extremamente difícil (DA SILVA, 2007).

Estes fatos deixam claro à necessidade de contínua busca por novos agentes quimioterápicos para o combate da leishmaniose e do câncer.

Desta forma, o objetivo geral neste trabalho foram sintetizar derivados da classe das tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas por três metodologias diferentes no contexto da Química Verde e, sintetizar cloridratos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida via irradiação de micro-ondas, com potencial atividade biológica.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar, por três metodologias, e caracterizar uma série de tiossemicarbazidas N_4 -substituídas derivadas de diferentes alquil e aril isotiocianatos com a hidrazina hidrato.
- ✓ Sintetizar, por três metodologias, e caracterizar uma série de tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas derivadas de diferentes alquil e aril isotiocianatos com a fenil-hidrazina.
- ✓ Avaliar o potencial antioxidante, pelo método do DPPH, das tiossemicarbazidas sintetizadas.
- ✓ Sintetizar, por três metodologias, e caracterizar uma série de tiossemicarbazonas derivadas de diferentes aldeídos com tiossemicarbazidas N_4 -substituídas.
- ✓ Avaliar a atividade antifúngica das tiossemicarbazonas frente ao fungo micotoxinogênico *Aspergillus parasiticus* e frente ao fungo leveduriforme *Candida albicans*.
- ✓ Sintetizar, via irradiação de micro-ondas, e caracterizar uma série de cloridratos mesoiônicos derivados de diferentes aldeídos com tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas.
- ✓ Avaliar a atividade citotóxica de cloridratos mesoiônicos frente células da linhagem de leucemias K562 e Jurkat, assim como do linfoma Daudi e dos possíveis mecanismos de ação.
- ✓ Avaliar a atividade anti-*Leishmania* frente à *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* de derivados mesoiônicos.
- ✓ Avaliar a atividade de inibição da enzima tripanotona redutase (TryR) de *Leishmania amazonensis*, *Leishmania infantum*, *Leishmania braziliensis* e de *Tripanosoma cruzi* por derivados mesoiônicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Equipamentos

- I) Os pontos de fusão foram determinados utilizando um aparelho da marca Quimis Q-340S, e não foram corrigidos;
- II) Placas de aquecimento e agitação da marca Corning;
- III) As absorvâncias na região UV-visível, referentes aos ensaios de atividade antioxidante, foram feitas em leitor de microplacas ELISA, modelo 680 Bio Rad.
- IV) Foi utilizada uma balança de precisão com quatro casas decimais de OHAUS, para pesagem do material.
- V) Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Vertex Bruker 70;
- VI) Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN ^{13}C e ^1H) foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance II 400 (^1H , 400 MHz; ^{13}C , 100 MHz) utilizando TMS como referência interna;
- VI) O reator de micro-ondas utilizado na síntese foi da marca CEM Discover System.

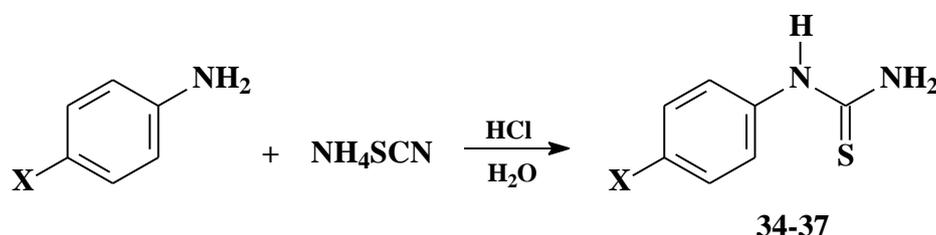
3.1.2 Reagentes e solventes

- I) Pastilhas de KBr foram usadas como meio para obtenção dos espectros de Infravermelho;
- II) Os espectros de RMN foram obtidos utilizando-se acetona, piridina e DMSO deuterados como solventes;
- III) Os solventes utilizados nas sínteses, purificações e cromatografia em camada fina foram todos de grau P.A. da Vetec, sendo eles:
 - Clorobenzeno
 - Tolueno
 - 1,4-dioxano
 - Etanol
 - Diclorometano
 - Metanol
- IV) Os reagentes utilizados nas sínteses das tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas e compostos mesoiônicos foram das marcas Merck, Aldrich e Vetec:
 - Tiocianato de amônio
 - *p*-Metil-anilina
 - *p*-Metoxi-anilina
 - *p*-Cloro-anilina
 - *p*-Bromo-anilina
 - Fenilisotiocianato
 - *p*-Nitro-fenilisotiocianato
 - Etil-isotiocianato
 - Isopropil-isotiocianato
 - Butil-isotiocianato
 - Hexil-isotiocianato

- Cicloexil-isotiocianato
- Fenil hidrazina
- Hidrazina hidrato
- Benzaldeído
- *p*-Nitro-benzaldeído
- Cinamaldeído
- *p*-Nitro-cinamaldeído
- Cloreto de tionila
- Ácido clorídrico
- Ácido acético

3.2 Metodologias Sintéticas

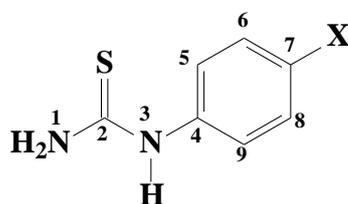
3.2.1 Procedimento geral para a síntese das tiouréias *p*-fenil-substituídas (BRITTO *et al.*, 2006).



X= CH₃ (34), OCH₃ (35), Cl (36) e Br (37)

Em um balão de fundo redondo, equipado com condensador de refluxo, foram adicionados 23,5 mmols de *p*-X-anilina e 3 mL de H₂O destilada. Sob agitação, acrescentou-se 23,5 mmols de ácido clorídrico concentrado. Posteriormente, foram adicionados 23,5 mmols de tiocianato de amônio à solução. A mistura reacional foi mantida em refluxo por 6 horas. Resfriou-se à temperatura ambiente e então o sólido formado foi filtrado e lavado com água. Os cristais foram secos na estufa e posteriormente caracterizados. Os Rendimentos estão descritos na tabela 1 em Resultados e Discussão.

3.2.1.1 Caracterização espectroscópica das tiouréias *p*-fenil-substituídas



X= CH₃ (34), OCH₃ (35), Cl (36) e Br (37)

p-metil-fenil-tiouréia (34). Sólido branco; Ponto de fusão: 185-183 °C; Rendimento: 13%; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3437; 3273; 3167 (N-H), 3001 (C-H), 1614; 1535; 1463 (C=C), 1261(C=S), 2968 (C-C); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,60 (s, 1H, H-3), 7,23 (d, 2H, H-5, H-9), 7,14 (d, 2H, H-

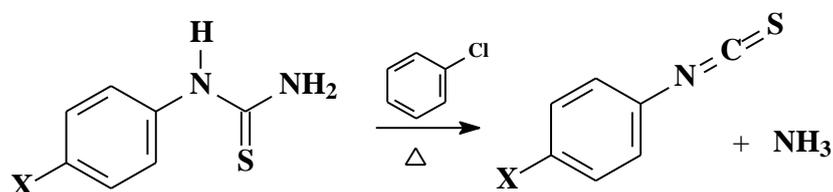
6, H-8) 2,27 (t, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 180,95 (C-2), 136,43 (C-4), 133,76 (C-7), 129,21 (C-6, C-8), 123,37 (C-5, C-9), 20,52 (CH₃).

p-metoxi-fenil-tiouréia (35). Sólido branco; Ponto de fusão: 210-212 °C; Rendimento: 95%; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3402; 3278; 3157 (N-H), 3008 (C-H), 1624; 1589; 1495 (C=C), 1234 (C=S), 2979 (C-C); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,48 (s, 1H, H-3), 7,21 (d, 2H, H-5, H-9), 6,91 (d, 2H, H-6, H-8) 3,74 (t, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 181,13 (C-2), 131,73 (C-4), 156,61 (C-7), 125,60 (C-5, C-9), 114,00 (C-6, C-8), 55,26 (OCH₃).

p-cloro-fenil-tiouréia (36). Sólido branco; Ponto de fusão: 209-212 °C; Rendimento: 67%; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3446; 3273; 3168 (N-H), 3010 (C-H), 1606; 1541; 1473 (C=C), 1205 (C=S), 2225 (C-Cl); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,55 (s, 1H, H-3), 7,39 (d, 2H, H-5, H-9), 7,16 (d, 2H, H-6, H-8); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 181,21 (C-2), 143,96 (C-4), 132,85 (C-6, C-8), 121,61 (C-5, C-9), 119,12 (C-7).

p-bromo-fenil-tiouréia (37). Sólido amarelo pálido; Ponto de fusão: 176-178 °C; Rendimento: 56%; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3406; 3257; 3184 (N-H), 3082 (C-H), 1616; 1506; 1454 (C=C), 1226 (C=S), 2360 (C-Br); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,77 (s, 1H, H-3), 7,42 (d, 2H, H-5, H-9), 7,48 (d, 2H, H-6, H-8); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 181,14 (C-2), 138,66 (C-4), 131,40 (C-6, C-8), 124,89 (C-5, C-9), 105,15 (C-7).

3.2.2 Procedimento geral para a síntese dos isotiocianatos *p*-fenil-substituídos (BRITTO *et al.*, 2006).

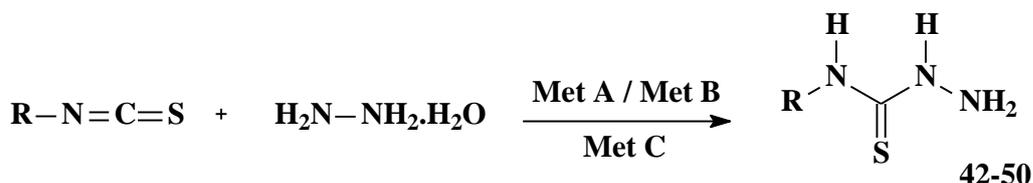


X = CH₃ (38), OCH₃ (39), Cl (40), Br (41)

Foram mantidos sob-refluxo 7 mmols de *p*-X-fenil-tiouréia em 19 mL de clorobenzeno. O refluxo permaneceu por um período de 8 horas. Em seguida, a solução foi destilada a pressão reduzida, em banho-maria, para a remoção de todo o clorobenzeno. Os isotiocianatos obtidos foram posteriormente usados sem nenhum tratamento. Os Rendimentos estão descritos na tabela 2 em Resultados e Discussão.

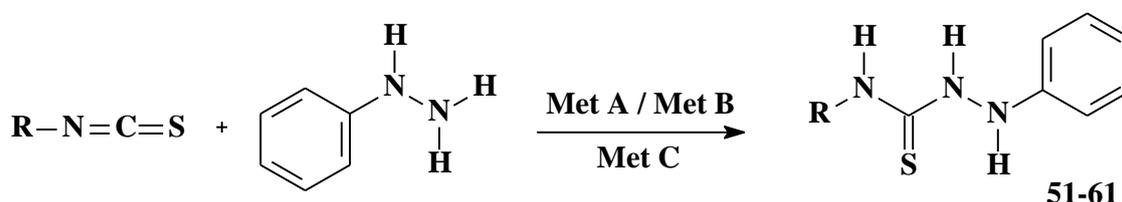
3.2.3 Procedimento geral para a síntese das tiossemicarbazidas

Tiossemicarbazidas N₄-substituídas



$\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ (42), $p\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$ (43), $p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$ (44), $p\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$ (45), CH_3CH_2 (46)
 $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ (47), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ (48), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$ (49), C_6H_{11} (50)

Tiossemicarbazidas N₁,N₄-disubstituídas



$\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ (51), $p\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$ (52), $p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$ (53), $p\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$ (54), $p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4$ (55), $p\text{-Br-C}_6\text{H}_4$ (56)
 CH_3CH_2 (57), $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ (58), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ (59), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$ (60), C_6H_{11} (61)

Metodologia A: Agitação a temperatura ambiente (HUANG, et al., 2010)

Em um balão de fundo redondo adicionou-se 25 mmol de alquil ou aril isotiocianato, 25 mmol de hidrazina hidrato ou fenil hidrazina e tolueno como solvente orgânico. A mistura reacional permaneceu sob agitação por 1 hora. O produto formado precipitou no fundo do balão. Foi filtrado e lavado com tolueno gelado. Os Rendimentos estão descritos na tabela 3 em Resultados e Discussão.

Metodologia B: Irradiação de micro-ondas

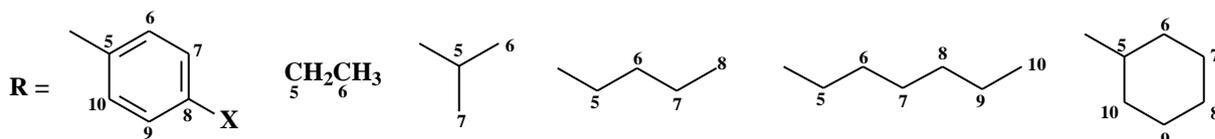
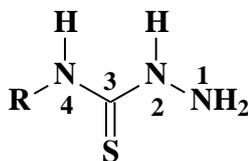
Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 25 mmol de alquil ou aril isotiocianato, 25 mmol de hidrazina hidrato ou fenil hidrazina e tolueno como solvente orgânico. Irradiou-se a mistura reacional em reator de micro-ondas por 30 minutos e 110°C a 100W de potência. Obteve-se a precipitação de cristais que foram filtrados e lavados com tolueno gelado. Os Rendimentos estão descritos na tabela 3 em Resultados e Discussão.

Metodologia C: Reação sólido-sólido

Em um gral foram misturados 0,74 mmol de alquil ou aril isotiocianato e 0,74 mmol de hidrazina hidrato ou fenil hidrazina. Os reagentes foram macerados vigorosamente com pistilo por 2 minutos na ausência de solvente orgânico. O sólido formado foi lavado com tolueno gelado. Os Rendimentos estão descritos na tabela 3 em Resultados e Discussão.

3.2.3.1 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazidas

➤ Tiossemicarbazidas N_4 -substituídas



X= H, CH₃, OCH₃ e NO₂

4-fenil-tiossemicarbazida (42). Sólido branco; Ponto de fusão: 138-139°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3460; 3302; 3163 (N-H), 2966 (C-H), 1527, 1066 (C=C), 1284 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 9,75 (s, 1H, H-2), 9,25 (s, 1H, H-4), 7,74 (t, 2H, H-6, H-10), 7,32 (t, 2H, H-7, H-9), 7,14 (t, 1H; H-8); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,82 (C-3), 140,27 (C-5), 129,24 (C-7, C-9), 125,99 (C-8), 125,00 (C-6, C-10).

*4-(*p*-metil-fenil)-tiossemicarbazida (43)*. Sólido branco; Ponto de fusão: 139-140°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3467; 3248; 3192 (N-H), 2918 (C-H), 1546, 1062 (C=C), 1274 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 9,66 (s, 1H, H-2), 9,48 (s, 1H, H-4), 7,57 (dd, 2H, H-7, H-9), 7,11 (dd, 2H, H-6, H-10), 2,28 (s, 3H; CH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,98 (C-3), 137,79 (C-5), 135,61 (C-8), 129,79 (C-7, C-9), 125,16 (C-6, C-10), 21,17 (CH₃).

*4-(*p*-metoxi-fenil)-tiossemicarbazida (44)*. Sólido bege; Ponto de fusão: 152-154°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3473, 3315; 3165 (N-H), 2962 (C-H), 1523, 1028 (C=C), 1238 (C=S); 1164 (ArC-O); 1068 (confirmação Ar-O-C); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 9,59 (s, 1H, H-2), 9,17 (s, 1H, H-4), 7,52 (dd, 2H, H-7, H-9), 7,38 (s, 1H, H-1), 6,87 (dd, 2H, H-6, H-10), 3,78 (s, 3H; OCH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 178,32 (C-3), 158,41 (C-8), 133,18 (C-5), 127,11 (C-6, C-10), 114,39 (C-7, C-9), 55,92 (OCH₃).

*4-(*p*-nitro-fenil)-tiossemicarbazida (45)*. Sólido amarelo; Ponto de fusão: 169-171°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3460; 3332; 3232 (N-H), 1554, 1062 (C=C), 1274 (C=S); 1500 (C-NO₂); 1343 (N=O); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 10,22 (s, 1H, H-2), 9,59 (s, 1H, H-4), 8,21 (dd, 2H, H-7, H-9), 8,20 (dd, 2H, H-6, H-10); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,38 (C-3), 146,49 (C-5), 125,05 (C-7, C-9), 123,79 (C-6, C-10).

4-etil-tiossemicarbazida (46). Sólido branco; Ponto de fusão: 168-169°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3506; 3284; 3192 (N-H), 2974 (C-H), 1271 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 8,88 (s, 1H, H-2), 7,98 (s, 1H, H-4), 3,64 (q, 2H, H-5), 1,77 (t, 3H, H-6); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 179,46 (C-3), 39,59 (C-5), 13,95 (C-6).

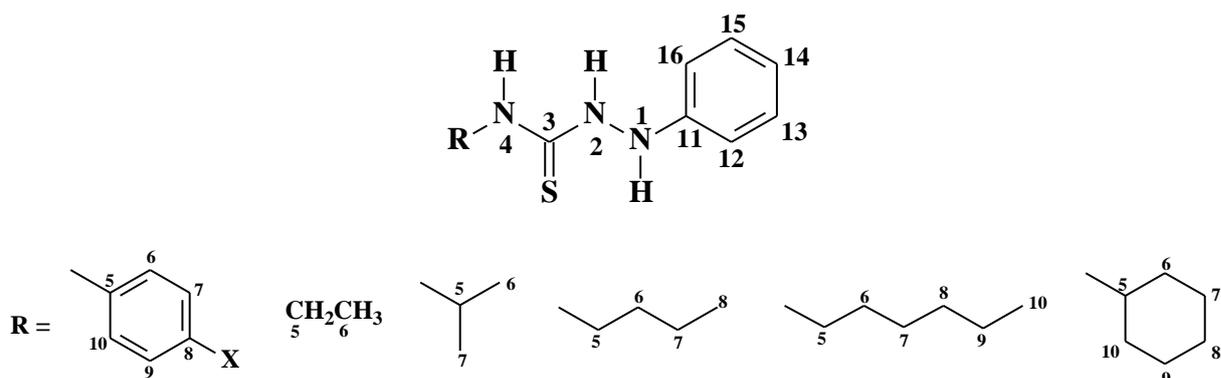
4-isopropil-tiossemicarbazida (47). Sólido branco; Ponto de fusão: 101-103°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3498; 3205, 3035 (N-H), 2972 (C-H), 1215 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 8,84 (s, 1H, H-2), 7,66 (s, 1H, H-4), 4,54 (q, 1H, H-5), 1,21 (d, 6H, H-6, H-7); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 178,68 (C-3), 46,87 (C-5), 22,78 (C-6, C-7).

4-butil-tiossemicarbazida (48). Sólido branco; Ponto de fusão: 186-188°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3371; 3276 (N-H), 2922 (C-H), 1259 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 7,33 (s, 1H, H-2), 7,31(s, 1H, H-4), 3,56 (q, 2H, H-5), 1,33 (m, 2H, H-6), 1,55 (m, 2H, H-7), 0,90 (t, 3H, H-8); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 183,92 (C-3), 43,99 (C-5), 32,27 (C-6), 20,58 (C-7), 14,08 (C-8).

4-hexil-tiossemicarbazida (49). Sólido branco; Ponto de fusão: 47-49°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3321; 3275 (N-H), 2925 (C-H), 1249 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,88 (s, 1H, H-2), 7,98 (s, 1H, H-4), 3,61 (q, 2H, H-5), 1,61 (m, 2H, H-6), 1,31(m, 6H, H-7, H-8, H-9), 0,87 (t, 3H, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 179,69 (C-3), 44,92 (C-5), 32,54 (C-8), 30,17 (C-6), 27,51 (C-7), 23,49 (C-9), 14,55 (C-10).

4-cicloexil-tiossemicarbazida (50). Sólido branco; Ponto de fusão: 148-150°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3454; 3296; 3189 (N-H), 2925 (C-H), 1230 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,84 (s, 1H, H-2), 7,68 (s, 1H, H-4), 4,22 (m, 1H, H-5), 1,98-1,20 (m, 10H, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 178,11 (C-3), 53,39 (C-5), 33,06 (C-6, C-10), 26,17 (C-8), 25,70 (C-7, C-9).

➤ **Tiossemicarbazidas N_1, N_4 -substituídas**



X= H, CH₃, OCH₃, NO₂, Cl e Br

1,4-difenil-tiossemicarbazida (51). Sólido branco; Ponto de fusão: 171-173°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3438; 3282; 3172 (N-H), 1498, 1105 (C=C), 1272 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 9,66 (s, 1H, H-2), 8,70 (s, 1H, H-4), 7,56 (d, 2H, H-6, H-10), 7,42 (s, 1H, H-1), 7,29 (t, 2H, H-7, H-9), 7,25 (t, 2H, H-13, H-15), 7,12 (t, 1H, H-8), 6,89 (t, 1H, H-14), 6,87 (d, 2H, H-12, H-16); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 183,18 (C-3), 149,03 (C-11), 140,45 (C-5), 130,25 (C-13, C-15), 129,22 (C-7, C-9), 125,95 (C-8), 125,24 (C-6, C-10), 122,00 (C-14), 114,61 (C-12, C-16).

1-fenil-4-(p-metil-fenil)-tiossemicarbazida (52). Sólido branco; Ponto de fusão: 174-175°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3438; 3276; 3190 (N-H), 2927 (C-H), 1548, 1099 (C=C), 1271 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 9,57 (s, 1H, H-2), 8,63 (s, 1H, H-4), 7,57 (d, 2H, H-6, H-10), 7,38 (s, 1H, H-1), 7,25 (t, 2H, H-13, H-15), 7,09 (t, 2H, H-7, H-9), 6,88 (t, 1H, H-14), 6,88 (d, 2H, H-12, H-16), 2,28 (s, 3H; CH₃); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 182,90 (C-3), 148,73 (C-11), 137,52 (C-5), 135,16 (C-8), 129,89 (C-13, C-15), 129,38 (C-7, C-9), 125,04 (C-6, C-10), 121,60 (C-14), 114,22 (C-12, C-16), 20,84 (CH₃).

1-fenil-4-(p-metoxi-fenil)-tiossemicarbazida (53). Sólido branco; Ponto de fusão: 184-186°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3440, 3267, 3163 (N-H), 2954 (C-H), 1508, 1024 (C=C), 1244 (C=S); 1170 (ArC-O); 1024 (confirmação Ar-O-C); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 9,51 (s, 1H, H-2), 8,60 (s, 1H, H-4), 7,53 (d, 2H, H-6, H-10), 7,38 (s, 1H, H-1), 7,25 (t, 2H, H-13, H-15), 6,88 (t, 1H, H-14), 6,84 (t, 2H, H-7, H-9), 6,84 (d, 2H, H-12, H-16); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 183,64 (C-3), 158,45 (C-8), 149,18 (C-11), 133,35 (C-5), 130,26 (C-13, C-15), 127,35 (C-6, C-10), 121,91 (C-14), 114,56 (C-12, C-16), 114,42 (C-7, C-9), 55,99 (OCH_3).

1-fenil-4-(p-nitro-fenil)-tiossemicarbazida (54). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 233-234°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3442; 3248; 3147 (N-H), 1564, 1108 (C=C), 1282 (C=S); 1498 (C- NO_2); 1328 (N=O); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,19 (s, 1H, H-2), 9,08 (s, 1H, H-4), 8,20 (d, 2H, H-6, H-10), 8,20 (t, 2H, H-7, H-9), 7,50 (s, 1H, H-1), 7,27 (t, 2H, H-13, H-15), 6,89 (d, 2H, H-12, H-16), 6,88 (t, 1H, H-14); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 182,97 (C-3), 148,84 (C-11), 146,84 (C-5), 145,06 (C-8), 130,45 (C-13, C-15), 125,03 (C-7, C-9), 124,11 (C-6, C-10), 122,46 (C-14), 114,94 (C-12, C-16).

1-fenil-4-(p-cloro-fenil)-tiossemicarbazida (55). Sólido branco; Ponto de fusão: 233-234°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3435, 3315, 3140 (N-H), 1600, 1554, 1508 (C=C), 1286 (C=S); 1209, 758 (C-Cl); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,20 (s, 1H, H-2), 10,04 (s, 1H, H-4), 8,15 (s, 1H, H-1), 7,93 (d, 2H, H-12, H-16), 7,76 (t, 2H, H-7, H-9), 7,24 (t, 2H, H-13, H-15), 6,84 (t, 1H, H-14), 6,79 (d, 2H, H-6, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 180,83 (C-3), 147,77 (C-11), 147,75 (C-5), 132,08 (C-7, C-9), 128,92 (C-13, C-15), 124,47 (C-6, C-10), 120,10 (C-14), 119,03 (C-8), 113,27 (C-12, C-16).

1-fenil-4-(p-bromo-fenil)-tiossemicarbazida (56). Sólido branco; Ponto de fusão: 209-212°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3249, 3182 (N-H), 1597, 1585, 1489 (C=C), 1199 (C=S); 1072, 769 (C-Br); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 9,92 (s, 1H, H-2), 9,79 (s, 1H, H-4), 8,07 (s, 1H, H-1), 7,50 (d, 2H, H-12, H-16), 7,47 (t, 2H, H-7, H-9), 7,22 (t, 2H, H-13, H-15), 6,81 (t, 1H, H-14), 6,76 (d, 2H, H-6, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 181,12 (C-3), 147,93 (C-11), 138,68 (C-5), 130,66 (C-7, C-9), 128,88 (C-13, C-15), 127,20 (C-6, C-10), 119,87 (C-14), 116,88 (C-8), 113,11 (C-12, C-16).

1-fenil-4-etil-tiossemicarbazida (57). Sólido branco; Ponto de fusão: 158-160°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3450; 3338; 3170 (N-H), 2968 (C-H), 1525, 1143 (C=C), 1228 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,27 (s, 1H, H-2), 7,87 (s, 1H, H-4), 7,21 (t, 2H, H-13, H-15), 7,14 (s, 1H, H-1), 6,84 (t, 1H, H-14); 6,77 (d, 2H, H-12, H-16), 3,64 (q, 2H, H-5), 1,13 (t, 3H, H-6); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 184,58 (C-3), 149,47 (C-11), 130,29 (C-13, C-15), 121,71 (C-14), 114,35 (C-12, C-16), 39,75 (C-5), 15,30 (C-6).

1-fenil-4-isopropil-tiossemicarbazida (58). Sólido branco; Ponto de fusão: 111-112°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3435; 3342, 3155 (N-H), 2974 (C-H), 1546, 1174 (C=C), 1236 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,25 (s, 1H, H-2), 7,55 (s, 1H, H-4), 7,21 (t, 2H, H-13, H-15), 7,12 (s, 1H, H-1), 6,84 (t, 1H, H-14); 6,79 (d, 2H, H-12, H-16), 4,60 (q, 1H, H-5), 1,18 (d, 6H, H-6, H-7); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 183,50 (C-3), 149,35 (C-11), 130,21 (C-13, C-15), 121,69 (C-14), 114,83 (C-12, C-16), 46,81 (C-5), 22,72 (C-6, C-7).

1-fenil-4-butil-tiossemicarbazida (59). Sólido branco; Ponto de fusão: 111-112°C; IV (KBr, ν cm^{-1}): 3429; 3334; 3182 (N-H), 2925 (C-H), 1556, 1076 (C=C), 1217 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,27 (s, 1H, H-2), 7,85 (s, 1H, H-4), 7,21 (t, 2H, H-13, H-15), 7,15 (s, 1H, H-

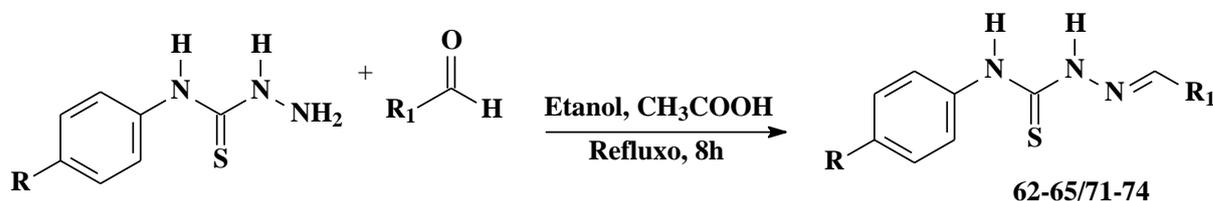
1), 6,84 (t, 1H, H-14); 6,78 (d, 2H, H-12, H-16), 3,61 (q, 2H, H-5), 1,53 (m, 2H, H-6), 1,32 (m, 2H, H-7), 0,88 (t, 3H, H-8); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 184,20 (C-3), 148,96 (C-11), 129,80 (C-13, C-15), 121,24 (C-14), 113,86 (C-12, C-16), 44,16 (C-5), 32,06 (C-6), 20,50 (C-7), 14,05 (C-8).

1-fenil-4-hexil-tiossemicarbazida (60). Sólido branco; Ponto de fusão: 125-127°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3512; 3330; 3168 (N-H), 2927 (C-H), 1556, 1080 (C=C), 1226 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,26 (s, 1H, H-2), 7,85 (s, 1H, H-4), 7,21 (t, 2H, H-13, H-15), 7,16 (s, 1H, H-1), 6,84 (t, 1H, H-14); 6,78 (d, 2H, H-12, H-16), 3,60 (q, 2H, H-5), 1,58 (m, 2H, H-6), 1,27 (m, 6H, H-7, H-8, H-9), 0,85 (t, 3H, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 184,26 (C-3), 149,00 (C-11), 129,81 (C-13, C-15), 121,52 (C-14), 113,89 (C-12, C-16), 44,47 (C-5), 32,25 (C-8), 29,29 (C-6), 27,11 (C-7) 23,21 (C-9), 14,23 (C-10).

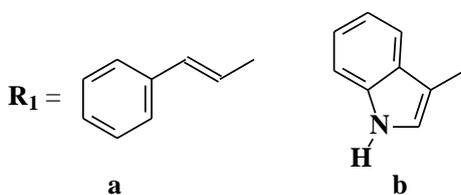
1-fenil-4-cicloexil-tiossemicarbazida (61). Sólido branco; Ponto de fusão: 168-170°C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3440; 3332; 3165 (N-H), 2925 (C-H), 1546, 1101 (C=C), 1220 (C=S); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 8,26 (s, 1H, H-2), 7,52 (s, 1H, H-4), 7,21 (t, 2H, H-13, H-15), 7,14 (s, 1H, H-1), 6,85 (t, 1H, H-14); 6,77 (d, 2H, H-12, H-16), 4,25 (m, 1H, H-5), 1,92-1,13 (m, 10H, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 182,99 (C-3), 148,88 (C-11), 129,82 (C-13, C-15), 121,35 (C-14), 113,97 (C-12, C-16), 53,39 (C-5), 33,06 (C-6, C-10), 26,15 (C-8), 25,74 (C-7, C-9).

3.2.4 Procedimento Geral para a Síntese das Tiossemicarbazonas

Metodologia A: Refluxo (DILOVIC, et al., 2008)



R = H (42), OCH₃ (43), CH₃ (44), NO₂ (45)



62: R = H; R₁ = a
63: R = CH₃; R₁ = a
64: R = CH₃O; R₁ = a
65: R = NO₂; R₁ = a
71: R = H; R₁ = b
72: R = CH₃; R₁ = b
73: R = CH₃O; R₁ = b
74: R = NO₂; R₁ = b

Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 1,19 mmol do aldeído, 10 gotas de ácido acético glacial e etanol em quantidade suficiente para solubilizar a mistura reacional. Agitou-se a mistura reacional por 10 minutos a temperatura ambiente. Adicionou-se 1,19 mmol da alquil ou aril tiossemicarbazida. A mistura reacional foi levada ao refluxo por 8 horas. Obteve-se a precipitação de cristais que foram filtrados e lavados com etanol gelado.

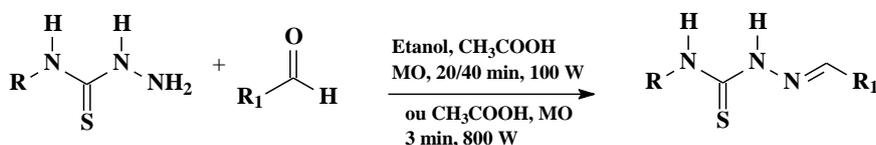
Os produtos foram obtidos com rendimentos satisfatórios e alto grau de pureza. Os rendimentos estão descritos na tabela 4 em Resultados e discussão.

Metodologia B: Irradiação de micro-ondas com solvente (SIRIAM, et al., 2009)

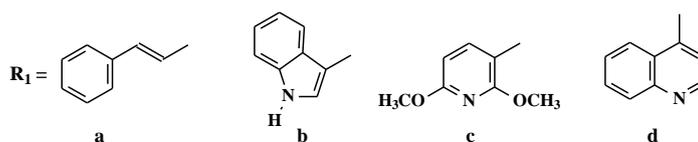
Em um balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se 0,84 mmol do aldeído, 5 gotas de ácido acético glacial e etanol em quantidade suficiente para solubilizar a mistura reacional. Agitou-se a mistura reacional por 10 minutos a temperatura ambiente. Adicionou-se 0,84 mmol da alquil ou aril tiossemicarbazida. A mistura reacional foi levada ao micro-ondas científico e irradiada por 20 minutos (R=alquila) ou 40 minutos (R=arila) a uma temperatura de 80 °C e potência de 100 Hz. Obteve-se a precipitação de cristais que foram filtrados e lavados com etanol gelado. Os produtos foram obtidos com rendimentos satisfatórios e alto grau de pureza. Os rendimentos estão descritos na tabela 4 em Resultados e discussão.

Metodologia C: Irradiação de micro-ondas sem solvente

Em um almofariz foram misturados 0,84 mmol do aldeído, 5 gotas de ácido acético glacial e 0,84 mmol da alquil ou aril tiossemicarbazida. Esta mistura reacional foi transferida para um becher e levada ao forno de micro-ondas doméstico onde foi irradiada por 3 minutos a 800W de potência. O sólido formado foi lavado com etanol gelado. Os produtos foram obtidos puros com rendimentos satisfatórios e alto grau de pureza. Os rendimentos estão descritos na tabela 4 em Resultados e discussão.



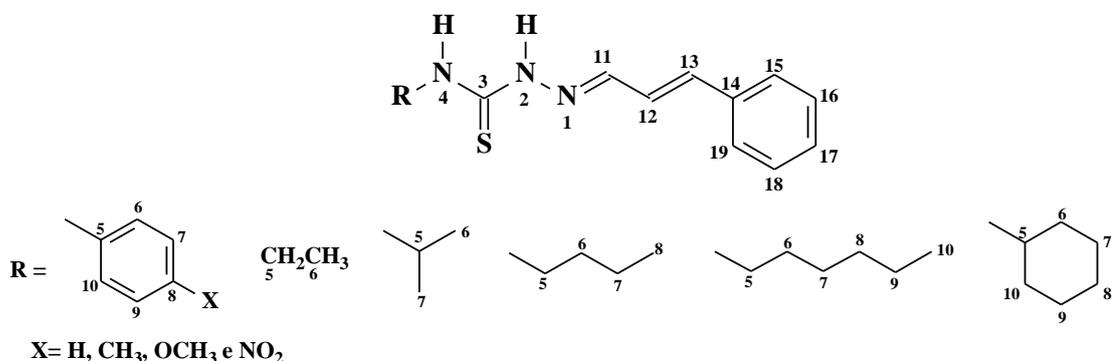
62-97



- | | | | |
|--|--|--|--|
| 62: R = C ₆ H ₅ ; R ₁ = a | 71: R = C ₆ H ₅ ; R ₁ = b | 80: R = C ₆ H ₅ ; R ₁ = c | 89: R = C ₆ H ₅ ; R ₁ = d |
| 63: R = <i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = a | 72: R = <i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = b | 81: R = <i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = c | 90: R = <i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = d |
| 64: R = <i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ ; R ₁ = a | 73: R = <i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ ; R ₁ = b | 82: R = <i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ ; R ₁ = c | 91: R = <i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄ ; R ₁ = d |
| 65: R = <i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = a | 74: R = <i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = b | 83: R = <i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = c | 92: R = <i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄ ; R ₁ = d |
| 66: R = CH ₃ CH ₂ ; R ₁ = a | 75: R = CH ₃ CH ₂ ; R ₁ = b | 84: R = CH ₃ CH ₂ ; R ₁ = c | 93: R = CH ₃ CH ₂ ; R ₁ = d |
| 67: R = (CH ₃) ₂ CH; R ₁ = a | 76: R = (CH ₃) ₂ CH; R ₁ = b | 85: R = (CH ₃) ₂ CH; R ₁ = c | 94: R = (CH ₃) ₂ CH; R ₁ = d |
| 68: R = CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ ; R ₁ = a | 77: R = CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ ; R ₁ = b | 86: R = CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ ; R ₁ = c | 95: R = CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂ ; R ₁ = d |
| 69: R = CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂ ; R ₁ = a | 78: R = CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂ ; R ₁ = b | 87: R = CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂ ; R ₁ = c | 96: R = CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂ ; R ₁ = d |
| 70: R = C ₆ H ₁₁ ; R ₁ = a | 79: R = C ₆ H ₁₁ ; R ₁ = b | 88: R = C ₆ H ₁₁ ; R ₁ = c | 97: R = C ₆ H ₁₁ ; R ₁ = d |

3.2.4.1 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazonas

➤ Tiossemicarbazonas derivadas do cinamaldeído



Cinamaldeído-4-fenil-tiossemicarbazona (62). Sólido amarelo; ponto de fusão: 174–176 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3469, 3271, 3107 (N-H), 1552 (C=C), 1517 (C=N), 1068 (C=S), 991 (C=C); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,80 (s, 1H, H-4), 9,93 (s, 1H, H-2), 7,98 (d, 1H, H-11), 7,60 (d, 2H, H-15, H-19), 7,56 (d, 2H, H-6, H-10), 7,39 (t, 2H, H-7, H-9), 7,30–7,35 (m, 1H, H-17), 7,30–7,35 (m, 2H, H-16, H-18), 7,16 (t, 1H, H-8), 7,06 (d, 1H, H-13), 6,94 (dd, 1H, H-12); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,42 (C-3), 145,81 (C-11), 141,04 (C-17), 140,54 (C-5), 129,62 (C-6, C-10), 128,41 (C-7, C-9), 126,45 (C-8), 126,40 (C-13), 125,24 (C-12), 137,64 (C-14), 130,33 (C-15, C-19), 130,28 (C-16, C-18).

Cinamaldeído-4-(p-metil-fenil)-tiossemicarbazona (63). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 178–180 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3465, 3240, 3118 (N-H), 2981 (C-H), 1556 (C=C), 1517 (C=N), 1,068 (C=S), 981 (C=C); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,85 (s, 1H, H-4), 9,84 (s, 1H, H-2), 7,96 (d, 1H, H-11), 7,55 (d, 2H, H-15, H-19), 7,44 (d, 2H, H-6, H-10), 7,12 (d, 2H, H-7, H-9), 7,32 (t, 1H, H-17), 7,39 (t, 2H, H-16, H-18), 7,05 (d, 1H, H-13), 6,94 (dd, 1H, H-12), 2,28 (s, 3H, CH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 175,41 (C-3), 144,77 (C-11), 139,14 (C-17), 136,35 (C-8), 135,90 (C-5), 134,18 (C-14), 128,89 (C-15, C-19), 128,55 (C-16, C-18), 126,91 (C-6, C-10), 125,12 (C-13), 124,74 (C-7, C-9), 20,52 (CH₃).

Cinamaldeído-4-(p-metoxi-fenil)-tiossemicarbazona (64). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 152–154 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3442, 3319, 3143 (N-H), 2985 (C-H), 1537 (C=C), 1514 (C=N), 1247 (C-O), 1201 (O-CH₃), 1026 (C=S), 964 (C=C); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,72 (s, 1H, H-4), 9,80 (s, 1H, H-2), 7,96 (d, 1H, H-11), 7,55 (d, 2H, H-15, H-19), 7,41 (d, 2H, H-6, H-10), 6,88 (d, 2H, H-7, H-9), 7,32 (t, 1H, H-17), 7,39 (t, 2H, H-16, H-18), 7,04 (d, 1H, H-13), 6,93 (dd, 1H, H-12), 3,74 (s, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,95 (C-3), 158,86 (C-8), 145,60 (C-11), 140,81 (C-17), 137,72 (C-14), 133,45 (C-5), 126,57 (C-12), 127,37 (C-6, C-10), 127,26 (C-13), 130,30 (C-15, C-19), 128,41 (C-16, C-18), 114,82 (C-7, C-9), 56,25 (OCH₃).

Cinamaldeído-4-(p-nitro-fenil)-tiossemicarbazona (65). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 198–199 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3433, 3263, 3149 (N-H), 1598 (C=C), 1562 (C=N), 1332 (N=O), 1207 (C=S), 970 (C=C), 850 (C-N); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,12 (s, 1H, H-4), 10,40 (s, 1H, H-2), 8,02 (d, 1H, H-11), 7,58 (d, 2H, H-15, H-19), 8,07 (d, 2H, H-6, H-10), 8,20 (d, 2H, H-7, H-9), 7,34 (t, 1H, H-17), 7,40 (t, 2H, H-16, H-18), 7,11 (d, 1H, H-13), 6,96 (dd, 1H, H-12); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 176,88 (C-3), 146,93 (C-11), 146,64 (C-8), 145,36 (C-5), 141,98 (C-

17), 137,57 (C-14), 130,58 (C-15, C-19), 130,36 (C-16, C-18), 128,53 (C-7, C-9), 126,21 (C-13), 125,35 (C-6, C-10), 124,00 (C-12).

Cinamaldeído-4-etil-tiossemicarbazona (66). Sólido branco; Ponto de fusão: 166–168 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3500, 3315, 3134 (N-H), 3001 (C-H), 1554 (C=N), 1523 (C=C), 1085 (C=S), 977 (C=C); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,28 (s, 1H, H-2), 7,97 (s, 1H, H-4), 7,94 (d, 1H, H-11), 7,55 (d, 2H, H-15, H-19), 7,38 (t, 2H, H-16, H-18), 7,31 (t, 1H, H-17), 6,99 (d, 1H, H-13), 6,88 (dd, 1H, H-12), 3,69 (q, 2H, H-5), 1,21 (t, 3H, H-6); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 178,57 (C-3), 144,51 (C-11), 140,31 (C-12), 137,05 (C-14), 130,28 (C-16, C-18), 130,19 (C-17), 129,01 (C-15, C-19), 125,31 (C-13), 39,42 (C-5), 14,20 (C-6).

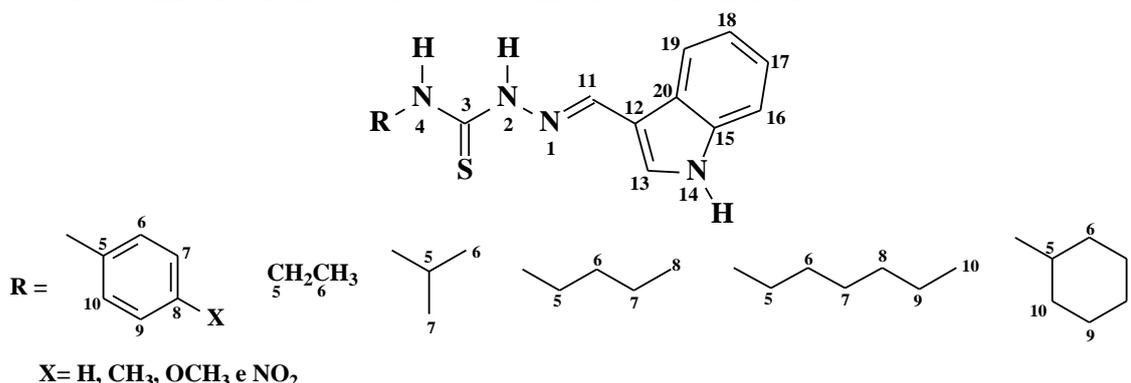
Cinamaldeído-4-isopropil-tiossemicarbazona (67). Sólido branco; Ponto de fusão: 195–196 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3440, 3296, 3126 (N-H), 2993 (C-H), 1556 (C=N), 1546 (C=C), 1072 (C=S), 974 (C=C); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,25 (s, 1H, H-2), 7,99 (s, 1H, H-4), 7,94 (d, 1H, H-11), 7,55 (d, 2H, H-15, H-19), 7,38 (t, 2H, H-16, H-18), 7,32 (t, 1H, H-17), 6,99 (d, 1H, H-13), 6,88 (dd, 1H, H-12), 6,64 (s, 1H, H-4), 4,56 (m, 1H, H-5), 1,26 (s, 3H, H-7), 1,25 (s, 3H, H-6); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 177,62 (C-3), 144,59 (C-11), 139,72 (C-12), 137,11 (C-14), 129,67 (C-18), 129,65 (C-16), 129,59 (C-17), 127,75 (C-15, C-19), 125,97 (C-13), 46,58 (C-5), 22,36 (C-6, H-7).

Cinamaldeído-4-butil-tiossemicarbazona (68). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 105–107 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3467, 3278, 3155 (N-H), 2997 (C-H), 1552 (C=N), 1517 (C=C), 1091 (C=S), 974 (C=C); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,28 (s, 1H, H-2), 7,98 (s, 1H, H-4), 7,94 (d, 1H, H-11), 7,54 (d, 2H, H-15, H-19), 7,38 (t, 2H, H-16, H-18), 7,31 (t, 1H, H-17), 6,99 (d, 1H, H-13), 6,89 (dd, 1H, H-12), 3,65 (q, 2H, H-5), 1,63 (m, 2H, H-6), 1,37 (m, 2H, H-7), 0,93 (t, 3H, H-8); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 178,76 (C-3), 144,56 (C-11), 139,63 (C-12), 137,73 (C-19), 137,10 (C-14), 129,59 (C-17), 129,26 (C-16, C-18), 127,73 (C-15), 125,97 (C-13), 44,38 (C-5), 30,04 (C-6), 19,76 (C-7), 14,10 (C-8).

Cinamaldeído-4-hexil-tiossemicarbazona (69). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 95–97 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3481, 3346, 3132 (N-H), 2927 (C-H), 1560 (C=N), 1527 (C=C), 1099 (C=S), 972 (C=C); RMN ^1H (acetona- d_6) δ 10,28 (s, 1H, H-2), 7,97 (s, 1H, H-4), 7,94 (d, 1H, H-11), 7,54 (d, 2H, H-15, H-19), 7,38 (t, 2H, H-16, C-18), 7,31 (t, 1H, H-17), 6,99 (d, 1H, H-13), 6,89 (dd, 1H, H-12), 3,64 (q, 2H, H-5), 1,67 (m, 2H, H-6), 1,33 (m, 6H, H-7, H-9), 0,88 (t, 3H, H-10); RMN ^{13}C (acetona- d_6) δ 178,74 (C-3), 144,55 (C-11), 139,62 (C-12), 137,10 (C-14), 129,67 (C-16, C-18), 129,61 (C-17), 127,72 (C-15, C-19), 125,96 (C-13), 44,68 (C-5), 32,26 (C-8), 29,87 (C-6), 27,22 (C-7), 22,20 (C-9), 17,27 (C-10).

Cinamaldeído-4-cicloexil-tiossemicarbazona (70). Sólido branco; Ponto de fusão: 225–226 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3465, 3275, 3122 (N-H), 2925 (C-H), 1546 (C=N), 1517 (C=C), 1068 (C=S), 974 (C=C); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,58 (s, 1H, H-2), 8,38 (s, 1H, H-4), 8,10 (dd, 1H, H-11), 7,47 (d, 2H, H-15, H-19), 7,35 (t, 2H, H-16, H-18), 7,28 (t, 1H, H-17), 6,99 (d, 1H, H-13), 6,86 (dd, 1H, H-12), 4,75 (m, 1H, H-5), 1,64–1,04 (m, 10H, H-6, H-10); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 177,57 (C-3), 143,60 (C-11), 138,87 (C-12), 136,80 (C-14), 129,26 (C-16, C-18), 129,14 (C-17), 127,36 (C-15, C-19), 125,87 (C-13), 55,39 (C-5), 32,94 (C-6, C-10), 25,81 (C-8), 25,44 (C-7, C-9).

➤ **Tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído**



Indol-3-carboxaldeído-4-fenil-tiossemicarbazona (71). Sólido bege; Ponto de fusão: 201–203 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3500, 3410, 3317 (N-H), 3314 (C-H), 1554 (C=N), 1105 (C=S); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,60 (s, 2H, H-2, H-14), 9,61 (s, 1H, H-4), 8,40 (s, 1H, H-11), 8,23 (d, 1H, H-19), 7,90 (d, 1H, H-13), 7,63 (d, 2H, H-6, H-10), 7,42 (d, 1H, H-16), 7,37 (t, 2H, H-7, H-9), 7,20 (t, 1H, H-18), 7,14 (t, 1H, H-17); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 176,82 (C-3), 141,99 (C-11), 140,83 (C-15), 138,95 (C-5), 132,05 (C-13), 129,60 (C-6, C-10), 126,17 (C-8), 125,96 (C-20), 125,24 (C-7, C-9), 124,38 (C-17), 123,08 (C-18), 122,42 (C-19), 113,21 (C-12), 113,25 (C-16).

Indol-3-carboxaldeído-4-(p-metil-fenil)-tiossemicarbazona (72). Sólido bege; Ponto de fusão: 198–199 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3525, 3404, 3309 (N-H), 2920 (C-H), 1544 (C=N), 1197 (C=S); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,67 (s, 1H, H-14), 11,54 (s, 1H, H-2), 9,52 (s, 1H, H-4), 8,39 (s, 1H, H-11), 8,20 (d, 1H, H-19), 7,89 (d, 1H, H-13), 7,48 (d, 2H, H-6, H-10), 7,42 (d, 1H, H-16), 7,20 (t, 1H, H-18), 7,15 (d, 2H, H-7, H-9), 7,13 (t, 1H, H-17), 2,30 (s, 3H, CH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 176,88 (C-3), 141,81 (C-11), 138,89 (C-15), 138,21 (C-8), 135,71 (C-5), 131,91 (C-13), 130,05 (C-6, C-10), 126,90 (C-20), 126,38 (C-7, H-9), 124,31 (C-17), 123,00 (C-18), 122,33 (C-19), 113,20 (C-16), 113,05 (C-12), 21,38 (CH₃).

Indol-3-carboxaldeído-4-(p-metoxi-fenil)-tiossemicarbazona (73). Sólido bege; Ponto de fusão: 202–203 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3435, 3315, 3203 (N-H), 2972 (C-H), 1548 (C=N), 1245 (C-O), 1110 (C=S), 1029 (O-CH₃); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,67 (s, 1H, H-14), 11,49 (s, 1H, H-2), 9,47 (s, 1H, H-4), 8,39 (s, 1H, H-11), 8,23 (d, 1H, H-19), 7,88 (d, 1H, H-13), 7,44 (d, 2H, H-6, H-10), 7,42 (d, 1H, H-16), 7,19 (t, 1H, H-18), 7,13 (t, 1H, H-17), 6,92 (d, 2H, H-7, H-9), 3,76 (s, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,37 (C-3), 158,77 (C-8), 141,78 (C-11), 138,97 (C-15), 133,80 (C-5), 131,90 (C-13), 127,52 (C-6, C-10), 126,00 (C-20), 124,37 (C-17), 123,16 (C-18), 122,37 (C-19), 114,79 (C-7, C-9), 113,24 (C-16), 113,22 (C-12), 58,25 (OCH₃).

Indol-3-carboxaldeído-4-(p-nitro-fenil)-tiossemicarbazona (74). Sólido laranja; Ponto de fusão: 210–212 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3518, 3367, 3296 (N-H), 3124 (C-H), 1550 (C=N), 1334 (N=O), 1107 (C=S), 844 (C-N); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 11,97 (s, 1H, H-14), 11,74 (s, 1H, H-2), 10,08 (s, 1H, H-4), 8,44 (s, 1H, H-11), 8,23 (d, 2H, H-6, H-10), 8,18 (d, 1H, H-19), 8,09 (d, 2H, H-7, H-9), 7,95 (d, 1H, H-13), 7,43 (d, 1H, H-16), 7,21 (t, 1H, H-18), 7,15 (t, 1H, H-17); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 175,97 (C-3), 146,97 (C-8), 145,16 (C-5), 143,17 (C-11), 139,03 (C-15), 132,67 (C-13), 126,99 (C-20), 125,38 (C-7, C-9), 124,55 (C-17), 123,82 (C-6, C-10), 123,16 (C-18), 122,62 (C-19), 113,38 (C-6), 113,04 (C-12).

Indol-3-carboxaldeído-4-etil-tiossemicarbazona (75). Sólido bege; Ponto de fusão: 226–228 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3498, 3352, 3238 (N-H), 2972 (C-H), 1546 (C=N), 1109 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,83 (s, 1H, H-14), 12,29 (s, 1H, H-2), 8,76 (s, 1H, H-11), 8,62 (d, 1H, H-19), 8,51 (s, 1H, H-4), 7,89 (d, 1H, H-13), 7,57 (d, 1H, H-16), 7,32 (t, 1H, H-18), 7,23 (t, 1H, H-17), 3,99 (m, 2H, H-5), 1,26 (t, 3H, H-6); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 178,10 (C-3), 140,32 (C-11), 138,37 (C-15), 130,85 (C-13), 125,35 (C-20), 123,36 (C-17), 122,44 (C-18), 121,20 (C-19), 112,63 (C-12), 112,45 (C-16), 39,32 (C-5), 15,15 (C-6).

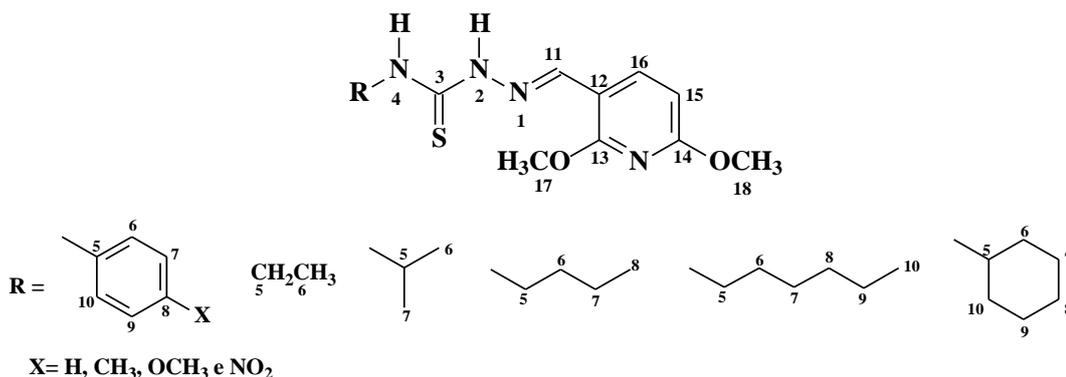
Indol-3-carboxaldeído-4-isopropil-tiossemicarbazona (76). Sólido bege; Ponto de fusão: 156–158 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3471, 3346, 3307 (N-H), 2922 (C-H), 1548 (C=N), 1056 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,86 (s, 1H, H-14), 12,34 (s, 1H, H-2), 8,75 (s, 1H, H-11), 8,55 (d, 1H, H-19), 7,95 (s, 1H, H-4), 7,91 (d, 1H, H-13), 7,59 (d, 1H, H-16), 7,39 (t, 1H, H-18), 7,35 (t, 1H, H-17), 5,00 (m, 1H, H-5), 1,33 (s, 3H, H-6), 1,32 (s, 3H, H-7); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 177,21 (C-3), 140,19 (C-11), 130,89 (C-13), 138,46 (C-15), 125,46 (C-20), 123,47 (C-17), 122,03 (C-18), 121,45 (C-19), 112,68 (C-16), 112,62 (C-12), 42,35 (C-5), 22,70 (C-6, C-7).

Indol-3-carboxaldeído-4-butil-tiossemicarbazona (77). Sólido bege; Ponto de fusão: 172–178 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3410, 3365, 3138 (N-H), 2954 (C-H), 1537 (C=N), 1105 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,84 (s, 1H, H-14), 12,34 (s, 1H, H-2), 8,77 (s, 1H, H-11), 8,64 (d, 1H, H-19), 8,45 (s, 1H, H-4), 7,90 (d, 1H, H-13), 7,34 (t, 1H, H-18), 7,58 (d, 1H, H-16), 7,28 (t, 1H, H-17), 3,97 (q, 2H, H-5), 1,71 (m, 2H, H-7), 1,36 (m, 2H, H-6), 0,84 (t, 3H, H-8); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 178,31 (C-3), 140,29 (C-11), 130,94 (C-13), 138,45 (C-15), 125,41 (C-20), 123,44 (C-17), 122,45 (C-18), 121,29 (C-19), 112,71 (C-16), 112,56 (C-12), 44,26 (C-5), 32,05 (C-6), 20,43 (C-7), 14,01 (C-8).

Indol-3-carboxaldeído-4-hexil-tiossemicarbazona (78). Sólido bege; Ponto de fusão: 170–172 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3431, 3354, 3259 (N-H), 2925 (C-H), 1544 (C=N), 1105 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,84 (s, 1H, H-14), 12,34 (s, 1H, H-2), 8,77 (s, 1H, H-11), 8,65 (d, 1H, H-19), 8,47 (s, 1H, H-4), 7,90 (d, 1H, H-13), 7,58 (d, 1H, H-16), 7,34 (t, 1H, H-18), 7,29 (t, 1H, H-17), 3,99 (q, 2H, H-5), 1,75 (m, 2H, H-6), 1,35 (m, 2H, H-7), 1,21 (m, 4H, H-8, H-9), 0,80 (t, 3H, H-10); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 178,25 (C-3), 140,30 (C-11), 138,42 (C-15), 130,96 (C-13), 125,36 (C-20), 123,42 (C-17), 122,43 (C-19), 121,25 (C-18), 112,68 (C-12), 112,53 (C-16), 44,54 (C-5), 31,75 (C-8), 29,60 (C-6), 26,95 (C-7), 22,85 (C-9), 14,06 (C-10).

Indol-3-carboxaldeído-4-cicloexil-tiossemicarbazona (79). Sólido bege; Ponto de fusão: 203–205 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3410, 3354, 3219 (N-H), 2923 (C-H), 1544 (C=N), 1105 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,88 (s, 1H, H-14), 12,39 (s, 1H, H-2), 8,75 (s, 1H, H-11), 8,60 (d, 1H, H-19), 8,03 (s, 1H, H-4), 7,92 (d, 1H, H-13), 7,60 (d, 1H, H-16), 7,44 (t, 1H, H-18), 7,37 (t, 1H, H-17), 4,77 (m, 1H, H-5), 1,65-1,10 (m, 10H, H-6, H-10); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 177,04 (C-3), 140,10 (C-11), 130,98 (C-13), 138,47 (C-15), 123,47 (C-17), 125,41 (C-20), 122,04 (C-18), 121,44 (C-19), 112,69 (C-16), 112,63 (C-12), 52,58 (C-5), 32,96 (C-6, C-10), 25,74 (C-7), 25,02 (C-7, C-9).

➤ **Tiossemicarbazonas derivadas do 2,6-dimetoxi-piridina-5-carboxaldeído**



2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-fenil-tiossemicarbazona (80). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 211–212 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3437, 3307, 3128 (N-H), 2978 (C-H), 1595 (C=N), 1326 (C-O), 1205 (O-CH₃), 1004 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 11,77 (s, 1H, H-4), 10,06 (s, 1H, H-2), 8,58 (d, 1H, H-16), 8,32 (s, 1H, H-11), 7,53 (d, 2H, H-6, H-10), 7,35 (t, 2H, H-7, H-9), 7,19 (t, 1H, H-8), 6,45 (d, 1H, H-15), 3,95 (s, 3H, H-17), 3,90 (s, 3H, H-18); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 175,52 (C-3), 163,64 (C-13), 160,53 (C-14), 139,08 (C-5), 138,62 (C-16), 137,31 (C-11), 127,95 (C-7, C-9), 125,70 (C-6, C-10), 125,14 (C-8), 108,34 (C-12), 102,39 (C-15), 53,52 (C-17), 53,47 (C-18).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-(p-metil-fenil)-tiossemicarbazona (81). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 187–188 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3469, 3286, 3140 (N-H), 2983 (C-H), 1598 (C=N), 1126 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 11,72 (s, 1H, H-4), 9,99 (s, 1H, H-2), 8,58 (d, 1H, H-16), 8,31 (s, 1H, H-11), 7,38 (d, 2H, H-6, H-10), 7,14 (d, 2H, H-7, H-9), 6,45 (d, 1H, H-15), 3,94 (s, 3H, H-17), 3,90 (s, 3H, H-18), 2,49 (s, 3H, CH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 175,60 (C-3), 163,61 (C-13), 160,50 (C-14), 138,61 (C-16), 137,15 (C-11), 136,53 (C-8), 134,32 (C-5), 128,45 (C-6), 128,43 (C-10), 125,68 (C-7, C-9), 108,38 (C-12), 102,39 (C-15), 53,52 (C-17), 53,46 (C-18), 20,53 (CH₃).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-(p-metoxi-fenil)-tiossemicarbazona (82). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 189–190 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3477, 3329, 3134 (N-H), 2981 (C-H), 1604 (C=N), 1326 (C-O), 1213 (O-CH₃), 1114 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 11,69 (s, 1H, H-4), 9,96 (s, 1H, H-2), 8,58 (d, 1H, H-16), 8,30 (s, 1H, H-11), 7,35 (d, 2H, H-6, H-10), 6,90 (t, 2H, H-7, H-9), 6,44 (d, 1H, H-15), 3,94 (s, 3H, H-17), 3,90 (s, 3H, H-18), 3,75 (s, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 175,94 (C-3), 163,59 (C-13), 160,48 (C-14), 156,86 (C-8), 138,59 (C-16), 137,02 (C-11), 132,00 (C-5), 127,45 (C-6, C-10), 113,20 (C-7, C-9), 108,43 (C-12), 102,38 (C-15), 55,20 (OCH₃), 53,53 (C-17), 53,46 (C-18).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-(p-nitro-fenil)-tiossemicarbazona (83). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 209–211 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3454, 3257, 3122 (N-H), 2968 (C-H), 1598 (C=N), 1332 (N=O), 1107 (C=S), 844 (C-N); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 12,12 (s, 1H, H-4), 10,37 (s, 1H, H-2), 8,56 (d, 1H, H-16), 8,37 (s, 1H, H-11), 8,21 (d, 2H, H-7, H-9), 8,04 (d, 2H, H-6, H-10), 6,49 (d, 1H, H-15), 3,95 (s, 3H, H-17), 3,90 (s, 3H, H-18); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 174,71 (C-3), 163,92 (C-13), 160,79 (C-14), 145,41 (C-8), 143,32 (C-5), 138,69 (C-16), 138,62 (C-11), 124,17 (C-6, C-10), 123,64 (C-7, C-9), 107,99 (C-12), 102,52 (C-15), 53,58 (C-17), 53,54 (C-18).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-ethyl-tiossemicarbazona (84). Sólido branco; Ponto de fusão: 218–220 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3450, 3276, 3138 (N-H), 2976 (C-H), 1604 (C=N), 1380 (C-O), 1236 (O-CH₃), 1012 (C=S); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 12,49 (s, 1H, H-2), 8,99 (s, 1H, H-4), 8,61 (s, 1H, H-11), 7,92 (d, 1H, H-16), 6,24 (d, 1H, H-15), 3,98 (m, 2H, H-5), 3,83 (s, 3H, H-17), 3,80 (s, 3H, H-18), 1,28 (t, 3H, H-6); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 178,48 (C-3), 164,21 (C-13), 161,15 (C-14), 137,49 (C-16), 137,17 (C-11), 109,01 (C-12), 102,99 (C-15), 53,55 (C-17), 53,51 (C-18), 39,36 (C-5), 15,06 (C-6).

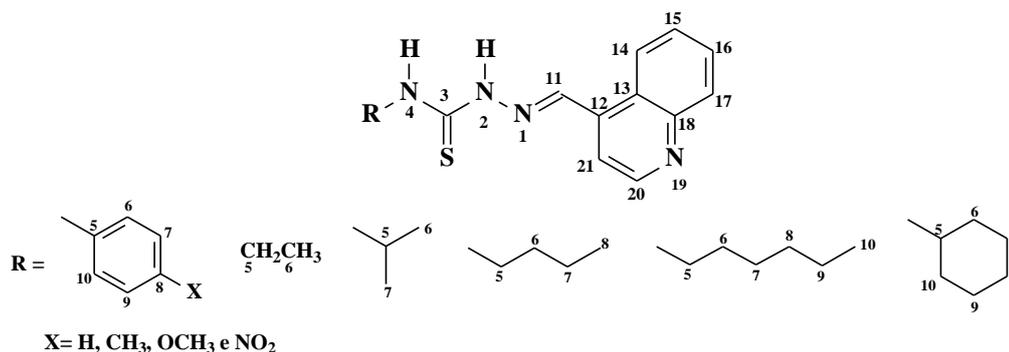
2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-isopropil-tiossemicarbazona (85). Sólido branco; Ponto de fusão: 216–218 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3446, 3315, 3151 (N-H), 2970 (C-H), 1597 (C=N), 1325 (C-O), 1240 (O-CH₃), 1018 (C=S); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 12,45 (s, 1H, H-2), 8,63 (s, 1H, H-11), 8,43 (s, 1H, H-4), 7,93 (d, 1H, H-16), 6,24 (d, 1H, H-15), 5,09 (m, 1H, H-5), 3,82 (s, 3H, H-17), 3,79 (s, 3H, H-18), 1,32 (s, 3H, H-6), 1,30 (s, 3H, H-7); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 177,49 (C-3), 164,23 (C-13), 161,18 (C-14), 137,57 (C-16), 137,40 (C-11), 108,88 (C-12), 102,98 (C-15), 53,54 (C-17), 53,51 (C-18), 46,48 (C-5), 22,39 (C-6, C-7).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-butil-tiossemicarbazona (86). Sólido branco; Ponto de fusão: 204–206 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3464, 3334, 3132 (N-H), 2987 (C-H), 1604 (C=N), 1332 (C-O), 1215 (O-CH₃), 1008 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 10,28 (s, 1H, H-2), 8,29 (s, 1H, H-11), 8,21 (s, 1H, H-4), 6,36 (d, 1H, H-15), 3,98 (s, 3H, H-17), 3,93 (s, 3H, H-18), 3,65 (q, 2H, H-5), 1,91 (m, 2H, H-7), 1,80 (m, 2H, H-6), 0,92 (t, 3H, H-8); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 178,84 (C-3), 167,93 (C-13), 160,83 (C-14), 141,43 (C-16), 137,29 (C-11), 109,45 (C-12), 104,42 (C-15), 53,92 (C-16, C-18), 44,39 (C-5), 32,17 (C-6), 20,67 (C-7), 14,14 (C-8).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-hexil-tiossemicarbazona (87). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 130–132 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3437, 3309, 3126 (N-H), 2952 (C-H), 1602 (C=N), 1328 (C-O), 1238 (O-CH₃), 1012 (C=S); RMN ¹H (acetona-*d*₆) δ 10,28 (s, 1H, H-2), 8,87 (t, 3H, H-10), 8,29 (s, 1H, H-11), 8,25 (s, 1H, H-4), 8,21 (d, 1H, H-16), 6,36 (d, 1H, H-15), 3,97 (s, 3H, H-17), 3,93 (s, 3H, H-18), 3,64 (q, 2H, H-5), 1,65 (m, 2H, H-6), 1,32 (m, 6H, H-7, H-9); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 178,79 (C-3), 164,96 (C-14), 161,81 (C-13), 138,37 (C-16), 137,26 (C-11), 109,49 (C-12), 103,42 (C-15), 53,92 (C-17, C-18), 44,68 (C-5), 32,39 (C-8), 32,22 (C-9), 29,97 (C-6), 27,24 (C-7), 14,27 (C-10).

2,6-Dimetoxipiridina-3-carboxaldeído-4-cicloexil-tiossemicarbazona (88). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 241–243 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3437, 3332, 3113 (N-H), 2978 (C-H), 1602 (C=N), 1328 (C-O), 1222 (O-CH₃), 1014 (C=S); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 12,49 (s, 1H, H-2), 8,63 (s, 1H, H-11), 8,37 (s, 1H, H-4), 8,01 (d, 1H, H-16), 6,29 (d, 1H, H-15), 4,79 (m, 1H, H-5), 3,83 (s, 3H, H-18), 3,80 (s, 3H, H-17), 1,62–0,99 (m, 10H, H-6, H-10); RMN ¹³C (acetona-*d*₆) δ 177,40 (C-3), 164,27 (C-13), 161,21 (C-14), 137,41 (C-11), 137,70 (C-16), 108,90 (C-12), 103,04 (C-15), 53,56 (C-17), 53,53 (C-18), 53,49 (C-5), 32,88 (C-6, C-10), 25,76 (C-8), 25,48 (C-7, C-9).

➤ **Tiossemicarbazonas derivadas da quinolina-4-carboxaldeído**



Quinolina-4-carboxaldeído-4-fenil-tiossemicarbazona (89). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 195–198 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3400, 3338, 3132 (N-H), 1525 (C=N), 1195 (C=S); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 13,28 (s, 1H, H-2), 11,02 (s, 1H, H-4), 9,09 (s, 1H, H-11), 8,38 (d, 1H, H-14), 8,34 (d, 1H, H-17), 8,06 (d, 2H, H-6, H-10), 7,73 (t, 1H, H-16), 7,72 (d, 1H, H-20), 7,54 (t, 1H, H-15), 7,41 (t, 2H, H-7, H-9), 7,22 (t, 1H, H-8), 8,39 (d, 1H, H-19); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 178,16 (C-3), 150,39 (C-19), 149,49 (C-18), 140,04 (C-5), 137,79 (C-11), 137,77 (C-12), 130,85 (C-16), 129,74 (C-4), 128,79 (C-9), 128,78 (C-7), 127,52 (C-15), 125,98 (C-6, C-10), 125,95 (C-8), 125,92 (C-13), 123,79 (C-17), 118,53 (C-20).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-(p-metil-fenil)-tiossemicarbazona (90). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 203–205 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3435, 3319, 3211 (N-H), 2985 (C-H), 1544 (C=N), 1188 (C=S); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 13,22 (s, 1H, H-2), 11,00 (s, 1H, H-4), 9,09 (s, 1H, H-11), 8,39 (d, 1H, H-19), 8,38 (d, 1H, H-14), 8,34 (d, 1H, H-17), 7,91 (d, 1H, H-6), 7,88 (d, 1H, H-10), 7,73 (t, 1H, H-16), 7,72 (d, 1H, H-20), 7,54 (t, 1H, H-15), 7,03 (d, 2H, H-7, H-9), 2,19 (s, 1H, H-20); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 178,68 (C-3), 150,39 (C-19), 149,51 (C-18), 137,86 (C-8), 137,63 (C-11), 137,46 (C-12), 132,96 (C-5), 130,85 (C-16), 129,74 (C-14), 129,37 (C-6, C-10), 127,97 (C-7), 127,50 (C-15), 126,10 (C-9), 125,94 (C-13), 123,79 (C-17), 118,47 (C-20), 20,87 (CH₃).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-(p-metoxi-fenil)-tiossemicarbazona (91). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 186–189 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3435, 3309, 3201 (N-H), 2929 (C-H), 1550 (C=N), 1247 (C-O), 1184 (C=S), 1035 (O-CH₃); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 13,23 (s, 1H, H-2), 11,02 (s, 1H, H-4), 9,10 (s, 1H, H-11), 8,87 (d, 1H, H-19), 8,39 (d, 4H, H-14, OCH₃), 8,34 (d, 1H, H-17), 7,88 (d, 2H, H-7, H-9), 7,72 (d, 1H, H-20), 7,71 (t, 1H, H-16), 7,53 (t, 1H, H-15), 7,01 (d, 2H, H-6, H-10); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 178,73 (C-3), 158,12 (C-8), 150,43 (C-19), 149,54 (C-18), 137,90 (C-12), 137,60 (C-11), 132,97 (C-5), 130,89 (C-16), 129,79 (C-14), 128,05 (C-6, C-10), 127,57 (C-15), 126,00 (C-13), 123,52 (C-17), 118,28 (C-20), 114,13 (C-7, C-9), 55,37 (OCH₃).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-(p-nitro-fenil)-tiossemicarbazona (92). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 220–223 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3433, 3296, 3082 (N-H), 1552 (C=N), 1330 (N=O), 1193 (C=S), 852 (C-N); RMN ¹H (piridina-*d*₅) δ 13,65 (s, 1H, H-2), 11,35 (s, 1H, H-4), 9,13 (s, 1H, H-11), 8,87 (d, 1H, H-19), 8,38 (d, 2H, H-7, H-14), 8,34 (d, 2H, H-9, H-17), 8,26 (d, 1H, H-10), 8,06 (d, 1H, H-6), 7,73 (t, 1H, H-16), 7,65 (d, 1H, H-20), 7,58 (t, 1H, H-15); RMN ¹³C (piridina-*d*₅) δ 177,67 (C-3), 150,39 (C-19), 149,51 (C-18), 146,03 (C-8), 138,97 (C-11),

137,46 (C-12), 130,92 (C-16), 129,83 (C-14), 127,64 (C-15), 125,92 (C-13), 124,73 (C-7, C-10), 124,36 (C-6, C-9), 123,80 (C-17), 118,66 (C-20).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-etil-tiossemicarbazona (93). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 175–177 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3423, 3373, 3149 (N-H), 2958 (C-H), 1533 (C=N), 1230 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,86 (s, 1H, H-2), 9,31 (s, 1H, H-4), 9,01 (s, 1H, H-11), 8,84 (d, 1H, H-19), 8,35 (d, 1H, H-14), 8,32 (d, 1H, H-17), 7,69 (t, 1H, H-16), 7,66 (d, 1H, H-20), 7,50 (t, 1H, H-15), 4,01 (m, 2H, H-5), 1,32 (t, 3H, H-6); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 179,08 (C-3), 150,34 (C-19), 149,50 (C-18), 138,04 (C-12), 136,94 (C-11), 130,82 (C-16), 129,68 (C-14), 127,41 (C-15), 125,91 (C-13), 123,47 (C-7), 118,22 (C-20), 39,62 (C-5), 14,83 (C-6).

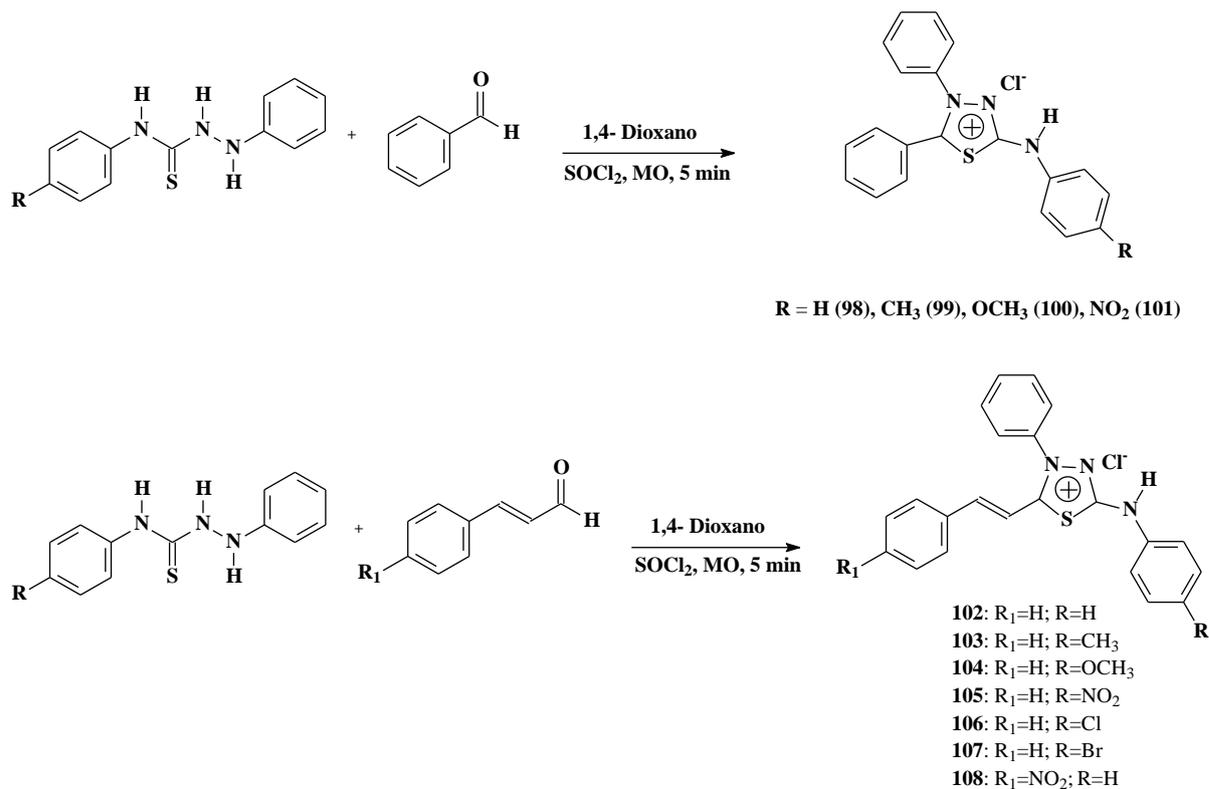
Quinolina-4-carboxaldeído-4-isopropil-tiossemicarbazona (94). Sólido branco; Ponto de fusão: 193–195 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3464, 3303, 3136 (N-H), 2976 (C-H), 1541 (C=N), 1236 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,86 (s, 1H, H-2), 9,28 (s, 1H, H-3), 8,99 (s, 1H, H-11), 8,83 (d, 1H, H-19), 8,72 (s, 1H, H-4), 8,32 (d, 2H, H-14, H-17), 7,70 (t, 1H, H-16), 7,63 (d, 1H, H-20), 7,54 (t, 1H, H-15), 5,09 (m, 1H, H-5), 1,37 (d, 3H, H-7), 1,35 (d, 3H, H-6); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 178,15 (C-3), 150,37 (C-18), 149,48 (C-19), 137,97 (C-12), 137,04 (C-11), 130,87 (C-16), 129,69 (C-14), 127,44 (C-15), 125,91 (C-13), 123,42 (C-7), 118,28 (C-20), 46,84 (C-5), 22,23 (C-6, C-7).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-butil-tiossemicarbazona (95). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 104–108 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3435, 3379, 3205 (N-H), 2927 (C-H), 1529 (C=N), 1211 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,89 (s, 1H, H-2), 9,26 (s, 1H, H-4), 9,01 (s, 1H, H-11), 8,86 (d, 1H, H-19), 8,38 (d, 1H, H-14), 8,33 (d, 1H, H-17), 7,70 (t, 1H, H-16), 7,69 (d, 1H, H-20), 7,50 (t, 1H, H-15), 4,00 (m, 2H, H-5), 1,79 (m, 2H, H-7), 1,37 (m, 2H, H-6), 0,85 (t, 2H, H-8); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 179,24 (C-3), 150,36 (C-19), 149,50 (C-18), 138,05 (C-12), 137,02 (C-11), 130,82 (C-16), 129,69 (C-14), 127,41 (C-15), 125,88 (C-13), 123,55 (C-17), 118,35 (C-20), 44,56 (C-5), 31,75 (C-6), 20,41 (C-7), 14,00 (C-8).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-hexil-tiossemicarbazona (96). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 158–160 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3456, 3271, 3153 (N-H), 2927 (C-H), 1543 (C=N), 1224 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,89 (s, 1H, H-2), 9,27 (s, 1H, H-4), 9,00 (s, 1H, H-11), 8,85 (d, 1H, H-19), 8,38 (d, 1H, H-14), 8,32 (d, 1H, H-17), 7,70 (t, 1H, H-16), 7,69 (d, 1H, H-20), 7,52 (t, 1H, H-15), 4,00 (q, 2H, H-5), 1,82 (m, 2H, H-6), 1,35 (m, 2H, H-7), 1,20 (m, 4H, H-8, H-9), 0,78 (t, 3H, H-10); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 179,28 (C-3), 150,41 (C-19), 149,56 (C-18), 137,10 (C-11), 138,08 (C-12), 130,89 (C-16), 129,73 (C-14), 127,46 (C-15), 125,93 (C-13), 123,60 (C-17), 118,42 (C-20), 44,95 (C-5), 31,80 (C-8), 26,98 (C-7), 22,86 (C-9), 29,70 (C-6), 14,18 (C-10).

Quinolina-4-carboxaldeído-4-cicloexil-tiossemicarbazona (97). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 208–210 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3469, 3255, 3174 (N-H), 2925 (C-H), 1527 (C=N), 1207 (C=S); RMN ^1H (piridina- d_5) δ 12,90 (s, 1H, H-2), 8,98 (s, 1H, H-11), 8,90 (d, 1H, H-19), 8,62 (s, 1H, H-4), 8,38 (d, 1H, H-14), 8,34 (d, 1H, H-17), 7,70 (d, 1H, H-20), 7,69 (t, 1H, H-16), 7,56 (t, 1H, H-15), 3,85 (m, 1H, H-5), 1,66-1,04 (m, 10H, H-6, H-10); RMN ^{13}C (piridina- d_5) δ 178,05 (C-3), 150,43 (C-19), 149,51 (C-18), 137,95 (C-11), 137,21 (C-12), 130,88 (C-16), 129,72 (C-14), 127,47 (C-15), 125,87 (C-13), 123,55 (C-17), 118,54 (C-20), 53,73 (C-5), 32,64 (C-6, C-10), 35,39 (C-9), 25,74 (C-8), 25,39 (C-7).

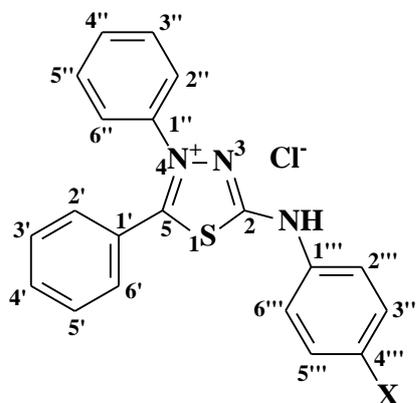
3.2.5 Procedimento Geral para a Síntese dos Cloridratos Meso-iônicos por Micro-ondas



Em um balão de fundo redondo de 50 ml adicionou-se 0,38 mmoles de difeniltiossemicarbazida substituída com 0,38 mmoles do aldeído e gotas de 1,4-dioxano para homogeneizar a mistura reacional. Em seguida acrescentou-se 1,14 mmoles de cloreto de tionila (3x excesso). Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 5 minutos de irradiação em reator de micro-ondas a 100 W de potência. Após a irradiação a mistura reacional ficou em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado sucessivamente com 1,4-dioxano gelado e água destilada gelada. Os rendimentos estão descritos na tabela 5 em Resultados e discussão.

3.2.5.1 Caracterização espectroscópica dos cloridratos mesoiônicos

➤ Derivados do benzaldeído



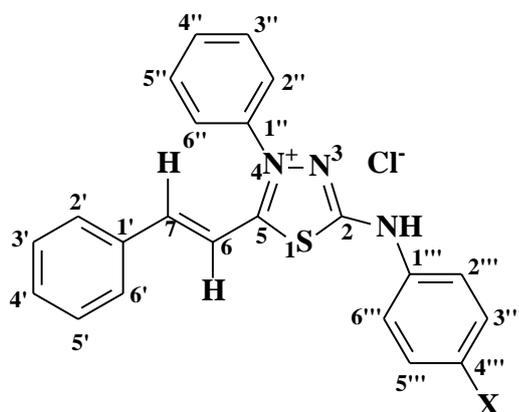
Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (98). Sólido amarelo pálido; Ponto de fusão: 356-358 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3419 (N-H); 3047 (C-H aromático); 2723 (C=NH⁺); 1569 (C=N); 1542, 1494 e 1444 (C=C aromático); 1319 (C-S); 755 e 692 (ArC-H - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,03 (s, 1H, N-H), 7,65 – 7,41 (m, 14 H, H-C aromáticos), 7,41 (t, 1H, H-4''); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 164,76 (C-5), 161,23 (C-2), 139,97 (C-1'), 138,54 (C-1''), 133,53 (C-4'), 131,73 (C-4''), 130,43 (C-3', C-5'), 130,14 (C-3'', C-5''), 129,80 (C-2'', C-6''), 129,55 (C-4'''), 126,34 (C-3''', C-5'''), 124,52 (C-2', C-6'), 123,36 (C-1'), 118,75 (C-2'', C-6'').

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-metil-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (99). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 270-272°C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3433 (N-H); 3041 (C-H aromático); 2914 (C-H alifático); 2767 (C=NH⁺); 1613, 1531 e 1514 (C=C aromático); 1562 (C=N); 1220 (C-S); 808 (ArC-H no plano – 2H viz); 758 e 694 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,73 (s, 1H, N-H), 7,67 (d, 2H, H-2'', H-6''), 7,58-7,50 (m, 10H, H-3'', H-4'', H-5'', H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-2''', H-6'''), 7,21 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 2,49 (s, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 163,85 (C-5), 160,42 (C-2), 137,73 (C-1'''), 136,10 (C-1''), 133,21 (C-4'''), 133,08 (C-4'), 131,38 (C-4''), 130,11 (C-3', C-5'), 129,86 (C-3'', C-5''), 129,86 (C-2'', C-6''), 129,27 (C-3''', C-5'''), 126,15 (C-2', C-6'), 123,24 (C-1'), 118,39 (C-2''', C-6'''), 20,46 (CH₃).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (100). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 260-262 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3435 (N-H); 3184 (C-H aromático); 3039 (C-H alifático); 2736 (C=NH⁺); 1616, 1573 e 1477 (C=C aromático); 1508 (C=N); 1249 (C-S); 1176 (ArC-O); 1031 (confirmação Ar-O-C); 821 (ArC-H no plano – 2H viz); 754 e 694 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,30 (s, 1H, N-H), 7,66 (d, 2H, H-2'' e H-6''), 7,51 (d, 2H, H-2''', H-6'''), 7,58-7,49 (m, 8H, H-3'', H-4'', H-5'', H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7,00 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 3,73 (s, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 161,34 (C-5), 156,06 (C-2), 148,47 (C-4'''), 144,22 (C-4'), 139,99 (C-1''), 137,00 (C-1'''), 131,80 (C-4''), 131,72 (C-1'), 130,16 (C-3', C-5'), 130,06 (C-3'', C-5''), 126,15 (C-2', C-6'), 124,13 (C-2''', C-6'''), 114,64 (C-3''', C-5'''), 55,31 (OCH₃).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (101). Sólido amarelo; Ponto de fusão: 282-284 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3435 (N-H); 3055 (C-H aromático); 2719 (C=NH⁺); 1579 (C=N); 1543 (C-NO₂); 1510, 1475 (C=C aromático); 1340 (simétrico N=O e C-S); 846 (ArC-H no plano – 2H viz); 756 e 690 (C-H aromático no plano – 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 13,62 (s, 1H, N-H), 8,32 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 7,82 (d, 2H, H-2''', H-6'''), 7,71 (d, 2H, H-2'' e H-6''), 7,67-7,52 (m, 8H, H-3'', H-4'', H-5'', H-2', H-3', H-4', H-5', H-6') ; RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 165,82 (C-5), 160,36 (C-2), 143,99 (C-1''), 142,45 (C-4'''), 137,60 (C-1'''), 133,38 (C-4'), 131,57 (C-4''), 130,26 (C-3', C-5'), 129,95 (C-3'', C-5''), 129,33 (C-2'', C-6''), 126,24 (C-2', C-6'), 125,74 (C-3''', C-5'''), 122,94 (C-1'), 118,74 (C-2''', C-6''').

➤ **Derivados do cinamaldeído**



X= H, CH₃, OCH₃, NO₂, Cl, Br

Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (102). Sólido amarelo pálido; Ponto de fusão: 266 – 268 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3432 (N-H); 3056 (C-H aromático e/ou vinílico); 2670 (C=NH⁺); 1604 (C=C vinílico); 1567 (C=N); 1538, 1498 e 1448 (C=C aromático); 1330 (C-S); 954 (C-H vinílico); 746 e 690 (ArC-H no plano – 5H viz). RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,41 (s, 1H, N-H), 8,01 (d, 1H, H-7), 7,58 (d, 2H, H-2''', H-6'''); 7,84 (d, 2H, H-3'', H-5''), 7,15 (t, 1H, H-4'''), 7,75 (m, 5H, H-2', H-6', H-2'', H-4'', H-6''), 7,44 (m, 5H, H-3', H-5', H-4', H-3''', H-5'''), 7,05 (d, 1H, H-6); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 162,90 (C-5), 159,14 (C-2), 147,90 (C-7), 138,51 (C-1'''), 136,98 (C-1'), 131,94 (C-4''), 131,70 (C-4'), 130,17 (C-2', C-6'), 129,51 (C-3', C-5'), 129,22 (C-3'', C-5''), 129,55 (C-4'''), 129,09 (C-2'', C-6''), 126,15 (C-3''', C-5'''), 124,17 (C-4'''), 118,60 (C-2''', C-6'''), 111,50 (C-6).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-metil-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (103). Sólido laranja; Ponto de fusão: 286-287 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3431 (N-H); 3039 (C-H aromático e/ou vinílico); 2922 (C-H alifático); 2746 (C=NH⁺); 1614 (C=C vinílico); 1564 e 1452 (C=C aromático); 1523 (C=N); 1340 (C-S); 1114 (C-H vinílico); 823 (ArC-H no plano - 2H viz); 763 e 688 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,58 (s, 1H, N-H), 8,25 (d, 2H, H-3'', H-5''), 8,10 (d, 1H, H-7), 8,01 (d, 2H, H-2'' e H-6''), 7,83-7,75 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-4''), 7,47 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 7,25 (d, 1H, H-6), 7,22 (d, 2H, H-2''', H-6'''), 2,27 (s, 3H, CH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 159,75 (C-5), 148,50 (C-2), 144,45 (C-7), 139,94 (C-1'''), 136,98 (C-1'), 133,61 (C-1''), 131,83 (C-4''), 130,18 (C-2', C-

6'), 130,07 (C-3', C-5'), 129,90 (C-3'', C-5''), 126,13 (C-4'''), 125,16 (C-2'', C-6''), 124,14 (C-3''', C-5'''), 118,81 (C-2''', C-6'''), 115,47 (C-6), 20,48 (CH₃).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-metoxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (104). Sólido vermelho, Ponto de fusão: 291-292 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3431 (N-H); 3043 (C-H aromático e/ou vinílico); 2929 (C-H alifático); 2717 (C=NH⁺); 1622 (C=C vinílico); 1595, 1575 e 1454 (C=C aromático); 1512 (C=N); 1342 (C-S); 1244 (ArC-O); 1109 (O-CH₃); 1029 (confirmação Ar-O-R); 954 (C-H vinílico); 829 (ArC-H no plano - 2H viz); 773 e 694 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,73 (s, 1H, N-H), 8,24 (d, 2H, H-3'', H-5''), 8,09 (d, 1H, H-7), 8,00 (d, 2H, H-2'' e H-6''), 7,83-7,75 (m, 6H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-4''), 7,52 (d, 2H, H-2''', H-6'''), 7,24 (d, 1H, H-6), 6,99 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 3,73 (s, 3H, OCH₃); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 161,33 (C-5), 156,04 (C-2), 148,45 (C-4'''), 144,20 (C-7), 139,98 (C-1'), 137,00 (C-1''), 131,79 (C-4''), 131,72 (C-1'''), 130,15 (C-2', C-6'), 130,03 (C-3'', C-5''), 126,14 (C-2'', C-6''), 124,13 (C-2''', C-6'''), 120,48 (C-4'), 115,50 (C-6), 114,63 (C-3''', C-5'''), 55,30 (OCH₃).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (105). Sólido laranja, Ponto de fusão: 290-293 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3435 (N-H); 2997 (C-H aromático); 2582 (C=NH⁺); 1541 (C=N); 1338 (C-NO₂); 1627; 1585; 1496 (C=C aromático); 1338 (C-S); 850 (ArC-H no plano - 2H viz); 769 e 690 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,86 (s, 1H, N-H), 8,32 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 8,11 (d, 1H, H-7), 7,85 (m, 2H, H-5'' e H-3''), 7,77 (m, 5H, H-2'', H-6'', H-4'', H-2''', H-6'''), 7,47 (m, 5H, H-2', H-6', H-4', H-3', H-5'), 7,10 (d, 1H, H-6); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 162,83 (C-5), 156,96 (C-2), 154,96 (C-4'''), 142,81 (C-7), 139,35 (C-1'''), 137,58 (C-1'), 134,38 (C-1''), 131,18 (C-4''), 130,83 (C-4'), 130,00 (C-2', C-6'), 139,13 (C-3', C-5'), 128,24 (C-3'', C-5''), 126,01 (C-2'', C-6''), 125,26 (C-3''', C-5'''), 121,42 (C-2''', C-6'''), 112,46 (C-6).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-cloro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (106). Sólido laranja, Ponto de fusão: 282-284 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3433 (N-H); 2922 (C-H aromático e/ou vinílico); 2586 (C=NH⁺); 1620 (C=C vinílico); 1562 e 1492 (C=C aromático); 1537 (C=N); 1249 (C-S); 1097 (C-H vinílico); 1033 (C-Br); 817 (ArC-H no plano - 2H viz); 761 e 686 (C-H aromático no plano - 5H viz). RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,82 (s, 1H, N-H), 8,02 (d, 1H, H-7), 7,84 (dd, 2H, H-3'', H-5''), 7,75 (m, 5H, H-2'', H-6'', H-4'', H-3', H-5'), 7,61 (d, 2H, H-2', H-6'), 7,47 (m, 5H, H-2''', H-6''', H-3''', H-5''', H-4'), 7,04 (d, 1H, H-6); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 163,23 (C-5), 158,84 (C-2), 148,18 (C-7), 137,44 (C-1'''), 136,93 (C-1'), 133,78 (C-1''), 131,95 (C-4''), 131,71 (C-4'), 130,16 (C-3', C-5'), 129,36 (C-3''', C-5'''), 129,09 (C-2''', C-6'''), 129,15 (C-2', C-6'), 127,65 (C-4'''), 126,16 (C-2'', C-6''), 120,07 (C-3'', C-5''), 111,43 (C-6).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'''-bromo-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (107). Sólido laranja, Ponto de fusão: 296-298 °C; IV (KBr, ν cm⁻¹) 3432 (N-H); 3037 (C-H aromático e/ou vinílico); 2663 (C=NH⁺); 1604 (C=C vinílico); 1560, 1484 e 1442 (C=C aromático); 1540 (C=N); 1309 (C-S); 1114 (C-H vinílico); 948, 669 (C-Br); 827 (ArC-H no plano - 2H viz); 755 e 690 (C-H aromático no plano - 5H viz). RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 12,62 (s, 1H, N-H), 8,03 (d, 1H, H-7), 7,83 (dd, 2H, H-3'', H-5''), 7,75 (m, 5H, H-2'', H-6'', H-4'', H-3', H-5'), 7,60 (d, 2H, H-2', H-6'), 7,54 (d, 2H, H-3''', H-5'''), 7,47 (m, 5H, H-2''', H-6''', H-4'), 7,04 (d, 1H, H-6); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 163,36 (C-5), 158,89 (C-2), 148,23 (C-7), 137,85 (C-1'''), 136,94 (C-1'), 133,80 (C-1''), 132,32 (C-3''', C-5'''), 132,02 (C-4''), 131,75 (C-4'), 130,20

(C-3', C-5'), 129,23 (C-2''', C-6'''), 129,18 (C-2', C-6'), 126,19 (C-2'', C-6''), 120,47 (C-3'', C-5''), 115,78 (C-4'''), 111,45 (C-6).

Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (108). Sólido laranja, Ponto de fusão: 274-276 °C; IV (KBr, ν cm^{-1}) 3432 (N-H); 3048 (C-H aromático e/ou vinílico); 2721 (C=NH⁺); 1616 (C=C vinílico); 1571 (C=N); 1519 (C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1450 (C=C aromático); 1342 (N=O e ν C-S); 956 (C-H vinílico); 840 (ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (C-H aromático no plano - 5H viz); RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 13,03 (s, 1H, N-H), 8,25 (d, 2H, H-3', H-5'), 8,13 (d, 1H, H-7), 8,02 (d, 2H, H-2'', H-6''), 7,85 (dd, 2H, H-3''', H-5'''), 7,76 (m, 3H, H-2', H-6', H-4''), 7,61 (d, 2H, H-2''', H-6'''), 7,41 (t, 2H, H-3'', H-5''), 7,26 (d, 1H, H-6), 7,14 (t, 1H, H-4'''); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ 162,83 (C-5), 156,96 (C-2), 154,96 (C-4'''), 142,81 (C-7), 139,35 (C-1'''), 137,58 (C-1'), 134,38 (C-1''), 131,18 (C-4''), 130,83 (C-4'), 130,00 (C-2', C-6'), 139,13 (C-3', C-5'), 128,24 (C-3'', C-5''), 126,01 (C-2'', C-6''), 125,26 (C-3''', C-5'''), 121,42 (C-2''', C-6'''), 112,46 (C-6).

3.3 Ensaios Biológicos

3.3.1 Atividade antioxidante

3.3.1.1 Método do DPPH (MENSOR *et al.*, 2001)

Em um balão volumétrico de 5 mL preparou-se uma solução em etanol de 5 mM das tiossemicarbazidas a serem testadas. Então, esta solução foi diluída às concentrações 1000, 500, 250 e 125 μM em etanol. As concentrações usadas nos ensaios foram: 710; 355; 177,5 e 88,75 μM . Em um balão volumétrico de 25 mL preparou-se uma solução 0,3 mM de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) em DMSO, que foi guardada ao abrigo de luz.

Fizeram-se três ensaios independentes e em triplicata, que seguiram o seguinte esquema:

Amostra:	71 μL de substância + 29 μL de DPPH
Branco:	71 μL de substância + 29 μL de etanol
Controle:	71 μL de DMSO + 29 μL de DPPH

Após a adição do DPPH houve um período de espera de 30 minutos na ausência de luz, e posteriormente, a placa foi levada ao ELISA onde a densidade óptica foi medida em um comprimento de onda de 490 nm.

O ácido ascórbico, na devida concentração, foi utilizado como controle positivo.

3.3.2 Atividade antifúngica

A determinação da atividade antifúngica das tiossemicarbazonas foi realizada como descrito no documento M27-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002) para a levedura *Candida albicans* (ATCC 24.433) M38-A e para o fungo filamentos *Aspergillus parasiticus* CMT 0334 fornecido pela Coleção Micologica de Trichocomaceae na RJ-FIOCRUZ IOC/ Brasil. O método de microdiluição foi realizado em placa de 96 poços de microtitulação de ensaio contendo meio RPMI 1640 (Invitrogen, EUA) a pH 7,0 com tampão MOPS 0,16 M. As 36 tiossemicarbazonas foram diluídas em DMSO: Tween 20 (1:1 v/v) para se obter concentrações finais que variam de 3,90-500 $\mu\text{g/mL}$ e a concentração máxima de solvente orgânico a 2,5%. Em seguida, as suspensões da levedura *C. albicans* e de conídios de

A. parasiticus foram inoculados a uma concentração final de $0,5-2,5 \times 10^3$ UFC mL⁻¹ e $0,4-5,0 \times 10^4$ UFC mL⁻¹, respectivamente. A concentração inibitória mínima (MIC) de cada composto foi determinada após incubação a 35 °C durante 48 h. O crescimento na mais baixa concentração de inibição do organismo foi registrada como a MIC. Itraconazol (ITC, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA) foi utilizado como composto de referência. Cada experimento foi realizado em triplicata.

3.3.3 Viabilidade celular

3.3.3.1 Frente às linhagens K562 e Daudi

Os ensaios para avaliação da atividade citotóxica dos cloridratos mesoiônicos foram realizados em placas de 96 poços, no volume total de 200 µL, em triplicata. 1×10^4 céls/mL da linhagem K562 e da linhagem Daudi foram incubadas na presença ou na ausência dos compostos mesoiônicos em diferentes concentrações (3,125 a 50 µM). Após os períodos de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias de incubação em atmosfera de 5% de CO₂ à 37 °C, adicionaram-se 20 µL de MTT (5mg/mL) em cada poço, e a placa foi novamente incubada por 3 horas nas mesmas condições. Após este período, a placa foi centrifugada, o sobrenadante desprezado e adicionados aos poços 200 µL de DMSO, para a dissolução dos cristais de Formazana formados pela redução do MTT. A viabilidade foi analisada colorimetricamente. Em seguida, centrifugou-se a placa por 7 minutos. O sobrenadante foi desprezado e adicionaram-se 200 µL de DMSO para solubilizar os cristais formados. A viabilidade foi analisada colorimetricamente (densidade óptica - 490 nm), em leitor de microplacas ELISA (Thermo Max - Molecular Devices).

Os ensaios para análise do ciclo celular foram realizados em placas de 96 poços, no volume total de 200 µL, em triplicata. 1×10^4 céls/ml da linhagem K562 e da linhagem Daudi foram incubadas na presença ou na ausência do cloridrato mesoiônico **108** em diferentes concentrações (3,125 a 50 µM). As células ficaram incubadas por 24 horas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C. Depois, as células foram recolhidas e lavadas em tampão de Hank. O ciclo celular foi avaliado por adição de 200 µL de solução do ciclo celular (5 mg mL⁻¹). As células foram então analisadas por citometria de fluxo. As amostras foram excitadas a 488 nm com um laser de argônio. A emissão de fluorescência foi detectada em 585 nm (FL-2). Dez mil células foram adquiridas. Todas as análises de citometria de fluxo foram realizadas com WinMDI, versão 2.9.

3.3.3.2 Frente à linhagem Jurkat

Os ensaios para avaliação da atividade citotóxica dos cloridratos mesoiônicos foram realizados em placas de 96 poços, no volume total de 200 µL, em triplicata. 1×10^5 céls/mL da linhagem Jurkat foram incubadas na presença ou na ausência dos compostos mesoiônicos em diferentes concentrações (3,125 a 50 µM). Após 72 horas de incubação em atmosfera de 5% de CO₂ a 37 °C, adicionaram-se 20 µL de MTT (5mg/mL) em cada poço e a placa foi novamente incubada por 3 horas nas mesmas condições. Após este período, a placa foi centrifugada, o sobrenadante desprezado e adicionados aos poços 200 µL de DMSO, para a dissolução dos cristais de Formazana formados pela redução do MTT. A viabilidade foi analisada colorimetricamente. Em seguida, centrifugou-se a placa por 7 minutos. O sobrenadante foi desprezado e adicionaram-se 200 µL de DMSO para solubilizar os cristais

formados. A viabilidade foi analisada colorimetricamente (densidade óptica - 490 nm), em leitor de microplacas (Sunrise/Tecan).

3.3.4 Atividade anti-*Leishmania*

3.3.4.1 Tratamento via subcutânea

Injetou-se na pata dos camundongos BALB/c 1×10^6 promastigotas de *Leishmania amazonenses* e tratou-se, após 4 semanas, com uma dose diária de cada mesoiônico testado, via subcutânea, em cada pata infestada. O tratamento durou 4 semanas, e consistiu em aplicações dos compostos mesoiônicos solubilizados em solução salina:DMSO durante 5 dias consecutivos sendo que com intervalos de 2 dias de repouso. Os animais do grupo de controle receberam volumes equivalentes do veículo (solução salina:DMSO). O antimoniato de meglumina (Sb meglumina) foi utilizado como controle positivo.

3.3.4.2 Tratamento tópico

Injetou-se na pata dos camundongos BALB/c 1×10^6 promastigotas de *Leishmania amazonenses*. Foi preparado um creme com um veículo inerte (Diaderme) e os compostos mesoiônicos testados, que foi aplicado via tópica na pata do animal em uma dose diária. O tratamento durou 4 semanas, que consistiu em 5 dias seguido por 2 dias de repouso. Os animais do grupo de controle receberam volumes equivalentes do veículo (Diaderme / DMSO).

3.3.4.3 Tratamento via intraperitoneal

Injetou-se no peritônio dos camundongos BALB/c 1×10^8 promastigotas de *Leishmania infantum* e tratou-se após 7 dias com uma dose diária via intraperitoneal de cada derivado mesoiônico testado. O tratamento durou 4 semanas, que consistiu em injeções intraperitoneais em 5 dias seguido por 2 dias de repouso. Os animais do grupo de controle receberam volumes equivalentes do veículo (solução salina / DMSO). O antimoniato de meglumina (Sb meglumina) foi utilizado como controle positivo.

3.3.4.4 Inibição da enzima tripanotiona redutase (TryR)

1 mg/mL de extratos de proteína solúvel da enzima tripanotiona redutase (TryR) foram pré-incubados com 1 μ M dos derivados mesoiônicos testados durante 10 minutos, em seguida, 100 μ M NADPH, 40 mM HEPES e 1 mM EDTA, pH 7,5, foram adicionados. O ensaio foi iniciado em um espectrofotômetro (Shimadzu Corporation, Japão) a 340 nm para verificar o valor total de NADPH durante 1 minuto de leitura, sem alterações. Após, foi adicionado 100 mM do substrato dissulfeto tripanotiona [T(S)₂ – Bachem], para otimizar e dirigir a reação ao consumo de NADPH pela enzima TryR. Todas as reações foram realizadas a 25 °C, em um volume total de 300 μ L. Depois disso, as leituras foram iniciadas e mantidas até 100 segundos. A percentagem de inibição foi calculada com base no decaimento da densidade óptica, o que reflete a oxidação do NADPH, sendo assim, a densidade óptica representa o consumo de NADPH pela TryR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho de tese foram preparadas três classes de compostos sendo tiossemicarbazidas, tiossemicarbazonas e cloridratos mesoiônicos. As tiossemicarbazidas foram utilizadas como intermediários na síntese das tiossemicarbazonas, quando N_4 -substituídas, e dos mesoiônicos, quando N_1, N_4 -disubstituídas e, foram ensaiadas quanto a atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH. As tiossemicarbazonas foram avaliadas frente ao fungo micotoxigênico *Aspergillus parasiticus* e frente ao fungo leveduriforme *Candida albicans* e os compostos mesoiônicos frente às células de leucemias humanas K562, Jurkat e frente ao linfoma de Daudi, além da avaliação *in vivo* frente a *L. amazonensis* e *L. infantum* e avaliação *in vitro* contra a enzima tripanotona redutase de *L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *T. cruzi* e frente a tripanotona redutase recombinante de *L. infantum*. As figuras 35 e 36 mostram as retrossínteses para os compostos sintetizados.

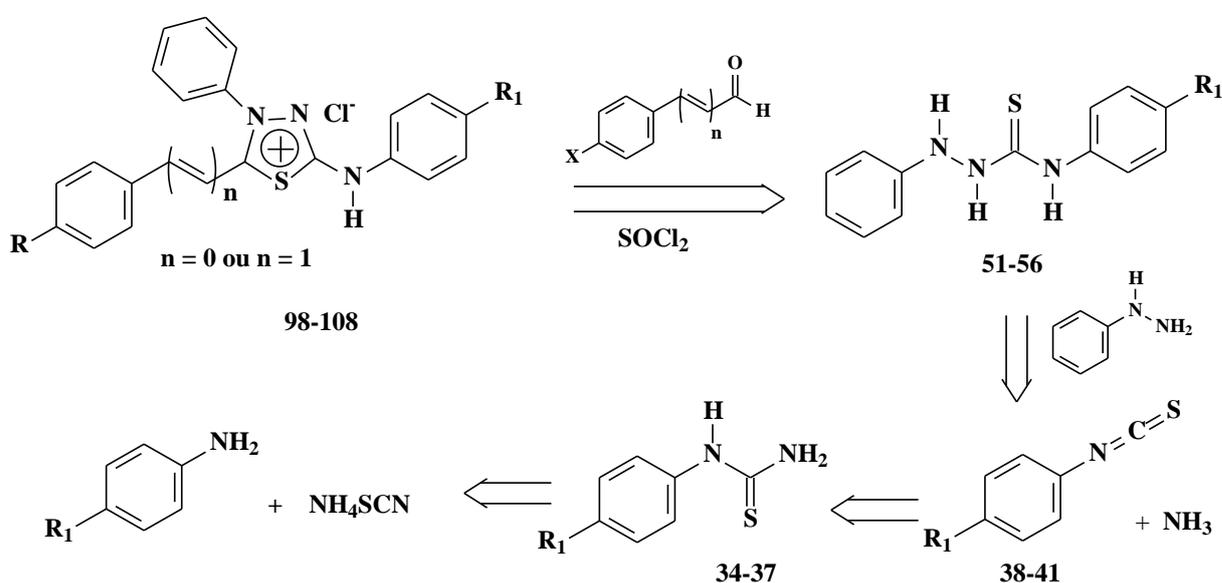


Figura 35: Retrossíntese para a obtenção das tiossemicarbazidas e cloridratos mesoiônicos.

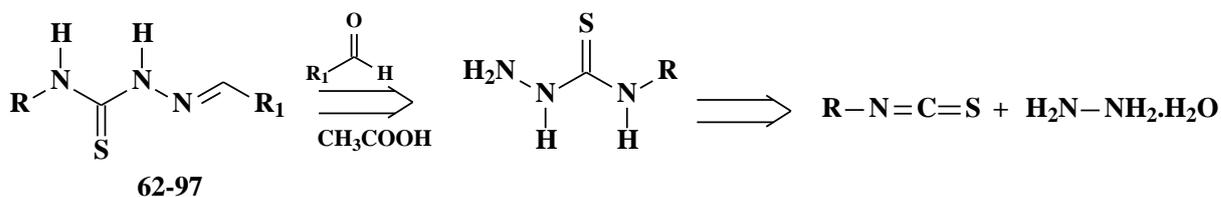


Figura 36: Retrossíntese para a obtenção das tiossemicarbazonas.

4.1 Preparação das Tiossemicarbazidas

Neste trabalho de tese preparou-se, por três metodologias diferentes, nove derivados da classe das tiossemicarbazidas N_4 -substituídas (42-50), obtidas a partir da reação da hidrazina hidrato com aril ou alquil isotiocianatos e onze derivados da classe das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -disubstituídas (51-61), obtidas a partir da reação da fenil hidrazina com alquil ou aril isotiocianatos. A obtenção dos *p*-X-fenil-isotiocianatos (38-41) foi

realizada utilizando-se as correspondentes *p*-X-fenil-tiouréias (**34-37**), submetidas à reação de desproporcionamento para dar origem aos correspondentes isotiocianatos *p*-X-fenil-substituídos. A seguir serão detalhados os processos de síntese dos intermediários das tiossemicarbazidas, assim como o do produto final.

4.1.1 Síntese das tiouréias *p*-X-fenil-substituídas

As tiouréias *p*-X-fenil-substituídas (**34-37**) foram preparadas conforme a metodologia já descrita na literatura a partir de anilinas substituídas e tiocianato de amônio (BRITTO *et al.*, 2006). Esta metodologia permitiu a obtenção dos produtos desejados com bons rendimentos, com exceção da tiouréia metilada (13%). A tabela 1 mostra os rendimentos e pontos de fusão obtidos para as tiouréias sintetizadas.

Tabela 1: Rendimentos e pontos de fusão obtidos para as tiouréias *p*-X-fenil-substituídas.

Composto	X	Rendimento (%)	PF (°C)
35	CH ₃	68	185-187
36	CH ₃ O	72	210-212
37	Cl	40	209-212
38	Br	60	176-178

O mecanismo sugerido para a síntese das tiouréias sintetizadas envolve inicialmente o ataque do par de elétrons do nitrogênio da anilina ao hidrogênio do ácido clorídrico, o que confere ao nitrogênio uma carga formal positiva. Em seguida, ocorre a abstração de um próton desta molécula pelo íon isotiocianatos, e então o ataque nucleofílico da anilina ao carbono do tiocianato ocorrendo, assim, a consequente localização da carga negativa ao átomo de enxofre. Em seguida, ocorre um rearranjo intra-molecular de hidrogênio, e posteriormente, a ligação C=S é refeita dando origem a tiouréia de interesse. A Figura 37 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção das tiouréias.

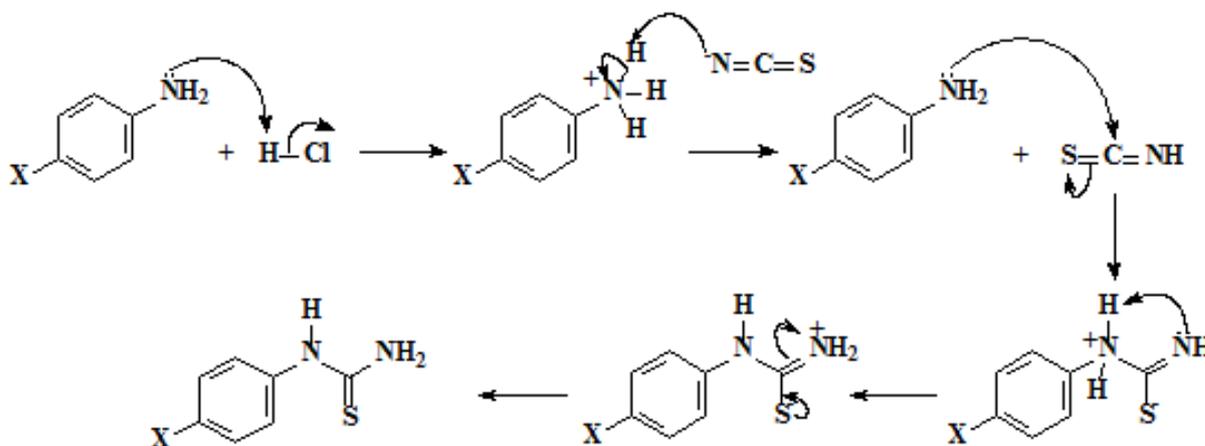


Figura 37: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção das tiouréias *p*-X-fenil-substituídas.

4.1.1.1 Caracterização espectroscópica das tiouréias

A caracterização dos produtos foi realizada pelas técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV) e RMN de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de IV foram obtidos em pastilha de KBr e apresentaram como principais absorções características a banda de estiramento da função amina secundária na faixa de 3400 a 3100 cm^{-1} ; estiramento C-H de carbono de aromático em torno de 3000 cm^{-1} , e uma banda em torno de 1100 cm^{-1} que indica a ligação entre o carbono e o enxofre (C=S).

Nos espectros de RMN ^1H , foram observados sinais na faixa de 7,14 a 8,18 ppm, referentes aos deslocamentos químicos de hidrogênios aromáticos. Observaram-se, ainda, alguns sinais relativos a hidrogênios amínicos. No entanto, devido à utilização de DMSO- d_6 como solvente e com a troca isotópica de hidrogênios ligados a heteroátomos, não foram observados todos os hidrogênios amínicos das tiouréias.

Nos espectros de RMN ^{13}C , observou-se sinais atribuídos ao carbono ligado ao enxofre (C=S) em torno de δ 181,00 e sinais relativos aos carbonos aromáticos entre 114,00 a 131,40 ppm.

Os deslocamentos químicos obtidos para as tiouréias estão descritos no item 3.2.1.1 de Materiais e Métodos e os espectros no Volume II páginas 1-12.

4.1.2 Síntese dos isotiocianatos *p*-X-fenil-substituídos

Os *p*-X-fenil-isotiocianatos foram preparados, partindo-se das correspondentes *p*-X-fenil-tiouréias obtidas através da reação das anilinas com ácido clorídrico e isotiocianato de amônio numa primeira etapa. Na segunda etapa, a reação das tiouréias em clorobenzeno como solvente, sob refluxo, levou aos isotiocianatos *p*-X-fenil-substituídos. Os rendimentos foram considerados satisfatórios (40 a 72%) como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Rendimentos obtidos para os isotiocianatos *p*-fenil-substituídos.

Composto	X	Rendimento (%)
38	CH ₃	68
39	CH ₃ O	72
40	Cl	40
41	Br	60

O mecanismo de reação sugerido para a síntese dos isotiocianatos sintetizados envolve uma reação de desproporcionamento, onde há a localização da carga negativa no átomo de enxofre. Em seguida, a ligação C=S é refeita, liberando amônia no meio, dando origem ao isotiocianato. A Figura 38 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos isotiocianatos *p*-X-fenil-substituídos.

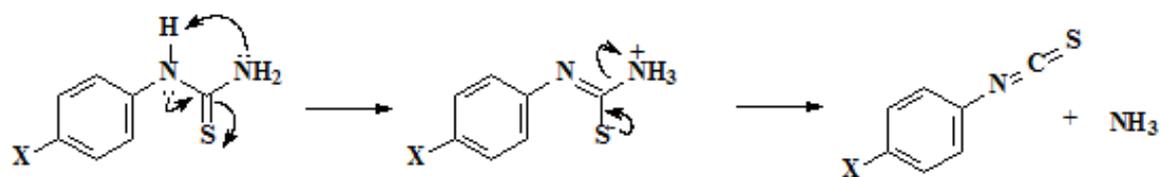


Figura 38: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos isotiocianatos *p*-X-fenil-substituídos.

Devido à alta reatividade e volatilidade dos isotiocianatos sintetizados estes não foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas, sendo utilizados imediatamente após sua preparação.

4.1.3 Síntese das tiossemicarbazidas

As tiossemicarbazidas foram preparadas por três metodologias diferentes, visando à diminuição nos tempos de reação e melhores rendimentos, além de adequar a preparação desses compostos aos princípios da Química Verde. Foram preparados dois grupos de tiossemicarbazidas: 9 (nove) N_4 -substituídas (**42-50**) e 11 (onze) N_1, N_4 -dissubstituídas (**51-61**). Cada uma das metodologias empregadas para a síntese das tiossemicarbazidas será discutida a seguir.

As tiossemicarbazidas N_4 -substituídas (**42-50**) foram sintetizadas a partir dos alquil ou aril isotiocianatos, obtidos comercialmente, com a hidrazina hidratada (figura 39) e usadas como intermediários na síntese das tiossemicarbazonas. Esta subclasse envolveu tiossemicarbazidas com um substituinte alquil ou aril no nitrogênio 4. A figura 40 mostra as estruturas das tiossemicarbazidas N_4 -substituídas.

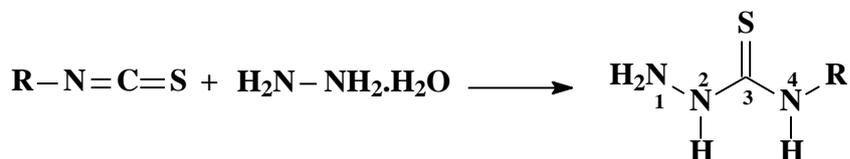


Figura 39: Esquema de síntese para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas.

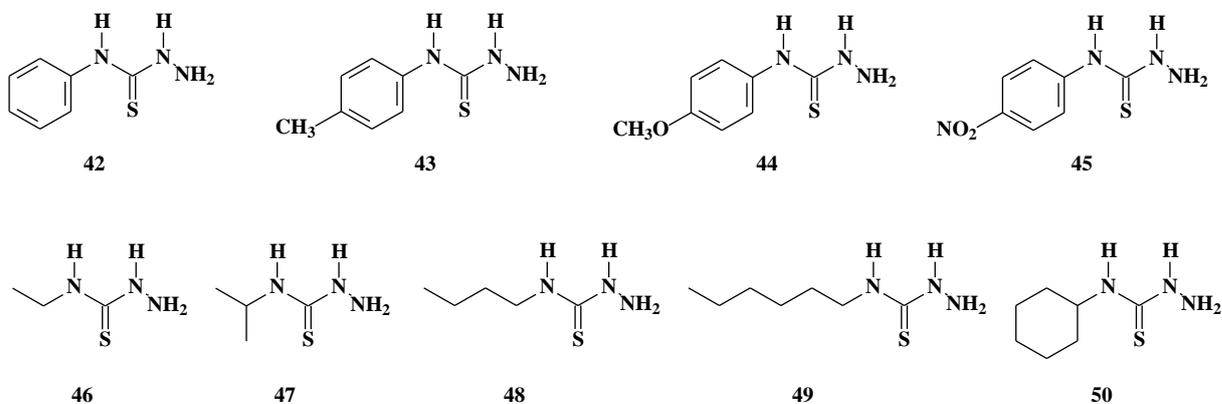


Figura 40: Estrutura das tiossemicarbazidas N_4 -substituídas sintetizadas.

A síntese das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas (**51-61**) se deu pela reação da fenil hidrazina com os isotiocianatos, conforme figura 41. Foram utilizados, também, os isotiocianatos sintetizados, conforme mostrado anteriormente. Derivados deste grupo de tiossemicarbazidas foram usados como intermediários na síntese dos cloridratos mesoiônicos. Esta subclasse envolveu tiossemicarbazidas com dois substituintes, sendo um grupo aril no nitrogênio 1 e o outro aril ou alquil no nitrogênio 4. A figura 42 mostra as estruturas das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas.

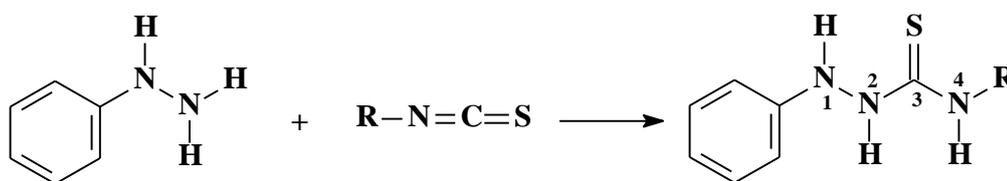


Figura 41: Esquema de síntese para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas.

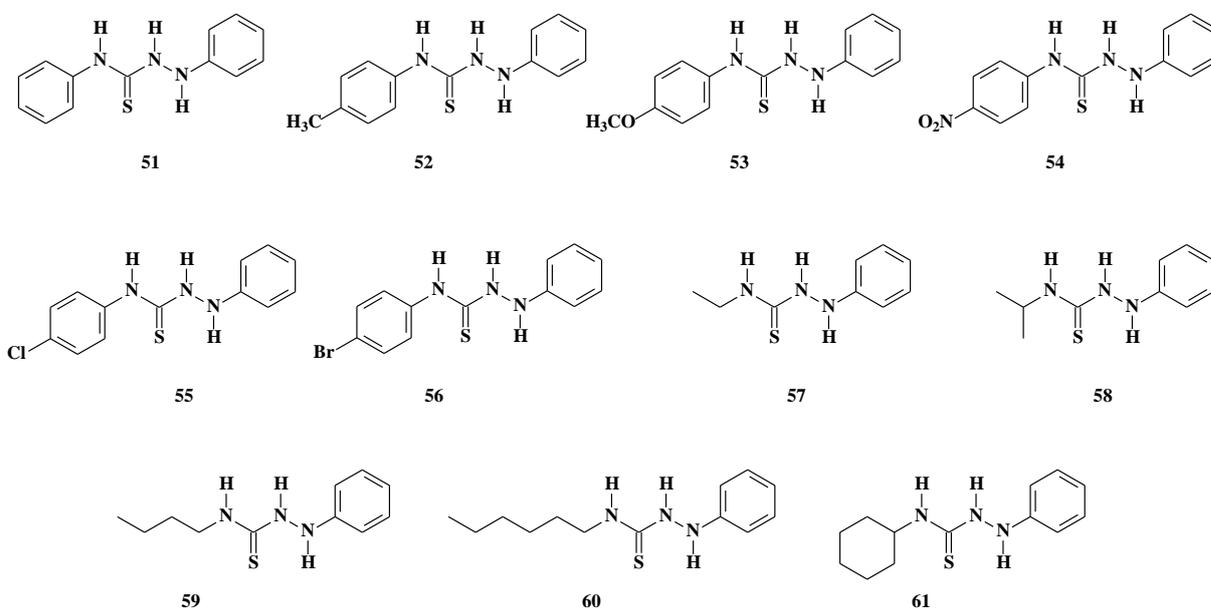


Figura 42: Estrutura das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas sintetizadas.

4.1.3.1 Síntese das tiossemicarbazidas utilizando agitação a temperatura ambiente (metodologia 1)

As tiossemicarbazidas foram preparadas de forma eficiente a partir da hidrazina hidratado ou fenil-hidrazina e os alquil ou aril isotiocianatos, em tolueno como solvente utilizando a metodologia tradicional, ou seja, com 1 hora de agitação a temperatura ambiente. Esta metodologia permitiu a obtenção dos produtos desejados com alto grau de pureza e rendimentos satisfatórios variando de 50-99%. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina, para verificar a pureza dos mesmos, e caracterizados através de ponto de fusão e da análise dos espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C .

4.1.3.2 Preparação das tiossemicarbazidas por irradiação de micro-ondas (metodologia 2)

Na síntese por irradiação de micro-ondas foram misturadas quantidades equivalentes de hidrazina hidrato ou fenil-hidrazina e o alquil ou aril isotiocianatos, em tolueno como solvente orgânico. O tempo de exposição à irradiação de micro-ondas foi de 30 minutos a uma temperatura de 110 °C e potência de 100 Hz. O precipitado formado foi filtrado e posteriormente lavado com tolueno gelado, obtendo-se os produtos finais puros, avaliados por cromatografia em camada fina, em rendimentos variando na faixa de 22-83%.

A preparação das tiossemicarbazidas através do método tradicional, com tolueno como solvente e sob agitação à temperatura ambiente, foi mais eficiente proporcionando rendimentos muito bons em comparação com o procedimento assistido por micro-ondas, especialmente para as alquil tiossemicarbazidas. Este desempenho pode ser devido à maior volatilidade dos alquil isotiocianatos levando a baixos rendimentos. No entanto, o tempo de reação utilizando o método de irradiação de micro-ondas foi de 30 minutos, enquanto que na metodologia tradicional, à temperatura ambiente, foi necessária 1 hora de reação.

4.1.3.3 Preparação das tiossemicarbazidas em ausência de solvente (metodologia 3)

Nesta metodologia foram maceradas, quantidades equivalentes de hidrazina hidrato ou fenil-hidrazina e o alquil ou aril isotiocianatos, na ausência de solvente orgânico. Após 2 minutos de vigorosa maceração verificou-se a formação dos produtos que foram isolados adicionando-se a mistura reacional tolueno gelado. Os produtos foram obtidos com alto grau de pureza em rendimentos quantitativos. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos.

O método com ausência de solvente, ou seja, sólido-sólido, se mostrou o mais eficiente dos três métodos usados para a síntese das tiossemicarbazidas, pois proporcionou a obtenção dos produtos desejados em apenas 2 minutos de reação sem o uso de solvente, além de não apresentar diferença nos rendimentos quando usados os alquil isotiocianatos ou os aril isotiocianatos, como observado no método por irradiação de micro-ondas.

A tabela 3 mostra os rendimentos obtidos na preparação das tiossemicarbazidas pelas três metodologias.

Tabela 3: Rendimentos obtidos nas diferentes metodologias para as tiossemicarbazidas sintetizadas.

Composto	R	Rendimentos (%)		
		Met. 1 ^a	Met. 2 ^b	Met. 3 ^c
42	C ₆ H ₅	79	65	> 99
43	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	85	71	> 99
44	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	80	67	> 99
45	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	89	77	> 99
46	CH ₃ CH ₂	97	36	> 99
47	(CH ₃) ₂ CH	99	30	> 99
48	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	94	28	> 99
49	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	94	34	> 99
50	C ₆ H ₁₁	98	41	> 99
51	C ₆ H ₅	93	83	> 99
52	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	92	78	> 99
53	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	92	80	> 99
54	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	95	73	> 99
55	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄	68	--- ^d	--- ^d
56	<i>p</i> -Br-C ₆ H ₄	93	--- ^d	--- ^d
57	CH ₃ CH ₂	97	25	> 99
58	(CH ₃) ₂ CH	99	35	> 99
59	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	94	22	> 99
60	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	94	31	> 99
61	C ₆ H ₁₁	93	83	> 99

^a Agitação por 1 hora em tolueno a temperatura ambiente; ^b Irradiação de micro-ondas em tolueno por 30 minutos; ^c Reação sólido-sólido por 2 minutos; ^d Produtos preparados somente pela metodologia 1.

4.1.4 Proposta do mecanismo de reação para a obtenção das tiossemicarbazidas

O mecanismo sugerido para a obtenção das tiossemicarbazidas inicia-se com o ataque nucleofílico do nitrogênio terminal da hidrazina ao carbono eletrofílico do isotiocianato, seguido de um rearranjo intra-molecular de hidrogênio, e posteriormente a ligação C=S é restabelecida originando a tiossemicarbazida de interesse. A Figura 43 mostra o mecanismo sugerido para a obtenção das tiossemicarbazidas.

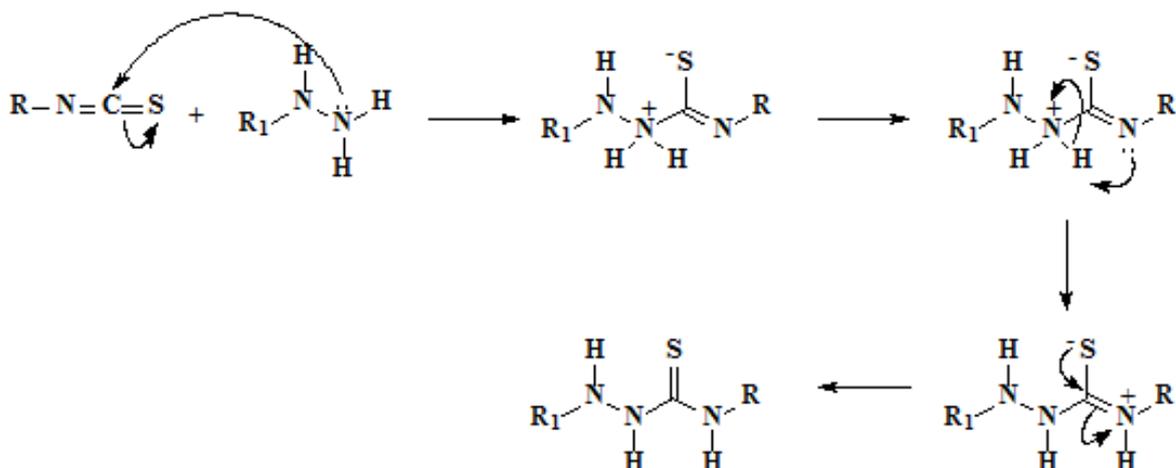


Figura 43: Mecanismo proposto para a obtenção das tiossemicarbazidas (MACIEL *et al.*, 1998).

4.1.5 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazidas

A caracterização dos produtos foi realizada pelas técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV) e RMN de ^1H e ^{13}C .

4.1.5.1 Infravermelho

Os espectros de IV foram obtidos em pastilha de KBr e apresentaram algumas absorções características desta classe de compostos. A banda de estiramento da ligação N-H foi observada na faixa de 3371 e 3506 cm^{-1} para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas, e entre 3435 a 3512 cm^{-1} para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas. Outra banda característica foi referente à deformação axial C=S observada na faixa de 1215 a 1274 cm^{-1} para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas, e entre 1217 a 1282 cm^{-1} para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas.

Pela ausência da banda da absorção devido ao estiramento assimétrico das ligações N=C=S entre 2100 e 2050 cm^{-1} , e pela presença da banda de absorção em torno de 1250 cm^{-1} da ligação -NC(=S)N-, conclui-se que a reação entre os isotiocianatos e a hidrazina, realmente ocorreu, fornecendo as respectivas tiossemicarbazidas propostas.

Os valores dos principais sinais dos espectros de infravermelho (Volume II, páginas 13-72) para todas as tiossemicarbazidas estão indicados no item 3.2.3.1 de Materiais e Métodos.

4.1.5.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H das tiossemicarbazidas mostraram-se bem similares dentro de uma mesma classe, no entanto de alta relevância para a caracterização desses compostos. Os sinais mais característicos desta classe foram os singletos referentes aos hidrogênios 1, 2 e 4, que estão ligados aos átomos de nitrogênio. O sinal referente ao hidrogênio 2 apareceu na faixa de 7,31 a 9,48 ppm para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas e entre 7,52 a 9,08 ppm para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas. Já o sinal de H-4 foi observado na faixa de 7,33 a 9,75 ppm para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas e entre 8,25 a 10,19 ppm para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas, confirmando o efeito doador de elétrons quando presente o substituinte alquila ou fenila no N-4.

Nas tiossemicarbazidas N_4 -substituídas o sinal referente ao hidrogênio 1 apenas foi observado no derivado *p*- OCH_3 -fenil, isso devido à troca isotópica de hidrogênios ligados a heteroátomos, no entanto para todas as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas este sinal pode ser observado, aparecendo na faixa de 7,12 a 7,50 ppm.

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos hidrogênios, assim como suas multiplicidades estão mostrados na tabela 4 e os espectros no Volume II, páginas 13-72.

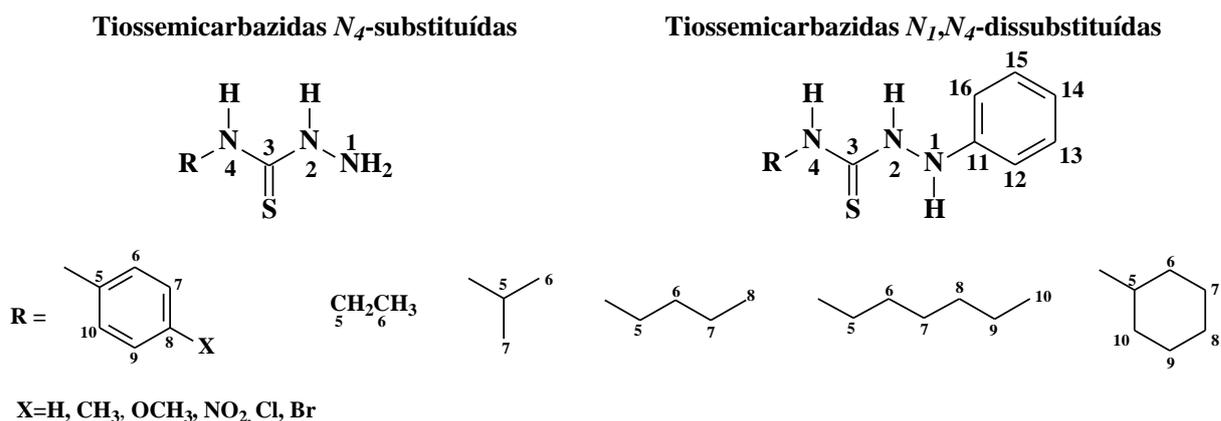


Tabela 4: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H obtidos em acetona- d_6 das tiossemicarbazidas sintetizadas.

Composto	R	H-1	H-2	H-4
42	C_6H_5	n.o.	9,75 (s)	9,25 (s)
43	$p\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	n.o.	9,66 (s)	9,48 (s)
44	$p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$	7,38 (s)	9,59 (s)	9,17 (s)
45	$p\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$	n.o.	10,22 (s)	9,59 (s)
46	CH_3CH_2	n.o.	8,88 (s)	7,98 (s)
47	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}$	n.o.	8,84 (s)	7,66 (s)
48	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$	n.o.	7,33 (s)	7,31 (s)
49	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$	n.o.	8,88 (s)	7,98 (s)
50	C_6H_{11}	n.o.	8,84 (s)	7,68 (s)
51	C_6H_5	7,42 (s)	9,66 (s)	8,70 (s)
52	$p\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	7,38 (s)	9,57 (s)	8,63 (s)
53	$p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$	7,38 (s)	9,51 (s)	8,60 (s)
54	$p\text{-NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$	7,50 (s)	10,19 (s)	9,08 (s)
55	$p\text{-Cl-C}_6\text{H}_4$	8,15 (s)	10,20 (s)	10,04 (s)
56	$p\text{-Br-C}_6\text{H}_4$	8,07 (s)	9,92 (s)	9,79 (s)
57	CH_3CH_2	7,14 (s)	8,27 (s)	7,87 (s)
58	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}$	7,12 (s)	8,25 (s)	7,55 (s)
59	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$	7,15 (s)	8,27 (s)	7,85 (s)
60	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$	7,16 (s)	8,26 (s)	7,85 (s)
61	C_6H_{11}	7,14 (s)	8,26 (s)	7,52 (s)

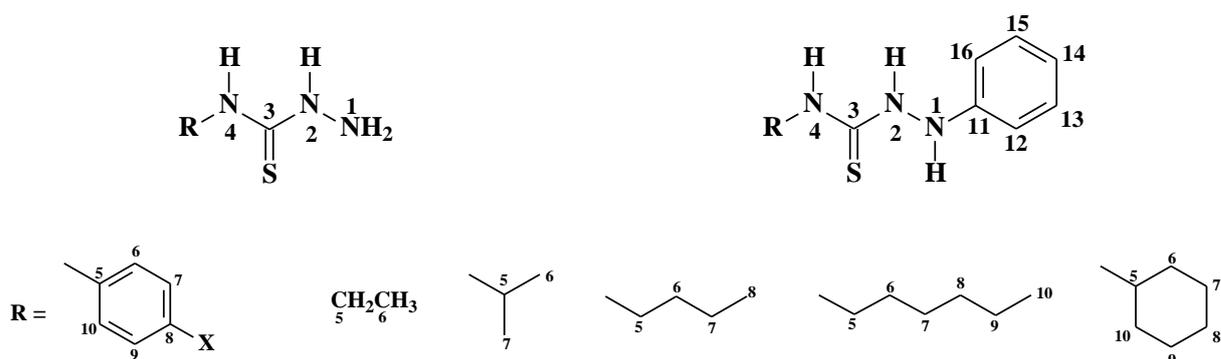
n.o. não observado

4.1.5.3 Ressonância magnética nuclear de ^{13}C

O sinal característico das tiossemicarbazidas nos espectros de RMN ^{13}C foi referente à tiocarbonila (C-3), observado na região de 177,38 a 179,69 ppm para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas. Já para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas este sinal foi atribuído em torno de 182,90 a 184,58 ppm, em campo mais baixo se comparado com as N_4 -substituídas.

O sinal referente ao carbono 5 sofreu variação de acordo com a natureza dos grupos substituintes. Foram observados sinais deste carbono na faixa de 39,59 a 53,39 ppm referentes aos grupos alquilas. Nas tiossemicarbazidas N_4 -substituídas o menor valor de deslocamento foi atribuído ao grupo etil 39,59 ppm, e os maior valor ao grupo cicloexil 53,39 ppm, já nas tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas estes sinais apareceram em 39,75 ppm para o derivado etil substituído e 53,39 ppm para o derivado cicloexil. Já para os derivados com o grupo arila o sinal de C-5 foi observado na faixa de 133,18 a 146,84 ppm, sendo os maiores deslocamentos para os derivados p -nitro substituídos, valores que já eram esperados devido o efeito de desproteção causado pelo grupo nitro, um grupo fortemente retirador de elétrons, e os menores deslocamentos químicos para os derivados metoxilados, devido ao efeito de proteção do grupo doador de elétrons.

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos carbonos estão mostrados na tabela 5 e os espectros no Volume II, páginas 13-72.

Tiossemicarbazidas N_4 -substituídasTiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas

X=H, CH₃, OCH₃, NO₂, Cl, Br

Tabela 5: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³C obtidos em acetona-*d*₆ das tiossemicarbazidas sintetizadas.

Composto	R	C-3	C-5
42	C ₆ H ₅	177,82	140,27
43	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	177,98	137,79
44	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	178,32	133,18
45	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	177,38	146,49
46	CH ₃ CH ₂	179,46	39,59
47	(CH ₃) ₂ CH	178,68	46,87
48	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	183,92	43,99
49	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	179,69	44,92
50	C ₆ H ₁₁	178,11	53,39
51	C ₆ H ₅	183,18	140,45
52	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	182,90	137,52
53	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	183,64	133,35
54	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	182,97	146,84
55	<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄	180,83	147,75
56	<i>p</i> -Br-C ₆ H ₄	181,12	138,68
57	CH ₃ CH ₂	184,58	39,75
58	(CH ₃) ₂ CH	183,50	46,81
59	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	184,20	44,16
60	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	184,26	44,47
61	C ₆ H ₁₁	182,99	53,39

4.1.6 Atividade antioxidante

O efeito antioxidante das tiossemicarbazidas foi observado através do ensaio usando o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) como a fonte de radicais livres e, o ácido ascórbico foi usado como controle positivo. O ensaio colorimétrico mediu a diminuição da coloração das soluções de acordo com o consumo do radical livre, através da absorbância em leitora Elisa a 490 nm. Após a leitura das absorbâncias, o percentual antioxidante (%AA) foi calculado a partir da equação:

$$\%AA = 100 - \frac{(A_a - A_b) \times 100}{A_c}$$

Onde:

A_a = Absorbância da média da amostra que reagiu com o DPPH.

A_b = Absorbância da média da amostra pura.

A_c = Absorbância da média do controle (DPPH).

Após o cálculo do percentual antioxidante das amostras, foi possível obter os gráficos de %AA *versus* Concentração (μM) e os valores de CE_{50} (concentração efetiva de captura de 50% dos radicais livres do DPPH) em μM para os compostos ensaiados. A figura 44 mostra os resultados para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas e a figura 45 para as N_1, N_4 -dissubstituídas. A tabela 6 indica o CE_{50} das tiossemicarbazidas. Os derivados 56 e 66 não foram ensaiados.

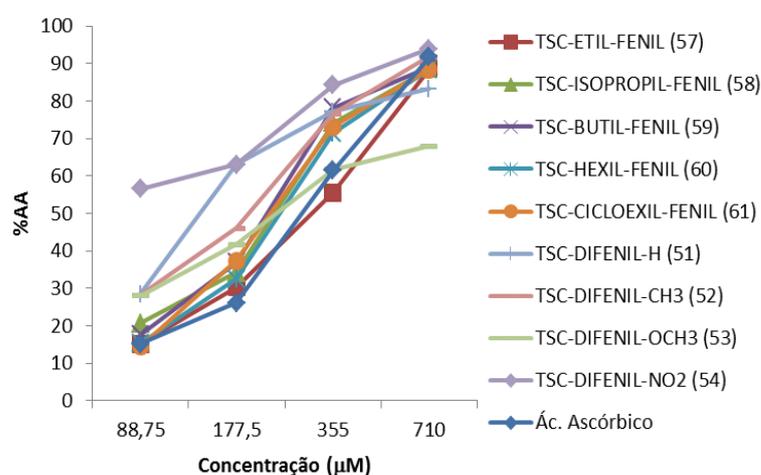


Figura 44: Gráfico do percentual antioxidante *versus* concentração (μM) para as tiossemicarbazidas N_4 -substituídas.

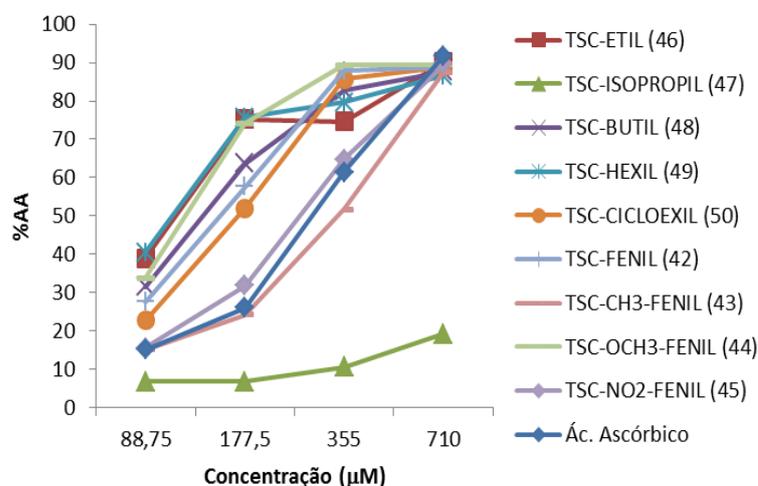


Figura 45: Gráfico do percentual antioxidante *versus* concentração (μM) para as tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas.

Tabela 6: Valores de CE₅₀ (μM) obtidos nos ensaios para avaliação do potencial antioxidante das tiossemicarbazidas.

R	Composto	CE ₅₀ ^a (μM)	Composto	CE ₅₀ ^a (μM)
C ₆ H ₅	42	177,9	51	177,61
<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	43	272,0	52	201,92
<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	44	131,1	53	251,3
<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	45	248,5	54	77,19
CH ₃ CH ₂	46	121,0	57	260,6
(CH ₃) ₂ CH	47	1208,0	58	232,1
CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	48	162,70	59	228,5
CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	49	105,0	60	242,6
C ₆ H ₁₁	50	197,0	61	237,0
Ác. ascórbico		255,2		255,2

^aCE₅₀: concentração efetiva necessária para reduzir 50% do radical livre DPPH.

Os resultados obtidos mostraram, de maneira geral, significativa atividade antioxidante para as tiossemicarbazidas *N*₄-substituídas em comparação com o ácido ascórbico, com exceção do derivado isopropil substituído (**47**) que apresentou baixa atividade em todas as concentrações ensaiadas. As tiossemicarbazidas *N*₁,*N*₄-dissubstituídas também, apresentaram atividade antioxidante quando comparadas com o ácido ascórbico. No entanto, as tiossemicarbazidas *N*₁,*N*₄-dissubstituídas apresentaram valores de CE₅₀ maiores quando comparadas com as tiossemicarbazidas *N*₄-substituídas, com exceção do derivado *p*-nitro substituído (**54**) que apresentou CE₅₀ bem menor que as demais tiossemicarbazidas (77,2μM). O mesmo ocorreu para o derivado isopropil substituído (232,1 μM, **58**) que apresentou CE₅₀ bem menor se comparado com o seu análogo *N*₄-substituído (1208,0 μM, **47**).

4.2 Síntese das tiossemicarbazonas

As tiossemicarbazonas (**62-97**) foram preparadas por três metodologias diferentes, visando a diminuição dos tempos de reação e melhores rendimentos, além de adequar a preparação desses compostos aos princípios da Química Verde. Em todas as metodologias a estratégia de síntese se deu a partir da tiossemicarbazida *N*₄-substituída e um aldeído, originando a tiossemicarbazona correspondente, conforme figura 46. Cada uma das metodologias empregadas para a síntese das tiossemicarbazonas será discutida a seguir.

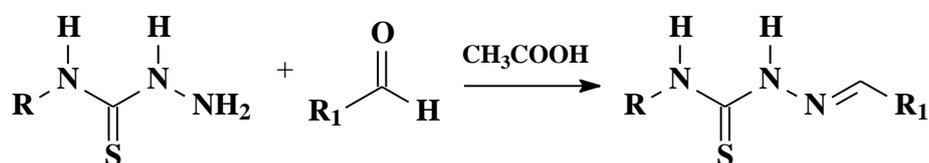


Figura 46: Esquema de síntese para as tiossemicarbazonas.

Neste trabalho de tese foram preparadas 36 tiossemicarbazonas, destacando-se que 24 são inéditas na literatura, sendo nove derivadas do cinamaldeído (**62-70**) (figura 47), nove derivadas do indol-3-carboxaldeído (**71-79**) (figura 48), nove derivadas do 2,6-

dimetoxipiridina-3-carboxaldeído (**80-88**) (figura 49) e nove derivadas do quinolina-4-carboxaldeído (**89-97**) (figura 50).

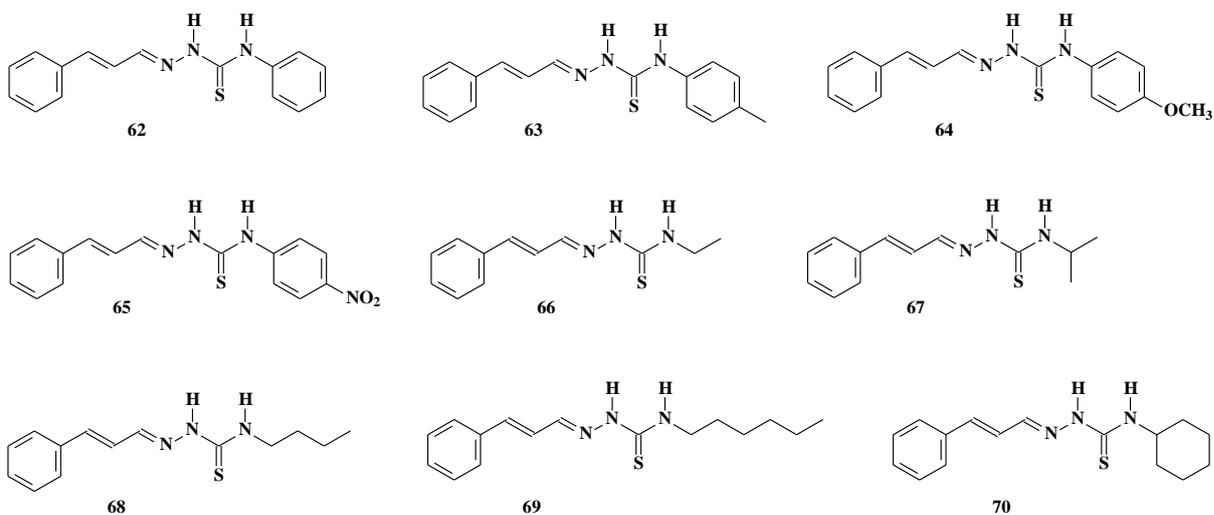


Figura 47: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do cinamaldeído.

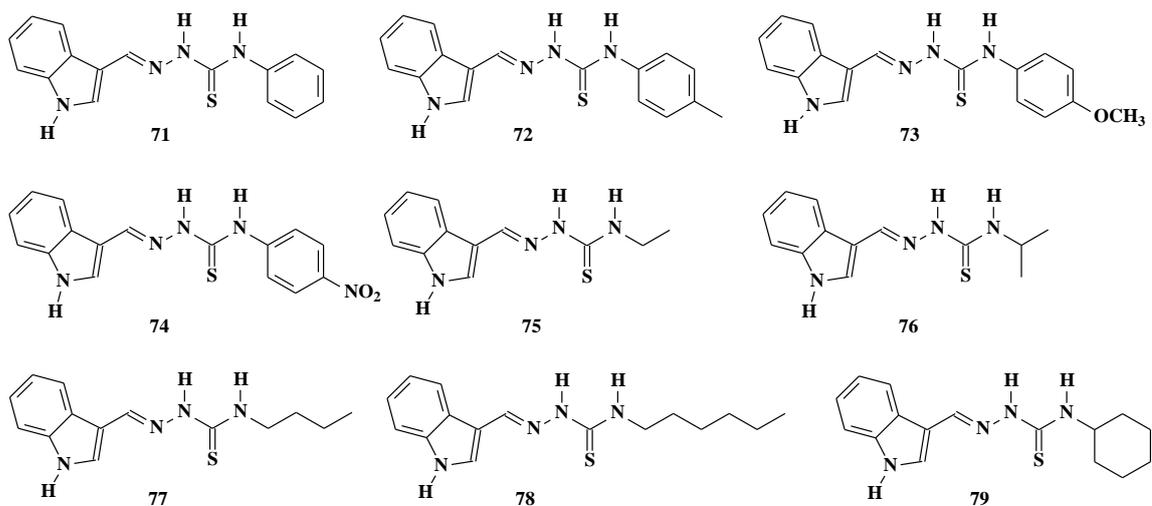


Figura 48: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído.

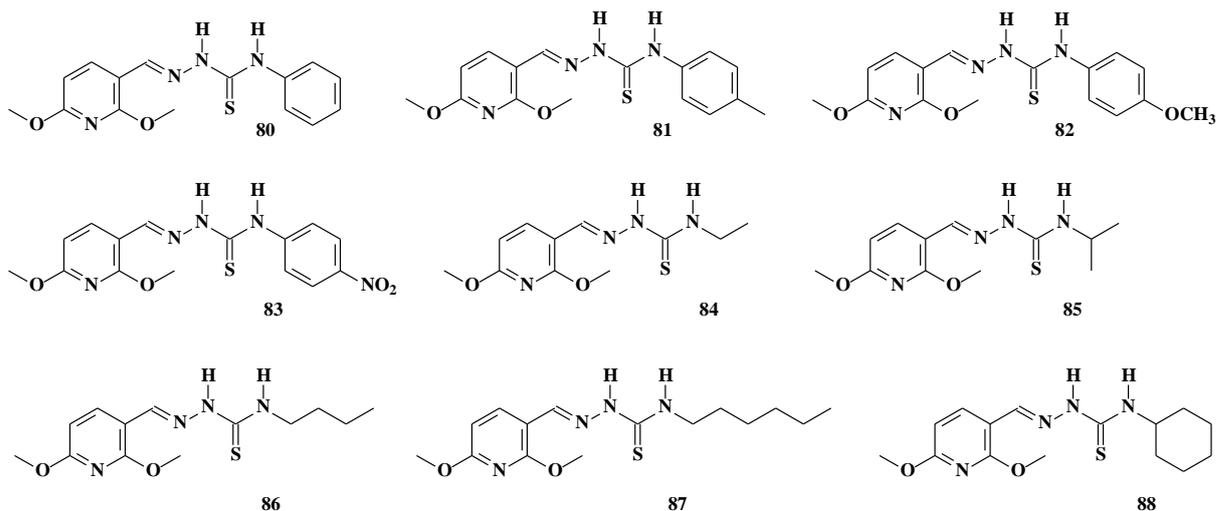


Figura 49: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do 2,6-dimetoxipiridina-3-carboxaldeído.

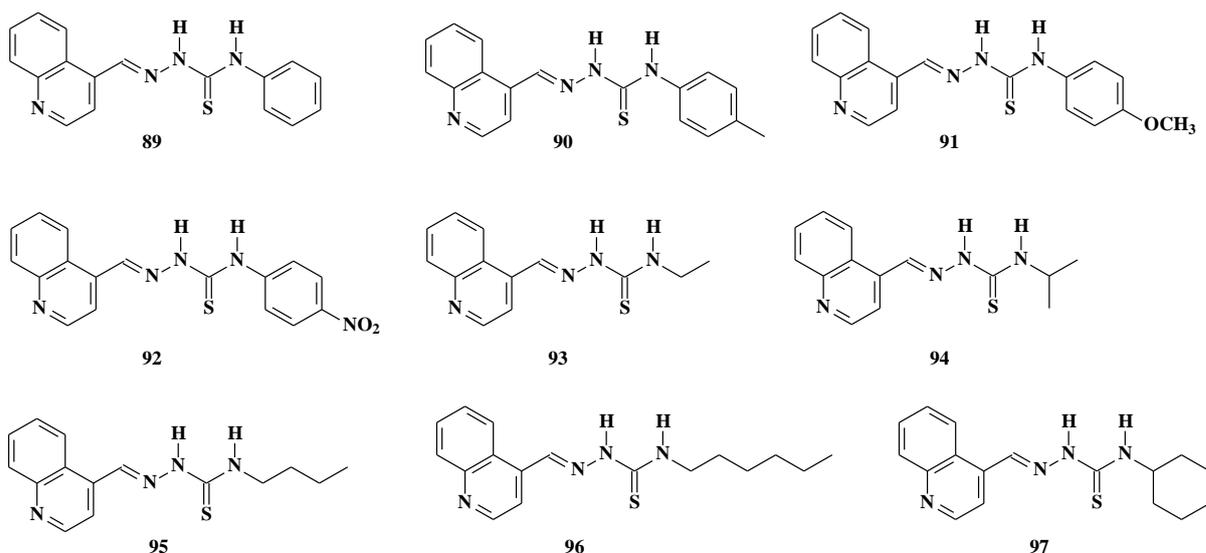


Figura 50: Estrutura das tiossemicarbazonas derivadas do quinolina-4-carboxaldeído.

4.2.1 Preparação das tiossemicarbazonas pela metodologia tradicional (metodologia 1)

A síntese das tiossemicarbazonas derivadas do cinamaldeído (**62-65**) e do indol-3-carboxaldeído (**71-74**) foi realizada a partir da condensação entre quantidades equimolares do aldeído e a tiossemicarbazida *p*-X-fenil-substituída, em presença de etanol e quantidades catalíticas de ácido acético, em refluxo de 8 horas. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos, e caracterizados através de ponto de fusão e da análise dos espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C . Todas as tiossemicarbazonas foram obtidas em rendimentos satisfatórios, na faixa de 49-78%.

4.2.2. Preparação das tiossemicarbazonas por irradiação de micro-ondas com uso de solvente (metodologia 2)

As tiossemicarbazonas (**69-97**) foram obtidas por metodologia alternativa, utilizando quantidades equivalentes do aldeído apropriado e a alquil ou aril tiossemicarbazida, sob irradiação de micro-ondas, em forno de micro-ondas científico, na presença de ácido acético como catalisador e etanol como solvente orgânico. O tempo de exposição à irradiação de micro-ondas foi de 20 minutos (R=alquila) ou 40 minutos (R=arila), a uma temperatura de 80 °C e potência de 100 Hz. O precipitado formado foi filtrado e posteriormente lavado com etanol gelado, obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos. As tiossemicarbazonas foram obtidas em rendimentos satisfatórios, na faixa de 52-99%. Outros tempos de exposição à irradiação de micro-ondas foram testados, no entanto os melhores rendimentos foram obtidos para as condições descritas anteriormente.

O uso da metodologia alternativa via irradiação de micro-ondas, visou a diminuição do tempo de obtenção dos compostos, visto que pela metodologia tradicional o tempo de reação foi de 8 horas. Por esta metodologia foram preparadas 36 tiossemicarbazonas.

4.2.3 Preparação das tiossemicarbazonas por irradiação de micro-ondas na ausência de solvente (metodologia 3)

Nesta metodologia as tiossemicarbazonas (**69-97**) foram preparadas a partir da reação de quantidades equimolares do aldeído apropriado e a alquil ou aril tiossemicarbazida, sob irradiação de micro-ondas a 800 W de potência, na presença de gotas de ácido acético como catalisador. O tempo de exposição à irradiação de micro-ondas foi de apenas 3 minutos para todos os compostos. Os precipitados foram lavados com etanol gelado, obtendo-se os produtos finais puros em bons rendimentos, na faixa de 86-97%. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos.

Por esta metodologia, também foram preparadas 36 tiossemicarbazonas. A tabela 7 indica os rendimentos das tiossemicarbazonas sintetizadas utilizando as três metodologias diferentes.

Tabela 7: Rendimentos para tiossemicarbazonas sintetizadas nas diferentes metodologias.

Composto	R	Rendimentos (%)			Composto	Rendimentos (%)		
		Met 1 ^a	Met 2 ^b	Met 3 ^c		Met 1 ^a	Met 2 ^b	Met 3 ^c
62	C ₆ H ₅	83	86	96	80	--- ^d	82	93
63	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	74	79	92	81	--- ^d	70	86
64	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	70	71	97	82	--- ^d	78	91
65	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	68	88	90	83	--- ^d	82	90
66	CH ₃ CH ₂	--- ^d	54	89	84	--- ^d	99	96
67	(CH ₃) ₂ CH	--- ^d	83	96	85	--- ^d	99	97
68	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	--- ^d	71	94	86	--- ^d	94	92
69	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	--- ^d	70	92	87	--- ^d	88	91
70	C ₆ H ₁₁	--- ^d	83	95	88	--- ^d	97	94
71	C ₆ H ₅	49	62	91	89	--- ^d	77	89
72	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	78	93	97	90	--- ^d	84	88
73	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	67	76	88	91	--- ^d	57	90
74	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	63	82	96	92	--- ^d	79	96
75	CH ₃ CH ₂	--- ^d	73	98	93	--- ^d	70	95
76	(CH ₃) ₂ CH	--- ^d	52	93	94	--- ^d	75	93
77	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	--- ^d	78	94	95	--- ^d	81	91
78	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	--- ^d	52	87	96	--- ^d	79	89
79	C ₆ H ₁₁	--- ^d	85	95	97	--- ^d	62	93

^a Refluxo em etanol por 8 horas; ^b Irradiação de micro-ondas em etanol por 20/40 minutos; ^c Irradiação de micro-ondas sem solvente; ^d Produtos preparados somente pela metodologia 2 e 3.

A irradiação de micro-ondas na ausência de solvente mostrou-se o método de síntese mais eficiente dos três usados para a preparação das tiossemicarbazonas. Por este método os produtos foram obtidos em um curto tempo de reação, apenas 3 minutos, e com excelentes rendimentos, além de ser o método mais favorável dentro dos princípios da química verde, por gerar uma economia significativa de energia, devido ao curto tempo de reação, além de poluir menos o meio ambiente, já que as reações foram feitas livres de solvente orgânico.

4.2.4 Proposta do mecanismo para a preparação das tiossemicarbazonas (TENÓRIO *et al.*, 2005)

O mecanismo proposto para a síntese das tiossemicarbazonas (figura 51) inicia-se com a protonação do oxigênio da carbonila do aldeído, pelo ácido usado como catalisador, para formar o intermediário íon oxônio, seguida de ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida para formar o intermediário hemiaminal protonado. Este sofre o fenômeno de prototropismo para a eliminação de uma molécula de água, gerando o íon imínio, que com a neutralização dá origem a tiossemicarbazona (TENÓRIO *et al.*, 2005).

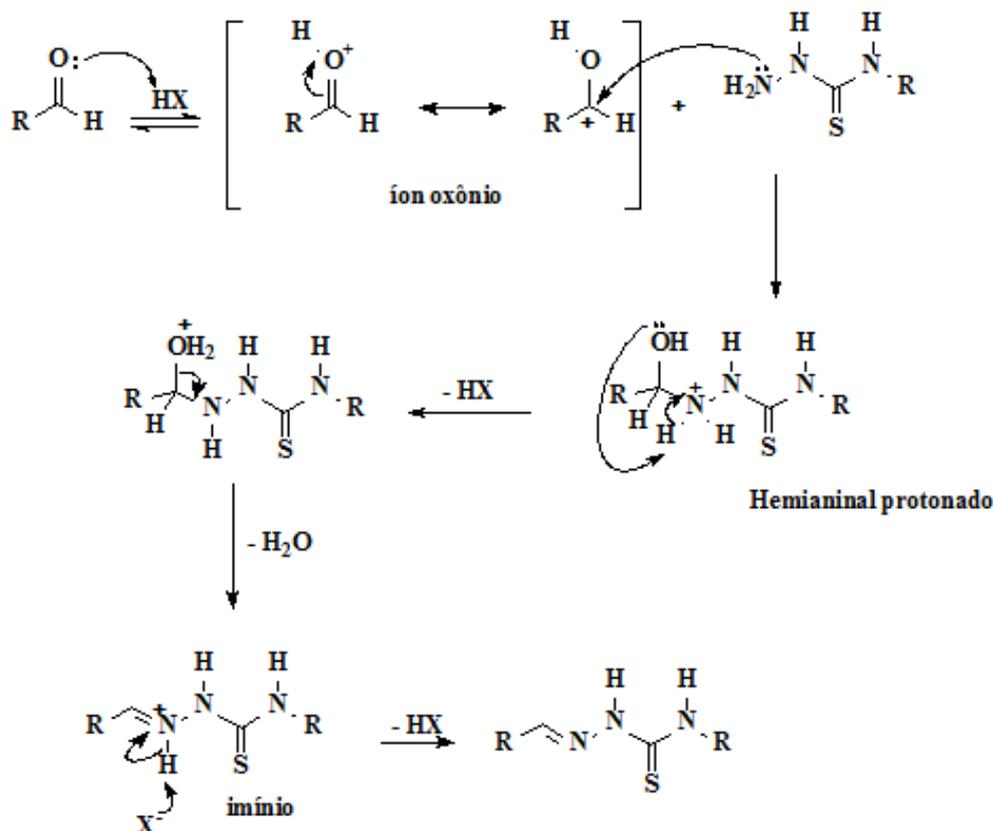


Figura 51: Mecanismo proposto para obtenção das tiossemicarbazonas (TENÓRIO *et al.*, 2005).

O uso do ácido acético como catalisador se mostrou essencial para a formação das tiossemicarbazonas alvos deste trabalho, visto que foi testada uma metodologia, onde quantidades equivalentes da tiossemicarbazida e do aldeído foram irradiadas por micro-ondas, por diferentes tempos (3, 10 e 30 minutos) a 800W de potência, na ausência de solvente e do ácido acético. No entanto, não foi verificada a formação do produto desejado em nenhum dos tempos de irradiação, confirmando a importância da participação do ácido acético como catalisador destas reações como mostrado no mecanismo sugerido.

4.2.5 Caracterização espectroscópica das tiossemicarbazonas

A caracterização dos produtos foi realizada pelas técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV) e RMN de 1H e ^{13}C .

4.2.5.1 Infravermelho

Os espectros de infravermelho das tiossemicarbazonas mostraram-se muito similares entre si, apresentado sinais na região de $3240-3525\text{ cm}^{-1}$ que se referem às frequências de deformação axial simétrica e assimétrica de N-H. Os sinais observados na região de $3107-3296\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídos à vibração de estiramento de ligação N-H do grupo NH hidrazínico. Já na região de $1525\text{ a }1604\text{ cm}^{-1}$ observaram-se sinais que foram atribuídos a

frequência de deformação axial de C=N. Na região de 1004-1236 cm⁻¹ foi possível observar o sinal da tiocarbonila, indicando a predominância de todos os derivados na forma tiona.

Para os derivados do cinamaldeído observaram-se sinais na região de 964-991 cm⁻¹, que foram atribuídos à frequência de deformação C=C *trans*-substituída, e o sinal observado na região de 1514-1562 cm⁻¹ foi atribuído à vibração de deformação axial de C=C conjugada. Já para os derivados do indol-3-carboxaldeído sinais na região de 3114-3219 cm⁻¹ foram atribuídos à vibração de estiramento de ligação N-H do grupo indol.

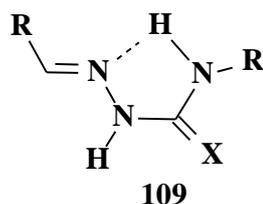
Em todas as tiossemicarbazonas foi possível observar os sinais característicos dos grupos arila e alquila, assim como os sinais referentes aos substituintes do anel aromático, quando o composto em questão era uma aril-tiossemicarbazona.

Os valores dos principais sinais dos espectros de infravermelho (Volume II, páginas 73-180) para todas as tiossemicarbazonas estão indicados no item 3.2.4.1 de Materiais e Métodos.

4.2.5.2 Ressonância magnética nuclear de ¹H

Considerando-se as três séries de tiossemicarbazonas preparadas neste trabalho dentro de uma mesma série, os espectros de RMN de ¹H mostraram-se bem similares e de alta relevância para a caracterização desses compostos. Os sinais que foram mais característicos desta classe de compostos foram os singletos referentes aos hidrogênios 2 e 4, ambos ligados aos nitrogênios, esses sinais foram observados em quase todos os 36 compostos sintetizados. Para os derivados do cinamaldeído esses sinais apareceram na faixa de 9,80 a 12,58 ppm (H-2) e 6,64 a 12,12 ppm (H-4). Já para as tiossemicarbazonas derivadas do indol-3-carboxaldeído o sinal do hidrogênio 2 apareceu na faixa de 11,49 a 12,39 ppm (H-2), e os dos hidrogênios 4 na faixa de 7,95 a 10,08 ppm (H-4). Já na faixa de 9,96 a 12,49 ppm (H-2) e 7,82 a 12,12 ppm (H-4) atribuiu-se os sinais para os hidrogênios 2 e 4 para os derivados do 2,6-dimetoxipiridina-3-carboxaldeído, e na faixa de 12,86 a 13,65 ppm (H-2) e 8,72 a 11,35 ppm (H-4) os sinais para os derivados da quinolina-4-carboxaldeído.

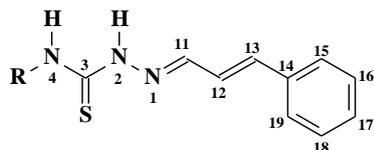
A atribuição dos maiores valores de deslocamento químico para o hidrogênio 4 pode ser justificada pela formação da ligação intramolecular deste hidrogênio com o nitrogênio do grupo azometino (**109**), deixando este hidrogênio mais desblindado, logo com deslocamento químico em campo mais baixo.



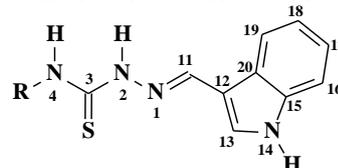
Outro sinal relevante no espectro de RMN ¹H das tiossemicarbazonas foi referente ao hidrogênio 11 do grupo azometino. Este sinal foi observado na faixa de 7,94 a 9,09 ppm (H-11). Em uma mesma classe não se observou grande variação nos valores de deslocamento químico deste hidrogênio, sugerindo que a substituição no nitrogênio 2 não afeta eletronicamente este hidrogênio, o que já era esperado, visto que a transmissão do efeito indutivo diminui com a distância existente entre N-4 e o H-11 (5 ligações).

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos hidrogênios, assim como suas multiplicidades estão mostrados na tabela 8 e os espectros no Volume II, páginas 73-180.

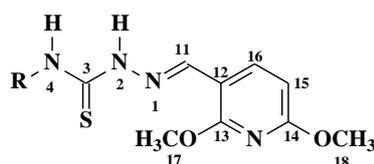
Derivados do cinamaldeído



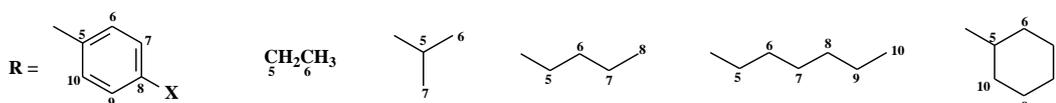
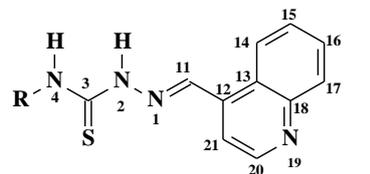
Derivados do indol-3-carboxaldeído



Derivados do 2,6-dimetoxi-piridinacarboxaldeído



Derivados do quinolina-4-carboxaldeído



X=H, CH₃, OCH₃, NO₂

Tabela 8: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ¹H obtidos em acetona-*d*₆ ou piridina-*d*₅ das tiossemicarbazonas sintetizadas.

Composto	R	H-2	H-4	H-11	Composto	H-2	H-4	H-11
62	C ₆ H ₅	9,93 (s)	11,80 (s)	7,98 (d)	80	10,06 (s)	11,77 (s)	8,32 (s)
63	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	9,84 (s)	n.o	7,96 (d)	81	9,99 (s)	11,72 (s)	8,31 (s)
64	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	9,80 (s)	11,72 (s)	7,96 (d)	82	9,96 (s)	11,69 (s)	8,30 (s)
65	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	10,40 (s)	12,12 (s)	8,02 (d)	83	10,37 (s)	12,12 (s)	8,37 (s)
66	CH ₃ CH ₂	10,28 (s)	7,97 (s)	7,94 (d)	84	12,49 (s)	8,99 (s)	8,61 (s)
67	(CH ₃) ₂ CH	10,25 (s)	6,64 (s)	7,94 (d)	85	10,25 (s)	7,82 (s)	8,29 (s)
68	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	10,28 (s)	n.o	7,94 (d)	86	10,28 (s)	n.o.	8,29 (s)
69	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	10,28 (s)	7,97 (s)	7,94 (d)	87	10,28 (s)	n.o.	8,29 (s)
70	C ₆ H ₁₁	12,58 (s)	8,38 (d)	8,10 (d)	88	12,49 (s)	8,37 (d)	8,63 (s)
71	C ₆ H ₅	11,60 (s)	9,61 (s)	8,40 (s)	89	13,28 (s)	11,02 (s)	9,09 (s)
72	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	11,54 (s)	9,52 (s)	8,39 (s)	90	13,22 (s)	11,00 (s)	9,09 (s)
73	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	11,49 (s)	9,47 (s)	8,39 (s)	91	13,23 (s)	11,02 (s)	9,10 (s)
74	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	11,97 (s)	10,08 (s)	8,44 (s)	92	13,65 (s)	11,35 (s)	9,19 (s)
75	CH ₃ CH ₂	12,29 (s)	8,51 (t)	8,76 (s)	93	12,86 (s)	9,31 (s)	9,01 (s)
76	(CH ₃) ₂ CH	12,34 (s)	7,95 (d)	8,75 (s)	94	12,86 (s)	8,72 (s)	8,99 (s)
77	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	12,34 (s)	8,45 (t)	8,77 (s)	95	12,89 (s)	9,26 (s)	9,01 (s)
78	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	12,34 (s)	8,47 (t)	8,77 (s)	96	12,89 (s)	9,27 (s)	9,00 (s)
79	C ₆ H ₁₁	12,39 (s)	8,03 (d)	8,75 (s)	97	12,90(s)	n.o.	8,98 (s)

n.o. não observado

4.2.5.3 Ressonância magnética nuclear de ¹³C

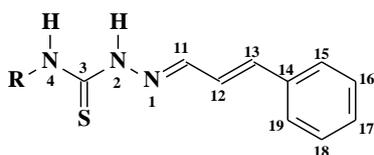
A análise dos espectros de RMN de ¹³C foi, também, essencial para a caracterização das tiossemicarbazonas. Assim como nos espectros de RMN ¹H, dois sinais foram característicos para esta classe de compostos: o sinal referente à tiocarbonila (C-3), que foi observado na região de 174,71 a 179,28 ppm, e o sinal referente ao carbono do grupo

azometino (C-11), observado na região de 136,94 a 146,93 ppm. Dentro de uma mesma série não se observou diferença significativa nos deslocamentos químicos referentes ao carbono 11, devido ao efeito indutivo dos substituintes em N-4 não ter influência significativa para este carbono pela distância de 4 ligações. Já para o grupo tiocarbonila observou-se um efeito de blindagem no carbono 3, causado pelo anel aromático, quando o substituinte em N-4 era um grupo arila, fornecendo valores de deslocamento para C-3 na faixa de 174,71 a 178,16 ppm. Quando N-4 estava substituído por um grupo alquila os deslocamentos químicos para C-3 foram atribuídos em campo mais baixo, em torno de 178,05 a 179,28 ppm, devido ao efeito de desblindagem causado pelos grupos alquilas ligados ao átomo de nitrogênio.

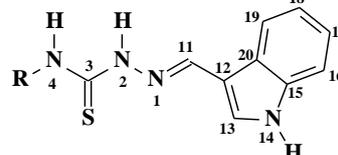
O sinal referente ao carbono 5 também foi de grande relevância para a elucidação das estruturas propostas, pois possibilitou identificar a natureza do grupo ligado ao nitrogênio 4, oriundo dos isotiocianatos. Quando o grupo em questão era de natureza alquílica o sinal de C-5 foi observado em torno de 39,32 a 55,39 ppm, sendo os menores valores de deslocamento químico para o grupo butila, na faixa de 39,32 a 44,39 ppm, e os maiores valores para o grupo cicloexila em torno de 52,58 a 55,39 ppm. Já para os derivados com o grupo arila o sinal de C-5 foi observado na faixa de 143,32 a 145,36 ppm para os derivados *p*-nitro substituídos, valores que já eram esperados devido ao efeito de desblindagem causado pelo grupo retirador de elétrons, e em torno de 132,00 a 133,80 ppm para os derivados metoxilados, valores em campo mais alto devido ao efeito de proteção pelo grupo doador de elétrons.

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos carbonos estão mostrados na tabela 9 e os espectros no Volume II, páginas 73-180.

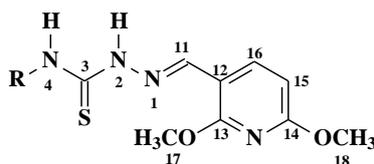
Derivados do cinamaldeído



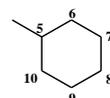
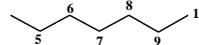
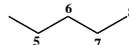
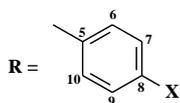
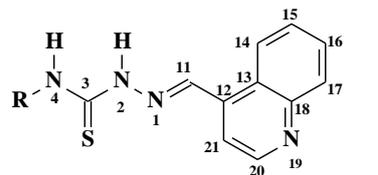
Derivados do indol-3-carboxaldeído



Derivados do 2,6-dimetoxi-piridinacarboxaldeído



Derivados do quinolina-4-carboxaldeído



X=H, CH₃, OCH₃, NO₂

Tabela 9: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³C obtidos em acetona-*d*₆ ou piridina-*d*₅ das tiossemicarbazonas sintetizadas.

Composto	R	C-3	C-5	C-11	Composto	C-3	C-5	C-11
62	C ₆ H ₅	177,42	140,52	145,81	80	175,52	139,08	137,31
63	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	175,41	135,90	144,77	81	175,60	134,32	137,15
64	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	177,95	133,45	145,60	82	175,94	132,00	137,02
65	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	176,88	145,36	146,93	83	174,71	143,32	138,62
66	CH ₃ CH ₂	178,57	39,42	144,51	84	178,48	39,36	137,17
67	(CH ₃) ₂ CH	178,76	44,38	144,56	85	178,84	44,39	137,29
68	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	177,62	46,58	144,59	86	177,49	46,48	137,40
69	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	178,74	44,68	144,55	87	178,79	44,68	137,26
70	C ₆ H ₁₁	177,57	55,39	143,60	88	177,40	53,49	137,41
71	C ₆ H ₅	176,82	138,95	141,99	89	178,16	140,04	137,79
72	<i>p</i> -CH ₃ -C ₆ H ₄	176,88	135,71	141,81	90	178,68	132,16	137,63
73	<i>p</i> -CH ₃ O-C ₆ H ₄	177,37	133,80	141,78	91	178,73	132,97	137,60
74	<i>p</i> -NO ₂ -C ₆ H ₄	175,97	145,16	143,17	92	177,67	n.o.	138,97
75	CH ₃ CH ₂	178,10	39,32	140,32	93	179,08	39,62	136,94
76	(CH ₃) ₂ CH	178,31	44,26	140,29	94	179,24	44,56	137,06
77	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH ₂	177,21	42,35	140,19	95	178,15	46,84	137,04
78	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₂	178,25	44,54	140,30	96	179,28	44,95	137,10
79	C ₆ H ₁₁	177,04	52,58	140,10	97	178,05	53,73	137,95

n.o. não observado

4.2.6 Atividade antifúngica

A ação antifúngica das tiossemicarbazonas foi avaliada frente ao fungo micotoxinogênico *Aspergillus parasiticus* e frente ao fungo leveduriforme *Candida albicans*. Esses ensaios foram realizados em colaboração com a Dra. Lucimar Ferreira Kneipp do Departamento de Micologia da Fundação Oswaldo Cruz e foram executados pela aluna de doutorado Rojane de Oliveira Paiva.

As 36 tiossemicarbazonas foram ensaiadas frente aos fungos *A. parasiticus* e *C. albicans* em cultura de 48 horas, sendo o crescimento na mais baixa concentração de inibição do organismo registada como a MIC (concentração mínima inibitória). Os resultados mostraram moderada atividade para algumas tiossemicarbazonas em comparação com o padrão fungicida itroconazol. Das tiossemicarbazonas derivadas do cinamaldeído somente três delas mostraram atividade fungicida frente a *C. albicans* (**66**, **68** e **69**), sendo que frente ao fungo *A. parasiticus* apenas **66** e **68** foram ativas. Os derivados do indol-3-carboxaldeído (**71-79**) foram os que apresentaram melhores resultados, pois todos os derivados testados mostraram atividade para o fungo *A. parasiticus* e somente três compostos não foram ativos frente ao fungo *C. albicans*. Dos derivados da quinolina-4-carboxaldeído somente o derivado **96** foi ativo frente o fungo *A. parasiticus*, mas não demonstrou atividade frente ao fungo *C. albicans*. As tiossemicarbazonas derivadas do 2,6-dimetoxi-piridina-3-carboxaldeído não apresentaram atividade frente aos fungos testados. A Tabela 10 lista os valores de MIC (µg / mL) obtidos para tiossemicarbazonas que mostraram atividade.

Tabela 10: Valores de MIC ($\mu\text{g/mL}$) das tiossemicarbazonas ativas frente aos fungos *C. albicans* e *A. parasiticus*.

Composto	R	<i>C. albicans</i>	<i>A. parasiticus</i>
66	CH_3CH_2	250	500
68	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$	250	500
69	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$	500	NI
71	C_6H_5	500	500
72	<i>p</i> - $\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	NI	500
73	<i>p</i> - $\text{CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4$	250	500
74	<i>p</i> - $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4$	500	500
75	CH_3CH_2	NI	500
76	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}$	250	500
77	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$	500	500
78	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$	NI	500
79	C_6H_{11}	500	500
96	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2$	NI	500

NI: Nenhuma inibição até 500 $\mu\text{g/mL}$.

A ação antimicrobiana moderada observada para estas tiossemicarbazonas não exclui possíveis investigações adicionais destes compostos contra outras espécies de fungos.

4.3 Preparação dos Cloridratos Meso-iônicos por Irradiação de Micro-ondas

Os meso-iônicos, na forma de sais, foram obtidos utilizando uma metodologia alternativa, visando a diminuição nos tempos de reação e adequando a preparação desses compostos aos princípios da Química Verde. A estratégia de síntese dos cloridratos meso-iônicos, para a metodologia alternativa utilizada neste trabalho, envolveu a reação das tiossemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas com aldeídos aromáticos na presença de cloreto de tionila (SOCl_2) atuando como ácido de Lewis, conforme figura 52. O uso do aldeído e do ácido de Lewis visou a eliminação de uma etapa de reação em relação à metodologia tradicional (DA SILVA *et al.*, 2002), que utiliza o ácido carboxílico e a posterior preparação do cloreto de ácido, bem como a diminuição do tempo de obtenção dos compostos, que na metodologia tradicional é de 4 horas (REIS, 2008).

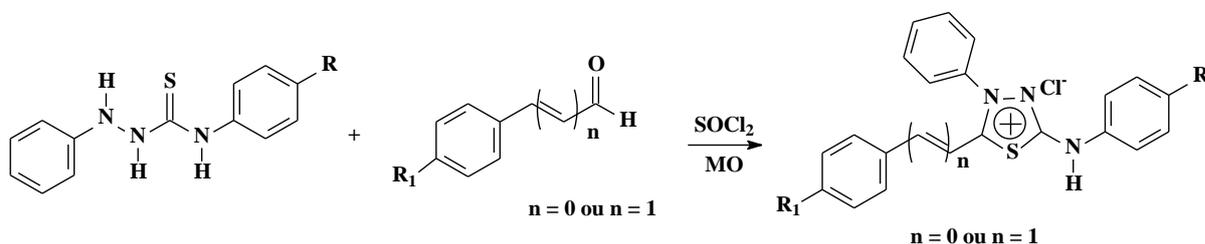


Figura 52: Esquema de síntese dos cloridratos meso-iônicos

Foram preparados onze cloridratos meso-iônicos, 8 inéditos na literatura, sendo quatro derivados do benzaldeído (98-101) e sete derivados do cinamaldeído (101-108). Na figura 53 encontram-se as estruturas dos compostos sintetizados.

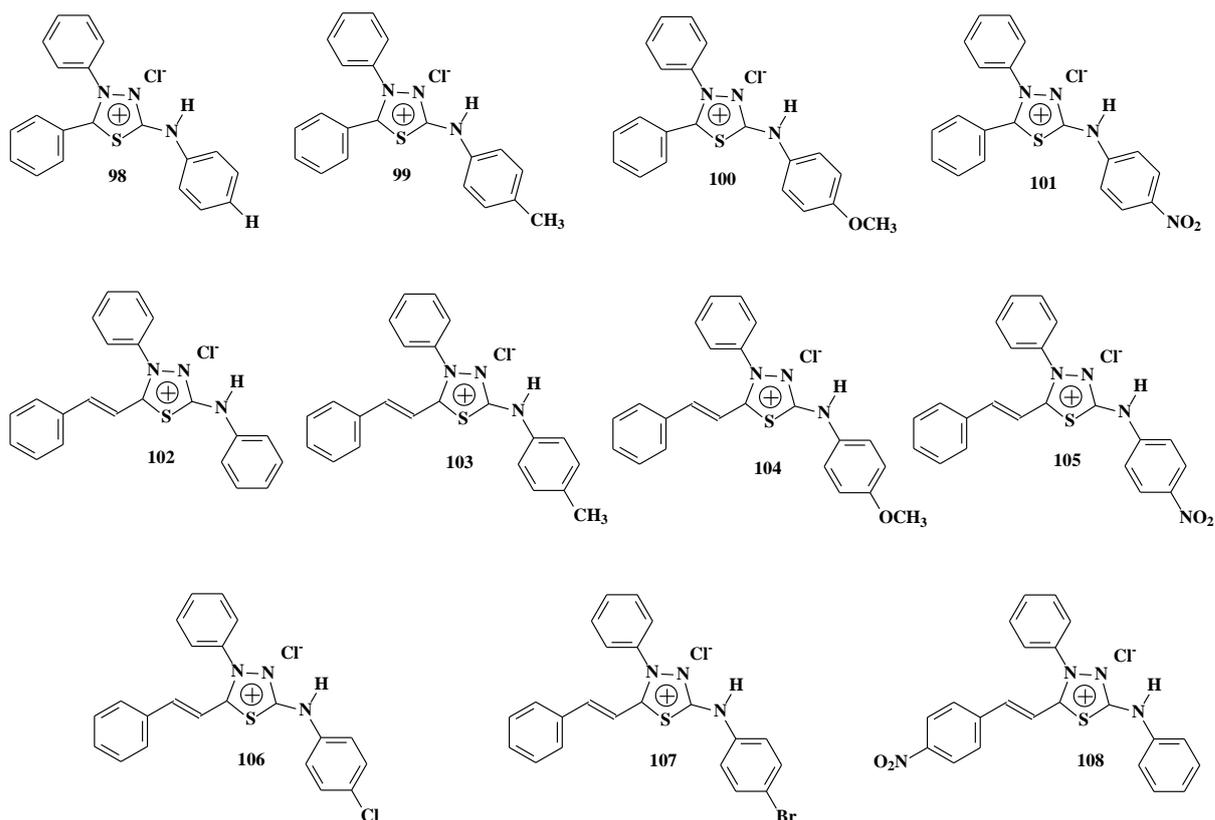


Figura 53: Estrutura dos cloretos mesoiônicos sintetizados.

As reações para a obtenção dos cloridratos mesoiônicos foram realizadas utilizando quantidades equivalentes do benzaldeído ou cinamaldeído e as tiosemicarbazidas N_1, N_4 -dissubstituídas, sob irradiação de micro-ondas, na presença de cloreto de tionila (3x excesso) como ácido de Lewis e 1,4-dioxano em quantidade suficiente apenas para homogeneizar os reagentes. O tempo de exposição à irradiação das micro-ondas foi de 5 minutos em 100W de potência. Posteriormente a mistura reacional foi vertida em 1,4-dioxano e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano gelado e água destilada, também gelada, obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Todos os compostos foram analisados por cromatografia em camada fina para verificar a pureza dos mesmos, e caracterizados através de ponto de fusão e da análise dos espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C . A tabela 11 mostra os rendimentos dos sais mesoiônicos obtidos por irradiação de micro-ondas.

Tabela 11: Rendimentos obtidos para os cloridratos mesoiônicos preparados por irradiação de micro-ondas.

Composto	R	R ₁	Rendimentos (%)
98	H	H	92
99	OCH ₃	H	89
100	CH ₃	H	94
101	NO ₂	H	90
102	H	H	97
103	CH ₃	H	98
104	OCH ₃	H	96
105	NO ₂	H	95
106	Cl	H	97
107	Br	H	96
108	H	NO ₂	93

4.3.1 Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclização (REIS, 2008)

O mecanismo sugerido para a síntese dos sais mesoiônicos utilizando SOCl₂ envolve inicialmente o ataque dos pares de elétrons não-ligantes do oxigênio da carbonila do aldeído ao átomo de enxofre do cloreto de tionila, formando um intermediário com um carbono com maior caráter eletrofílico. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico da 1,4-difeniltiossemicarbazida substituída a este carbono eletrofílico formando um intermediário *N*-acilado, que posteriormente é atacado pelo átomo de enxofre do grupo tiocarbonila eliminando uma molécula de SO₂ e levando a formação do sistema cíclico. Posteriormente, ocorre a aromatização do heterociclo com a retirada de um hidrogênio pelo íon cloreto formando ácido clorídrico. A figura 54 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, utilizando cloreto de tionila como ácido de Lewis.

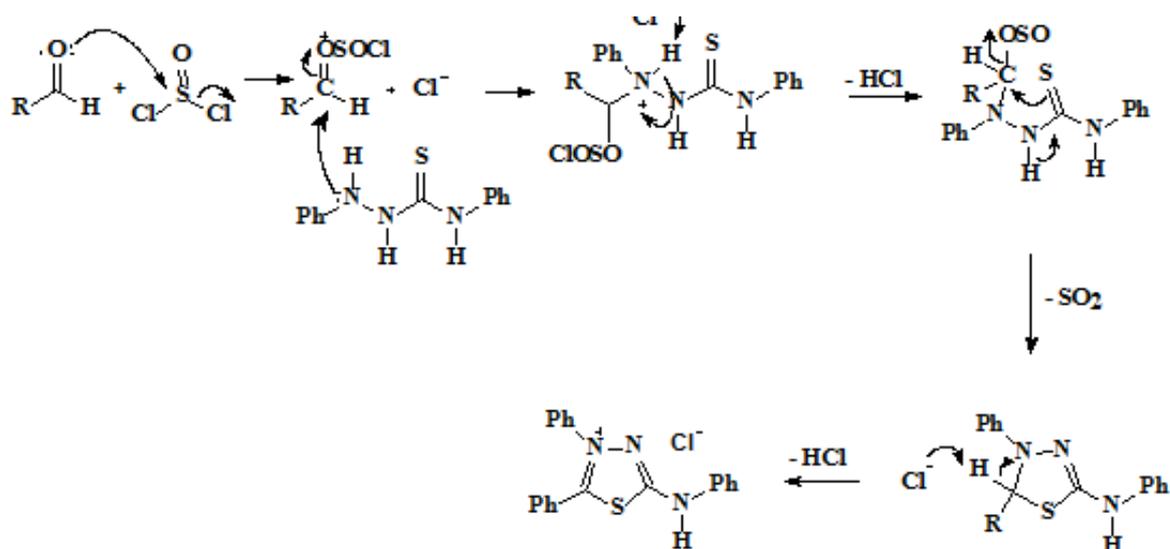


Figura 54: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando SOCl₂ como ácido de Lewis.

4.3.2 Caracterização Espectroscópica dos Cloridratos Meso-iônicos

A caracterização dos produtos foi realizada pelas técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV) e RMN de ^1H e ^{13}C .

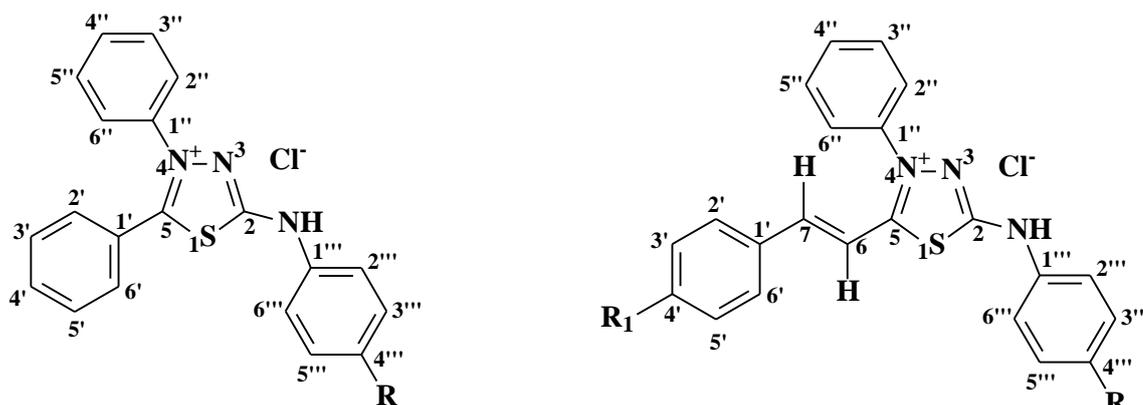
4.3.2.1 Infravermelho

Os espectros de infravermelho dos cloridratos meso-iônicos sintetizados indicaram absorções características nas faixas correspondentes aos grupos N-H em 3400 cm^{-1} , C=NH⁺ em 2600 cm^{-1} , C=N em 1560 cm^{-1} , C-S em 1300 cm^{-1} , além das bandas típicas referentes às ligações C-H e C=C aromáticas indicando o perfil de substituição. Considerando-se os derivados contendo o grupo estirila foram observadas, também, absorções características para os grupamentos C=C vinílico em 1600 cm^{-1} . Os valores dos principais sinais do espectro de infravermelho (Volume II, páginas 181-228) para todos os cloridratos meso-iônicos estão indicados no ponto 3.2.5.1 de Materiais e Métodos.

4.3.2.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H apresentaram, de maneira geral, pouca informação sobre as estruturas dos meso-iônicos devido à presença de três anéis aromáticos, sendo dois deles com deslocamentos químicos muito próximos, por possuírem ambientes químicos similares envolvendo o átomo de nitrogênio. No entanto, observou-se para os cloridratos meso-iônicos o deslocamento químico referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio exocíclico na faixa de 12,30 a 13,62 ppm, sinal este característico desta classe de compostos. Para os derivados estiril substituídos observou-se os deslocamentos químicos dos hidrogênios olefínicos entre 7,04 a 7,25 ppm para H-6 e 7,83 a 8,25 ppm para H-7.

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos hidrogênios, assim como suas multiplicidades estão mostrados na tabela 12 e os espectros no Volume II, páginas 181-228.



R= H (98), CH₃ (99), OCH₃ (100), NO₂ (101)

102: R₁=H; R=H

106: R₁=H; R=Cl

103: R₁=H; R=CH₃

107: R₁=H; R=Br

104: R₁=H; R=OCH₃

108: R₁=NO₂; R=H

105: R₁=H; R=NO₂

Tabela 12: Principais deslocamentos químicos dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H obtidos em DMSO- d_6 dos cloridratos mesoiônicos sintetizados.

Composto	N-H	H-6	H-7
98	12,03 (s)	***	***
99	12,73 (s)	***	***
100	12,30 (s)	***	***
101	13,62 (s)	***	***
102	12,41 (s)	7,05 (d)	8,01 (d)
103	12,58 (s)	7,25 (d)	8,10 (d)
104	12,73 (s)	7,24 (d)	8,09 (d)
105	12,68 (s)	7,10 (d)	8,11 (d)
106	12,82 (s)	7,04 (d)	8,02 (d)
107	12,62 (s)	7,04 (d)	8,03 (d)
108	13,03 (s)	7,26 (s)	8,13 (s)

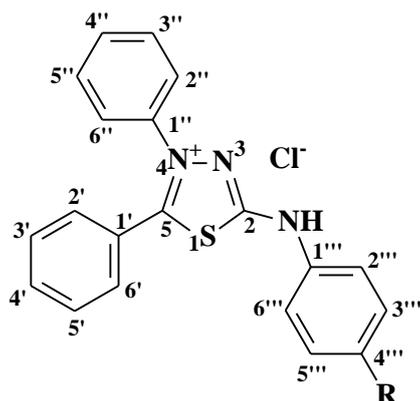
4.3.2.3 Ressonância magnética nuclear de ^{13}C

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos mesoiônicos, foi possível observar os deslocamentos químicos característicos dos carbonos C-2 e C-5 do anel heterocíclico. Para os cloridratos mesoiônicos, C-5 foi assinalado com os maiores deslocamentos químicos, na faixa de 156,04 a 165,82 ppm e o C-2 com os menores deslocamentos químicos 148,50 a 160,48 ppm, em relação aos primeiros, ambos carbonos quaternários.

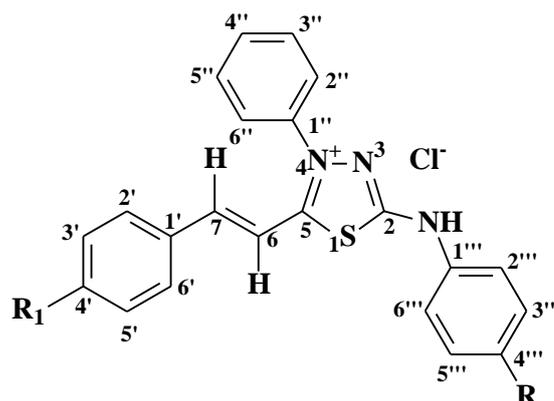
Os carbonos C-6 e C-7, para os cloridratos que apresentam o grupo estiril, tiveram deslocamentos químicos refletindo o efeito retirador de elétrons do anel heterocíclico, ou seja, o C-7 mostrou-se sempre mais desprotegido na faixa de 144,45 a 148,23 ppm, enquanto que o C-6 mais protegido na faixa de 111,43 a 115,50 ppm.

Os deslocamentos para os carbonos em posição *ipso* ao grupo substituinte também foram observados. Para os cloridratos substituídos com grupos doadores de elétrons (**99**, **100**, **103** e **104**) as absorções apresentaram-se na faixa de 126,13 a 148,47 ppm, em campo mais baixo comparando-se com os derivados substituídos com grupos retiradores de elétrons (**101**, **105**, **106**, **107** e **108**), cujos deslocamentos para o carbono *ipso* ao substituinte foram atribuídos na faixa de 115,78 a 127,65 ppm, de acordo com a natureza do grupo substituinte.

Os valores dos principais deslocamentos químicos dos carbonos estão mostrados na tabela 13 e os espectros no Volume II, páginas 181-228.



R= H (**98**), CH₃ (**99**), OCH₃ (**100**), NO₂ (**101**)



102: R₁=H; R=H

106: R₁=H; R=Cl

103: R₁=H; R=CH₃

107: R₁=H; R=Br

104: R₁=H; R=OCH₃

108: R₁=NO₂; R=H

105: R₁=H; R=NO₂

Tabela 13: Principais deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN ¹³C obtidos em DMSO-*d*₆ dos cloridratos mesoiônicos sintetizados.

Composto	C-2	C-5	C- <i>ipso</i>	C- 6	C-7
98	161,23	164,76	129,55	***	***
99	160,48	163,82	133,21	***	***
100	156,04	161,34	148,47	***	***
101	160,36	165,82	142,45	***	***
102	159,14	162,90	124,17	111,50	147,94
103	148,50	159,73	126,13	115,47	144,45
104	156,04	161,33	148,45	115,50	144,20
105	156,96	162, 83	154,96	112,46	142,81
106	158,84	163,23	127,65	111,43	148,12
107	158,89	163,36	115,78	111,45	148,23
108	159,47	161,90	148,48	115,47	144,52

4.3.3 Avaliação da atividade biológica

Nos últimos anos, devido às suas características estruturais especiais, as diferentes classes de mesoiônicos têm sido alvo de inúmeros estudos incluindo a atividade anticâncer e antileishmania. Além disto, como já mencionado na Introdução, existem na literatura diversos relatos de suas diversificadas atividades biológicas. Assim, foram avaliadas as atividades anticâncer dos cloridratos mesoiônicos **103**, **106**, **107** e **108** nas linhagens leucêmicas humanas K562 e Jurkat e na linhagem de linfoma Daudi. Esses ensaios foram executados no Laboratório de Imunologia Tumoral da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob a coordenação da Dra. Juliana Echevarria-Lima.

Os cloridratos mesoiônicos **102**, **108** e **110** foram avaliados frente à atividade anti-*Leishmania* contra as espécies *L. amazonensis* e *L. infantum*. A inibição da enzima tripanotona redutase (TryR) de extratos solúveis obtidos de parasitas na forma promastigota de *L. amazonensis*, *L. infantum* e *L. braziliensis* e, na forma epimastigota de *T. cruzi* também foi avaliada para os derivados **102**, **108**, **110** e **111**. Os derivados **110** e **111** não foram

sintetizados neste trabalho (REIS, 2008). A figura 55 mostra as estruturas químicas dos compostos ensaiados. Esses ensaios foram executados no Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos da Fundação Oswaldo Cruz, sob a coordenação da Dra. Leonor L. Leon.

Estudos anteriores de atividade antitumoral e anti-*Leishmania* indicaram esses derivados como os mais promissores, por isso somente esses foram testados nos estudos demonstrados neste trabalho de tese.

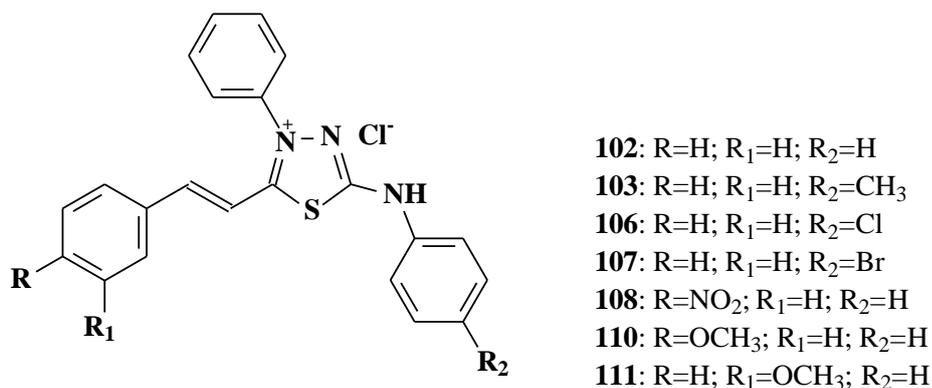


Figura 55: Estruturas químicas dos compostos mesoiônicos testados.

4.3.3.1 Ação citotóxica frente à linhagem Daudi

Estudos anteriores demonstraram significativa atividade antitumoral do cloridrato mesoiônico **108** frente a outras linhagens tumorais. Baseando-se nestes resultados este derivado foi ensaiado frente à linhagem de células Daudi e K562 em culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias utilizando o método do MTT (MOSMANN, 1983). As médias dos percentuais, em relação ao controle com DMSO, obtidos a partir dos valores de densidade óptica (D.O.), foram relacionadas com as respectivas concentrações obtendo-se os gráficos que indicaram os efeitos antiproliferativos. Os resultados mostraram atividade citotóxica significativa a partir de 24 horas de cultura frente às células da linhagem Daudi (figura 56) e K562 (figura 57), aumentando seu efeito, dose-dependente, de acordo com o tempo de exposição ao mesoiônico **108**.

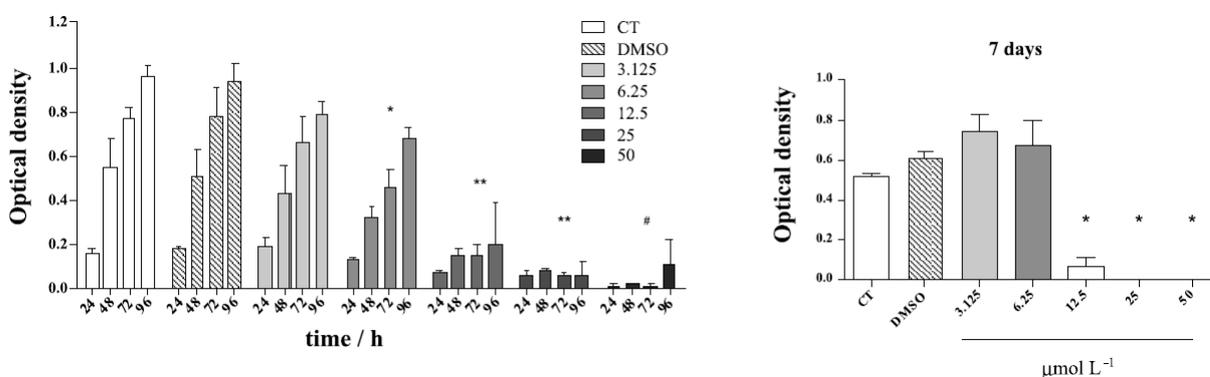


Figura 56: Efeito do composto mesoiônicos **108** sobre as células Daudi nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

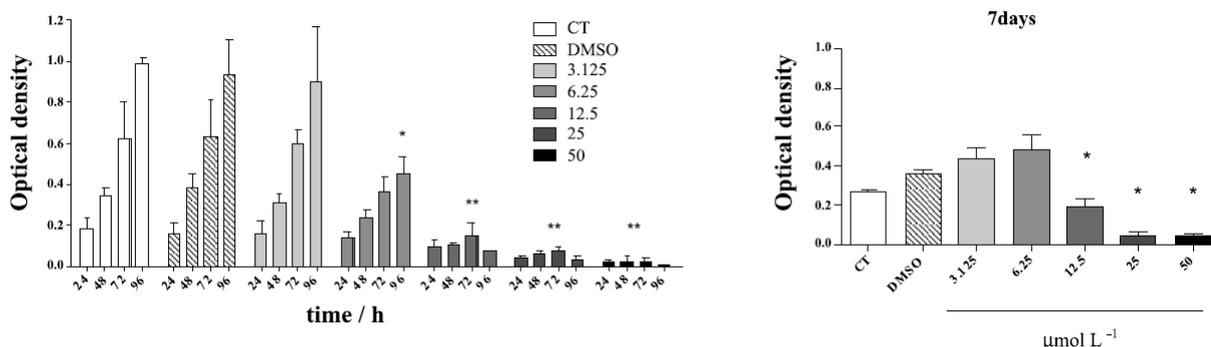


Figura 57: Efeito do composto mesoiônico **108** sobre a linhagem K562 nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

4.3.3.2 Comparação do efeito do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**108**) sobre as células K562 e Daudi

As linhagens celulares Daudi e K562 foram cultivadas desde 24h até o período de 7 dias na presença de diferentes concentrações do composto mesoiônico **108**. A partir desses resultados foram realizados os cálculos para os valores do IC₅₀, descritos na tabela 14.

Tabela 14: Valores de IC₅₀ (µM) do composto **108** para as células Daudi e K562.

TEMPO	IC ₅₀ (µM) DAUDI	IC ₅₀ (µM) K562
24 h	10,76 ± 0,09	12,12 ± 0,10
48 h	8,62 ± 0,07	7,63 ± 0,06
72 h	7,93 ± 0,08	7,08 ± 0,08
96 h	10,17 ± 0,11	6,03 ± 0,07
7 dias	11,55 ± 0,07	8,76 ± 0,09

A comparação dos valores de IC₅₀ para as 2 linhagens celulares testadas, levou a observação que as células Daudi, de origem linfóide, são tão sensíveis a ação citotóxica do mesoiônico **108** quanto a linhagem de origem mielóide K562 nas primeiras 72 horas.

4.3.3.3 Análise do ciclo celular

Para compreender o mecanismo da citotoxicidade exibido pelo cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**108**) foram incubadas durante 24h as células Daudi e K562 com o composto **108** a uma concentração de 3,25 a 50 µM. A capacidade deste composto para induzir a apoptose em células K562 e Daudi foi analisada com um ensaio do ciclo celular. Os resultados mostraram um aumento de células hipodiplóides, o qual foi correlacionado com os resultados de citotoxicidade (Figura 58). Isto sugeriu que o composto mesoiônico **108** induz à morte celular por apoptose, no entanto outras análises serão realizadas para esclarecer os mecanismos de ação deste composto.

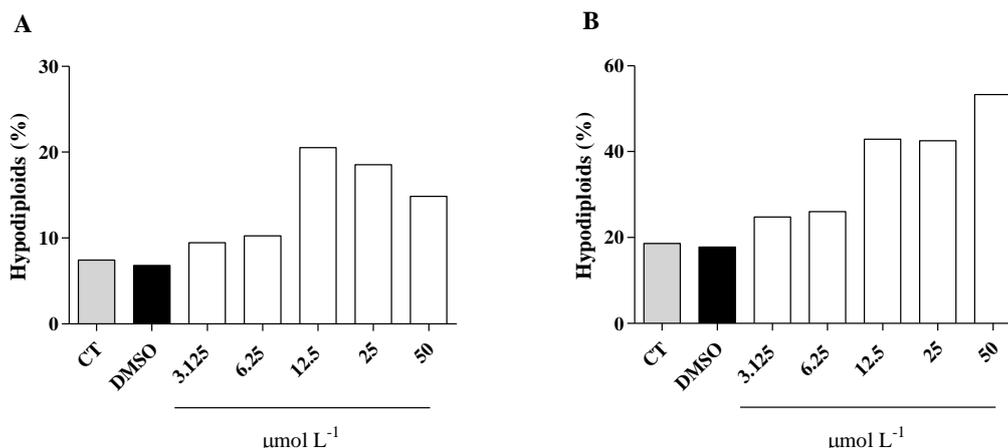


Figura 58: Valores médios de porcentagem de células hipodiplóides nas linhagens das células Daudi (A) e K562 (B) na cultura de 24 horas na presença do mesoiônico **108**.

4.3.3.4 Ação citotóxica dos cloridratos mesoiônicos na linhagem Jurkat

Os compostos mesoiônicos **103** (MIC-CH₃), **106** (MIC-Cl), **107** (MIC-Br) **108** (MID) foram ensaiados frente à linhagem de células Jurkat inicialmente na concentração de 50 µM em cultura de 72h, utilizando o método do MTT (MOSSMAN, 1983). Foi observado nos resultados que estes derivados mesoiônicos reduziram a viabilidade das células Jurkat, conforme mostrado na figura 59.

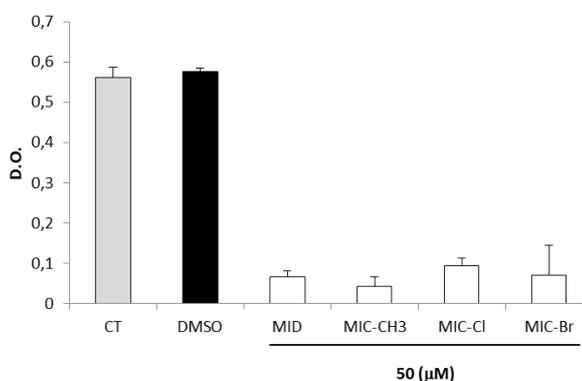


Figura 59: Efeito dos compostos mesoiônicos sobre a linhagem Jurkat na cultura de 72 horas onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

Posteriormente, os derivados **103** (MIC-CH₃) e **106** (MIC-Cl), foram ensaiados frente à linhagem celular Jurkat em cultura de 72 horas nas concentrações de 3,125 a 25 µM. As médias dos percentuais, em relação ao controle com DMSO, obtidos a partir dos valores de D.O., foram relacionadas com as respectivas concentrações obtendo-se os gráficos que indicaram os efeitos antiproliferativos (figura 60). A partir desses resultados foram realizados os cálculos para os valores do IC₅₀. O cloridrato mesoiônico **103** apresentou um IC₅₀ de 6,08 µM e o mesoiônico **106** IC₅₀ de 4,62 µM.

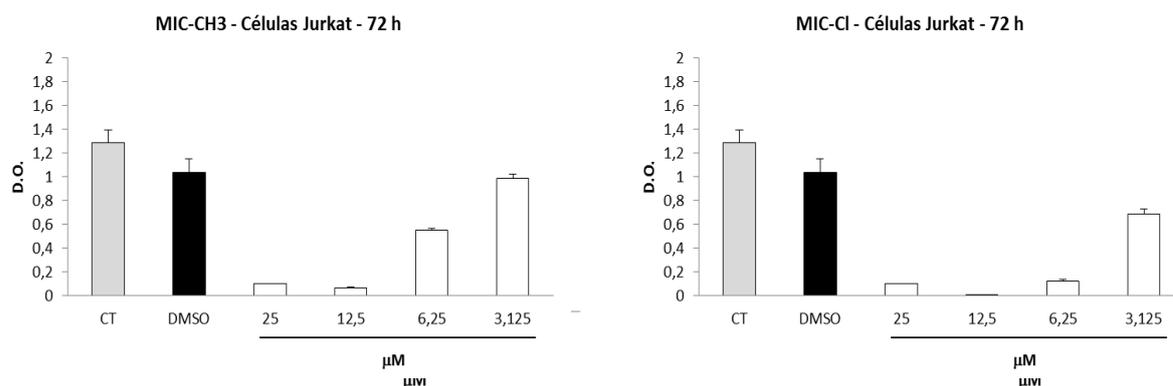


Figura 60: Efeito dos compostos mesoiônicos sobre a linhagem Jurkat na cultura de 72 horas onde CT (controle) e DMSO indicam o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

Os mesoiônicos **107** e **108**, até o presente momento, encontram-se em avaliação para a determinação dos valores de IC_{50} e quanto ao possível mecanismo de ação.

4.3.3.5 Avaliação da atividade anti-leishmania frente a *L. amazonensis* e *L. infantum*

A avaliação da atividade anti-leishmania foi realizada utilizando-se o tratamento *in vivo* com os compostos mesoiônicos **102**, **108** e **110**, e os resultados observados mostraram que houve a contenção da progressão da leishmaniose cutânea e visceral em comparação com o grupo de controle, que foram animais tratados com Sb meglumina. Estes compostos mesoiônicos não produziram efeitos toxicológicos após o tratamento. Além disso, o tratamento com estes derivados levou a uma modulação da resposta imune que foi correlacionada com o controle da doença. Neste estudo todos os compostos testados exibiram atividade elevada frente a *L. infantum*. Para a *L. amazonensis*, o tratamento intralesional com os derivados **108** e **110** mostrou maior eficácia terapêutica do que o tratamento com Sb meglumina e, as novas formulações tópicas destes compostos também apresentaram atividade ótima para a leishmaniose cutânea. A tabela 15 indica as cargas parasitárias em diferentes órgãos dos camundongos BALB/c usados nesses ensaios.

Tabela 15: Cargas parasitárias (parasitas/mg de tecido) em diferentes órgãos de ratos BALB/c infectados com as espécies de *Leishmania* após o tratamento com os compostos mesoiônicos testados.

Espécie de <i>Leishmania</i>	Tratamento	Pata (parasitas/mg)	Gânglios linfáticos (parasitas/mg)	Baço (parasitas/mg)	Fígado (parasitas/mg)
<i>L. amazonensis</i>	Intralesional				
Controle		$2,9 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	***
102		$1,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10$	***
108		$1,1 \times 10^2$	$3,3 \times 10$	0	***
110		$2,5 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	0	***
Sb meglumina		$7,4 \times 10$	$4,5 \times 10$	$1,0 \times 10$	***
<i>L. amazonensis</i>	Tópico				
Controle		$6,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$	***
102		$6,5 \times 10^2$	$2,8 \times 10^3$	$2,2 \times 10$	***
108		$1,2 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	0	***
110		$2,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	0	***
<i>L. infantum</i>	Intraperitoneal				
Controle		***	***	$5,0 \times 10^3$	$3,1 \times 10$
102		***	***	$3,5 \times 10$	$1,1 \times 10$
108		***	***	0	0
110		***	***	$1,1 \times 10$	0
Sb meglumina		***	***	$1,3 \times 10$	0

***: Os ensaios não foram realizados; 0: Não foram encontrados parasitas

Após a comparação da ação de cada composto mesoiônico o derivado **108** foi o composto com a maior atividade nos dois tipos de infecção *in vivo* de *Leishmania* para cada via de administração testada.

4.3.3.6 Inibição da enzima tripanotona redutase (TryR) nos extratos solúveis de *L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *T. cruzi*

A enzima tripanotona redutase (TryR) tem sido um alvo para avaliar candidatos a novos fármacos que atuem em tripanosomatídeos, por ser uma enzima essencial para a sobrevivência destes parasitas protegendo-os contra o stress oxidativo (SCHMIDT & KRAUTH-SIEGEL, 2002). Outra característica que faz da TryR um alvo potencial para antiparasitários é a sua diferença estrutural significativa com a glutatona redutase (GR), enzima com a função correspondente nos seres humanos (MULLER *et al.*, 2003). Sendo assim, foi avaliado o efeito inibidor dos cloridratos mesoiônicos **102** (MI-HH), **108** (MI-4-NO₂), **110** (MI-4-OCH₃) e **111** (MI-3-OCH₃) sobre a enzima TryR. Inicialmente, este efeito foi avaliado em extratos solúveis a partir da fase log final de *L. amazonensis* na forma promastigota, que é a fase de maior crescimento do parasita. A reação foi seguida pelo consumo de NADPH, na presença e ausência dos compostos, 5 segundos após a adição do substrato da enzima (dissulfeto tripanotona, T(S)₂). O controle (na ausência de derivados mesoiônicos) foi considerado 100% de atividade da enzima TryR. A adição dos derivados mesoiônicos **102**, **110** e **111** não modificou o consumo de NADPH neste ensaio, no entanto o derivado **108** foi capaz de inibir 76% do consumo para o extrato de *L. amazonensis* em comparação com o controle, conforme mostrado na figura 61.

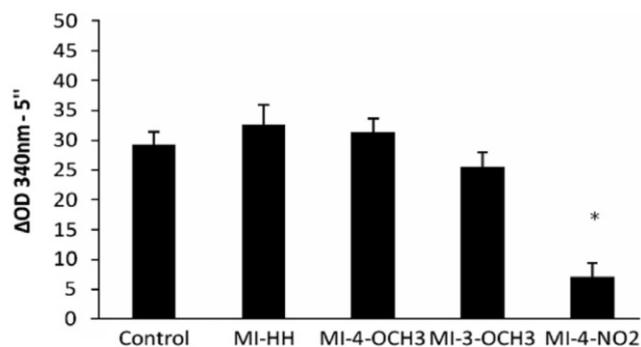


Figura 61: Inibição da enzima TryR em extrato solúvel de *L. amazonensis* na forma promastigota por derivados mesoiônicos testados na concentração de 1 μM.

Assim, devido a esses resultados ensaiou-se os derivados **102** e **108** frente a outros extratos solúveis a partir de *L. infantum* e *L. braziliensis*, na forma promastigota, e de *T. cruzi* na forma epimastigota, onde o controle (na ausência de derivados mesoiônicos) foi considerado 100% de atividade da enzima TryR. Os resultados indicaram que o derivado **108** (1 μM) foi capaz de inibir o consumo de NADPH pela enzima TryR em todos os extratos dos parasitas, mostrando aproximadamente 70% de inibição para a *L. infantum* e *L. braziliensis* e 83% de inibição para o *T. cruzi*, conforme indicado na figura 62. Estes resultados são indicativos que a enzima TryR poderia ser um alvo de ação para o derivado **108**.

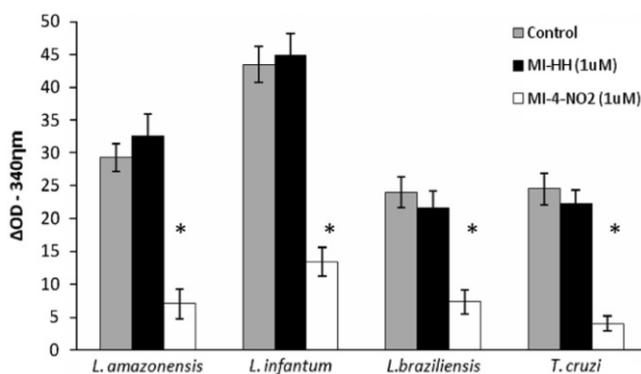


Figura 62: Inibição da enzima TryR em extrato solúvel de *L. infantum* e *L. braziliensis*, na forma promastigota, e de *T. cruzi* na forma epimastigota por derivados mesoiônicos testados na concentração de 1 μM.

Além desses ensaios, foram realizados experimentos envolvendo a cinética da atuação da enzima tripanotona redutase recombinante de *L. infantum* com o derivado **108**, levando a resultados que indicaram modo de ação não-competitivo para a enzima.

5 CONCLUSÕES

- ✓ A metodologia utilizada para a obtenção das tiouréias *p*-fenil-substituídas, intermediários das tiossemicarbazidas, mostrou-se eficiente, pois foram obtidas com alto grau de pureza e bons rendimentos, com exceção da metil substituída (13%). Os rendimentos para os isotiocianatos *p*-fenil-substituídos também foram satisfatórios (40-72%).

- ✓ A reação sólido-sólido mostrou-se como metodologia eficiente na preparação das tiossemicarbazidas, pois se obteve produtos com alto grau de pureza e rendimentos quantitativos em apenas 2 minutos de reação.

- ✓ Os ensaios para a avaliação da atividade antioxidante das tiossemicarbazidas mostraram significativa ação desta classe frente ao radical DPPH em comparação com o ácido ascórbico, com exceção do derivado **47** que não se mostrou ativo em nenhuma das concentrações ensaiadas. O derivado **58** foi o mais ativo dos compostos testados, apresentando um CE₅₀ de 77,2 µM.

- ✓ A irradiação de micro-ondas na ausência de solvente mostrou-se a metodologia mais eficiente para a preparação das tiossemicarbazonas. Os produtos foram obtidos em um curto tempo de reação, apenas 3 minutos, e com excelentes rendimentos, além de ser o método mais favorável dentro dos princípios da Química Verde.

- ✓ Os ensaios para a avaliação antifúngica das tiossemicarbazonas frente aos fungos *A. parasiticus* e *C. albicans* apresentaram moderada atividade para algumas tiossemicarbazonas em comparação com o padrão fungicida itroconazol, sendo os derivados do indol-3-carboxaldeído (**71-79**) os mais ativos.

- ✓ A metodologia via irradiação de micro-ondas proporcionou a síntese dos cloridratos mesoiônicos em curto tempo reacional, originando os produtos com alto grau de pureza e rendimentos satisfatórios (89-98%) permitindo, também, a eliminação de uma etapa de reação. Esta técnica pode ser considerada bem promissora na ótica dos conceitos da Química Verde.

- ✓ O estudo da atividade anti-tumoral dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2 aminida revelou significativa atividade citotóxica do derivado **108** contra as linhagens celulares da leucemia humana K562 e linfoma de Daudi. A análise do ciclo celular indicou que este derivado induz a morte celular por apoptose. Os ensaios frente às células da leucemia humana Jurkat indicaram atividade relevante para os derivados **103** e **106**, no entanto outros ensaios deverão se feitos para complementarem esses resultados.

✓ Nos ensaios *in vivo* frente a *L. amazonensis* e *L. infantum*, especialmente os derivados **108** e **110** indicaram esses compostos como promissores agentes anti-parasitários. Os cloridratos dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2 aminida também apresentaram inibição significativa frente a avaliação *in vitro* contra a enzima tripanotiona redutase de *L. amazonenses*, *L. infantum*, *L. braziliensis* e *T. cruzi*, e frente a tripanotiona redutase recombinante de *L. infantum* sugerindo ser o provável mecanismo de ação desses compostos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, F. H.; KENNARD, O.; TAYLOR, R. Systematic analysis of structural data as a research technique in organic chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 16, 5, 146, **1983**.

BANDGAR, B. P., UPPALLA L. S.; KURULE D. S. Solvent-free one-pot rapid synthesis of 3-carboxycoumarins using focused microwaves. *Green Chemistry*, 1, 243-245, **1999**.

BANERJEE, D.; YOGEE SWARI, P.; BHAT, P.; THOMAS, A.; SRIVIDYA, M.; SRIRAM, D. Novel isatinyl thiosemicarbazones derivatives as potential molecule to combat HIV-TB co-infection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 106-121, **2011**.

BERALDO, H. Semicarbazonas e Tiosemicarbazonas: O Amplo Perfil Farmacológico e Usos Clínicos. *Química Nova*, 27, 3, 461, **2004**.

BHARTI, N.; SHAI LENDRA; SHARMA, S.; NAQVI, F.; AZAM, A. New palladium(II) complexes of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones: synthesis, spectral studies and *in vitro* anti-Amoebic activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11, 13, 2923-2929, **2003**.

BIRADAR, J. S.; SASIDHAR, B.S. Solvent-free, microwave assisted Knoevenagel condensation of novel 2,5-disubstituted indole analogues and their biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 12, 6112-6118, **2011**.

BRITTO, M. M.; ALMEIDA, T. M. G.; LEITAO, A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P.; MONTANARI, C. A. Synthesis of Mesoionic 4-(para-Substituted Phenyl-5-2,4-dichlorophenyl)-1,3,4-thiadiazolium-2-aminides by Direct Cyclization via Acylation of Thiosemicarbazides. *Synthetic Communications*, 36, 3359-3369, **2006**.

CAPUTTO, M. E.; FABIAN, L. E.; BENÍTEZ, DIEGO.; MERLINO, A.; RÍOS, N.; CERECETTO, H.; MOLTRASIO, G. Y.; MOGLIONI, A. G.; GONZÁLEZ, M.; FINKIELSZTEIN, L. M. Thiosemicarbazones derived from 1-indanones as new anti-*Trypanosoma cruzi* agentes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, 6818-6826, **2011**.

CASAS, J. S.; TASENDE, M. S. G.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. *Coordination Chemistry Reviews*, 209, 197-261, **2000**.

CHATTOPADHYAY, D.; MAZUMDAR, S. K.; BANERJEE, T.; SHELDRIK, W. S. Structure of 1-(3,4-dichlorophenyl)-4-methylthiosemicarbazide. *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications*, 45, 314, **1989**.

CUNHA, S.; SILVA, T. L. One-pot and catalyst-free synthesis of thiosemicarbazones via multicomponent coupling reactions. *Tetrahedron Letters*, 50, 2090, **2009**.

DA SILVA, E. F., ECHEVARRIA, A., BRAZ, V.R., CANTO-CAVALHEIRO, M., CYSNE-FINSKELSTEIN, L.; LEON, L. Synthesis, and biological evaluation of new 1,3,4-

thiadiazolium-2-phenylamine derivatives against *Leishmania amazonensis* promastigotes and amastigotes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37, 979-984, **2002**.

DA SILVA, E. F. Mesoiónicos, 1,3,4-tiadiazólio-2-amidinas: Síntese, solvatocromismo & citotoxicidade. *Dissertação de Mestrado*, PPGQ-UFRRJ, **1997**.

DA SILVA, E. F. Síntese, parâmetros físico-químicos e avaliação biológica in vitro e in vivo de compostos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-amidinas. *Tese de doutorado*, PPGQ-UFRRJ, **2007**.

DE SANTIS, G., ZHU, Z., GREENBERG, W. A., WONG, K., CHAPLIN, J., HANSON, S. R., FARWELL, B., NICHOLSON, L. W., RAND, C. L., WEINER, D. P., ROBERTSON, D. E.; BURK, M. J. An enzyme library approach to biocatalysis: Development of nitrilases for enantioselective production of carboxylic acid derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 9024-9025, **2002**.

DILOVIC, I.; RUBCIC, M.; VRDOLJAK, V.; PAVELIC, S. K.; KRALJ, M.; PIANTANIDA, I.; CINDRIC, M. Novel thiosemicarbazone derivatives as potential antitumor agents: Synthesis, physicochemical and structural properties, DNA interactions and antiproliferative activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 5189-5198, **2008**.

DU, X.; GOU, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.; MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E. Synthesis and Structure-Activity Relationship Study of Potent Trypanocidal Thio Semicarbazone Inhibitors of the Trypanosomal Cysteine Protease Cruzain. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 2695, **2002**.

DUPONT, J. Economia de átomos, engenharia molecular e catálise organometálica bifásica: Conceitos moleculares para tecnologias limpas. *Química Nova*, 23,6, 825-831, **2000**.

EBENSO, E. E.; ISABIRYE, D. A.; EDDY, N. O. Adsorption and Quantum Chemical Studies on the Inhibition Potentials of Some Thiosemicarbazides for the Corrosion of Mild Steel in Acidic Medium. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2473-2498, **2010**.

ECHEVARRIA, A., CHUNG, K. K., GALLEMbeck, S., MACIEL, M.A., MILLER, J., RUMJANEK, V.; SIMAS, A. Mesoionic compound.3. Structure of the hydrochloride of 5-(4-methoxyphenyl)-4-phenyl-1,3,4-thiadiazolium-2-phenylaminide. *Acta Crystallographica*, 48, 1471-1474, **1992**.

ECHEVARRIA, A., GRYNBERG, N. F., SHIZATO, T. O.; GOMES, M. R. Síntese e atividade anti-tumoral de novos compostos mesoiónicos da classe 1,3,4-triazólio-5-tiolato. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 33, 3, 274, **1987**.

ESWARAN, S.; ADHIKARI, A. V.; CHOWDHURY, I. H.; PAL, N. K.; THOMAS, K. D. New quinoline derivatives: Synthesis and investigation of antibacterial and antituberculosis properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 3374-3383, **2010**.

FERREIRA, S. W.; FREIRE-DE-LIMA, L.; SARAIVA, V. B.; ALISSON-SILVA, F.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O.; ECHEVARRIA, A.; DE LIMA, M. E. F.

Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: Chemical and biological studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 2984-2991, **2008**.

GONZALEZ, M. A.; HOWELL, S. G.; SIKDAR, S. K. Photocatalytic selective oxidation of hydrocarbons in the aqueous phase. *Journal of Catalysis*, 183, 159-162, **1999**.

GREENBAUM, D. C.; MACKAY, Z.; HANSELL, E.; DOYLE, P.; GUT, J.; CAFFREY, C. R.; LEHRMAN, J.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J. H.; CHIBALE, K.; Synthesis and Structure-Activity Relationships of Parasiticidal Thiosemicarbazone Cysteine Protease Inhibitors against *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, and *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 3212-3219, **2004**.

GRYNBERG, N.; SANTOS, A. C. S.; ECHEVARRIA, A. Synthesis and *in vivo* antitumor activity of new heterocyclic derivatives of the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide class. *Anti-Cancer Drugs*, 8, 88-91, **1997**.

GRYNBERG, N.; GOMES, R.; SHINZATO, T.; ECHEVARRIA, A.; MILLER, J. Some new aril-sydnonones: effects on murine tumours. *Anticancer Research*, 12, 1025-1028, **1992**.

HASSAN, A. A.; EL-SHEREF, E. M.; ABOU-ZIED, A. H. Heterocyclization of Acylthiosemicarbazides. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 49, 38, 38-58, **2012**.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/>, **2012**.

HUANG, H.; CHEN, Q.; KU, X.; MENG, L.; LIN, L.; WANG, X.; ZHU, C.; WANG, Y.; CHEN, Z.; LI, M.; JIANG, H.; CHEN, K.; DING, J.; LIU, H. A Series of r-Heterocyclic Carboxaldehyde Thiosemicarbazones Inhibit Topoisomerase II α Catalytic Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53, 8, 3048-3064, **2010**.

JENSEN, K. A.; ANTHONI, U.; KAGI, B.; LARSEN, C.; PEDERSEN, C. T. Studies of thioacids and their derivatives. IX. Thiosemicarbazides. *Acta Chemica Scandinavica*, 22, 1, 1-50, **1968**.

KAI-CHUNG, K., ECHEVARRIA, A., GALLEMBECK, S., MACIEL, M.A., MILLER, J., RUMJANEK, V.; SIMAS, A. Mesoionic compounds 4. Structure of 1,4,5-triphenyl-1,2,4-triazolium-3-thiolate. *Acta Crystallographica*, 49, 1092-1094, **1993**.

KANG, I. J.; WANG, L. W.; HSU, T. A.; YUEH, A.; LEE, C. C.; LEE, Y. C.; LEE, C. Y.; CHAO, Y. S.; SHIH, S. R.; CHERN, J. H. Isatin-b-thiosemicarbazones as potent herpes simplex virus inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 1948-1952, **2011**.

KARUEHANON, W.; FANFUEHA, W.; RUJIWATRA, A.; PATTARAWARAPAN, M. Microwave-assisted SNAr reaction of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine for the rapid synthesis of C3-symmetrical polycarboxylate ligands. *Tetrahedron Letters*, 53, 27, 3486-3489, **2012**.

KATRITZKY, A. R.; KHASHAB, N. M.; GROMOVA, A. V. Preparations of diversely substituted thiosemicarbazides and N-hydroxythioureas. *ARKIVOC*, 3, 226-236, **2006**.

KIER, L.B.; ROCHE, E.B. Medicinal chemistry of the mesoionic compounds. *Journal Pharmacological Sciences*, 56, 2, 149-168, **1967**.

KULANDASAMY, R.; ADHIKARI, A. V.; TARANALLI, A.; VENKATASWAMY, T. New Hydrazides and Thiosemicarbazides Derived from Ethylenedioxythiophene as Potential Anticonvulsants. *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, 185, 7, 1358-1368, **2010**.

KUMAR, R. S.; IDHAYADHULLA, A.; NASSER, A. J. A.; SELVIN, J. Synthesis and anticoagulant activity of a new series of 1,4-dihydropyridine Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 2, 804-810, **2011**.

KUMARI, K.; RAGHUVANSHI, D. S.; JOUIKOV, V.; SINGH, K. N. Sc(OTf)₃-catalyzed, solvent-free domino synthesis of functionalized pyrazoles under controlled microwave irradiation. *Tetrahedron Letters*, 53, 9, 29, 1130-1133, **2012**.

LENARDÃO, E. J., FREITAG, R. A, DABDOUB, M. J. , BATISTA, A. C. F.; SILVEIRA, C. C. "Green Chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, 6, 1, 123-129, **2003**.

LIESEN, A. P.; AQUINO, T. M.; CARVALHO, C. S.; LIMA, V. T.; ARAÚJO, J. M.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; MELO, E. J. T.; ALVES, A. J.; ALVES, E. W.; ALVES, A. Q.; GÓES, A. J. S. Synthesis and evaluation of anti-*Toxoplasma gondii* and antimicrobial activities of thiosemicarbazides, 4-thiazolidinones and 1,3,4-thiadiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 3685-3691, **2010**.

LIU, J.; YI W.; WAN Y.; MA, L.; SONG, H. 1-(1-Arylethylidene)thiosemicarbazide derivatives: A new class of tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 1096-1102, **2008**.

LIU, L.; YANG, J.; ZHAO, Z.; SHI, P.; LIU, X. Solvent-free synthesis of indole-based thiosemicarbazones under microwave irradiation. *Journal of Chemical Research*, 34, 1, 57-60, **2010**.

LOUPY, A.; PETIT, A.; HAMELIN, J.; TEXIER-BOULLET, F.; JACQUAULT, P.; MATHÉ, D. New Solvent-Free Organic Synthesis Using Focused Microwaves. *Synthesis*, 29, 46, 1213, **1998**.

MACIEL, M. A. M., ECHEVARRIA, A.; RUMJANEK, V.M. Isolamento e caracterização de Acil-tiosemicarbazidas como intermediários na síntese de compostos mesoiônicos. *Química Nova*, 21, 5, 569-572, **1998**.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., REIS, A. S., SANTOS, T. C., COUBE, C. S., LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15, 2, 127-130, **2001**.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63, 1983.

MULLER, S.; LIEBAU, E.; WALTER, R. D.; KRAUTH-SIEGEL, R. L. Thiol-based redox metabolism of protozoan parasites. *Trends Parasitol.* 19, 1, 320-328, **2003**.

NEWTON, C. G.; RAMSDEN, C. A. Mesoionic heterocycles. *Tetrahedron*, 38, 2965-3011, **1982**.

OLLIS, W. D., RAMSDEN, C. A. Synthesis of mesoionic anhydro-2-arylamino-1,3,4-oxadiazolium hidroxides. *Journal of the Chemical Society*, 19, 1222-1223, **1971**.

OLLIS, W. D.; RAMSDEN, C. A. Mesoionic compounds. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 19, 1, 101-103, **1976**.

OLLIS, W.D., STANFORTH, S.P.; RAMSDEN, C. A. Heterocyclic mesomeric betaines. *Tetrahedron*, 41, 12, 2239-2329, **1985**.

PALENIK, G. J.; RENDLE, D. F.; CARTER, W. S. The crystal and molecular structures of thiosemicarbazones; an antitumor agent 5-hydroxy-2-formylpyridine thiosemicarbazone sesquihydrate and the inactive acetone thiosemicarbazone. *Acta Crystallographica, Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, 30, 2390, **1974**.

PERREUX, L.; LOUPY, A. A tentative reationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction médium, and nechanistic considerations. *Tetrahedron*, 57, 9199-9223, **2001**.

PINGAEW, R.; PRACHAYASITTIKUL, S.; RUCHIRAWAT, S. Synthesis, Cytotoxic and Antimalarial Activities of Benzoyl Thiosemicarbazone Analogs of Isoquinoline and Related Compounds. *Molecules*, 15, 988-996, **2010**.

PLECH, T.; WUJEC, M.; SIWEK A.; KOSIKOWSKA, U.; MALM, A. Synthesis and antimicrobial activity of thiosemicarbazides, s-triazoles and their Mannich bases bearing 3-chlorophenyl moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 241-248, **2011**.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. *Química Nova*, 26, 5, 738-744, **2003**.

PRICE, P. M., CLARK, J. H.; MACQUARRIE, D. J. Modified silicas for clean technology. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 2, 101-110, **2000**.

RAMAN, K.; SINGH, H. K.; SALZMAN, S. K.; PARMAR, S. S. Substituted thiosemicarbazides and corresponding cyclized 1,3,4-oxadiazoles and their anti-inflammatory activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82, 2, 167-169, **1993**.

REIS, C. M. Síntese, Utilizando Metodologias Alternativas, e Avaliação Citotóxica de Compostos Mesoiónicos da Classe 1,3,4-Tiadiazólio-2-Aminida. *Dissertação de mestrado*, PPGQ-UFRRJ, **2008**.

RODRIGUES, R. F., DA SILVA, E. F., ECHEVARRIA, A., FAJARDO-BONIN, R., AMARAL, V. F., LEON, L. L.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M. A comparative study of

mesoionic compounds in *Leishmania sp.* and toxicity evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 1039-1043, **2007**.

RODRIGUES-SANTOS, C. E.; ECHEVARRIA, A. An efficient and fast synthesis of 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins by (CF₃SO₃)₃Y catalysis under microwave irradiation. *Tetrahedron Letters*, 48, 26, 4505-4508, **2007**.

RODRIGUES-SANTOS, C. E.; ECHEVARRIA, A.; Convenient syntheses of pyrazolo[3,4-b]pyridin-6-ones using either microwave or ultrasound irradiation. *Tetrahedron Letters*, 52, 2, 336-340, **2011**.

RODRIGUES-SANTOS, C. E. Síntese, Caracterização e Atividade Anti-*leishmania* de Derivados das Classes 4-aryl-3,4-diidrocoumarinas, Pirazolo[3,4-B]piridin-6-onas e N,N'-difenil-benzamidinas. *Tese de doutorado*, PPGQ-UFRRJ, **2008**.

SANSEVERINO, A. M. Micro-ondas em síntese orgânica. *Química Nova*, 25, 660-667, **2002**.

SCHMIDT, A.; KRAUTH-SIEGEL, R. L. Enzymes of the trypanothione metabolism as targets for antitrypanosomal drug development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2, 11, 1239-1259, **2002**.

SENFF-RIBEIRO, A.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F.; VEIGA, S. S.; OLIVEIRA, M. B. M. Antimelanoma activity of 1,3,4-thiadiazolium mesoionics: a structure-activity relationship study. *Anti-Cancer Drugs*, 15, 3, 269-275, **2004**.

SHIMIZU, K.; KONDO, R.; SAKAI, K. Inhibition of tyrosinase by flavonoids, stilbenes and related 4-substituted resorcinols: structure-activity investigations. *Planta Medica*, 66, 11-15, **2000**.

SHINZATO, T. O.; GRYNBERG, N. F.; GOMES, M. R.; ECHEVARRIA, A.; MILLER, J. Antitumour activity of new mesoionic compounds against three murine tumours. *Medical Science Research*, 17, 865-866, **1989**.

SILVA, A. P.; MARTINI, M. V.; OLIVEIRA, C. M. A.; CUNHA, S.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SILVA, C. C. Antitumor activity of (-)- α -bisabolol-based thiosemicarbazones against human tumor cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 2987-2993, **2010**.

SILVA, F. C., FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Adaptação de forno de micro-ondas doméstico para realização de reações de transesterificação sob refluxo e catálise por argilas. *Química Nova*, 29, 2, 376-380, **2006**.

SILVA, F. M., LACERDA, P. S. B.; JONES, J. J. Desenvolvimento sustentável e química verde. *Química Nova*, 28, 1, 103-110, **2005**.

SIRIAM, D.; YOGESHWARI, P.; DHAKLA, P.; SENTHILKUMAR, P.; BABERJEE, D.; MANJASHETTY, T. H. 5-Nitrofuranyl derivatives: Synthesis and inhibitory activities

against growing and dormant mycobacterium species. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19, 4, 1152, **2009**.

SIWEK, A.; STACZEK, P.; WUJEC, M.; STEFANSKA, J.; KOSIKOWSKA, U.; MALM, A.; JANKOWSKI, S.; PANETH, P. Biological and docking studies of topoisomerase IV inhibition by thiosemicarbazides. *Journal of Molecular Modeling*, 17, 9, 2297-2303, **2010**.

SOARES, R. O. A.; ECHEVARRIA, A.; BELLIENY, M. S. S.; PINHO, R. T.; LEO, R. M. M.; SEGUINS, W. S.; MACHADO, G. M.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; LEON, L. L. Evaluation of thiosemicarbazones and semicarbazones as potential agents anti-*Trypanosoma cruzi*. *Experimental Parasitology*, 129, 381-387, **2011**.

TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S.; LIMA, J. G.; FARIA, A. R.; ALVES, A. J.; AQUINO, T. M. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*, 28, 6, 1030-1037, **2005**.

TROTSKO, N.; KRÓL, J.; SIWEK, A.; WUJEC, M.; KOSIKOWSKA, U. e MALM, A. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of New 1-[[4-(4-Halogenophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]acetyl-4-substituted Thiosemicarbazides and Products of Their Cyclization. *Heteroatom Chemistry*, 23, 1, 117-121, **2012**.

VARMA, R. S., Solvent-free organic syntheses using supported reagents and microwave irradiation. *Green Chemistry*, 1, 43-55, **1999**.

YAMAMOTO, I.; ABE, I.; NOZAWA, M.; KOTANI, M.; MOTOYOSHIYA, J.; GOTOH, H.; MATSUZAKI, K. Synthesis and some reactions of 2-imino-2,5-dihydro-1,3,4-thiadiazoles. Formation of beta-lactams. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry (1972-1999)*, 10, 2297-2301, **1983**.

YOUSEF, T. A.; BADRIA, F. A.; GHAZY, SHABANE E.; EL-GAMMAL, O. A.; ABU EL-REASH, G. M. *In vitro* and *in vivo* antitumor activity of some synthesized 4-(2-pyridyl)-3-thiosemicarbazides derivatives. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 3, 2, 37-46, **2011**.