

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

**MESOIÔNICOS,
1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDAS:
SÍNTESE, SOLVATOCROMISMO
&
CITOTOXICIDADE**

EDSON FERNANDES DA SILVA

Sob Orientação da Professora:
Dr^a Aurea Echevarria Aznar Neves Lima

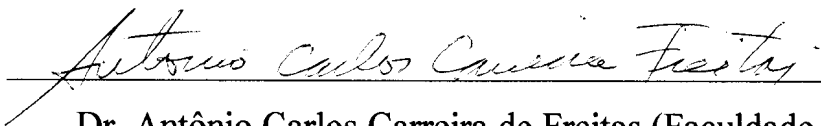
Tese submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de
Mestre em Química

Seropédica, Rio de Janeiro
1997

**MESOIÔNICOS,
1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDAS:
SÍNTESE, SOLVATOCROMISMO
&
CITOTOXICIDADE**

EDSON FERNANDES DA SILVA

TESE APROVADA EM 12 / 01 / 98



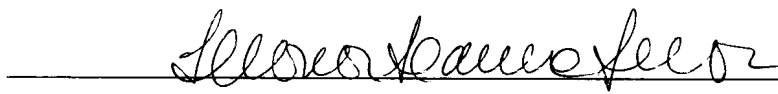
Dr. Antônio Carlos Carreira de Freitas (Faculdade de Farmácia / UFF)



Drª Aurea Echevarria Aznar Neves Lima (DEQUIM / UFRRJ)



Dr. Marco Edilson Freire de Lima (DEQUIM / UFRRJ)



Drª Leonor Laura Leon (Departamento de Imunologia / FIOCRUZ)

À DEUS ...

... e aos meus Pais (Luiz e Iracy).

...Hoje Estou com as Vestes e as Armas de Jorge

Para que Meus Inimigos Tendo Pés Não me Alcancem

Para que Meus Inimigos Tendo Mãos Não me Toquem

Para que Meus Inimigos Tendo Olhos Não me Vejam

Facas e Lanças se Quebrem Sem ao Meu Corpo Tocar

Cordas e Correntes se Rebentem Sem ao Meu Corpo Amarrar

Hoje Estou Feliz, Pois Também Sou da Sua Companhia ...

(oração à São Jorge)

AGRADECIMENTOS

À professora Aurea Echevarria, pela sua compreensão, paciência, amizade, orientação e sua espiritualidade, sempre jovial.

À professora Noema Grynberg, pela realização dos inúmeros testes de atividade biológica.

À Cátia Valéria, pelo seu carinho e apoio.

Aos amigos Alessandro Branco, Miguel Rascado, Raquel Garcia, Márcia Cristina e Javier Rincon pela amizade e aventuras extra-curriculares.

Aos colegas do alojamento, Alexandre, Claudio, Nairton, Adinam, e a todos os demais.

Aos colegas Geize, Rosane, Margarethe, Darí, Denise, Frances, Heloísa, Paulo, Yuri, Marco, Ana, Márcia, Aurea, Andressa, Andréa, Roberto, Carlão, Ruy, Eli, Fábio, Osmar, Renato, Reginaldo, Rubens e Aldir

Ao camarada e sempre disponível, Maurício Lemos Matos.

Aos professores João Batista, Raimundo Braz, Marco Edilson e a todos os outros pertencentes ao Curso de Pós-Graduação, que direta ou indiretamente participaram da minha formação acadêmica.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação e a todos os funcionários do ICE.

À professora Cecília (UFF) pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C .

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de realizar este trabalho.

À CAPES pela bolsa de estudo concedida.

ÍNDICE GERAL

ABREVIATURAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE TABELAS	xvii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xx
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxii

I- INTRODUÇÃO

1.1 Compostos Mesoiónicos	
1.1.1 Histórico	
1.1.2 Classificação e Estrutura	
1.1.3 Síntese de Compostos do Sistema 1,3,4-tiadiazólio e 1,3,4-triazólio-2-tiolato	12
1.1.4 Atividade Biológica	16
1.2 Solvatocromismo	20

1.3 Significado e Utilização dos Valores de pK_a	26
1.3.1 Definição	26
1.3.2 Importância do pK_a como Parâmetro na Atividade Biológica	27
1.3.3 Método de Determinação	29
II - OBJETIVOS	31
III - PARTE EXPERIMENTAL	32
3.1 Materiais	32
3.1.1 Aparelhos	32
3.1.2 Reagentes e Solventes	33
3.2 Sínteses	35
3.2.1 Síntese da 1,4-difeniltiossemicarbazida e 1-fenil-4-p-metoxifeniltiossemicarbazida	35
3.2.2 Síntese dos Ácidos Trans-p-X-cinâmicos	36
3.2.3 Síntese dos Cloretos de Cinamoíla p-substituídos	38
3.2.4 Síntese dos Cloretos de 4-fenil-5-[4-X-cinamoil] -1,3,4-tiadiazólio-2-[4-R-fenilamina]	38

3.2.4.1 Dados Espectrométricos para os Sais dos Compostos Mesoionicos	40
3.2.5 Preparação dos Compostos Mesoionicos (Bases Livres)	90
3.2.5.1 Dados Espectrométricos para os Compostos Mesoionicos	91
3.3 Estudo Solvatocrômico	111
3.3.1 Preparação das Soluções Utilizadas na Espectroscopia UV/Vis.	111
3.4 Determinação dos pK_a (s) dos Sais dos Compostos Mesoionicos	113
3.4.1 Soluções Tampão dos Sais Mesoionicos	113
3.4.2 Obtenção das Absorções dos Sais Mesoionicos em Função do pH	114
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
4.1 Síntese e Caracterização Estrutural	119
4.1.1 Síntese	119
4.1.2 Caracterização Estrutural por RMN 1H ^{13}C	123

4.2 Estudo de Solvatocromismo	129
4.2.1 Espectros no UV/Vis.	129
4.2.2 Determinação dos Valores de E_T	134
4.3 Avaliação da Quimiosensibilidade	143
4.3.1 Ensaio Colorimétrico (<i>in vitro</i>)	143
4.4 Determinação dos Valores dos pK_a (s)	151
V - CONCLUSÃO	163
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166

ABREVIATURAS

ϵ - Absortividade molar

λ - Comprimento de onda

δ - Deslocamento químico

ν_{\max} - Frequência máxima

AcOEt - Acetato de etila

BuOH - Butanol

D - Deby

d - Dubleto

dd - Duplo dubleto

DEPT - Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer

1,2-DiClEt- 1,2-dicloroetano

DL₅₀ - Dose letal de 50%

DMAC - N,N-dimetilacetamida

DMF - Dimetilformamida

DMSO - Dimetilsulfóxido

ET - Energia de transição

EtOH - Etanol

HOMOCOSY - Homonuclear Correlation Spectroscopy

Hz - Hertz

IC₅₀ - Inibição do crescimento de 50%

IV - Infravermelho

J - Constante de acoplamento

m - Multipleteo

MeOH - Metanol

MHz - Megahertz

nm - Nanômetro

PND - Proton Noise Decoupling

2-PrOH - 2-propanol

RMN ^{13}C - Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13

RMN ^1H - Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

s - singleto

TMS - Tetrametilsilano

UV - Ultravioleta

Vis. - Visível

t. a. - Temperatura ambiente

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Espectro de IV de MIA	40
FIGURA 2. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIA	42
FIGURA 3. Espectro de RMN ^1H de MIA	43
FIGURA 4. Espectro de UV/Vis. de MIA	44
FIGURA 5. Espectro de IV de MIB	45
FIGURA 6. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIB	47
FIGURA 7. Espectro de RMN ^1H de MIB	48
FIGURA 8. Espectro de UV/Vis. de MIB	49
FIGURA 9. Espectro de IV de MIC	50
FIGURA 10. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIC	52
FIGURA 11. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT de MIC	53
FIGURA 12. Espectro de RMN ^1H de MIC	54
FIGURA 13. Espectro de UV/Vis. de MIC	55
FIGURA 14. Espectro de IV de MID	56
FIGURA 15. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MID	58
FIGURA 16. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT de MID	59
FIGURA 17. Espectro de RMN ^1H de MID	60
FIGURA 18. Espectro de RMN ^1H expandido de MIC	61
FIGURA 19. Espectro de UV/Vis. de MID	62
FIGURA 20. Espectro de IV de MIE	63
FIGURA 21. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIE	65
FIGURA 22. Espectro de RMN ^{13}C -PND expandido de MID	66

FIGURA 23. Espectro de RMN ^1H de MIE	67
FIGURA 24. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY de MIE	68
FIGURA 25. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY expandido de MIE	69
FIGURA 26. Espectro de UV/Vis. de MIE	70
FIGURA 27. Espectro de IV de MIF	71
FIGURA 28. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIF	73
FIGURA 29. Espectro de RMN ^{13}C -PND expandido de MIF	74
FIGURA 30. Espectro de RMN ^1H de MIF	75
FIGURA 31. Espectro de RMN ^1H expandido de MIF	76
FIGURA 32. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY de MIF	77
FIGURA 33. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY expandido de MIF	78
FIGURA 34. Espectro de UV/Vis. de MIF	79
FIGURA 35. Espectro de IV de MIG	80
FIGURA 36. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIG	82
FIGURA 37. Espectro de UV/Vis. de MIG	83
FIGURA 38. Espectro de IV de MIH	84
FIGURA 39. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIH	86
FIGURA 40. Espectro de RMN ^1H de MIH	87
FIGURA 41. Espectro de RMN ^{13}C -PND de MIG	88
FIGURA 42. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY expandido de MIH	89
FIGURA 43. Espectro de RMN ^{13}C -PND de BLA	93

FIGURA 44. Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT de BLA	94
FIGURA 45. Espectro de RMN ^1H de BLA	95
FIGURA 46. Espectro de RMN ^{13}C -PND de BLC	97
FIGURA 47. Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT de BLC	98
FIGURA 48. Espectro de RMN ^1H de BLC	99
FIGURA 49. Espectro de RMN ^{13}C -PND de BLD	101
FIGURA 50. Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT de BLD	102
FIGURA 51. Espectro de RMN ^1H de BLD	103
FIGURA 52. Espectro de RMN ^{13}C -PND de BLH	105
FIGURA 53. Espectro de RMN ^1H de BLH	106
FIGURA 54. Espectro de RMN ^1H expandido de BLH	107
FIGURA 55. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY de BLH	108
FIGURA 56. Espectro de RMN-2D $^1\text{H}_x^1\text{H}$ HOMOCOSY expandido de BLH	109
FIGURA 57. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT de BLH	110
FIGURA 58. Análise retrosintética	121
FIGURA 59. Estruturas dos compostos mesoiônicos	122
FIGURA 60. Cores do sal MID em diferentes solventes	129
FIGURA 61. Estruturas das sondas de polaridade empírica	140
FIGURA 62. Camundongo com tumor de Ehrlich	146

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Pontos de fusão e rendimentos das tiossemicarbazidas	35
Tabela 2. Pontos de fusão e rendimentos para os ác. Cinâmicos	37
Tabela 3. Pontos de fusão e rendimentos para os sais dos compostos mesoiônicos	39
Tabela 4. Dados de RMN ^{13}C de MIA	41
Tabela 5. Dados de RMN ^1H de MIA	41
Tabela 6. Dados de RMN ^{13}C de MIB	46
Tabela 7. Dados de RMN ^1H de MIB	46
Tabela 8. Dados de RMN ^{13}C de MIC	51
Tabela 9. Dados de RMN ^1H de MIC	51
Tabela 10. Dados de RMN ^{13}C de MID	57
Tabela 11. Dados de RMN ^1H de MID	57
Tabela 12. Dados de RMN ^{13}C de MIE	64
Tabela 13. Dados de RMN ^1H de MIE	64
Tabela 14. Dados de RMN ^{13}C de MIF	72
Tabela 15. Dados de RMN ^1H de MIF	72
Tabela 16. Dados de RMN ^{13}C de MIG	81
Tabela 17. Dados de RMN ^{13}C de MIH	85
Tabela 18. Dados de RMN ^1H de MIH	85
Tabela 19. Pontos de fusão dos mesoiônicos	91
Tabela 20. Dados de RMN ^{13}C de BLA	92
Tabela 21. Dados de RMN ^1H de BLA	92

Tabela 22. Dados de RMN ^{13}C de BLC	96
Tabela 23. Dados de RMN ^1H de BLC	96
Tabela 24. Dados de RMN ^{13}C de BLD	100
Tabela 25. Dados de RMN ^1H de BLD	100
Tabela 26. Dados de RMN ^{13}C de BLH	104
Tabela 27. Dados de RMN ^1H de BLH	104
Tabela 28. Concentrações das soluções dos sais mesoiônicos	112
Tabela 29. Soluções tampão $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{ác. Cítrico}$	113
Tabela 30. Soluções tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$	114
Tabela 31. Absorções em função do pH de MIA e MIB	115
Tabela 32. Absorções em função do pH de MIC e MIB	116
Tabela 33. Absorções em função do pH de MIE e MIF	117
Tabela 34. Absorções em função do pH de MIG	118
Tabela 35. Deslocamentos químicos de RMN ^1H MIC, MID e MIH	124
Tabela 36. Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos mesoiônicos e respectivos sais	126
Tabela 37. Comprimentos de onda dos compostos estudados	133
Tabela 38. Valores de E_T para os sais e compostos mesoiônicos	135
Tabela 39. Valores de $E_T(30)$, Z e correlações com E_T dos mesoiônicos	136
Tabela 40. Escalas empíricas de polaridade	138
Tabela 41. Correlações entre as escalas para BLD e MIH	139
Tabela 42. Valores de IC_{50} para os compostos ensaiados frente ao tumor de Ehrlich	149

Tabela 43. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIA	152
Tabela 44. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIB	153
Tabela 45. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIC	154
Tabela 46. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MID	155
Tabela 47. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIE	156
Tabela 48. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIF	157
Tabela 49. Valores das variações de absorvância e dos logarítmos das razões entre essas variações para MIG	158
Tabela 50. Valores de $pK_a(s)$ para os sais dos mesoiônicos	159
Tabela 51. Valores dos $pK_a(s)$ e as constantes dos substituintes	161

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. IC ₅₀ dos sais de mesoiônicos frente a <i>Leishmania amazonensis</i>	19
GRÁFICO 2. Bandas de absorção UV/Vis. de BLD	130
GRÁFICO 3. Bandas de absorção UV/Vis. para o sal MIH	131
GRÁFICO 4. Absorbância com MTT frente a células de Ehrlich	145
GRÁFICO 5. Determinação do valor de IC ₅₀ para BLD	148
GRÁFICO 6. IC ₅₀ dos compostos ensaiados frente ao carcinoma de Ehrlich	150

RESUMO

Os compostos mesoiônicos são heterociclos com estrutura dipolar. Esses compostos tem apresentado bastante interesse devido à sua diversificada atividade biológica, e também devido a sua utilização como novos materiais e corantes, entre outras.

Sintetizamos 4 novos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, contendo um grupamento cinamóila *p*-substituído, e 7 cloridratos precursores desta mesma classe. A metodologia utilizada envolveu a reação de acilação anidra de tiossemicarbazidas na presença de cloretos de ácido cinamoil-substituídos e posterior tratamento com base. Esses compostos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, principalmente RMN de ^1H e ^{13}C e ultra-violeta.

Foram determinados, através de método espectrofotométrico os valores de pK_a (s) dos cloridratos dos mesoiônicos, indicando natureza moderadamente ácida, apresentando correlação significativa com os parâmetros duais dos substituintes, σ_R .

As propriedades solvatocrômicas dos compostos sintetizados foram investigadas e, estabeleceu-se novas escalas empíricas de polaridade utilizando a variação da energia de transição entre o estado fundamental e excitado na região do ultra-violeta. As escalas E_T (BLD) e E_T (MIH) foram correlacionadas com outras escalas empíricas de polaridade, apresentando melhores correlações para E_T (30), E_T (26), Z, S, XR, XB e Py.

Ensaio de quimiosensibilidade frente a células do carcinoma de Ehrlich foram realizados, indicando significativa atividade citotóxica para os mesoiônicos e seus respectivos sais.

ABSTRACT

Mesoionic compounds are heterocycles with dipolar structure. They have considered interesting because of their diversificating biological activity and other applications like new materials and colourings.

Four news mesoionic compounds of 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide class, with *p*-substituted cinnamoyl group and seven chloridrates of the same class were synthesized. The methodology of the synthesis consisted in the anhydroacylation reaction of thiosemicarbazides with *p*-substituted cinnamoyl acid chlorides, after that a tratment with base was used. This compounds were characterized by espectroscopic technics, specially NMR ^1H and ^{13}C and ultraviolet.

The pK_a (s) values were determined with spectrophotometric method. A mild acid nature and significant correlationship with dual parameters of substituents, σ_R , were observed.

The solvatochromic properties ofthe synthesized compounds were investigated. New empiric scales of polarity were stablished by a transition energy change in ultraviolet spectro. The E_T (BLD) and E_T (MIH) scales were correlated with other empiric scales of polarity, where E_T (30), E_T (26), Z, S, X_R , X_B and Py were the best correlations showed.

Quimiosensibility assays against Ehrlich carcinoma's cells showed significant citotoxic activity for mesoionic compounds and their salts.

INTRODUÇÃO

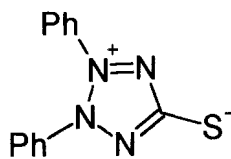
I- INTRODUÇÃO

1.1 COMPOSTOS MESOIÔNICOS

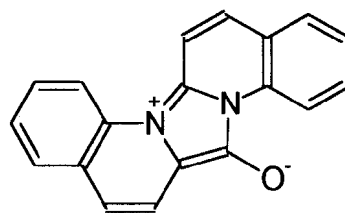
1.1.1 HISTÓRICO

Em 1882, Emil Fisher e Emil Besthom, sintetizaram o primeiro composto (1) conhecido atualmente como mesoiônico¹. Subsequentemente, Besthom² descobriu o corante vermelho de Besthorn (2).

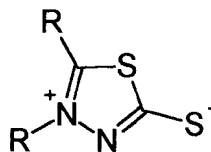
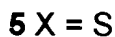
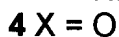
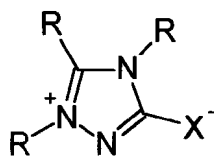
Despertado pelo trabalho inicial de Fischer, Max Busch, no decorrer de 1895 a 1905, descreveu a preparação e propriedades químicas de alguns compostos mesoiônicos³ (3-6).



1



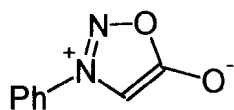
2



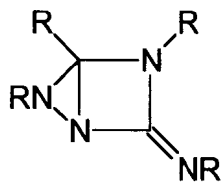
6

Earl e Mackney⁴, em 1935, prepararam a N-fenilsidnona (7), primeira sidnona sintetizada (sendo a precursora dos sistemas atuais 1,2,3-oxadiazólio-5-olato), recebendo essa designação por ter sido sintetizada na Universidade de Sydney, Austrália.

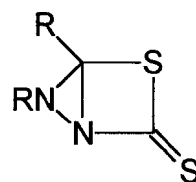
No ano de 1938, Schönberg propôs que os compostos 8 e 9, que tinham sido formulados como compostos bicíclicos por Busch, fossem híbridos de ressonância dipolar⁵, 3 e 6. Da mesma forma, Baker e Ollis em 1946, consideraram a estrutura da sidnona, até então representada como uma β -lactama (10), como inaceitável e propuseram que as sidnonas também fossem híbridos de ressonância de formas dipolares⁶ (11).



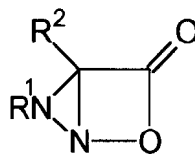
7



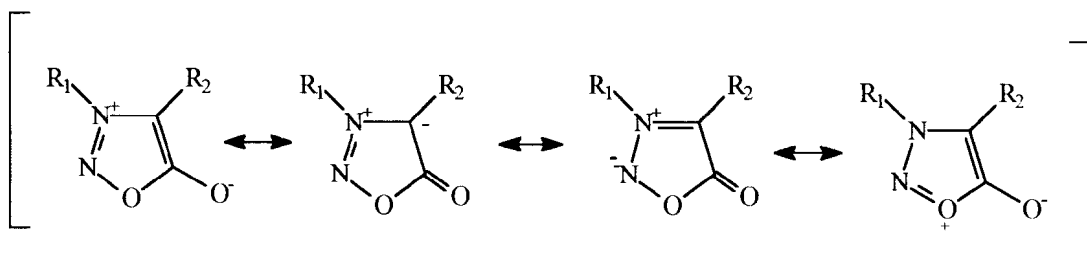
8



9



10



11

Ainda em 1946, o termo mesoiônico (mesomérico + iônico) foi sugerido pela primeira vez por Simpson⁷, para descrever um tipo de molécula que "desafiase" a representação covalente. Em 1957 Baker e Ollis⁸ propuseram a primeira definição para composto mesoiônico:

(a) O composto deveria possuir um anel aromático heterocíclico de cinco ou seis membros que, não fosse capaz de ser representado por uma estrutura covalente;

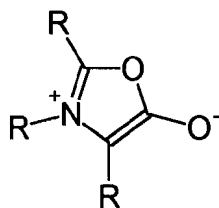
(b) Todos os átomos do anel proveriam elétrons π , para formar um sexteto deslocalizado;

(c) O anel deveria apresentar uma carga positiva parcial, balanceada por uma negativa localizada em um grupo ou átomo exocíclico;

(d) O anel deveria ser planar ou quase, possuindo considerável energia de ressonância.

Esta definição formou a base para o conceito de composto mesoiônico nos atuais relatos da literatura (tópico 1.1.2).

Após 1964, devido aos trabalhos de Huisgen⁹ com munchonas (12), os compostos mesoiônicos foram extensivamente estudados nas duas décadas posteriores.



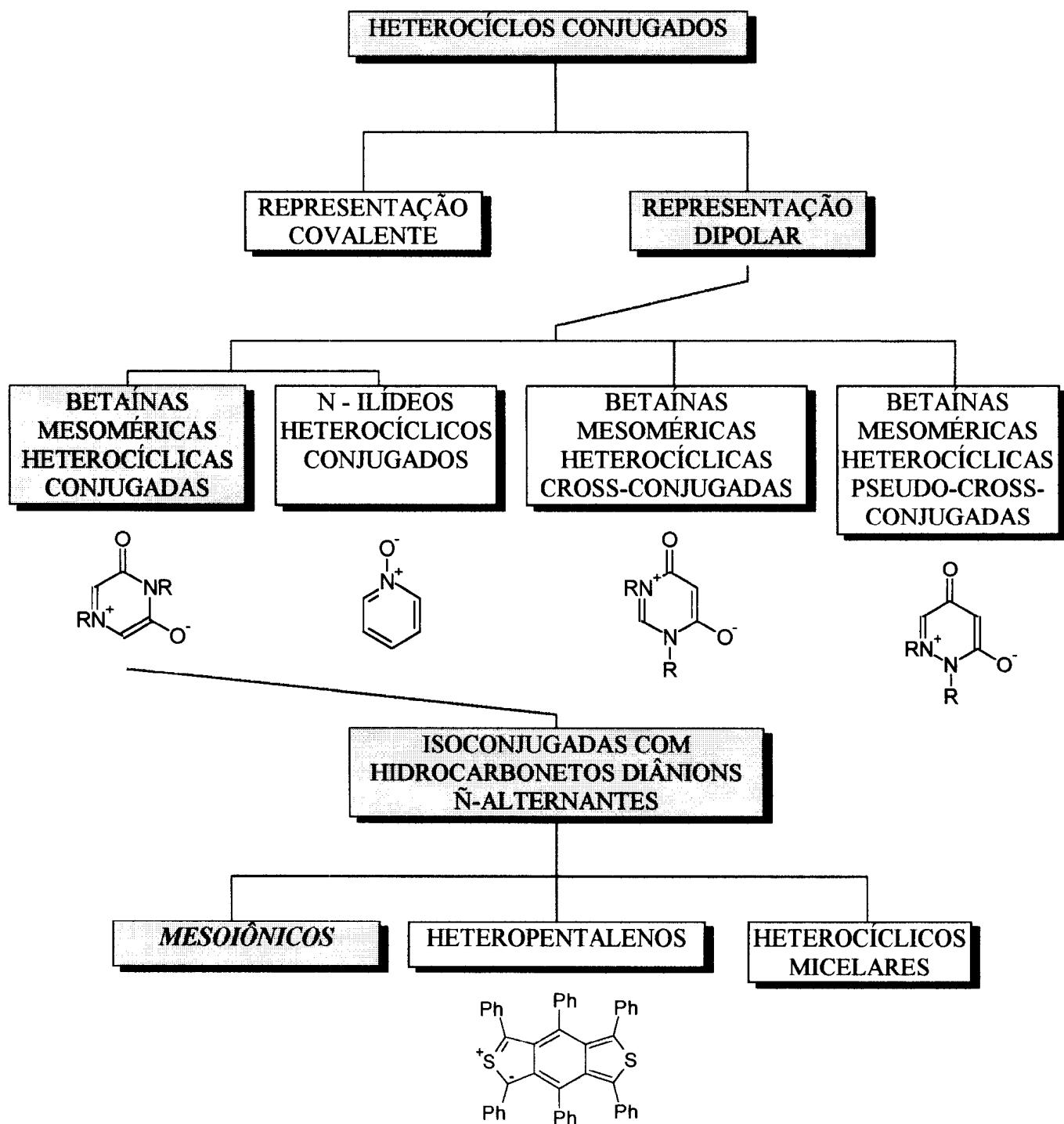
12

Devido às suas características estruturais especiais, os mesoiônicos nos últimos anos, têm sido alvo de inúmeros estudos nas mais diversas áreas, podendo-se destacar, pesquisas na área de cristais líquidos¹⁰, na confecção de materiais com propriedades óticas não-lineares¹¹, na síntese de corantes¹² e sobre tudo nas pesquisas em função de suas atividades biológicas bastante diversificadas, que dissertaremos posteriormente (tópico 1.1.4).

1.1.2 CLASSIFICAÇÃO E ESTRUTURA

Atualmente, os mesoiônicos são descritos como sendo compostos pertencentes a classe das betaínas, mais especificamente a das betaínas mesoméricas heterocíclicas conjugadas. As betaínas mesoméricas cíclicas conjugadas, são moléculas conjugadas neutras que podem ser representadas apenas por estruturas dipolares, em que as cargas positiva e negativa não estão limitadas à partes separadas do sistema de elétrons π da molécula. As cargas positiva e negativa estão em conjugação mútua e associadas com a conjugação comum do sistema de elétrons π ¹³.

O Esquema 1 ilustra a classificação descrita acima.

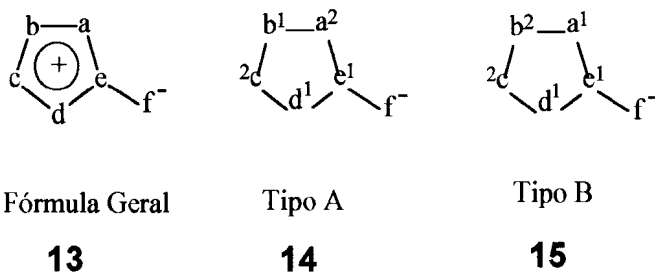


Esquema 1

Esta classificação está de acordo com a descrição de mesoiônico¹⁴, que é caracterizado por possuir um sistema heterocíclico pentatômico associado com um sexteto de elétrons p e π , suportando uma carga positiva, a qual é contra-balanceada por uma carga negativa formal no átomo α de uma cadeia lateral. O anel deve possuir caráter aromático e constituir um plano ou quase, juntamente com o átomo α exocíclico.

Os compostos mesoiônicos ainda são caracterizados por uma substancial separação de carga¹⁵, cerca de 5D.

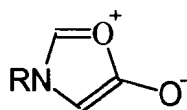
Conforme esta definição, os mesoiônicos apresentam-se representados pela fórmula geral 13, onde a-f são átomos de carbono ou heteroátomos. Segundo a distribuição de elétrons no anel, podemos ter dois tipos de mesoiônicos: Tipo A (14) e Tipo B (15), onde os números superescritos correspondem ao número de elétrons com que cada átomo contribui para formar os orbitais π .



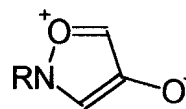
Usando combinações de átomos de carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre, é possível formar 144 classes de mesoiônicos do tipo A e 84 classes

do tipo B. Até recentemente, 60 classes do tipo A e 13 do tipo B eram conhecidas³.

Mesoiônicos do tipo A e B são exemplificados pelos 1,3-oxazólio-5-olato (16) e 1,2-oxazólio-4-olato (17), respectivamente. Os dois tipos gerais de compostos mesoiônicos mostram propriedades químicas totalmente distintas.

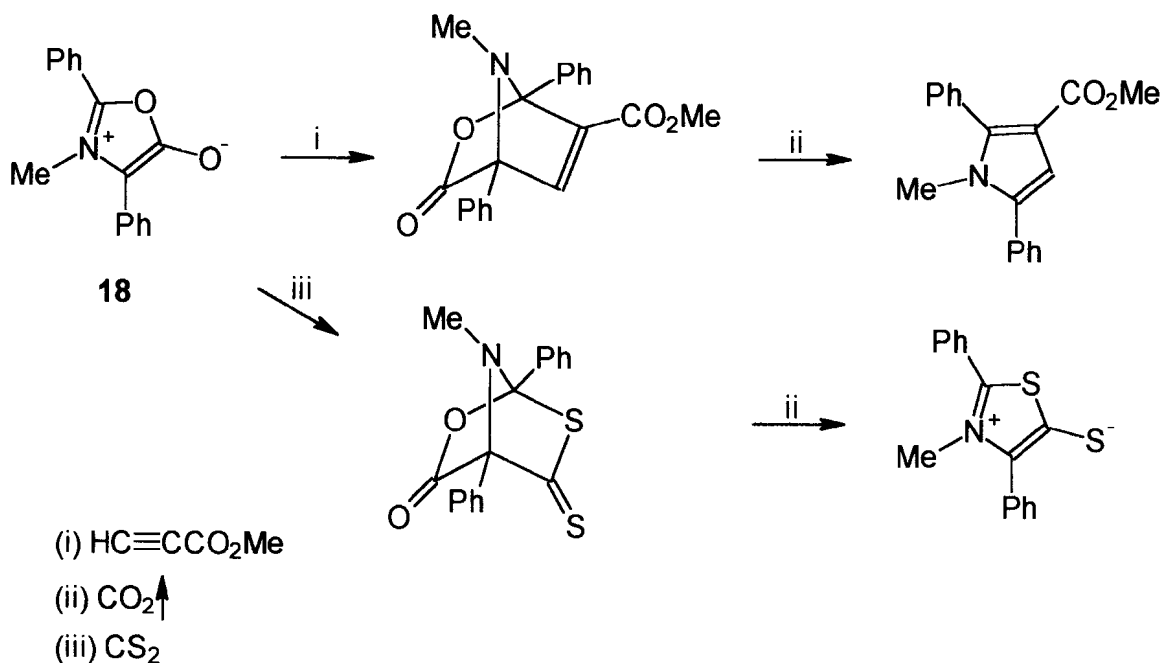


16



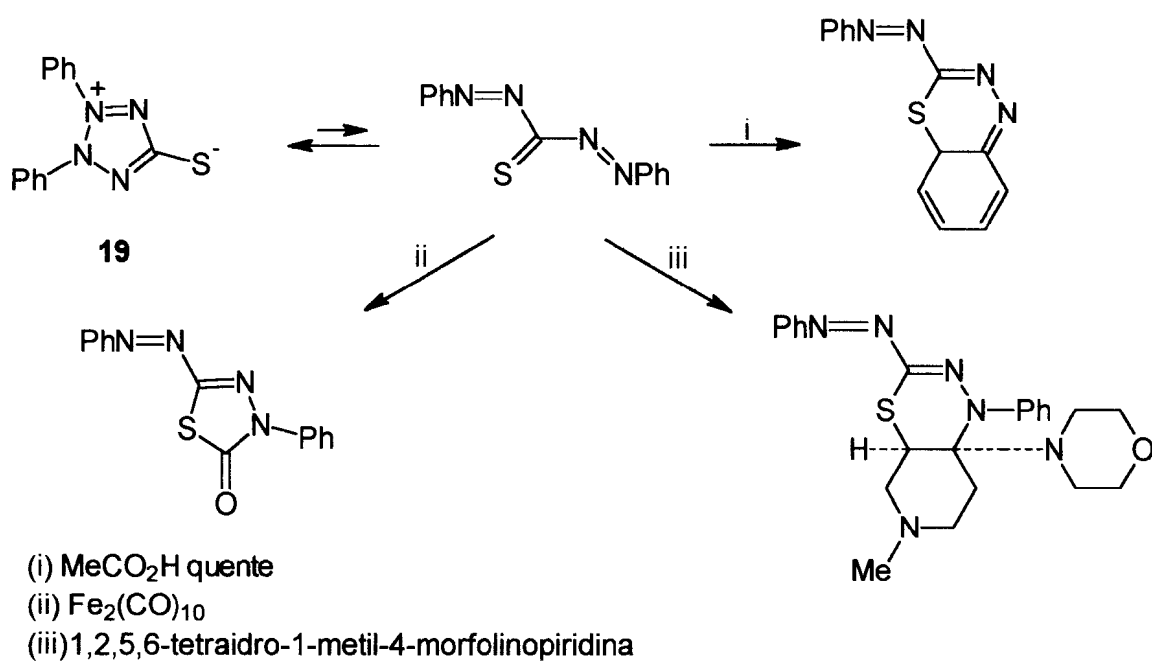
17

Compostos mesoiônicos do tipo A participam de reações de cicloadição 1,3-dipolar. O Esquema 2 mostra dois exemplos de reações de cicloadição do 2,4-difenil-3-metil- 1,3-oxazólio-5-olato (18)³.



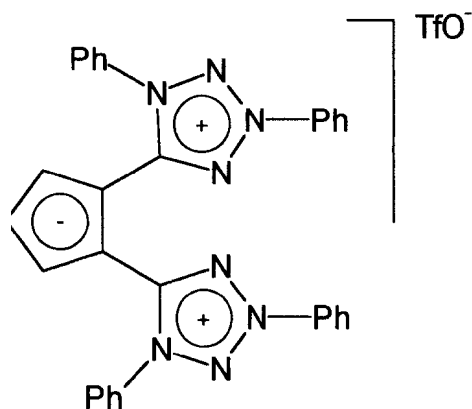
Esquema 2

Uma importante característica dos compostos tipo B, consiste na facilidade em sofrerem abertura do anel, fornecendo o tautômero acíclico correspondente. Por exemplo, diversas reações³ da deidroitizona (19), ocorrem envolvendo seu tautômero acíclico, Esquema 3.



Esquema 3

Apesar dos compostos mesoiônicos apresentarem-se, em sua maioria, sob a forma dipolar, podemos encontrar exemplos recentes na literatura de compostos mesoiônicos do tipo tripolar¹⁶ (pouco estudados), tal como o triflato de 1,2-Bis-(1,3-difeniltetrazol-5-ílio)-ciclopentadienida (20).



20

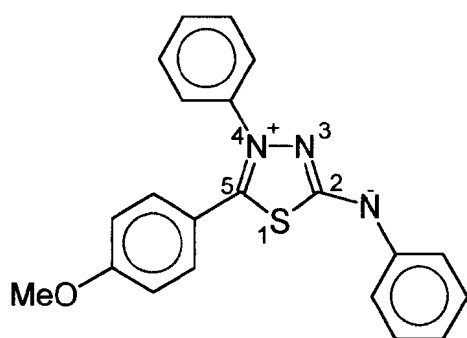
Em busca de mais informações sobre a estrutura dos compostos mesoiônicos, Echevarria e cols.¹⁴, através de difração de raio-X e cálculos teóricos, estudaram o 4-fenil-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (21) e seu cloridrato (22). Através das evidências obtidas, sugeriram que em 21 e 22, a carga positiva está substancialmente associada com o átomo de N-4 (e seu grupo fenila), enquanto a negativa formalmente localizada no átomo de N-exocíclico. Concluiu-se também, que nos compostos 21 e 22:

(i) As ligações N-3/N-4 e S-1/C-2 possuem maior caráter de ligação simples enquanto que a ligação S-1/C-5 apresenta maior caráter de dupla;

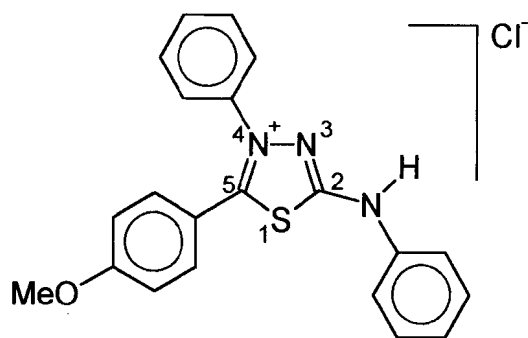
(ii) A ligação C-2/N-exocíclico têm um substancial caráter de dupla ligação, provavelmente maior na base livre (21), do que no cloridrato (22);

(iii) As ligações C-5/N-4 e C-2/N-3 possuem caráter de dupla ligação;

(iv) N-4 possui uma substancial carga positiva, enquanto N-3 tem uma negativa.



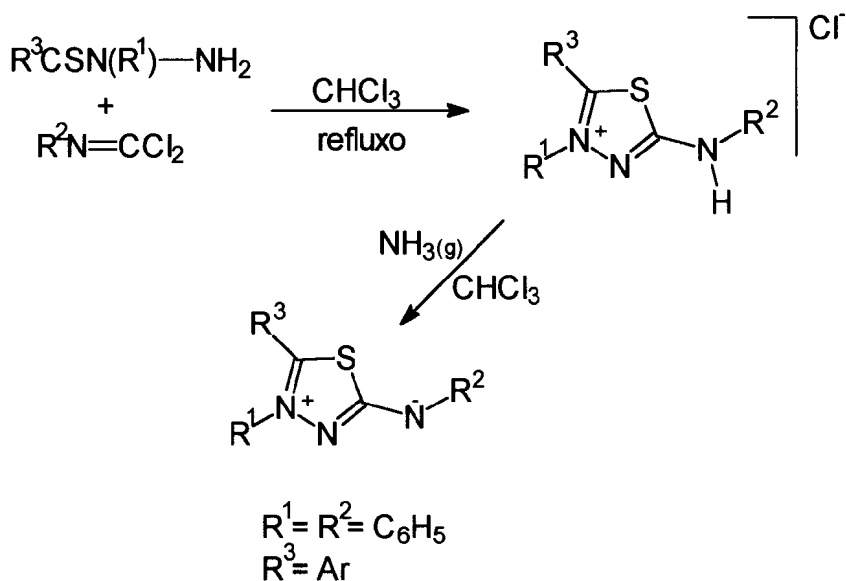
21



22

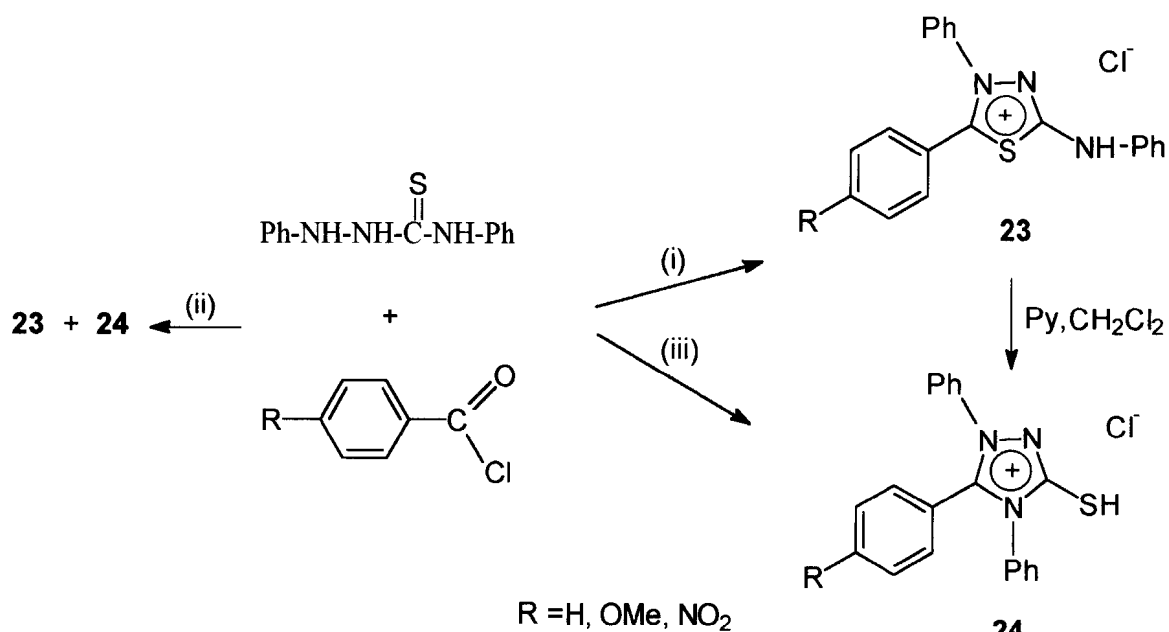
1.1.3 SÍNTESE DE COMPOSTOS DO SISTEMA 1, 3, 4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDA E 1, 3, 4-TRIAZÓLIO-2-TIOLATO

Derivados do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida podem ser sintetizados, através da reação entre hidrazinas substituídas e iminas, na presença de amônia gasosa anidra^{17,18}, Esquema 4.



Esquema 4

Outro método bastante utilizado consiste na reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiossemicarbazida com cloretos de aroíla¹⁹ e, que dependendo da natureza do meio reacional poderá haver ainda, a formação do isômero 1,3,4-triazólio-2-tiol (24)²⁰, Esquema 5.



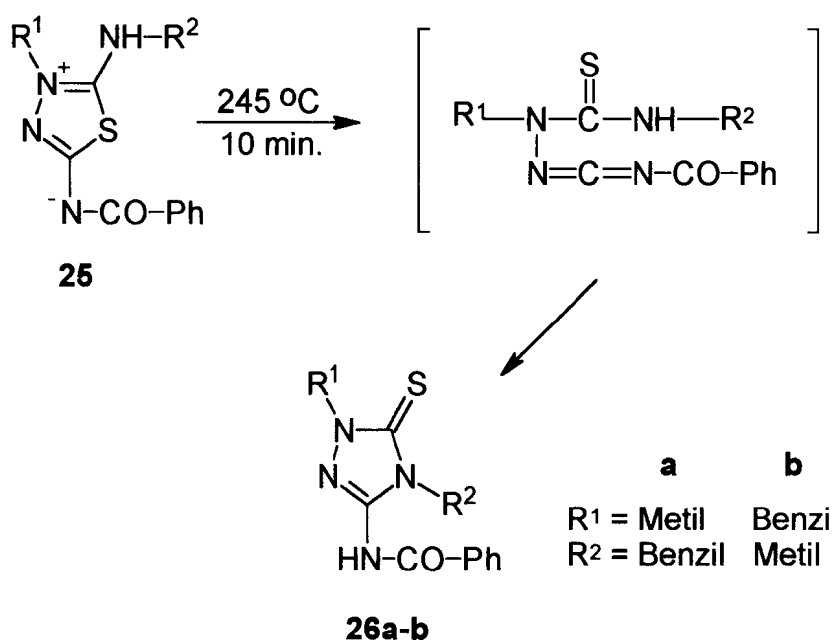
- (i) 1, 4-Dioxana; t. a. ; Condições anídras
(ii) 1, 4-Dioxana; t. a. ; 5% água
(iii) 1, 4-Dioxana; t. a. ; Piridina

Esquema 5

Os compostos do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato podem ser também obtidos da isomerização dos correspondentes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas, através de diversas reações como por exemplo: solução etanólica saturada por amônia anidra em ebulição²¹; piridina em refluxo¹⁹; solução de hidróxido de sódio 2N e solução de anilina em clorofórmio, estando estas duas últimas em benzeno tratado com excesso de isotiocianato de fenila¹⁷.

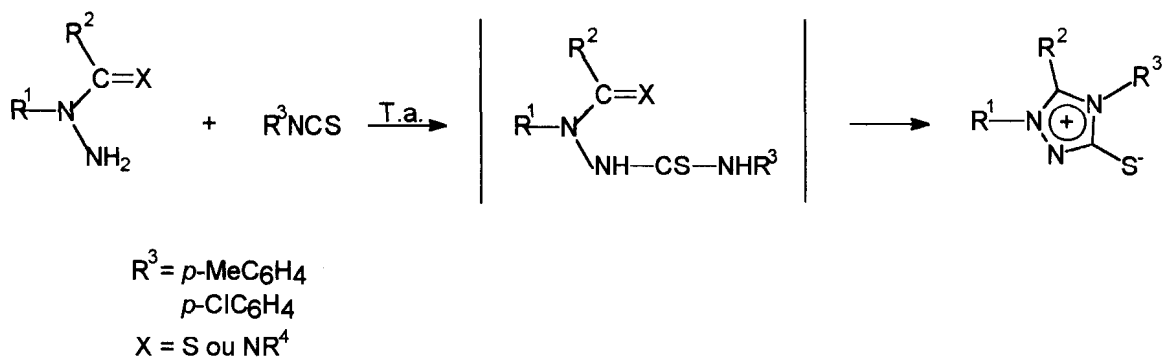
Ainda em relação a isomerização, podemos citar a que ocorre fotoquimicamente²², em que o mesoiônico da série 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida é submetido à luz de mercúrio, propiciando a formação do seu isômero triazólio.

Recentemente um exemplo do rearranjo de Dimroth foi relatado por Ernst & Schulze²³, quando os tiadiazólios da série 1,3,4-tiadiazólio-5-benzoilaminida (25), sob fusão, rearranjam fornecendo os respectivos isômeros 1,2,4-triazolina-3-tionas (26a-b). Esta conversão envolve a clivagem do anel heterocíclico com posterior reciclagem via carbodiimida, Esquema 6.



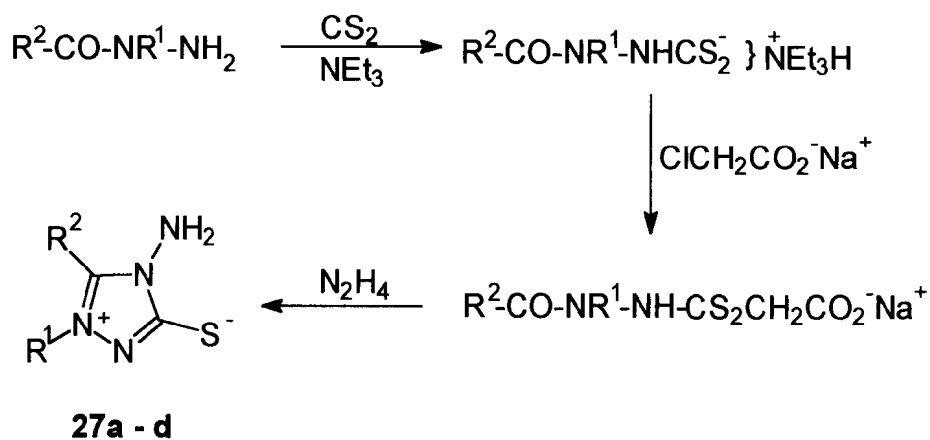
Esquema 6

Os triazólios podem ainda, ser sintetizados pela reação de isotiocianatos com N-tioacilidrazina ou N-amino-N-metil-N¹-fenilbenzamidina, ambas envolvendo tiossemicarbazidas como intermediários¹⁷, Esquema 7.



Esquema 7

Os mesoiônicos da série 1,3,4-triazólio (27a-d)²¹, foram sintetizados a partir de acilidrazinas, dissulfeto de carbono e trietilamina. O intermediário obtido, na forma de sal, foi tratado com cloroacetato de sódio e posteriormente com hidrazina, Esquema 8.



- (a) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Ph}$ (c) $\text{R}^1 = \text{Me}, \text{R}^2 = \text{Ph}$
 (b) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Me}$ (d) $\text{R}^1 = \text{Ph}, \text{R}^2 = \text{Me}$

Esquema 8

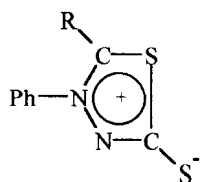
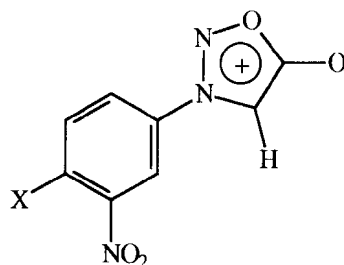
A rota sintética de anidroacilação da 1,4-difeniltiossemicarbazida, seguida da extrusão protônica por base dos sais dos compostos mesoiônicos, foi a designada nesta tese para a formação do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

1.1.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os compostos mesoiônicos possuem características estruturais, que têm sido de considerável interesse à química medicinal. Este potencial como substâncias bioativas tem sido atribuído, até o momento, aos seguintes fatos: caráter aromático planar, anéis heterocíclicos de pequenos tamanhos, caráter final neutro apesar da presença de cargas formais, variação de densidade eletrônica no anel e às várias possibilidades da presença de heteroátomos diferentes levando a diversos sistemas mesoiônicos.

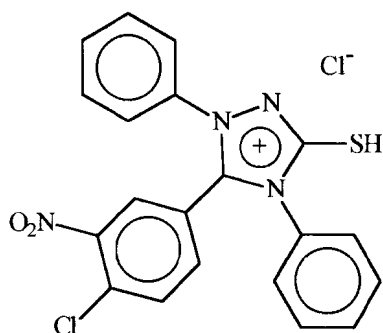
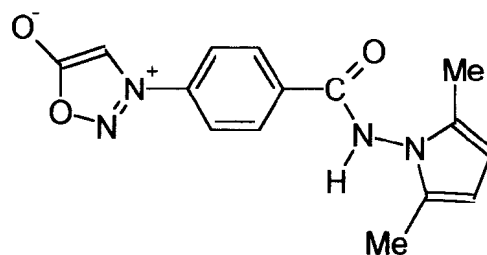
Os mesoiônicos da série 4-fenil-1,3,4-tiadiazólio-2-tiolato 5-substituídos (28), foram testados por Kier & Stewart²⁴ em *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*, sendo que os compostos com os substituintes metil, etil, isopropil e propila, mostraram-se ativos.

Os efeitos antitumorais das aril-sidnonas 3-[4-X-3-nitrofenil]-1,2,3-oxadiazólio-5-olato (29), onde X = Cl, pirrolidino, piperidino e morfolino, foram relatados por Echevarria & Grynberg²⁵. Esses compostos mostraram-se ativos frente aos tumores: Sarcoma 180, carcinoma de Ehrlich, B10MCII (histiocitoma fibroso) e leucemia L 1210 (todos tumores experimentais murinos).

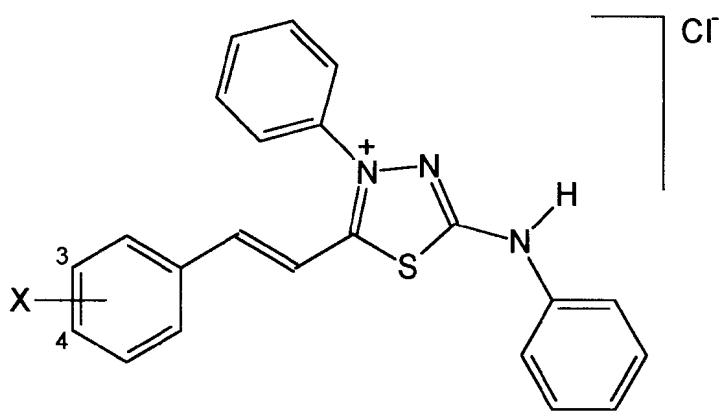
**28****29**

Echevarria & Grynberg²⁶ estudaram as atividades antitumorais do cloreto de 1,3-difenil-2-[4-cloro-3-nitro fenil]-1,3,4-triazólio-5-tiol (30), mostrando-se ativo contra os tumores de Ehrlich, Sarcoma 180 e B10MCII.

Testado²⁷ contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* e *Candida albicans*, o mesoiônico 3-[4-(2,5-dimetilpirrol-1-ilaminoarbonil)]-fenilsidnona (31), mostrou-se eficaz na inibição do crescimento destes microrganismos.

**30****31**

Grynberg²⁸ estudou a atividade antitumoral *in vivo* dos cloridratos dos compostos mesoiônicos da série 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (32), *p*-X-cinamoil-substituídos, onde X = NO₂ e OH. Os compostos testados mostraram-se ativos contra Sarcoma 180 e o carcinoma de Ehrlich.



32 4-X = NO₂, OH

33 3-X = NO₂, OMe
4-X = NO₂, Me, Cl, H, OH

Na busca de novas drogas anti-*Leishmania*, Leon & col.²⁹ testaram alguns sais de compostos mesoiônicos. Testes *in vitro* foram realizados com sete cloridratos de 4-fenil-5-(3 e 4-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (33) frente a *Leishmania amazonensis*, mostrando significativa atividade, Gráfico 1.

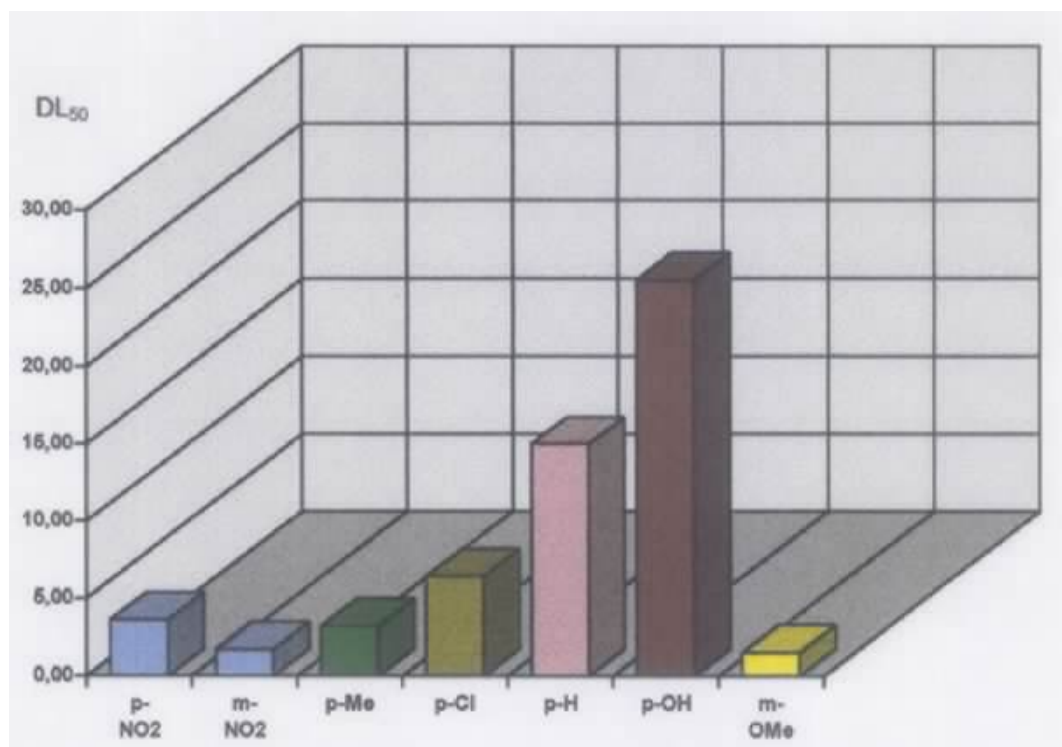


GRÁFICO 1: DL₅₀ obtido para os compostos 4-fenil-5-(3 e 4-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**33**) frente a *Leishmania amazonensis*, com exceção do derivado *p*-nitro-substituído que apresenta o valor de DL₉₀.

1.2 SOLVATOCROMISMO

Efeitos dos solventes na reatividade química dos compostos orgânicos têm sido estudados a mais de um século, começando com o trabalho pioneiro de Berthelot & St. Gilles³⁰ em 1862, com a esterificação do ácido acético em etanol.

Posteriormente, Menchutkin em 1890/1900 estudou a dependência da quaternização de amins terciárias com halo-alcanos em relação a natureza do solvente³¹.

Tais efeitos, são melhor compreendidos em termos da chamada "polaridade do solvente", que é geralmente expressa por propriedades físicas, tais como constante dielétrica (ϵ_r), momento dipolar (μ), índice de refração etc. A utilização destas propriedades muitas das vezes têm-se apresentado inadequada por não levar em conta importantes interações específicas entre o soluto e o solvente.

Torna-se mais real se tentarmos compreender a polaridade do solvente em função da capacidade completa de solvatação. Essa capacidade é determinada pela soma de todas as propriedades moleculares responsáveis pelas interações intermoleculares (interações íon/dipolo, dipolo/dipolo, dipolo/dipolo induzido, dipolo induzido/dipolo induzido, ligação-H, interações EPD-doador par de elétrons/EPA-acceptor par de elétrons, etc.).

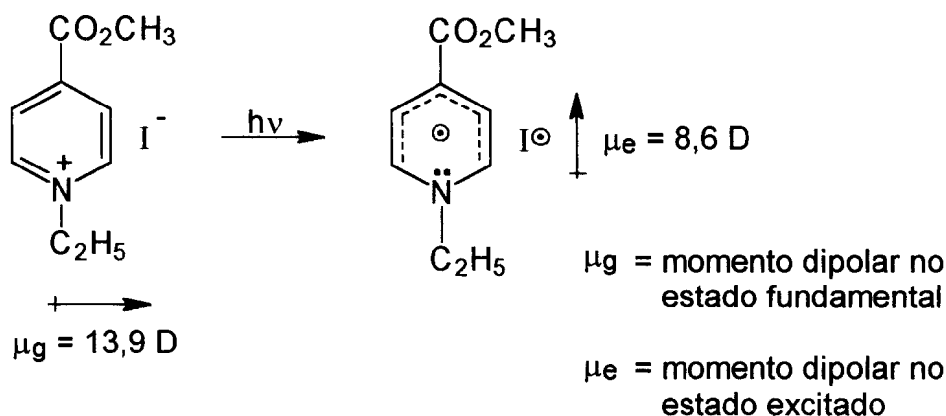
A incapacidade em definir a polaridade do solvente através de simples características físicas, tem conduzido à introdução de parâmetros empíricos de polaridade. Estes parâmetros constituem modelos, refletindo as

interações intermoleculares entre o soluto e o solvente presentes no processo de solvatação.

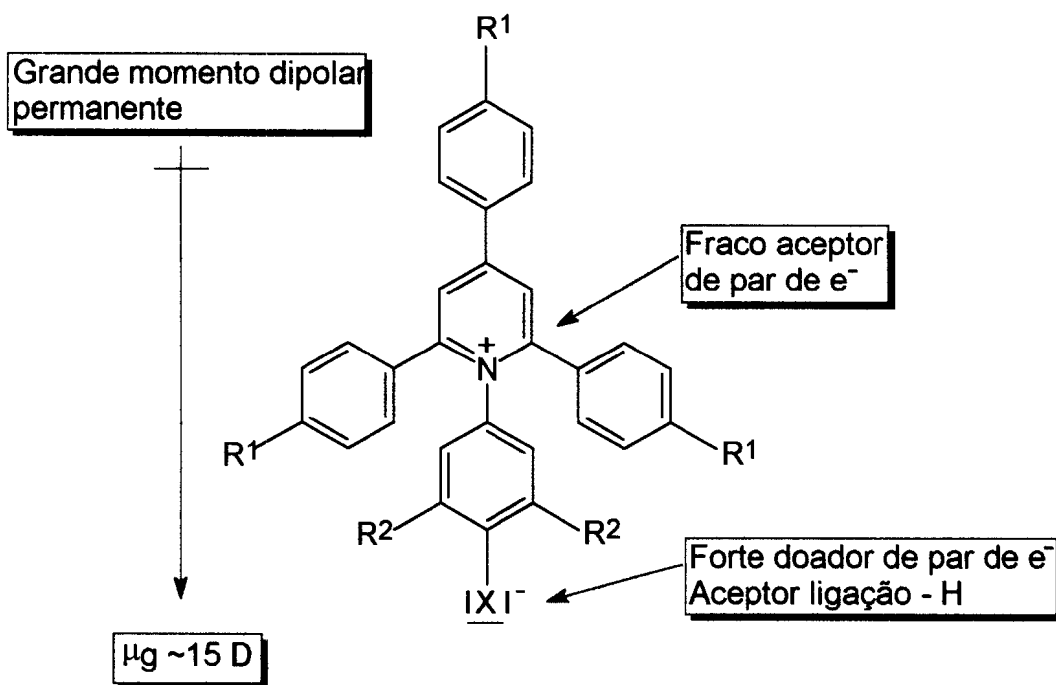
Um desses modelos está baseado na absorção característica do soluto em função do solvente, na região espectral UV/Vis, fornecendo assim, uma escala empírica de polaridade do solvente³².

Solvatocromismo é o termo usado para descrever uma mudança pronunciada na posição e/ou intensidade da banda de absorção na região do espectro UV/Vis em função da variação da polaridade do meio. Um deslocamento hipsocrômico, com aumento da polaridade do solvente, é chamado de solvatocromismo negativo, enquanto que o deslocamento batocrômico é denominado solvatocromismo positivo³³.

A primeira sugestão para a utilização de corantes solvatocromicos como indicadores empíricos da polaridade de solvente, foi feita por Brooker & col.³⁴ em 1951. Entretanto, Kosower³⁵ foi o primeiro a estabelecer em 1958, uma escala espectroscópica (escala-Z), usando a variação da absorção correspondente à transferência de carga intermolecular do iodeto de 1-etil-4-metoxicarbonil-piridínio (34).



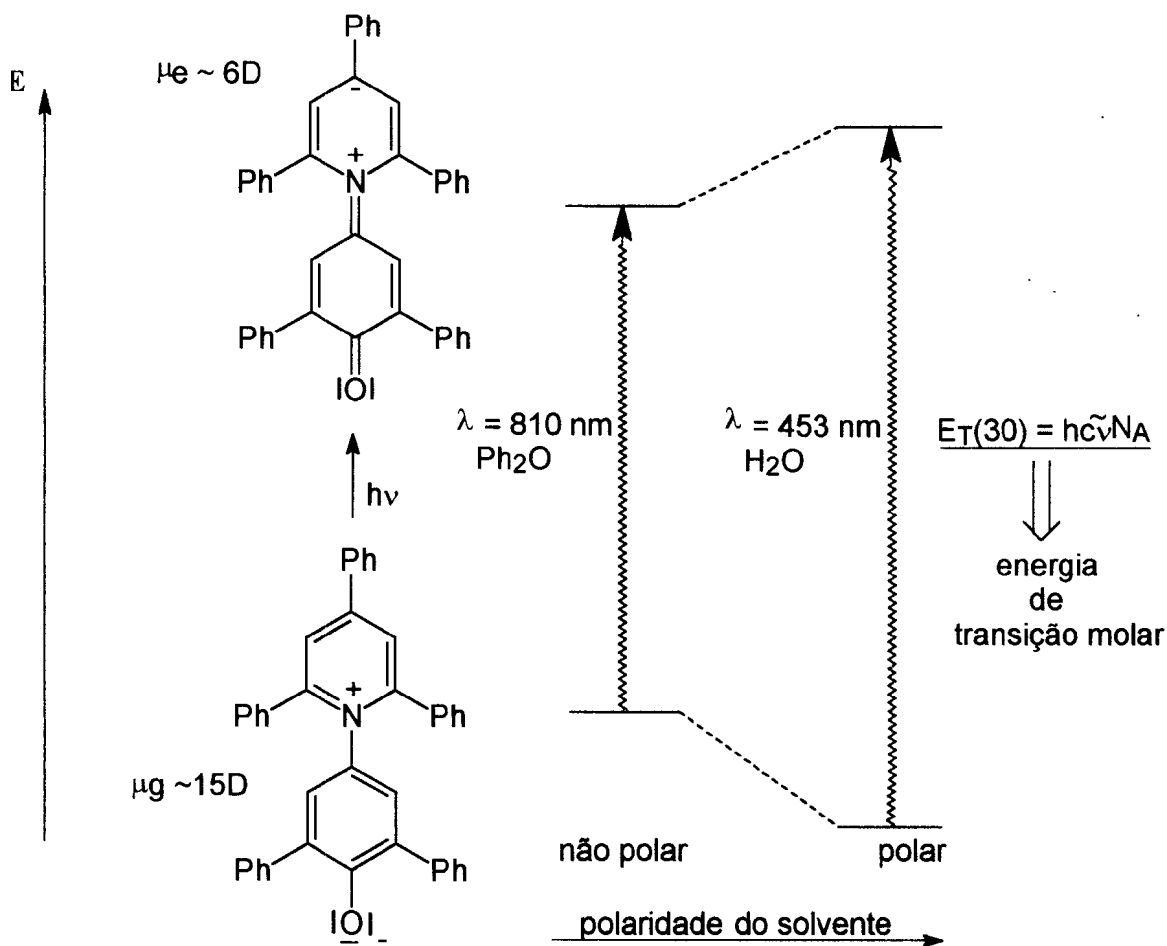
Dimroth & Reichardt³⁶ utilizando o corante betaínico, 4-(2,4,6-trifenilpiridino)-2,6-difenilfenóxido (35a), propuseram a escala empírica de polaridade de solvente E_T (30). A escolha desta betaína se caracterizou pelo fato de possuir um grande sistema de elétrons π polarizável, um grande momento dipolar permanente no estado fundamental e por apresentar um sítio acceptor de ligação-H (átomo de oxigênio carregado negativamente). Com isso, esta betaína tomou-se conveniente para o registro de todas as classes de interações intermoleculares entre soluto e solvente.



35a-d

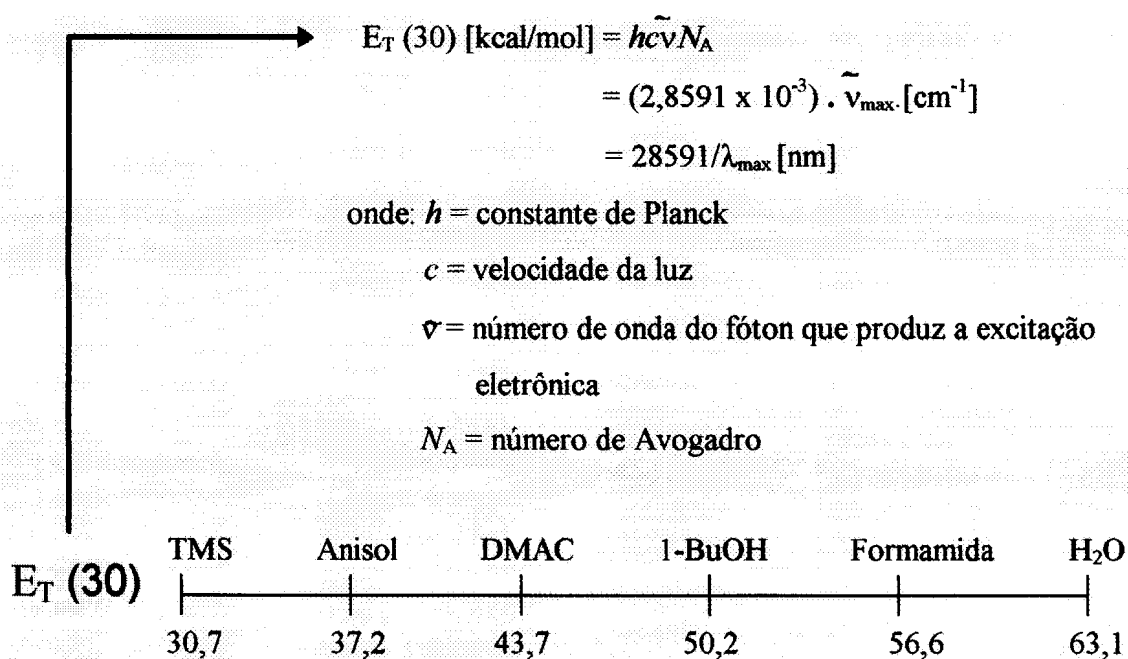
- (a) $R_1 = R_2 = H$; $X = O$
- (b) $R_1 = R_2 = CMe_3$; $X = O$
- (c) $R_1 = SO_2Me$; $R_2 = H$; $X = O$
- (d) $R_1 = R_2 = H$; $X = S$

A banda de absorção correspondente ao comprimento de onda máximo da betaína 35a, corresponde à transferência de carga intramolecular, como mostra o Esquema 9. Com o aumento da polaridade do solvente, o estado eletrônico fundamental fortemente dipolar ($\mu_g \approx 15D$), é cada vez mais estabilizado relativamente ao estado excitado (menos dipolar, $\mu_e \approx 6D$), produzindo assim um grande deslocamento hipsocrômico.



Esquema 9

Conforme o Esquema 10, o parâmetro empírico de polaridade do solvente $E_T(30)$ é simplesmente definido^{37,38}, como sendo a energia de transição eletrônica molar (em kcal/mol) da betaína 35a, dissolvida no solvente sob estudo, e medida na temperatura de 250 C e pressão de 1bar. Um aro valor de $E_T(30)$, corresponde à uma alta polaridade do solvente.

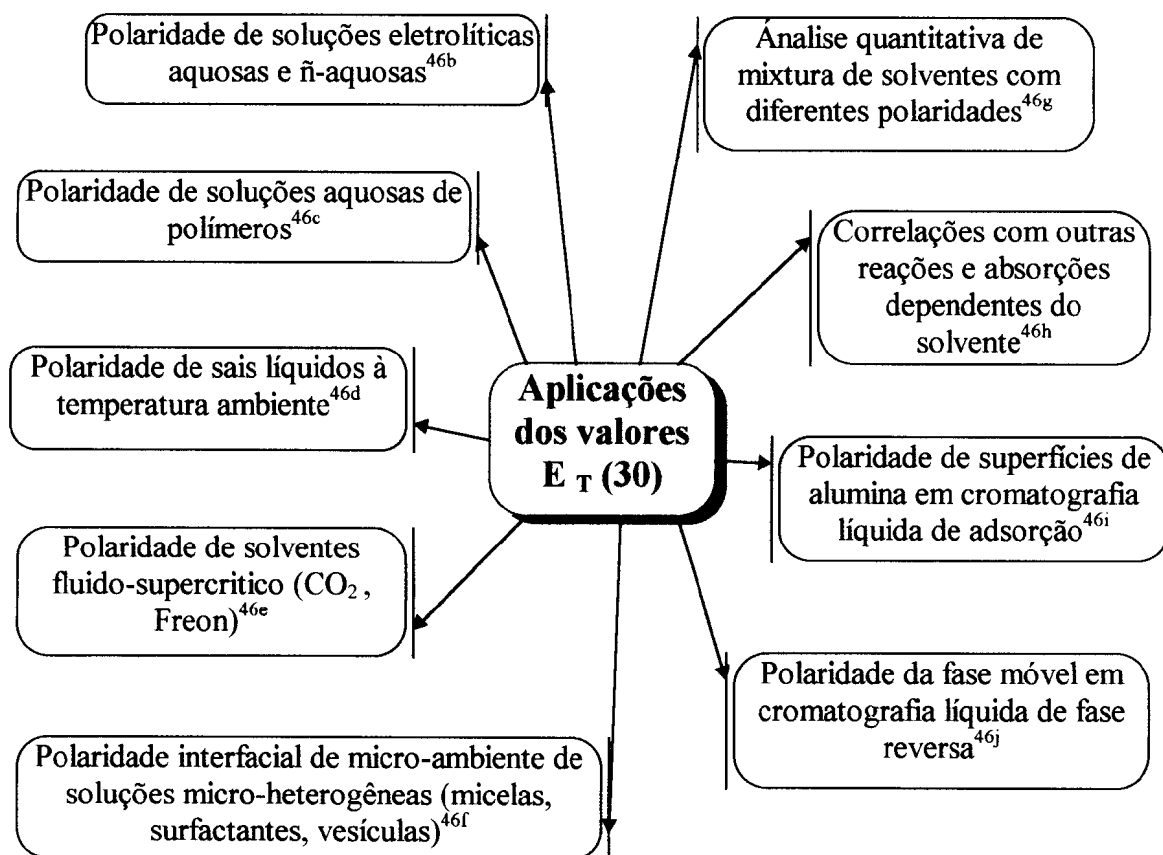


Esquema 10

Vários compostos solvatocrômicos têm surgido, visando obter uma escala empírica de polaridade de solvente cada vez mais abrangente, sensível e adequada à natureza do estudo desenvolvido. Além das escalas Z e $E_T(30)$, podemos citar como exemplos: a escala π^* , que mede a habilidade do solvente em estabilizar uma carga ou dipolo em virtude de seu efeito

dielétrico^{39,40}; a escala β de basicidade^{41,42} HBA (aceptor de ligação-H) estima a facilidade do solvente em aceitar um próton (doar um par de elétron); a escala \mathcal{A}_N ⁴³, obtida a partir do espectro de ressonância de spin eletrônico, sensível a polaridade do solvente quando presentes radicais livres como o nitróxido; a escala py ^{44,45}, baseada na razão de duas intensidades das bandas vibracionais de fluorescência do pireno; dentre outras escalas.

Estes parâmetros empíricos de polaridade do solvente, têm sido utilizados em diversas aplicações^{46a-j} nas áreas da química, fisico-química e bioquímica. O Esquema 11, mostra algumas das principais aplicações dos compostos solvatocrômicos.



Esquema 11

Neste trabalho testamos alguns compostos mesoiônicos, mais especificamente os da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e seus respectivos cloridratos, e comparamos os resultados com várias escalas empíricas de polaridade conhecidas.

1.3 SIGNIFICADO E UTILIZAÇÃO DOS VALORES DE pK_a

1.3.1 DEFINIÇÃO

Na análise química experimental lidamos freqüentemente com pequenos valores numéricos, e um deles é a constante de ionização (K_a), que é a constante de equilíbrio de uma reação de ionização de um eletrólito fraco. Para evitar o incômodo de escrever números com fatores de potências negativas na base 10, introduziu-se o uso do termo pK_a , definido pela relação:

$$pK_a = -\log K_a = \log \frac{1}{K_a} \quad \text{ou} \quad K_a = 10^{-pK_a}$$

Assim, o pK_a é o logaritmo da constante de ionização com sinal negativo, ou o logaritmo do inverso da constante de ionização⁴⁷.

1.3.2 IMPORTÂNCIA DO pK_a COMO PARÂMETRO NA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os valores de pK_a são utilizados na determinação dos coeficientes de partição (P) que apresentam uma grande importância nos estudos das correlações entre a atividade biológica e a estrutura química. A dependência dos valores de P com os valores de pK_a é fundamental quando são considerados compostos ionizáveis. Algumas das equações que relacionam estes parâmetros são:

$$P = P_u \cdot f_u$$

$$f_u = 1/(1 + 10^{pH-pK_a}) \quad (\text{para compostos ácidos})$$

$$f_u = 1/(1 + 10^{pK_a-pH}) \quad (\text{para compostos básicos})$$

onde, P_u = coeficiente de partição do composto não ionizado

f_u = fração do composto não ionizado.

Higuchi & Davis⁴⁸ descreveram através de equações matemáticas a dependência da atividade biológica com a lipofilicidade e o grau de ionização (pK_a). Por exemplo, para a atividade *in vitro* dos análogos da lincomicina contra *Sareina lutea*, a correlação entre os valores de pK_a e a concentração mínima inibitória é dada pela equação:

$$\log \frac{1}{C} = \log \left(\frac{1}{1 + P^c + a(1 + 10^{pK_a - pH})/P^b} \right) + \text{const.}$$

a, b e c = constantes

A absorção de drogas em sistemas biológicos mostra ser uma função das constantes de equilíbrio, K_1 e K_2 ⁴⁹. O K_2 é um valor constante de transporte da droga da membrana para dentro do sangue, e K_1 é um valor constante de transporte da droga de uma fase exterior aquosa, para o interior da membrana. K_1 e K_2 são dados pelas equações (1) e (2), respectivamente.

$$K_1 = \frac{C(P_u f_u + P_i f_i)}{\beta(P_u f_u + P_i f_i) + 1} \quad (1)$$

$$K_2 = \frac{C}{\beta(P_u f_u + P_i f_i) + 1} \quad (2)$$

onde, P_i = coeficiente de partição do composto ionizado.

f_i = fração do composto ionizado

C = concentração

b = coeficiente de transporte da droga entre a fase externa e interna considerando a membrana.

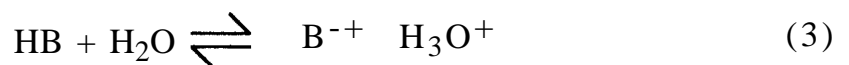
1.3.3 MÉTODO DE DETERMINAÇÃO

A determinação dos valores de pK_a pode ser realizada por diversos métodos, sendo os mais utilizados o espectrofotométrico e o potenciométrico⁴⁷.

Neste trabalho a obtenção do valor do pK_a se baseou no método espectrofotométrico na região do UV/Vis.

A metodologia utilizando a espectrofotometria para determinação da constante de ionização (K_a) de um ácido, ou uma base, está fundamentada na modificação do espectro de absorção em função do pH do meio⁵⁰.

A ionização de um ácido HB, em solução aquosa, em função da concentração, é dada pela equação (3).



$$K_a = \frac{C_{H_3O^+} \cdot C_{B^-}}{C_{HB}}$$

onde, C_{B^-} = concentração da base conjugada

C_{HB} = concentração do ácido

Aplicando o logaritmo negativo em ambos membros da equação (3), resultará equações que permitem a determinação do valor de pK_a , equação (4).

$$-\log K_a = -\log C_{H_3O^+} - \log (C_{B^-}/C_{HB}) \quad (4)$$

$$pK_a = pH + \log (C_{HB}/C_{B^-})$$

A espectrofotometria permite expressar, as concentrações das espécies envolvidas no equilíbrio ácido-base em estudo, em termos de absorção (A) ou absorvitividade molar (ϵ). As formas ácido ou base conjugadas de uma determinada substância estão em equilíbrio e suas concentrações relativas dependem do valor de pH da solução. Assim, a equação (5) possibilita a obtenção do valor de pK_a em função dos parâmetros espectrofotométricos.

$$pK_a = pH + \log \left[\frac{(A - A_{B^-})}{(A_{BH^+} - A)} \right] \quad (5)$$

onde, A = absorção para cada pH determinado

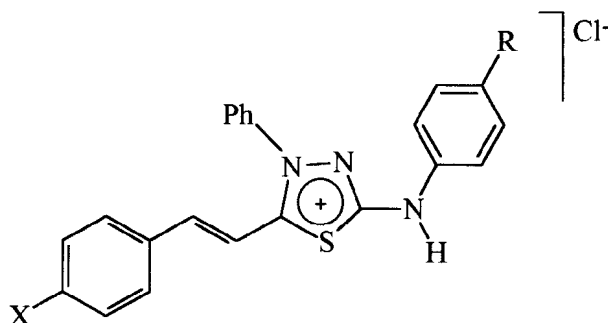
A_{B^-} = absorção da base livre

A_{BH^+} = absorção do sal

OBJETIVOS

II - OBJETIVOS

1. Sintetizar mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e seus respectivos cloridratos, contendo o grupo *p*-X-cinamoíla ligado ao carbono C-5 do anel heterocíclico, onde X = hidrogênio, metil, metóxi, nitro, fluor, cloro e ciano.



2. Caracterizar os novos compostos utilizando principalmente técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C .

3. Estudar as propriedades solvatocrômicas dos mesoiônicos e seus cloridratos, correlacionando-os com as diversas escalas empíricas de polaridade.

4. Determinar, através de espectrofotometria, os valores de $\text{pK}_a(\text{s})$ dos cloridratos dos compostos mesoiônicos.

5. Avaliar a quimiosensibilidade dos mesoiônicos e seus sais frente à células do tumor de Ehrlich.

PARTE EXPERIMENTAL

III - PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

3.1.1 Aparelhos

- (i) Os espectros na região do UV/Vis foram obtidos em espectrofotômetro DMS-80 da Varian.
- (ii) Os espectros de RMN foram confeccionados em espectrômetro Bruker modelo AC 200 (200 MHz, ^1H e 50,3 MHz, ^{13}C) e, espectrômetro Varian modelo Unity plus-300 (299,95 MHz, ^1H e 75,42 MHz, ^{13}C).
- (iii) Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer 1605 com transformada de Fourier.
- (iv) Os gráficos dos espectros UV/Vis foram plotados em microcomputador PC-486, 100 MHz, utilizando-se o software MicroCal Origin 2.8

(v) Os dados de pH foram obtidos em potenciômetro E-536 da Metrohm Herisau.

(vi) Os pontos de fusão foram determinados utilizando-se o aparelho MEL-TEMP II e não foram corrigidos.

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-d₆ ou DMSO-d₆, como solventes.

iii) Todos os solventes utilizados na determinação espectrofotométrica UV/Vis, foram de grau espectroscópico, sendo o etanol, acetonitrila, diclorometano, isopropanol e acetona da marca Vetec. Já o acetato de etila, clorofórmio, 1,4-dioxana, metanol, tolueno e 1-butanol, foram todos do grupo Química, enquanto o benzeno, 1,2-dicloro-etano e a N,N-dimetilformamida da Merck.

iv) Solventes utilizados nas sínteses, recristalizações e cromatografia em camada fina foram todos de grau P.A, sendo eles:

- Metanol (Vetec)
- Clorofórmio (Químex)

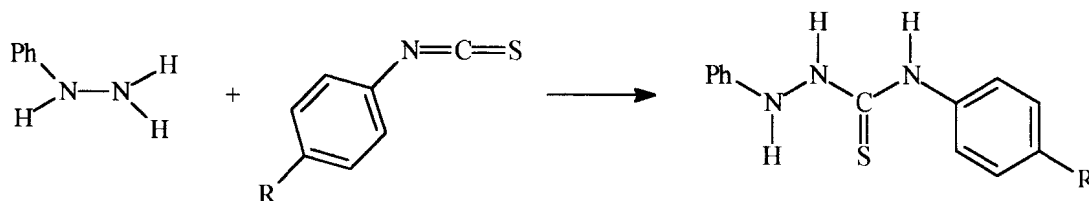
- 1,4-dioxano (Quimibras)
- Tolueno anidro (G. Química)
- Éter etílico (Vetec)
- Hexano (Ouimex)
- Etanol (G. Química)
- Acetona (Merck)

v) Reagentes utilizados nas sínteses dos intermediários e compostos mesoiônicos:

- Isotiocionato de fenila (Merck)
- 4-metoxifenil-isotiocianato (Aldrich)
- Fenilidrazina (Aldrich)
- Piridina (G. Química)
- Piperidina (Merck)
- Ácido malônico (Aldrich)
- Cloreto de tionila (Merck)
- Benzaldeído (Carlo Erba)
- *p*-metoxibenzaldeído (J. T. Baker Chemical Co.)
- *p*-nitrobenzaldeído (Aldrich)
- *p*-clorobenzaldeído (Aldrich)
- *p*-fluorbenzaldeído (Aldrich)
- *p*-cianobenzaldeído (Aldrich)
- *p*-metilbenzaldeído (Aldrich)

3.2 SÍNTESES

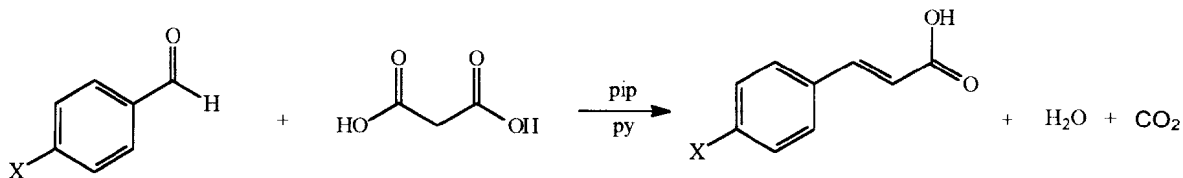
3.2.1 Síntese da 1,4-difeniltiossemiearbazida e 1-fenil-4-*p*-metoxifeniltiossemicarbazida



Foram adicionados 70 ml de tolueno anidro e 53 mmoles de isotiocianato de fenila *p*-substituída (R=H, MeO), em um balão de duas bocas de 250 ml equipado com funil de adição e condensador de refluxo com tubo de cloreto de cálcio na extremidade. Levou-se a solução ao refluxo e adicionou-se aos poucos 53 mmoles de fenilhidrazina, através do funil de adição. O produto formado instantaneamente, precipitou no fundo do balão em forma de flocos brancos e posteriormente foi filtrado à vácuo, sendo lavado com tolueno e éter etílico.

Tabela 1: Pontos de fusão e rendimentos das tiossemicarbazidas

R	Ponto de Fusão (°C)	Rendimento (%)
H	175-176 (Lit. ⁵¹ : 176)	76
MeO		84

3.2.2 Síntese dos ácidos trans *p*-X-cinâmicos

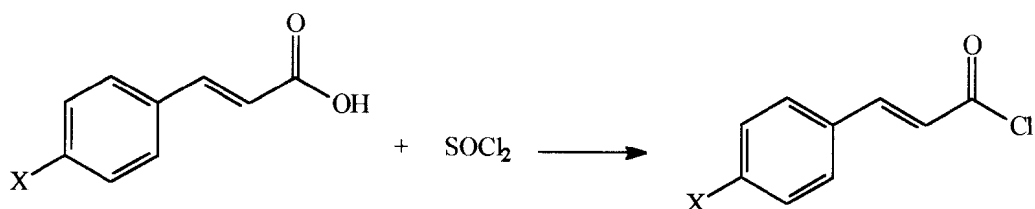
Em balão de fundo redondo conectado a condensador de refluxo foram adicionados 50 mmoles do benzaldeído *p*-substituído, 100 mmoles do ácido malônico, 20 ml de piridina e 0,4 ml de piperidina. A mistura foi mantida a temperatura de 90 °C durante duas horas, depois por mais quinze minutos sob refluxo e posteriormente acidificada por uma solução de HCl (20 %, v/v), com precipitação imediata dos cristais que foram filtrados, lavados com uma solução de HCl (20 %, v/v) e depois com água.

Os ácidos foram recristalizados em hexano e etanol (30:70, v/v). A Tabela 2 mostra os pontos de fusão e rendimentos obtidos.

Tabela 2: Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os ácidos cinâmicos p-substituídos

X	Ponto de Fusão (°C)	Rendimento (%)
H	132-133 (Lit. ⁵² : 133-134)	79
MeO	172-173 (Lit. ⁵² : 173,5)	82
NO ₂	287-288 (Lit. ⁵² : 289)	85
Me	195 (Lit. ⁵² : 196-198)	91
CN	254-255	87
Cl	248 (Lit. ⁵² : 248-250)	85
F	207 (Lit. ⁵² : 209-210)	78
OH	211-213 (Lit. ⁵² : 214)	75

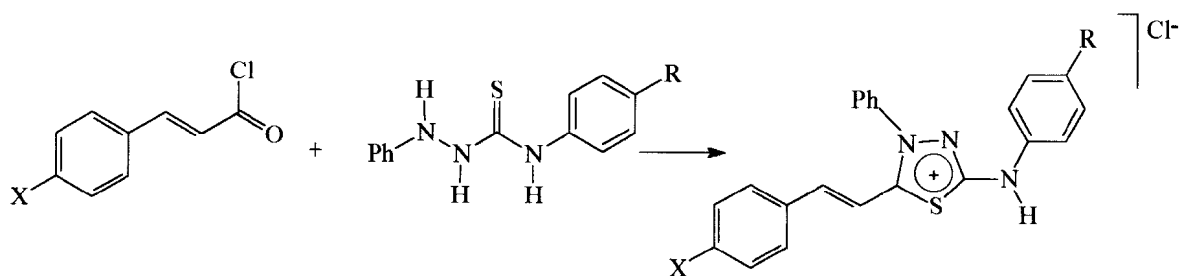
3.2.3 Síntese dos cloretos de cinamoíla *p*-substituídos



A 12 mmoles de ácido cinâmico *p*-substituído, foram adicionados 4,5 ml (excesso) de cloreto de tionila. A reação foi mantida a uma temperatura de aproximadamente 50 °C durante 4 horas. Ao balão foi adaptado um condensador de refluxo com um tubo na extremidade contendo cloreto de cálcio.

O excesso de cloreto de tionila foi destilado à pressão reduzida e o produto obtido (sólido) utilizado imediatamente sem tratamento de purificação.

3.2.4 Síntese dos cloretos de 4-fenil-5-[4-X-cinamoil]-1,3,4-tiadiazólio-2-[4-R-fenilamina] (sais dos compostos mesoiônicos - MI)



A uma suspensão de 12 mmoles de 1-fenil-4-*p*-substituído-tiossemicarbazida em 15 ml de 1,4-dioxana, adicionou-se uma solução de

cloreto de cinamoíla *p*-substituído (12 mmoles) em 1,4-dioxana. Após 24 horas de agitação, deixou-se a solução em repouso por alguns instantes e em seguida filtrou-se o produto obtido. O precipitado amarelo foi lavado com 1,4-dioxana anidra e em seguida com éter etílico anidro.

Os sais foram recristalizados em clorofórmio:etanol (60:40, v/v).

A Tabela 3 indica os pontos de fusão e rendimentos obtidos.

Tabela 3: Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os sais dos compostos mesoiônicos.

Sais Mesoiónicos	X	R	Pontos de Fusão (°C)	Rendimento (%)
MIA	H	H	266-267	68
MIB	Me	H	267-268	73
MIC	MeO	H	195-196	82
MID	NO ₂	H	232-233	89
MIE	F	H	252-253	85
MIF	Cl	H	264-265	83
MIG	CN	H	185	82
MIH	NO ₂	MeO	257-259	65

3.2.4.1 Dados Espectrométricos para os Sais dos Compostos Meso-iônicos

MIA - Cloreto de 4-fenil-5-cinamoil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3430 (ν N-H); 3055 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2669 (ν C=NH⁺); 1607 (ν C=C vinílico); 1565 (ν C=N); 1536, 1498, e 1449 (ν C=C aromático); 1327 (ν C-S); 955 (δ C-H vinílico); 747 e 691 (δ _{Ar}C-H no plano-5H viz.).

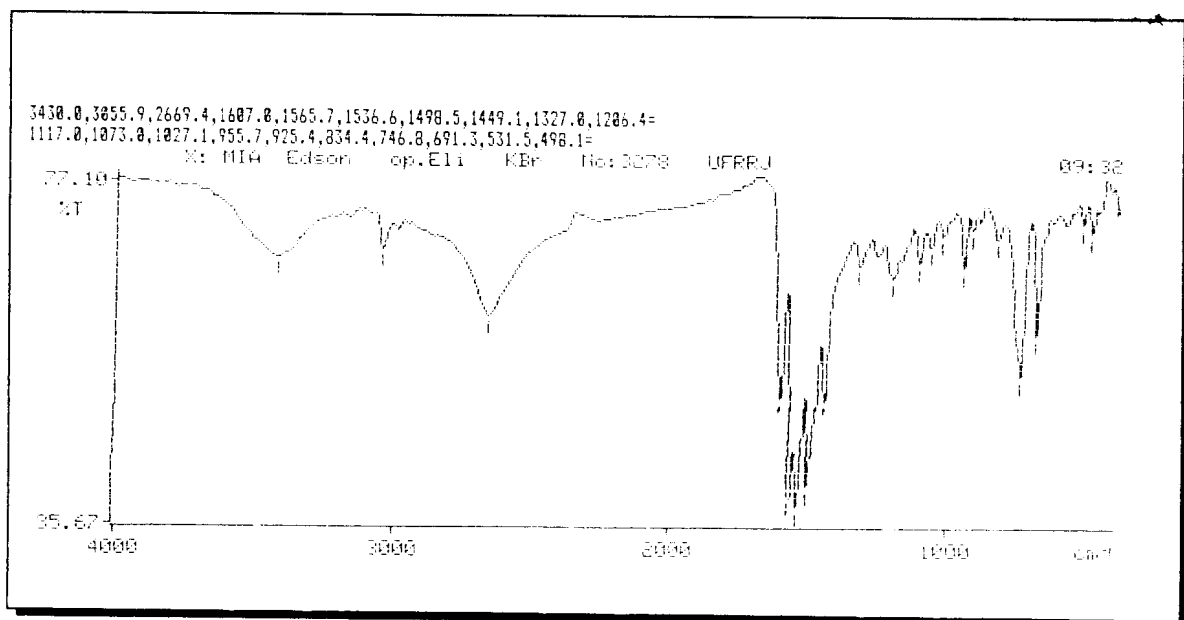


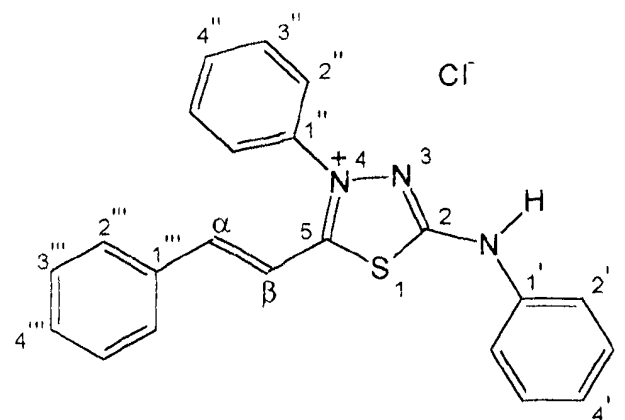
FIGURA 1: Espectro de IV para MIA

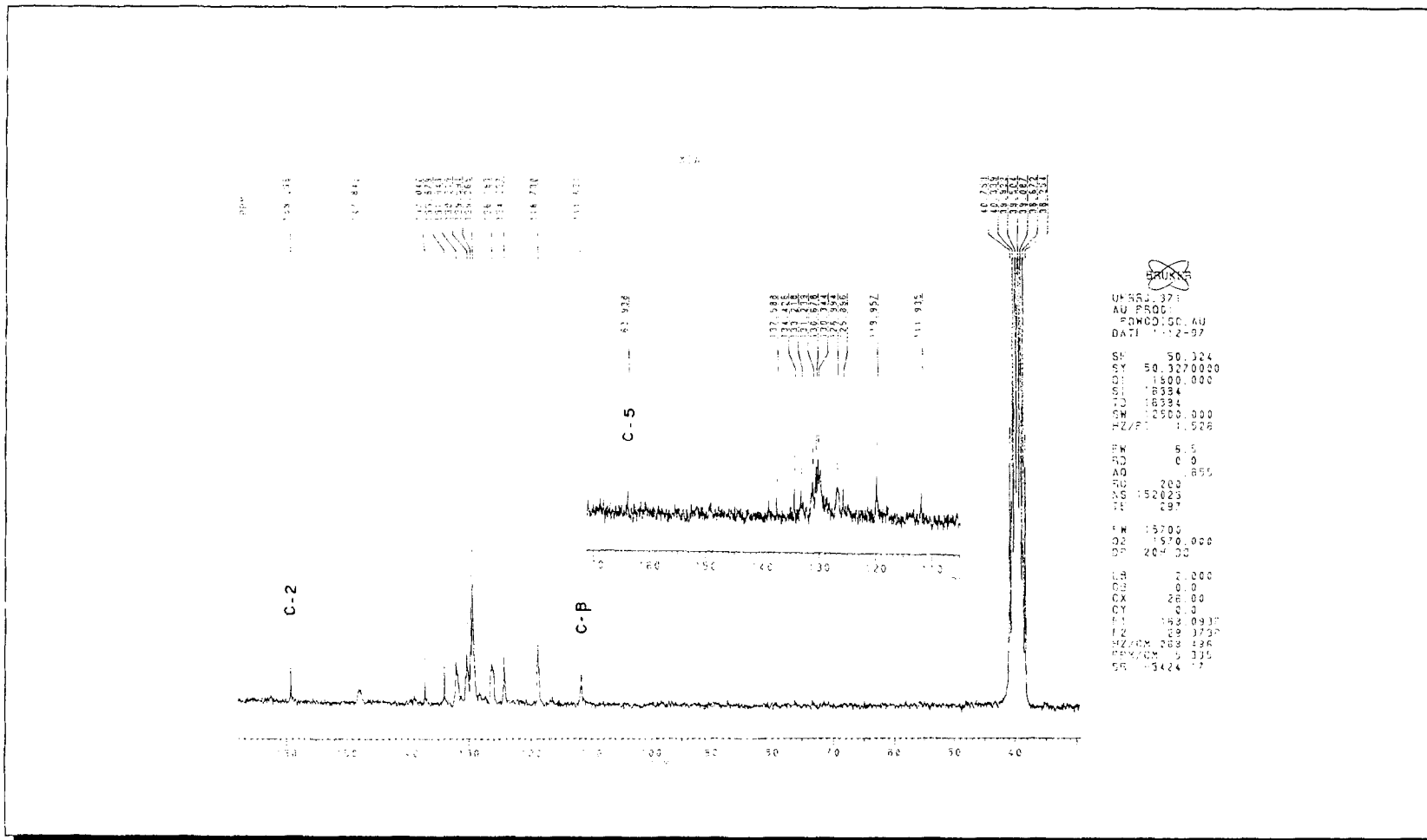
Tabela 4: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIA (50 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	C
163,94*	5
159,24	2
147,84	α
137,04	1''
134,32	1'''
133,88	4''
131,94	4'''
130,50	2''' e 6'''
130,22	3'' e 5''
129,59	3' e 5'
129,27	3''' e 5'''
126,18	2'' e 6''
124,23	4'
118,73	2' e 6'
111,62	β
n.o	1'

Tabela 5: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIA (200 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	H	J (Hz)
12,25 (s)	NH	---
8,01 (d)	α	16,1
7,83-7,43 (m)	Aromatico	---
7,07 (d)	β	16,3





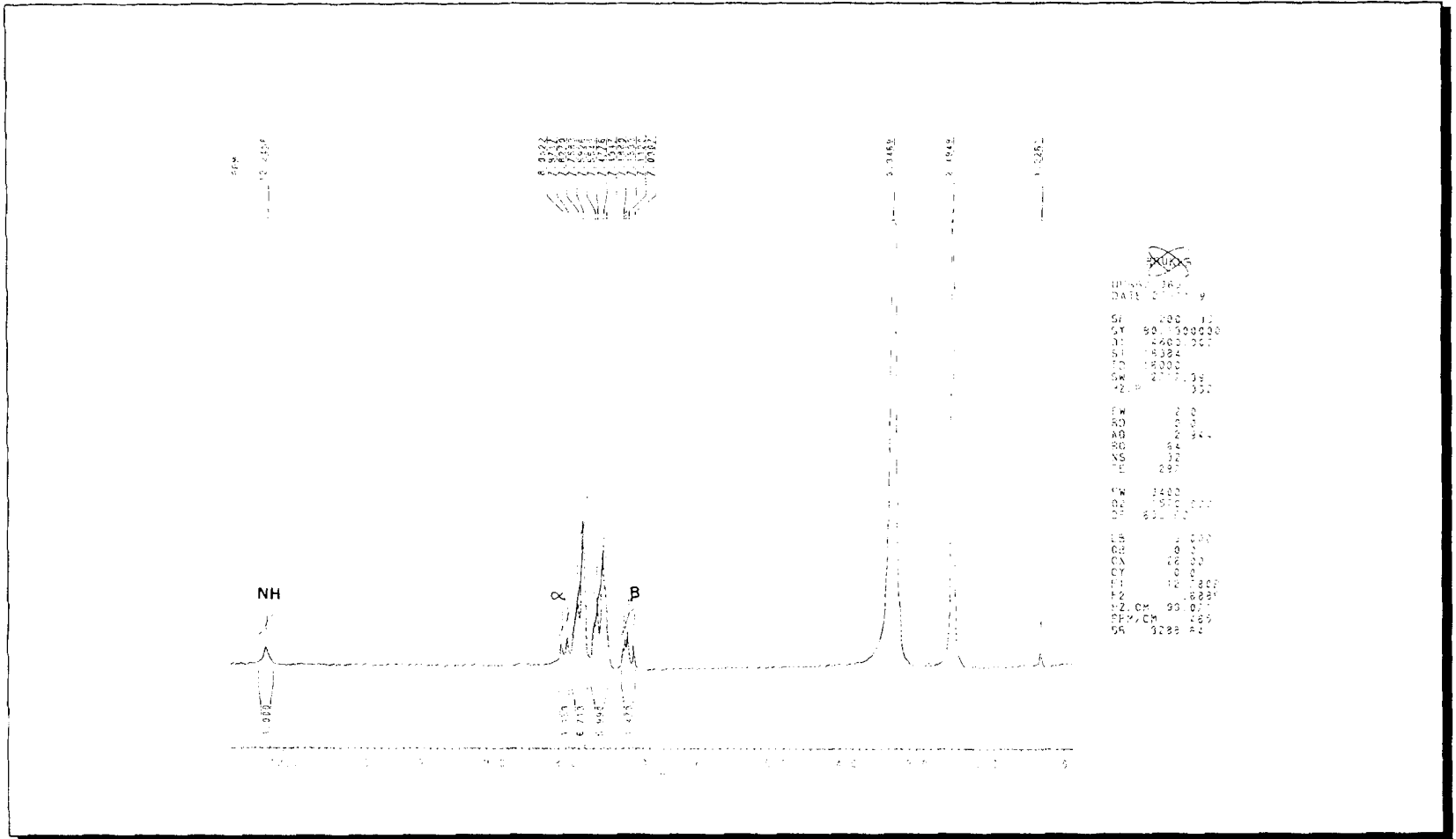


FIGURA 3: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO-d_6) de MIA

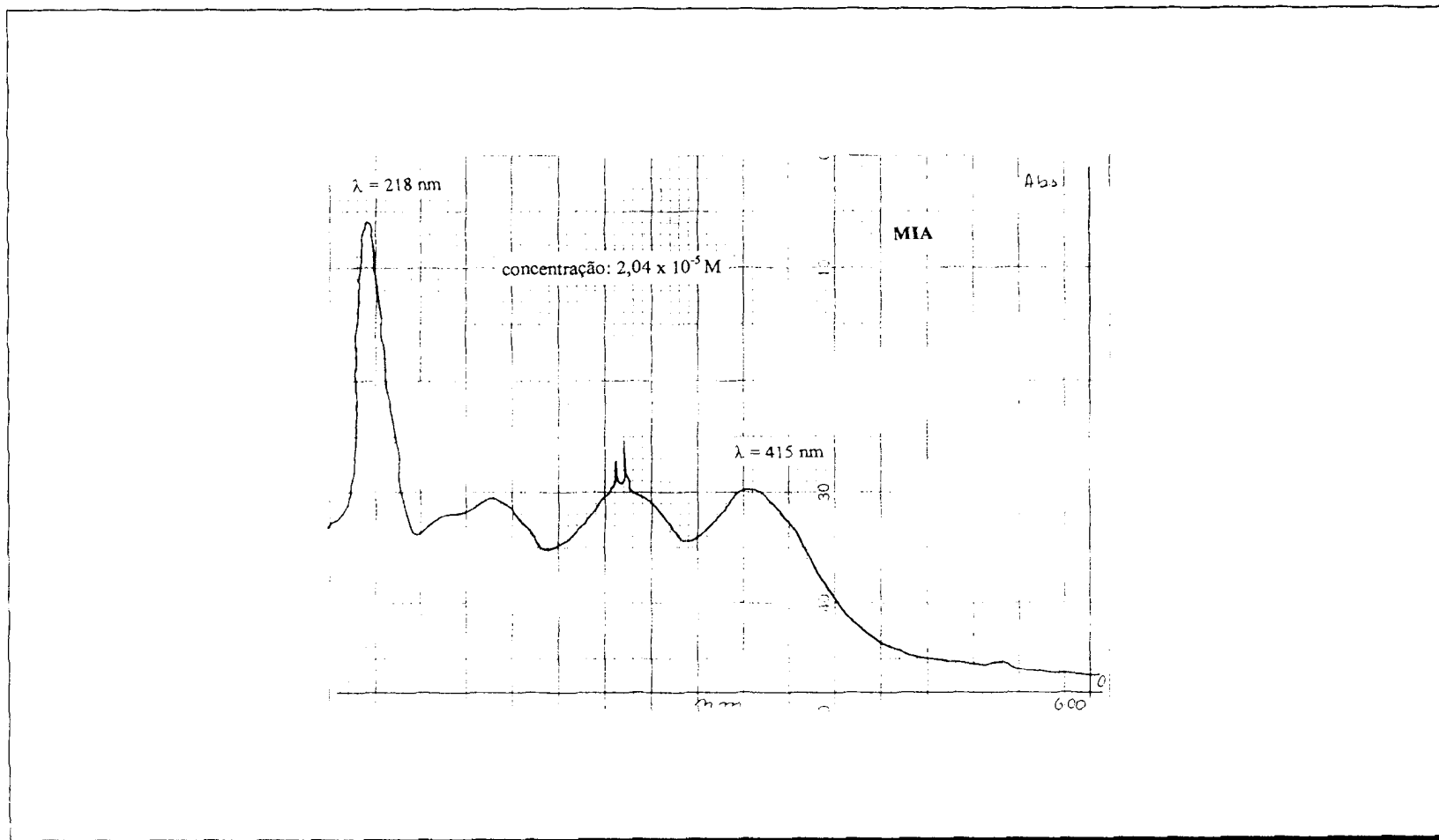


FIGURA 4: Espectro de UV/Vis de MIA em acetonitrila

MIB - Cloreto de 4-fenil-5-(4-metilcinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm⁻¹)

3423 (ν N-H); 3026 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2663 (ν C=NH⁺); 1609 (ν C=C vinílico); 1566 (ν C=N); 1539, 1511, e 1449 (ν C=C aromático); 1326 (ν C-S); 1175 (ν ArC-NH); 938 (δ =C-H vinílico); 797 (δ ArC-H no plano-2H viz.); 752 e 690 (δ ArC-H no plano-5H viz.).

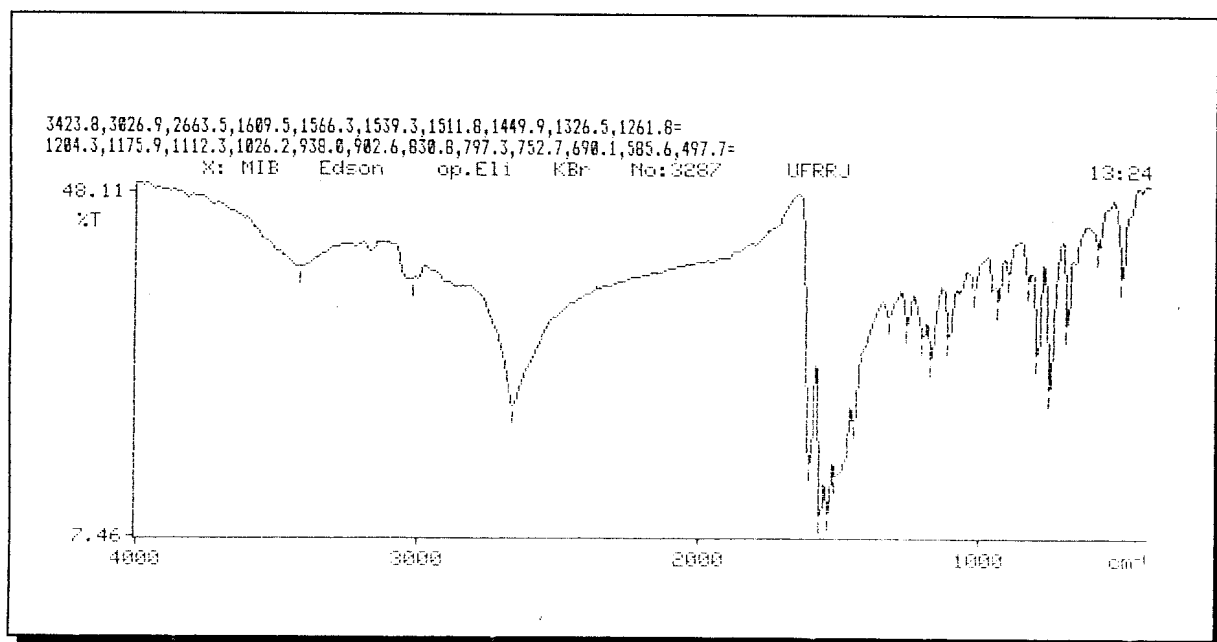


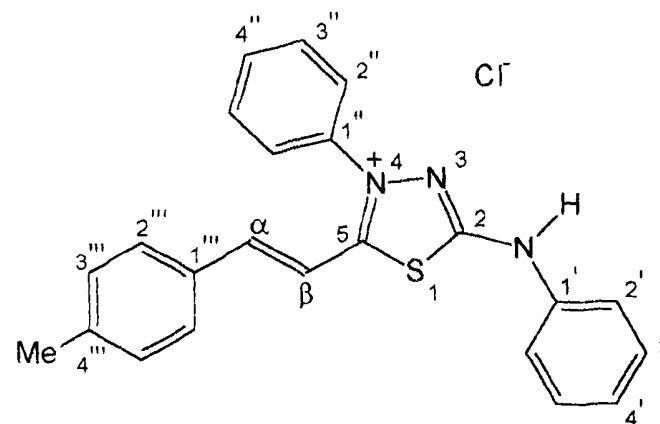
FIGURA 5: Espectro de IV para MIB

Tabela 6: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIB (50 MHz; CDCl_3 e CD_3OD).

δ (ppm)	C
162,02	5
158,36	2
149,24	α
143,64	4''
137,73	1''
136,33	1'
131,77	4''
130,24	1'''
130,03	2''' e 6'''
129,76	3''' e 5'''
128,84	3' e 5'
128,66	3'' e 5''
125,18	2'' e 6''
124,21	4'
118,46	2' e 6'
108,63	β
21,07	Me

Tabela 7: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIB (200 MHz; DMSO-d_6).

δ (ppm)	H	J (Hz)
11,31 (s)	NH	---
7,15 (d)	α	16,2
6,17 (d)	β	16,2



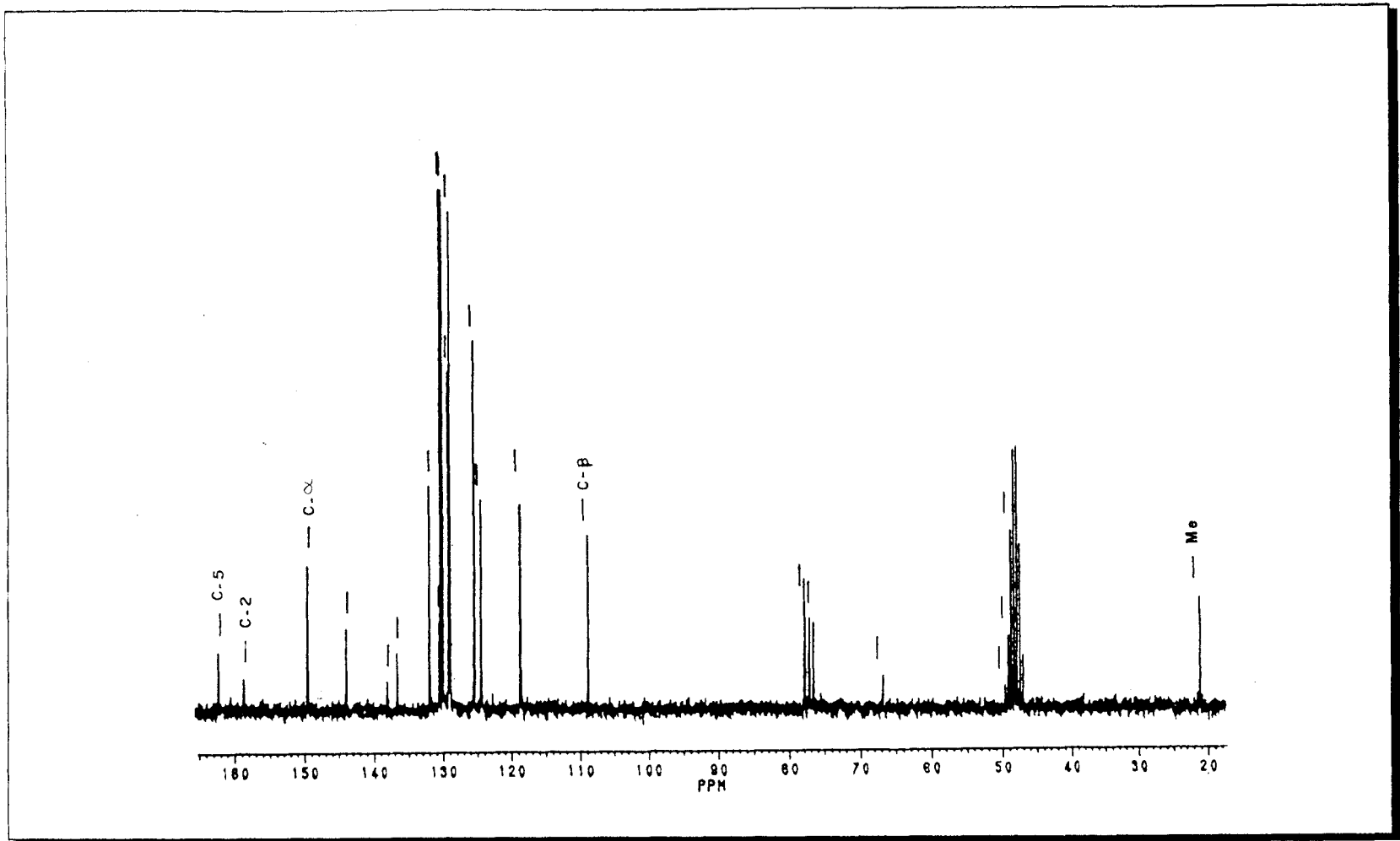


FIGURA 6: Espectro de RMN ^{13}C -PND (50 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) de MIB

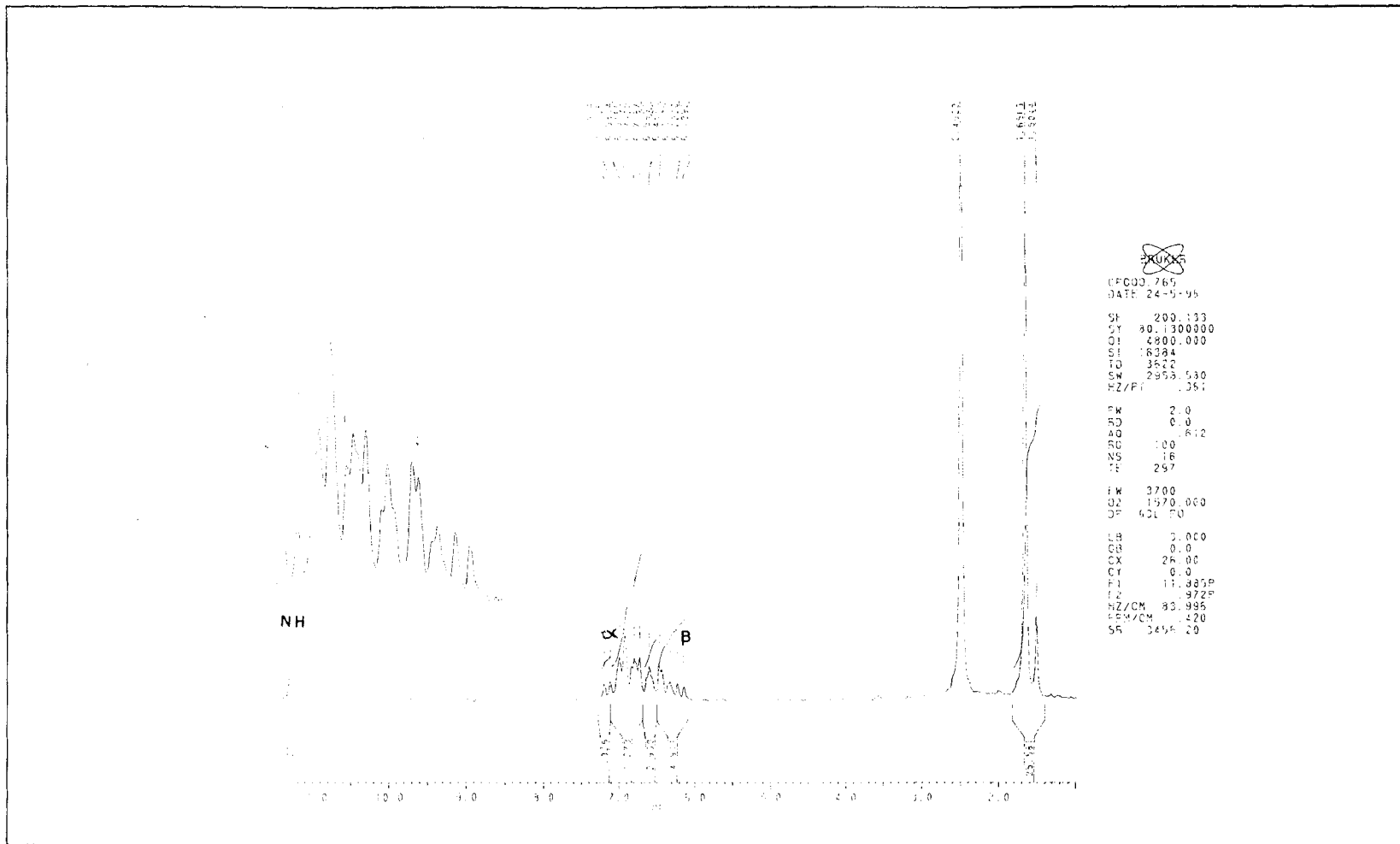


FIGURA 7: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) de MIB

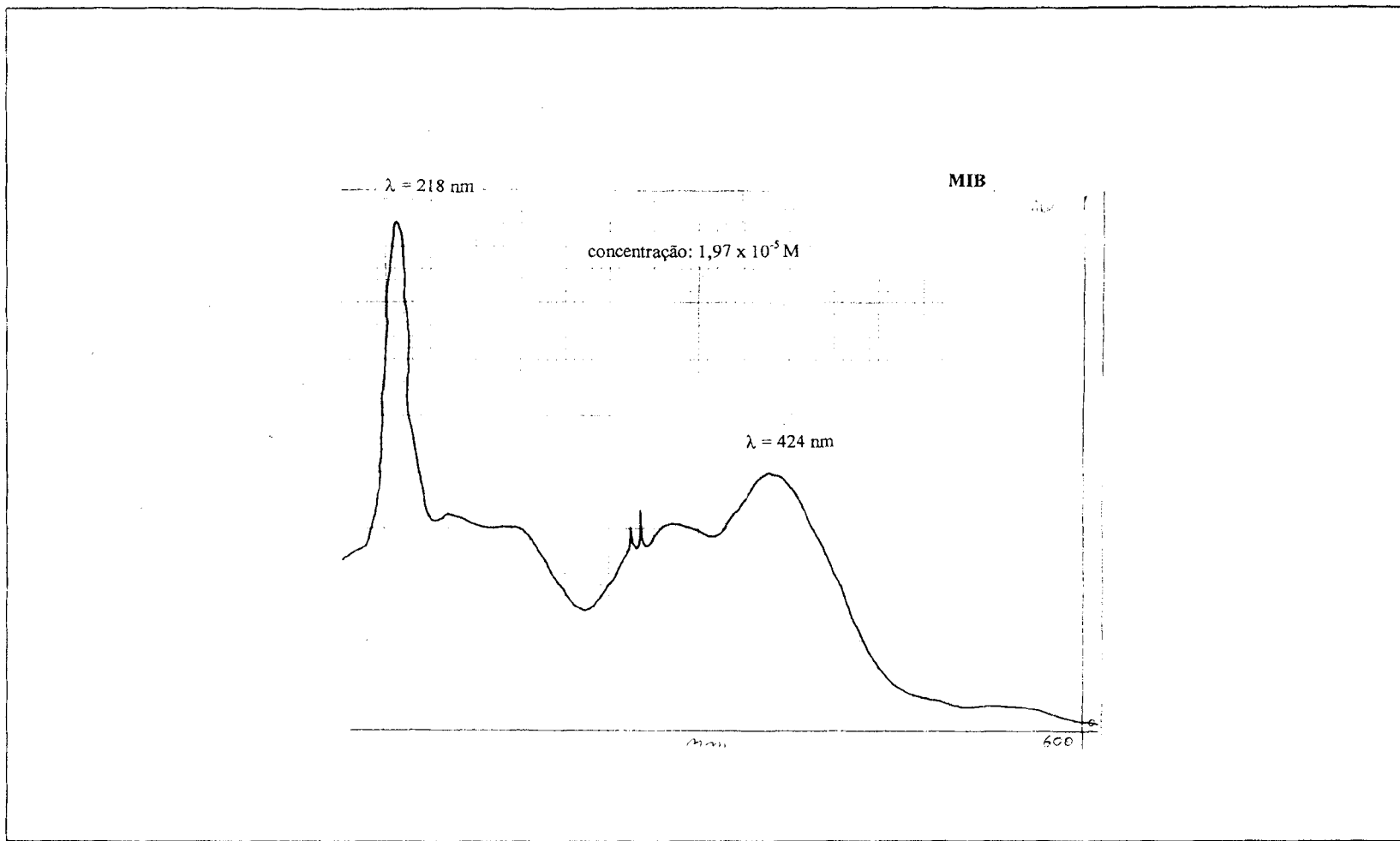


FIGURA 8: Espectro de UV/Vis de MIB em acetonitrila

**MIC - Cloreto de 4-fenil-5-(4-metoxicinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-
2-fenilamina**

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3410 (ν N-H); 3027 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2969 (ν C-H alifático); 2693 (ν C=NH⁺); 1600, 1511 e 1450 (ν C=C aromático); 1565 (ν C=N); 1310 (ν C-S); 1253 (ν ArC-O); 1111 (ν O-CH₃); 1025 (confirmação Ar-O-R); 953 (δ =C-H vinílico); 805 (δ ArC-H no plano 2H viz.); 752 e 689 (δ ArC-H no plano 5H viz.).

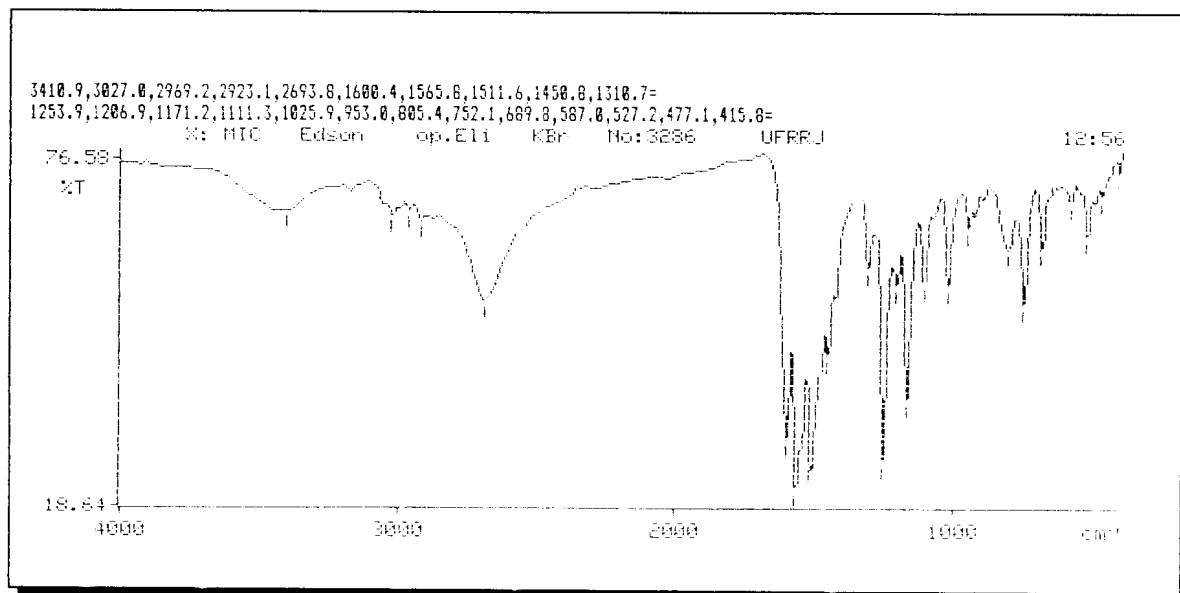


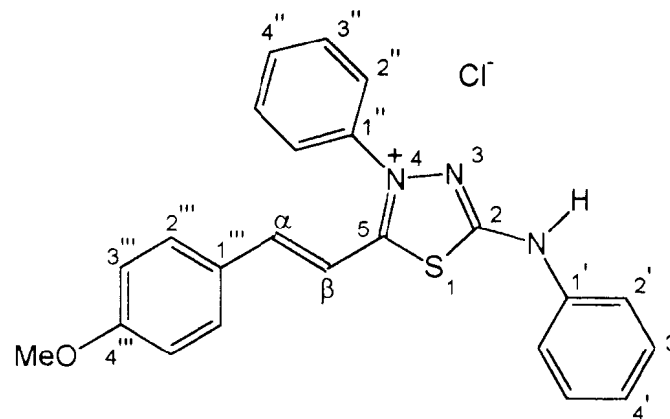
FIGURA 9: Espectro de IV para MIC

Tabela 8: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico-MIC (50 MHz; DMSO- d_6)

δ (ppm)	C
163,28	4'''
162,54	5
158,44	2
148,34	α
138,66	1''
137,05	1'
135,22	1'''
131,58	4''
130,19	3''
129,48	3'
126,57	2'''
126,21	2''
123,35	4'
118,49	2'
114,83	3''' e 5'''
108,83	β
55,66	MeO

Tabela 9: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico-MIC (200 MHz; DMSO- d_6)

δ (ppm)	H	J (Hz)
11,81 (s)	NH	---
7,13 (d)	α	16,0
7,01 - 6,98 (m)	Aromático	---
6,76 (d)	2''' e 6'''	7,8
6,55 (d)	3''' e 5'''	8,4
6,23 (d)	β	15,4
2,92 (s)	MeO	---



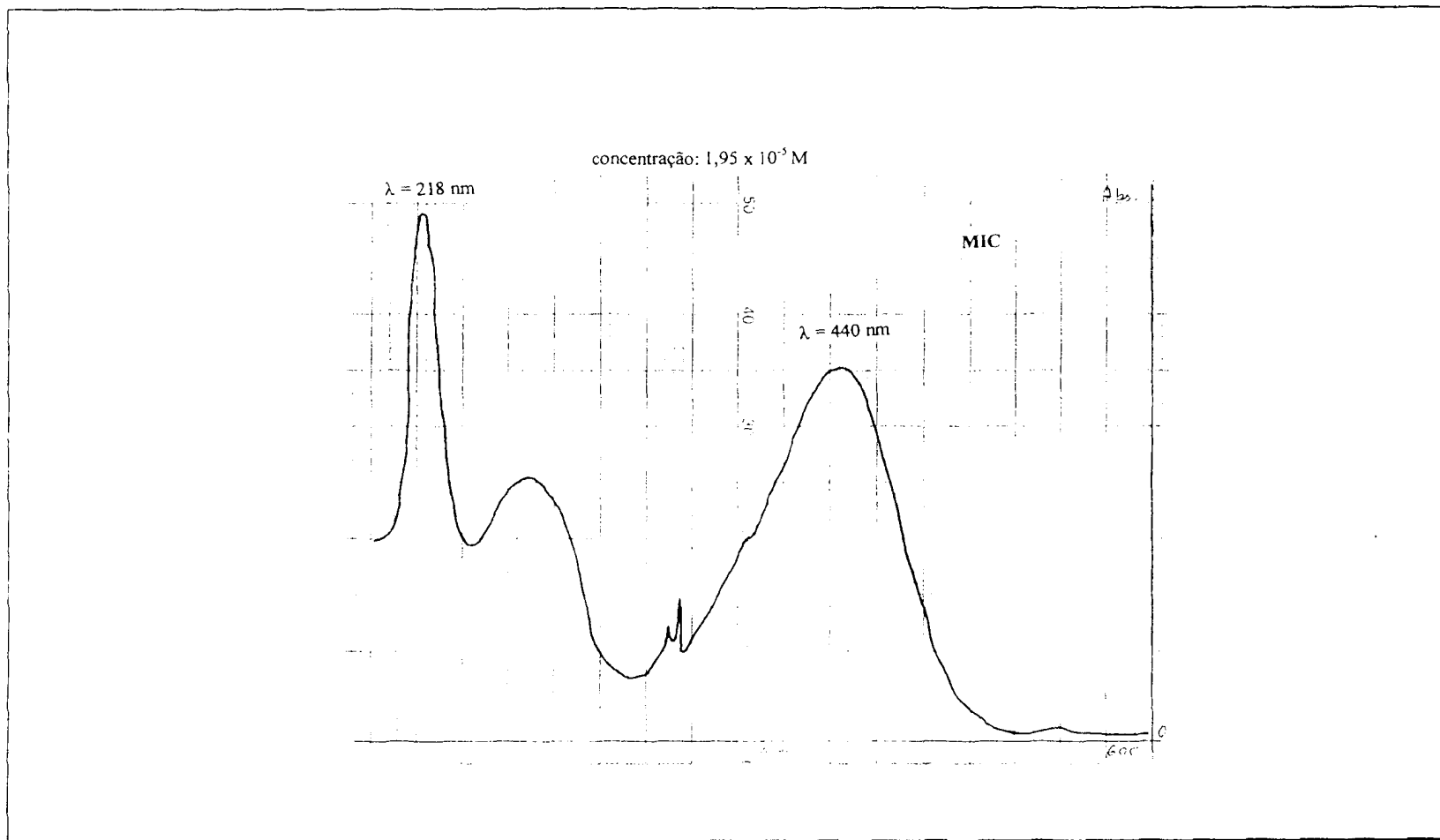


FIGURA 13: Espectro de UV/Vis de MIC em acetonitrila

MID - Cloreto de 4-fenil-5-(4-nitrocinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3410 (ν N-H); 3044 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2720 (ν C= $\overset{+}{\text{N}}\text{H}$ -); 1615 (ν C=C vinílico); 1565 (ν C=N); 1522 (ν C-NO₂ e/ou C=C aromático); 1450 (ν C=C aromático); 1341 (ν simétrico N=O e ν C-S); 956 (δ =C-H vinílico); 835 (δ _{Ar}C-H no plano 2H viz.); 747 e 690 (δ _{Ar}C-H no plano 5H viz.).

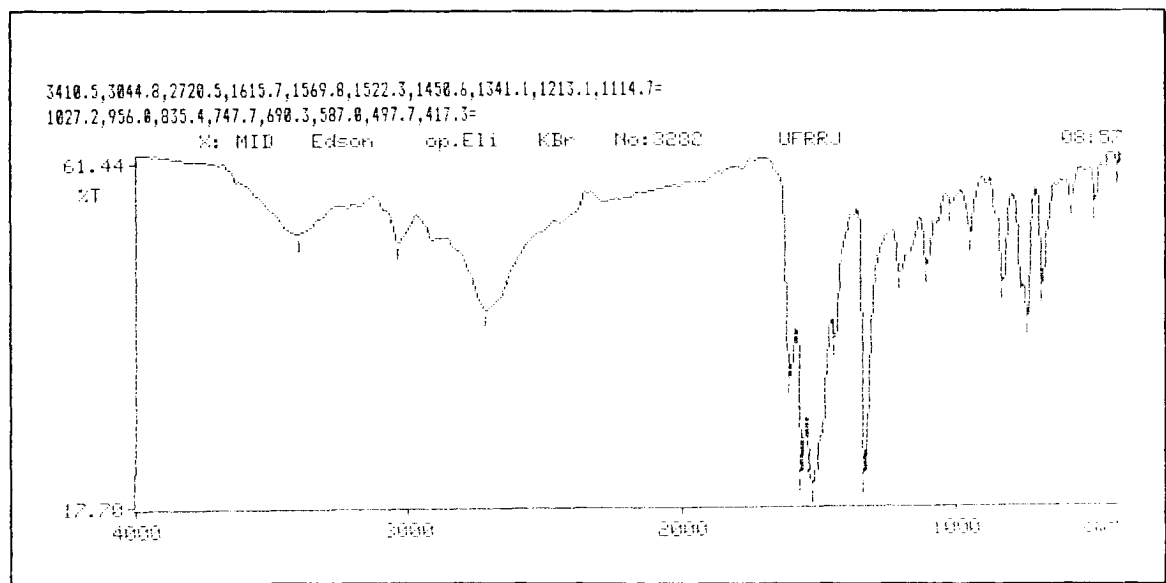


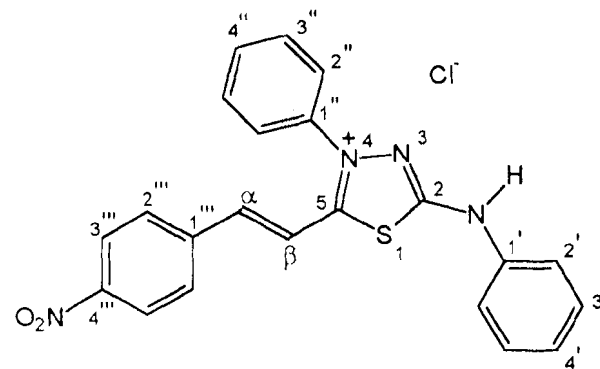
FIGURA 14: Espectro de IV para MID

Tabela 10: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico-MID (75 MHz, DMSO - d_6)

δ (ppm)	C
162,05	5
159,68	2
148,59	4'''
144,67	α
139,99	1'''
138,54	1''
137,05	1'
131,90	4''
130,25	3'' e 5''
130,15	3' e 5'
129,56	2''' e 6'''
126,23	2'' e 6''
124,32	4'
124,20	3''' e 5'''
118,71	2' e 6'
115,52	β

Tabela 11: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico-MID (300 MHz; DMSO- d_6)

δ (ppm)	H	J (Hz)
12,35 (s)	NH	---
8,396 (d)	3''' e 5'''	8,2
8,26 (d)	α	16,6
8,151 (d)	2''' e 6'''	8,3
8,00-7,87 (m)	Aromático	---
7,41 (d)	β	16,2



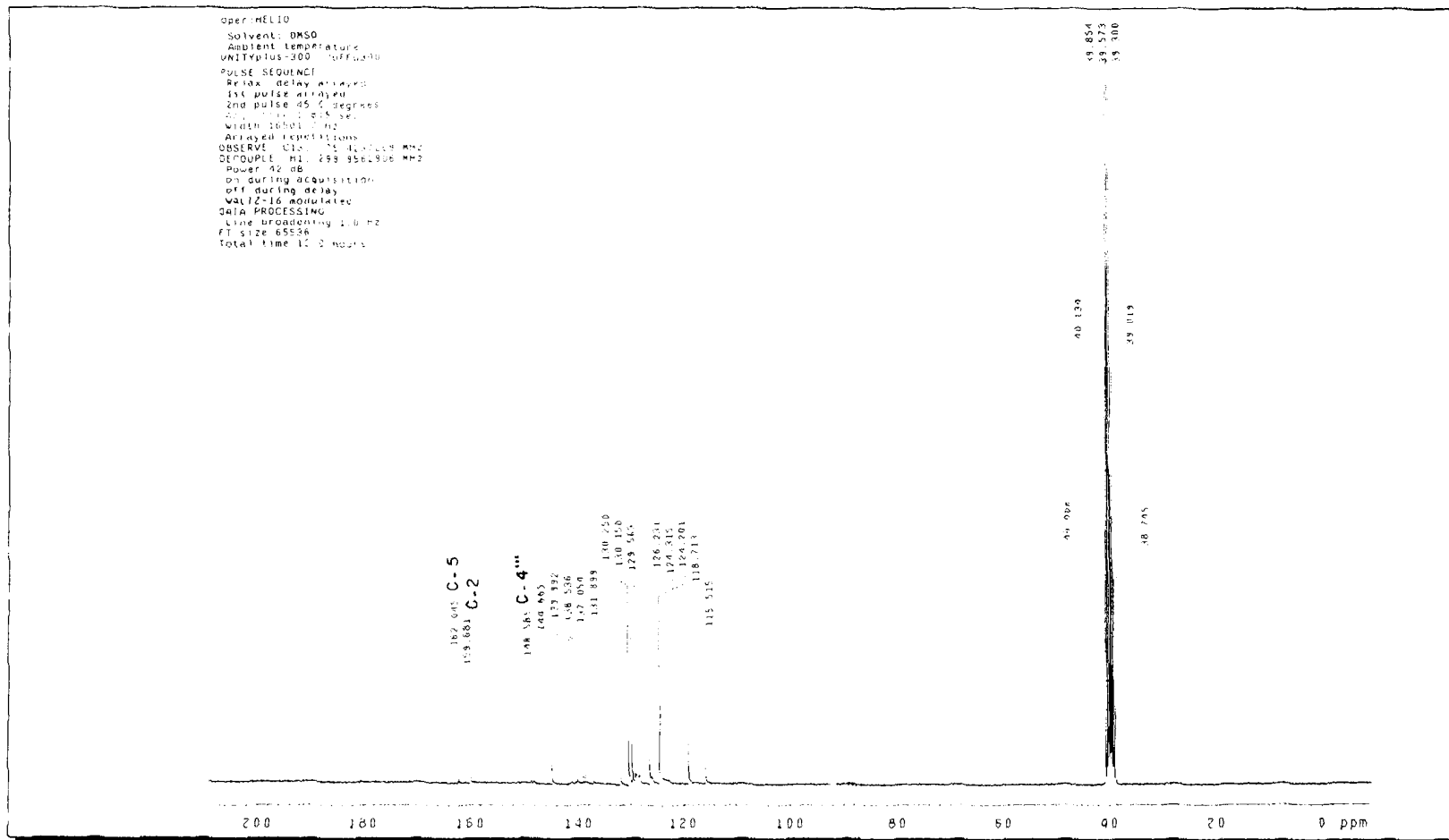


FIGURA 15: Espectro de RMN ^{13}C -PND (75 MHz, DMSO-d_6) de MID

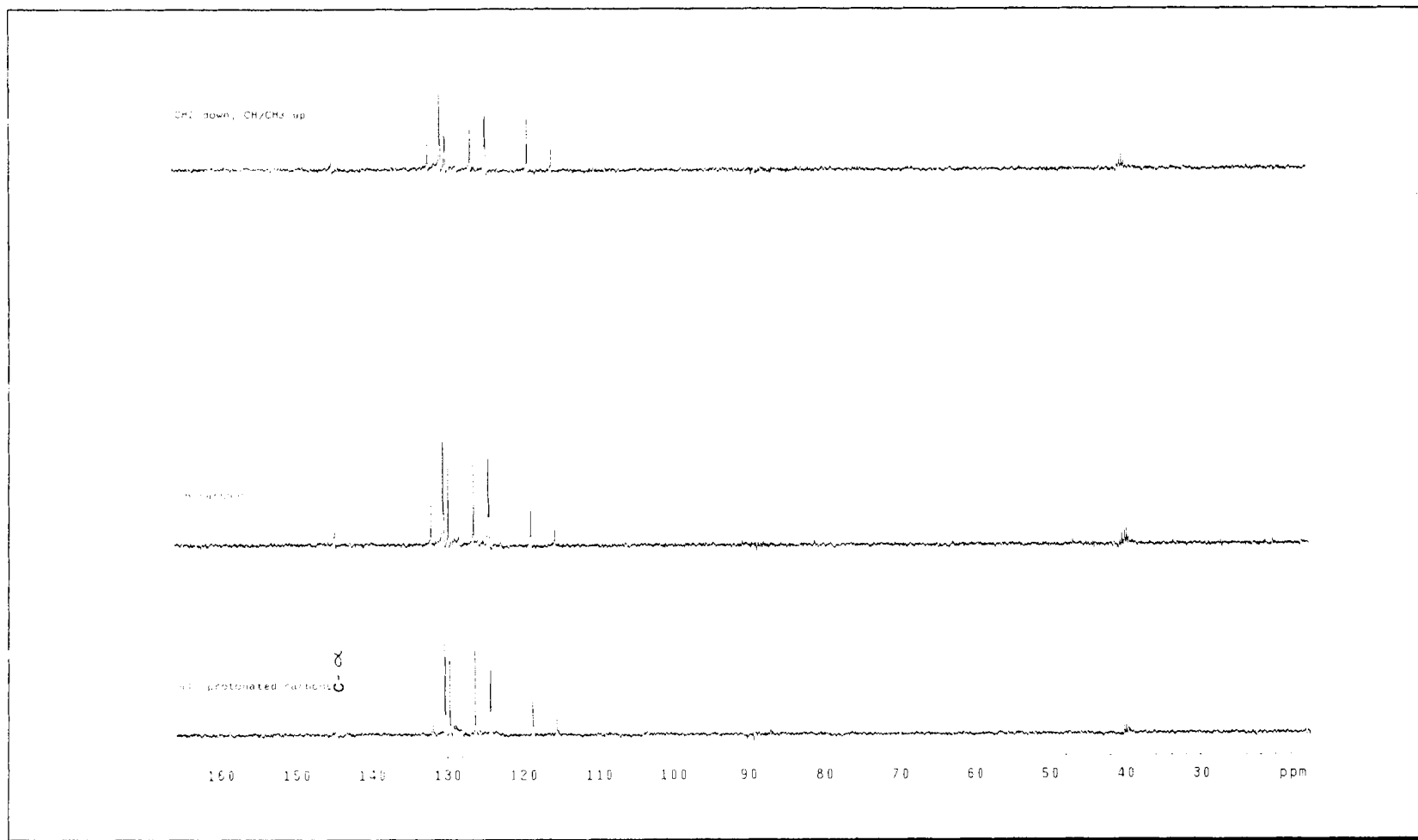


FIGURA 16: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (75 MHz, DMSO-d_6) de MID

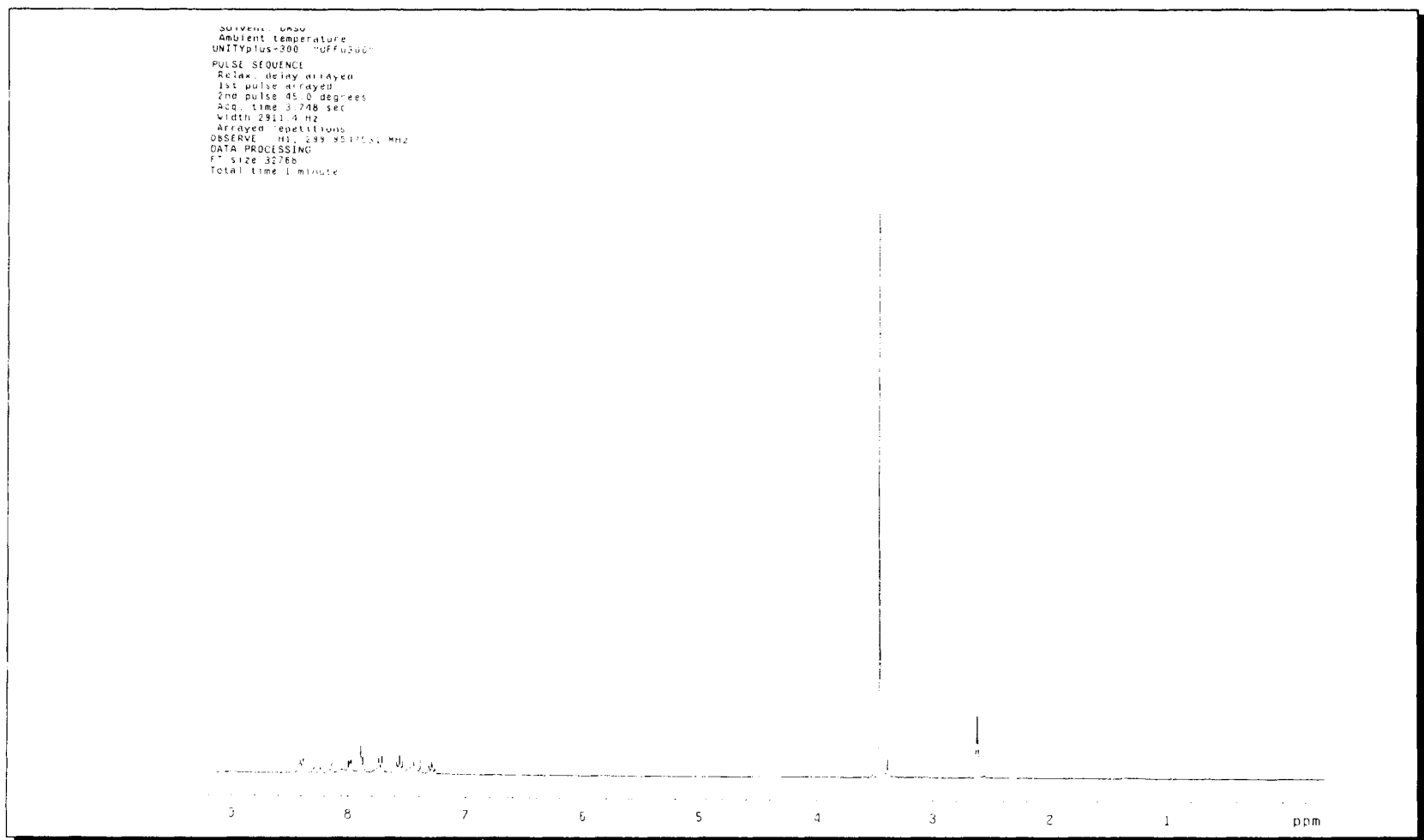


FIGURA 17: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) de MID

LIST ACQUISITION
Solvent: DMSO
Acquisition Temperature: 300.2 K
PULSE SEQUENCE
zgpg30
1st pulse arrayed
2nd pulse arrayed
3rd pulse arrayed
4th pulse arrayed
5th pulse arrayed
6th pulse arrayed
7th pulse arrayed
8th pulse arrayed
9th pulse arrayed
10th pulse arrayed
11th pulse arrayed
12th pulse arrayed
13th pulse arrayed
14th pulse arrayed
15th pulse arrayed
16th pulse arrayed
17th pulse arrayed
18th pulse arrayed
19th pulse arrayed
20th pulse arrayed
21st pulse arrayed
22nd pulse arrayed
23rd pulse arrayed
24th pulse arrayed
25th pulse arrayed
26th pulse arrayed
27th pulse arrayed
28th pulse arrayed
29th pulse arrayed
30th pulse arrayed
31st pulse arrayed
32nd pulse arrayed
33rd pulse arrayed
34th pulse arrayed
35th pulse arrayed
36th pulse arrayed
37th pulse arrayed
38th pulse arrayed
39th pulse arrayed
40th pulse arrayed
41st pulse arrayed
42nd pulse arrayed
43rd pulse arrayed
44th pulse arrayed
45th pulse arrayed
46th pulse arrayed
47th pulse arrayed
48th pulse arrayed
49th pulse arrayed
50th pulse arrayed
51st pulse arrayed
52nd pulse arrayed
53rd pulse arrayed
54th pulse arrayed
55th pulse arrayed
56th pulse arrayed
57th pulse arrayed
58th pulse arrayed
59th pulse arrayed
60th pulse arrayed
61st pulse arrayed
62nd pulse arrayed
63rd pulse arrayed
64th pulse arrayed
65th pulse arrayed
66th pulse arrayed
67th pulse arrayed
68th pulse arrayed
69th pulse arrayed
70th pulse arrayed
71st pulse arrayed
72nd pulse arrayed
73rd pulse arrayed
74th pulse arrayed
75th pulse arrayed
76th pulse arrayed
77th pulse arrayed
78th pulse arrayed
79th pulse arrayed
80th pulse arrayed
81st pulse arrayed
82nd pulse arrayed
83rd pulse arrayed
84th pulse arrayed
85th pulse arrayed
86th pulse arrayed
87th pulse arrayed
88th pulse arrayed
89th pulse arrayed
90th pulse arrayed
91st pulse arrayed
92nd pulse arrayed
93rd pulse arrayed
94th pulse arrayed
95th pulse arrayed
96th pulse arrayed
97th pulse arrayed
98th pulse arrayed
99th pulse arrayed
100th pulse arrayed

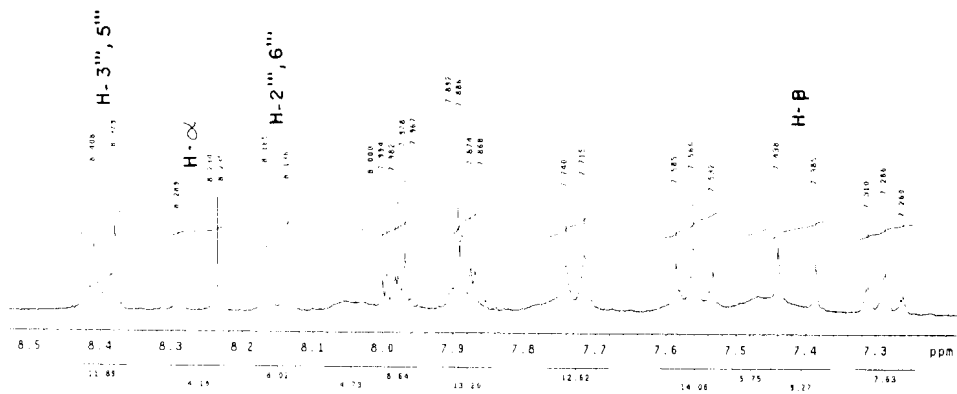


FIGURA 18: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) expandido de MID

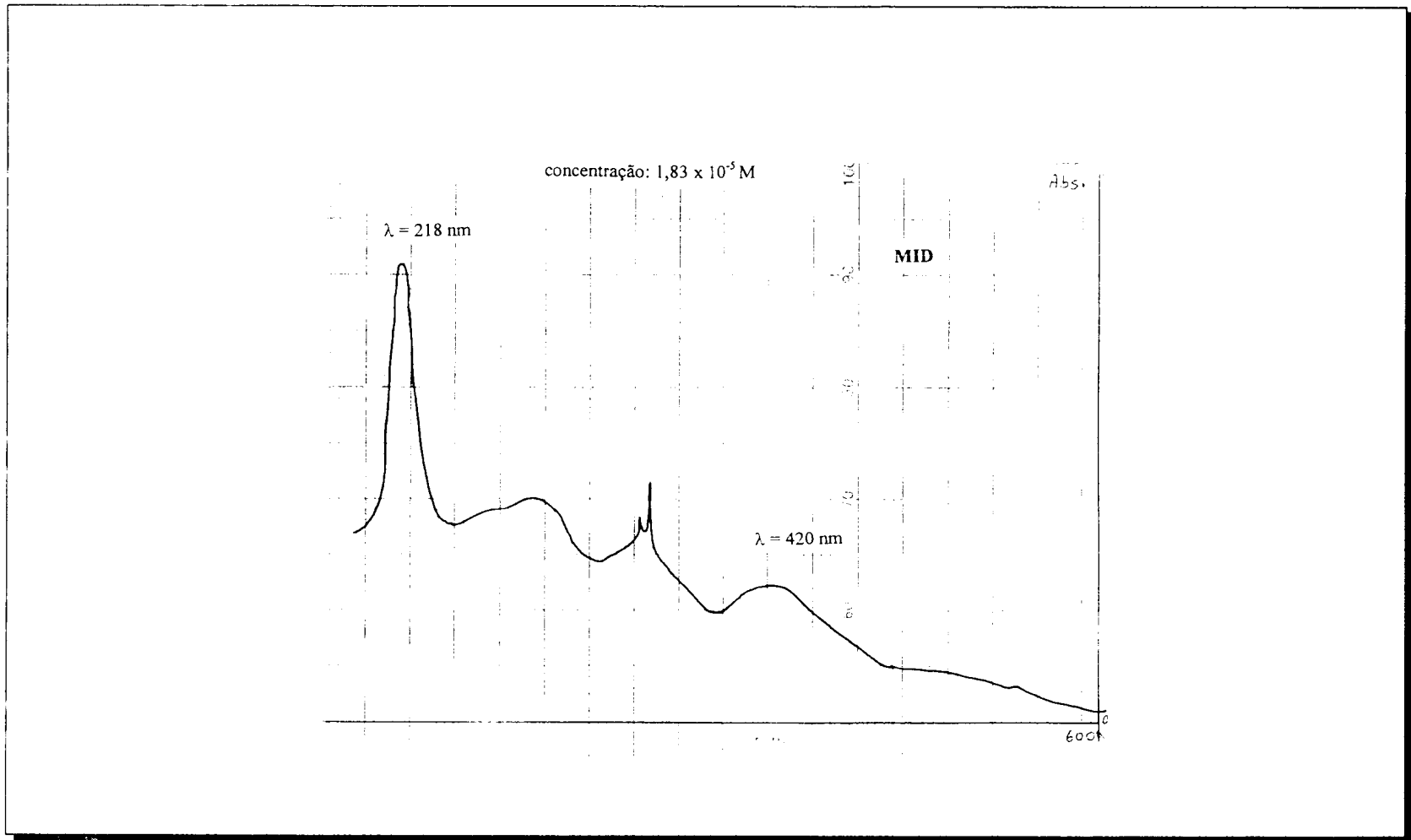


FIGURA 19: Espectro de UV/Vis de MID em acetonitrila

MIE - Cloreto de 4-fenil-5-(4-fluorcinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3442.3, 3007.7, 2669.8, 1618.1, 1570.1, 1512.3, 1448.4, 1315.8, 1230.9, 1161.1 =
 1116.0, 1030.1, 931.7, 816.6, 783.3, 742.0, 686.1, 590.3, 496.1, 447.9 =
 (ν C-H); 3007 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2669 (ν C=NH⁺);
 1618 (ν C=C vinílico); 1570 (ν C=N); 1512, e 1448 (ν C=C aromático); 1315
 (ν C-S); 1230 (ν ArC-F); 816 (δ ArC-H no plano-2H viz.); 742 e 686 (δ ArC-H
 no plano-5H viz.).

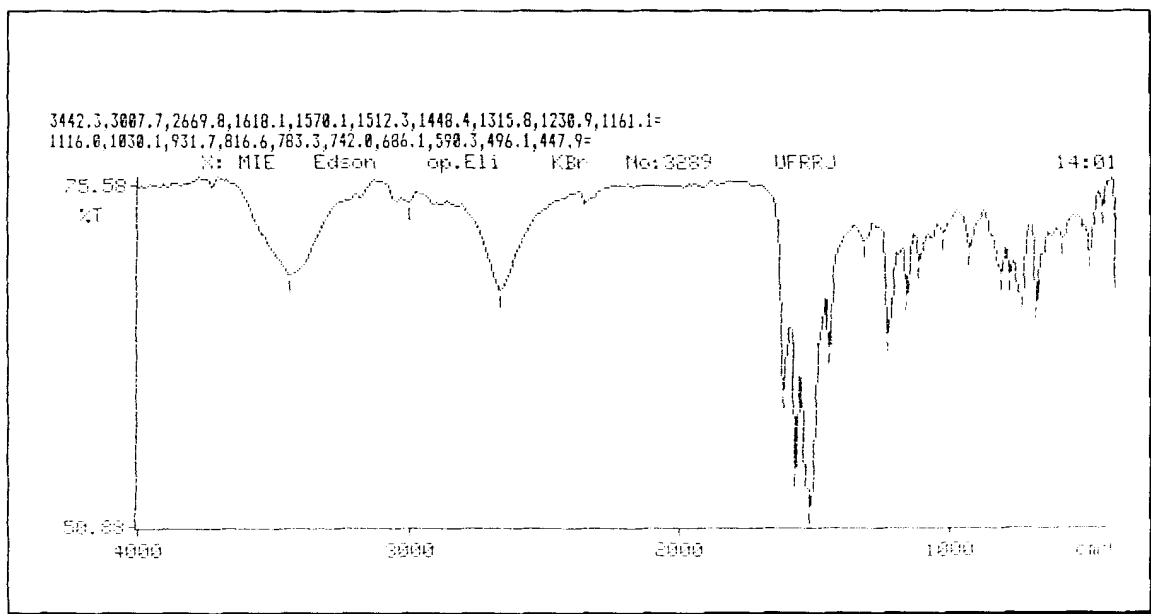


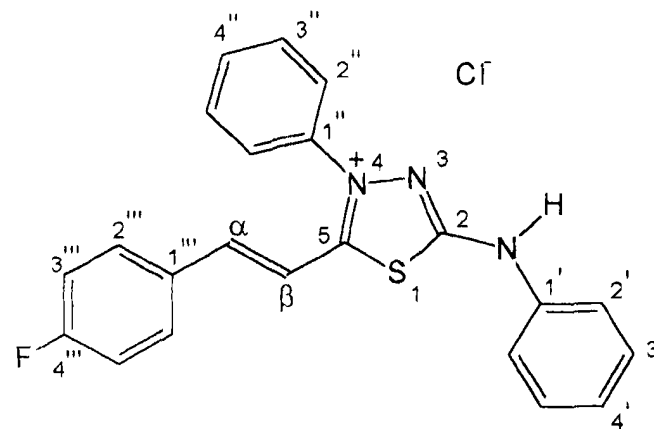
FIGURA 20: Espectro de IV para MIE

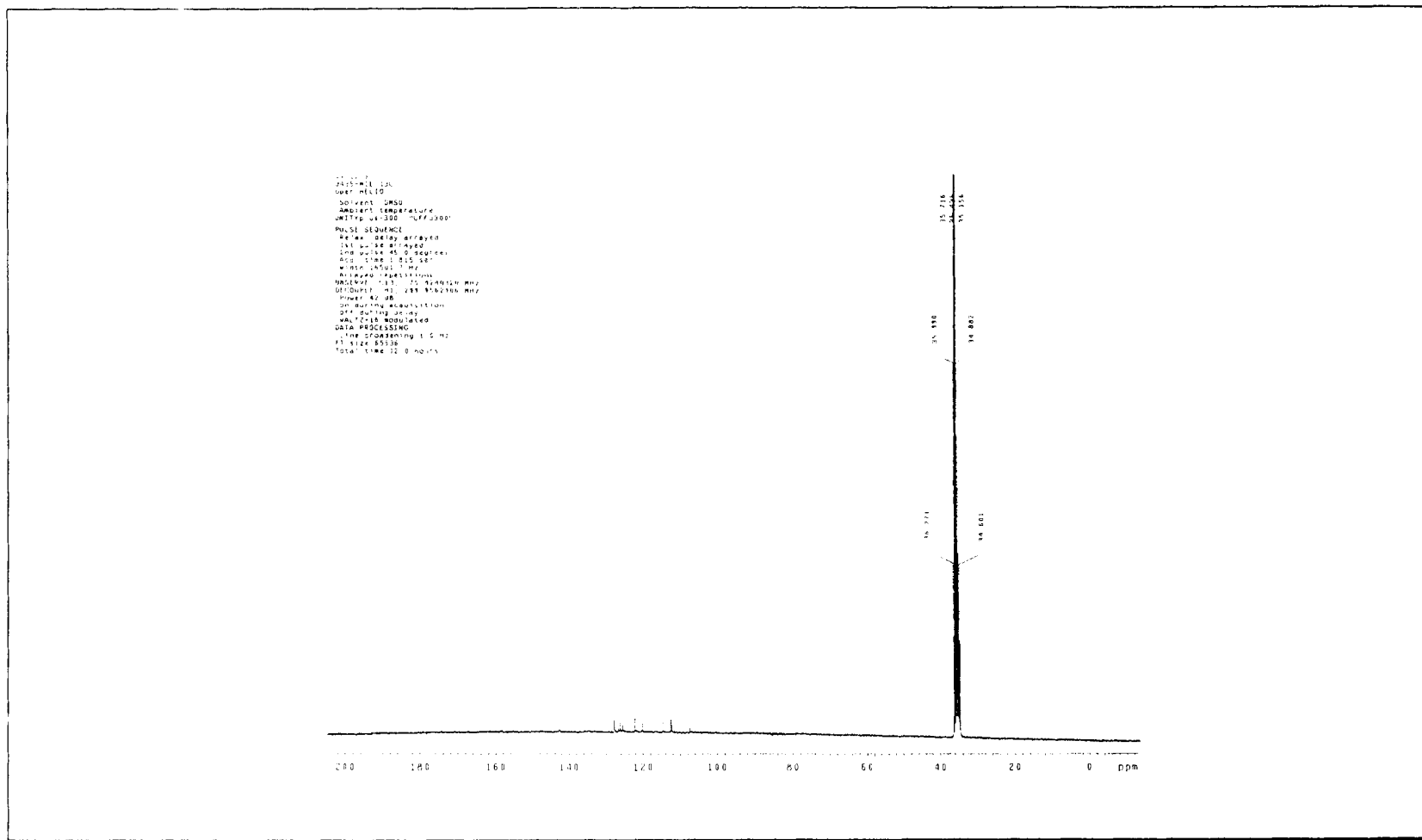
Tabela 12: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIE (75 MHz; DMSO- d_6).

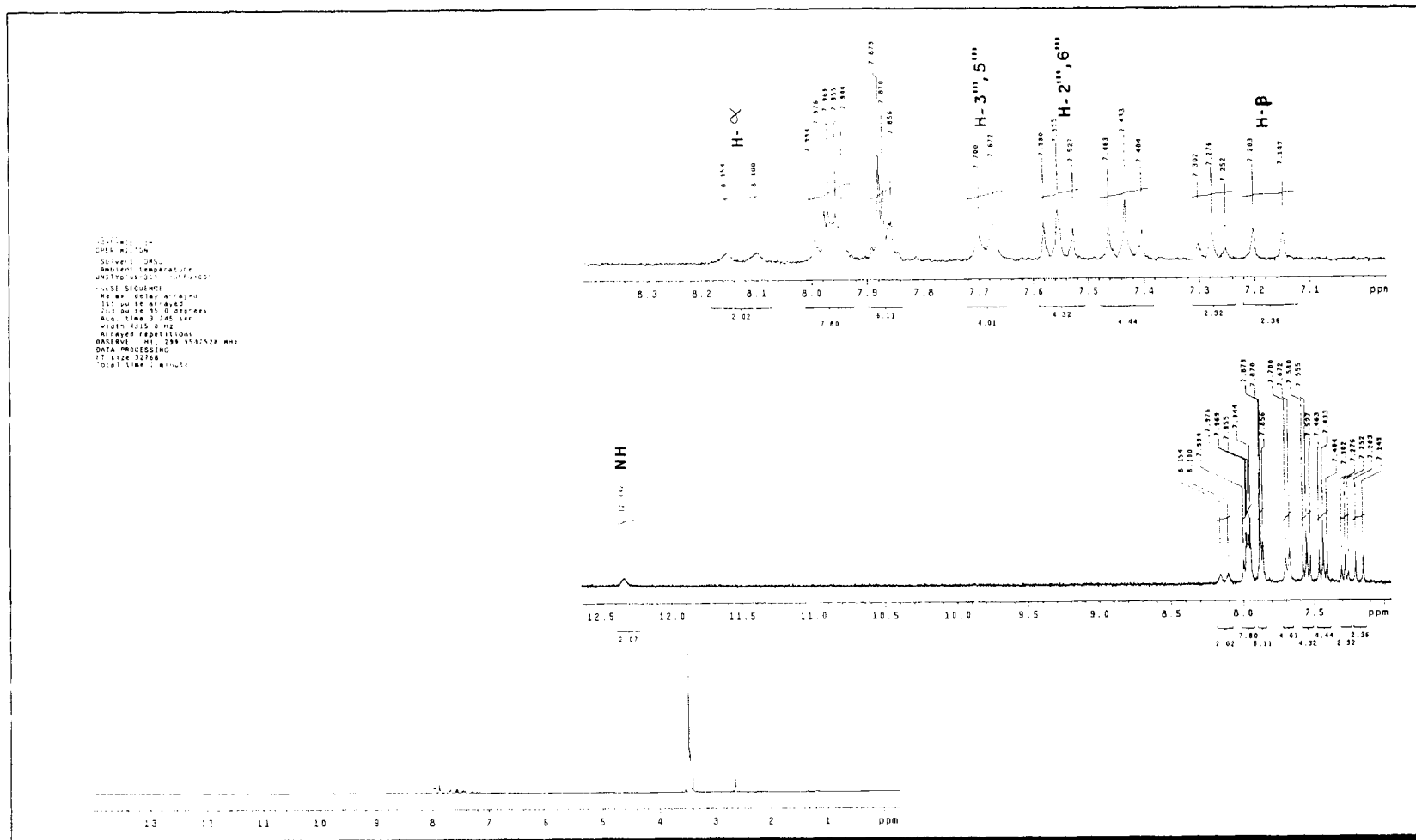
δ (ppm)	C
164,83 ($^1J_{\text{C-F}}=251,8$ Hz)	4''''
159,04	2
146,58	α
138,69	1''
136,96	1'
131,80	1''''
131,67	4''
130,57 ($^3J_{\text{C-F}}=3,8$ Hz)	2'''' e 6''''
130,16	3' e 5'
129,51	3'' e 5''
126,15	2'' e 6''
124,12	4'
118,62	2' e 6'
116,47 ($^2J_{\text{C-F}}=21,9$ Hz)	3'''' e 5''''
111,39	β
n.o.	S

Tabela 13: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIE (300 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	H	J (Hz)	$^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$
12,33 (s)	NH	---	---
8,13 (d)	α	16,2	β
7,69 (d)	3'''' e 5''''	8,4	2'''' e 6''''
7,54 (d)	2'''' e 6''''	8,4	---
7,18	β	16,2	---







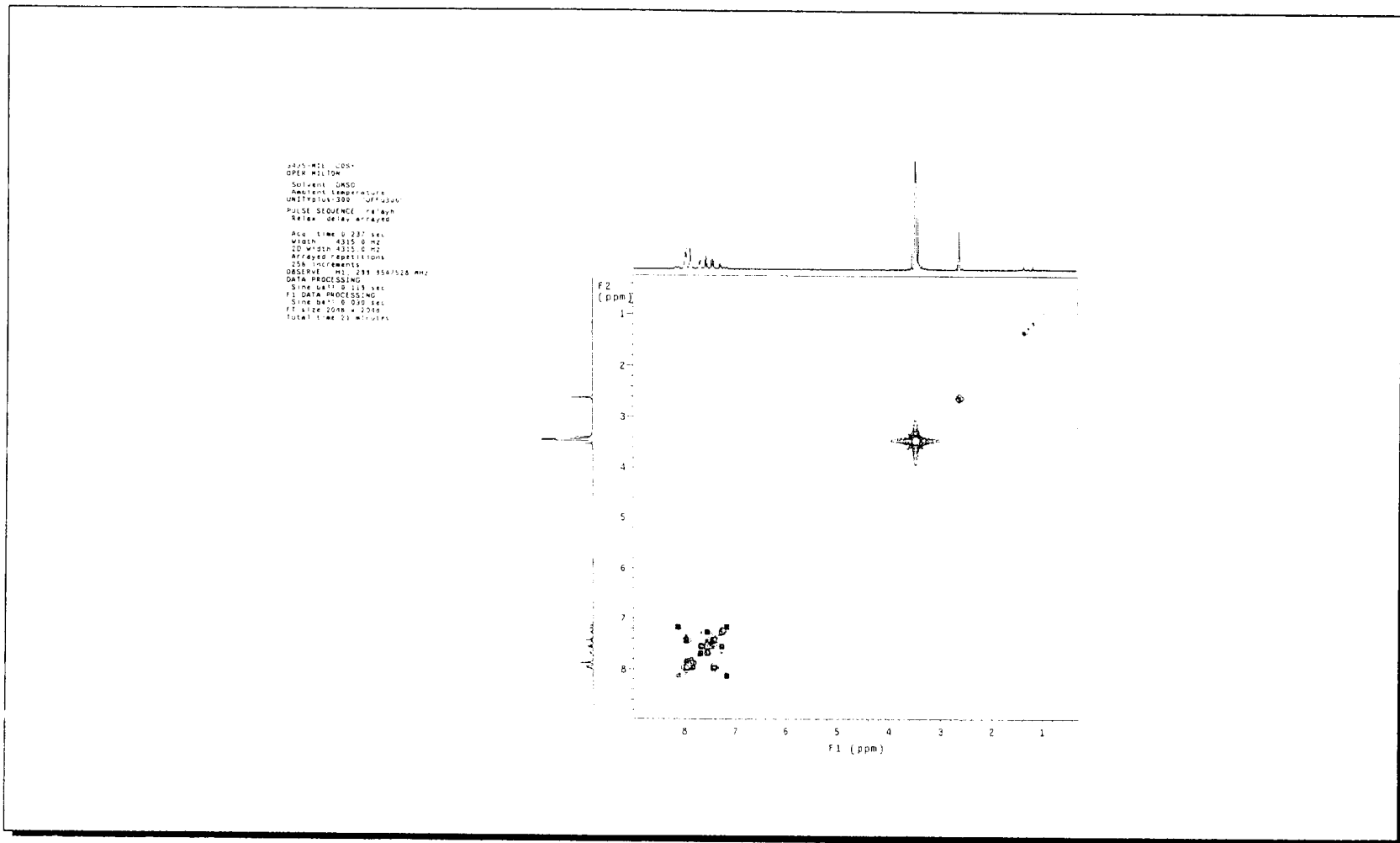


FIGURA 24: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (300 MHz, DMSO- d_6) de MIE

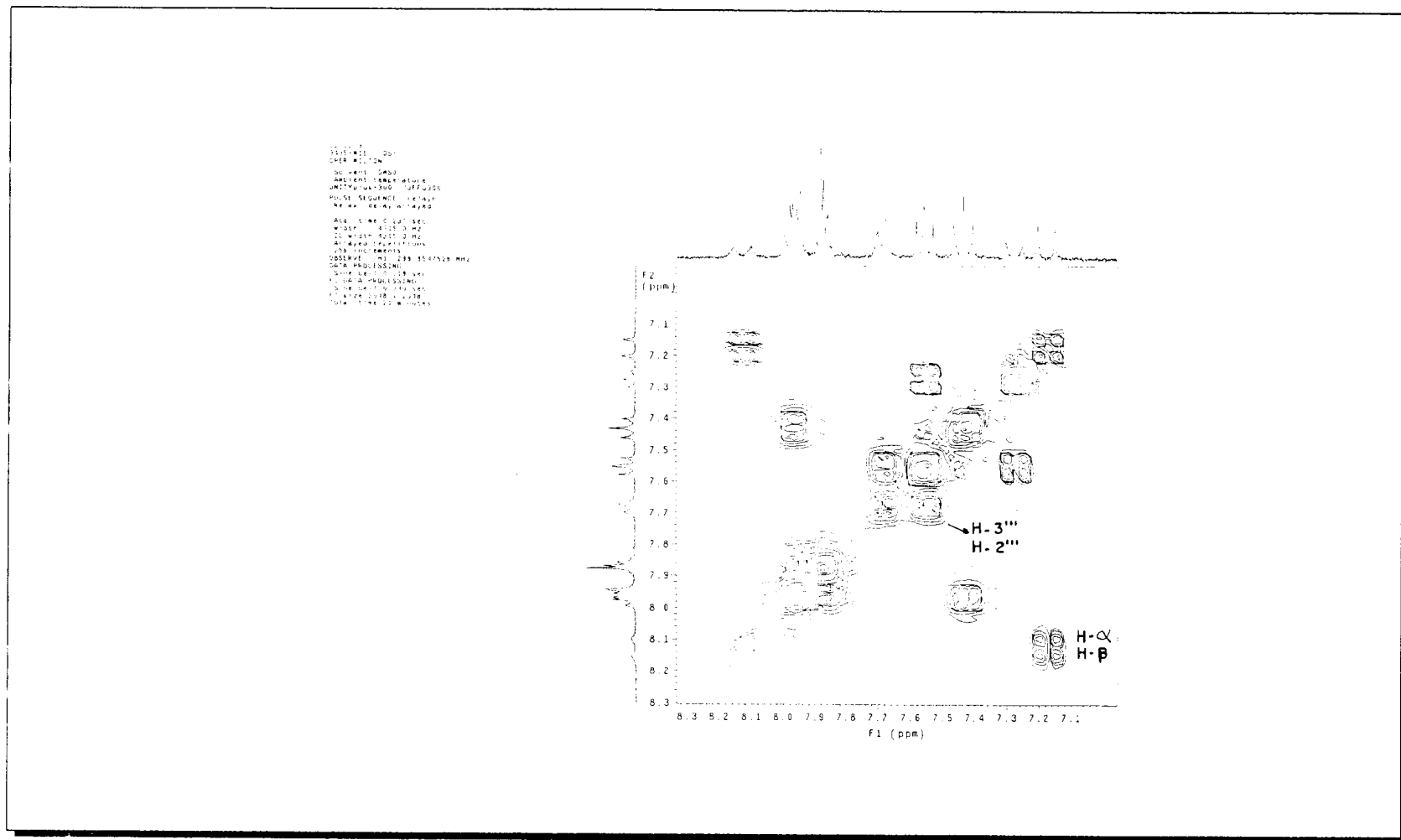


FIGURA 25: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (300 MHz, DMSO- d_6) expandido de MIE

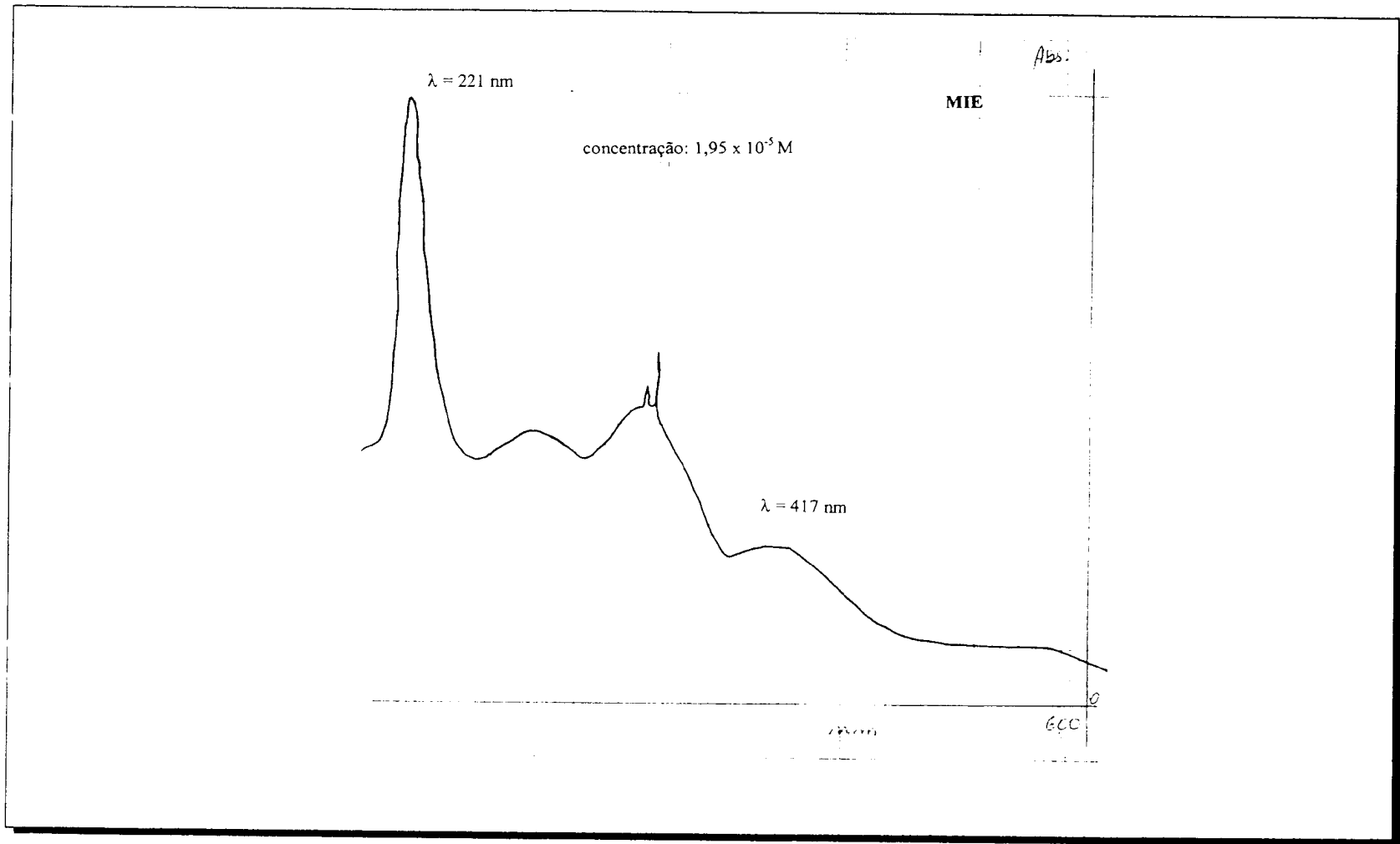


FIGURA 26: Espectro de UV/Vis de MIE em acetonitrila

MIF - Cloreto de 4-fenil-5-(4-clorocinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3423 (ν N-H); 3046 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2653 (ν C= $\overset{+}{\text{N}}\text{H}^-$); 1615 (ν C=C vinílico); 1566 (ν C=N); 1538, 1497 e 1450 (ν C=C aromático); 1326 (ν C-S); 803 ($\delta_{\text{Ar}}\text{C-H}$ no plano-2H viz.); 755 e 690 ($\delta_{\text{Ar}}\text{C-H}$ no plano-5H viz., em 755 acrescido de $\nu_{\text{Ar}}\text{C-Cl}$).

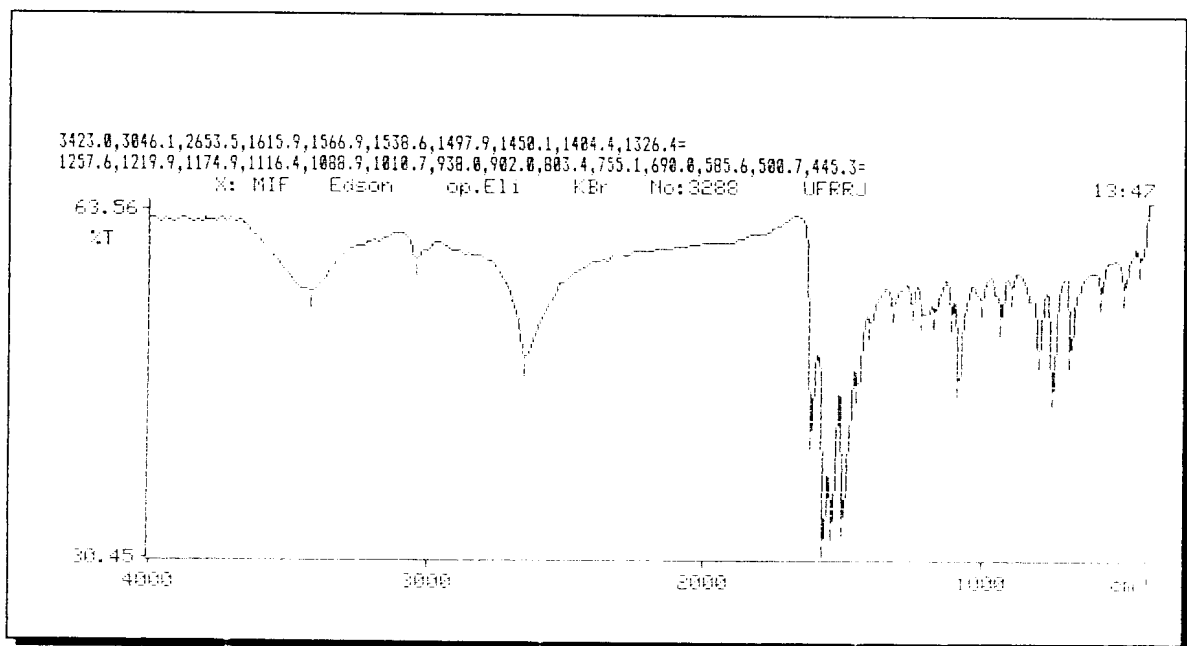


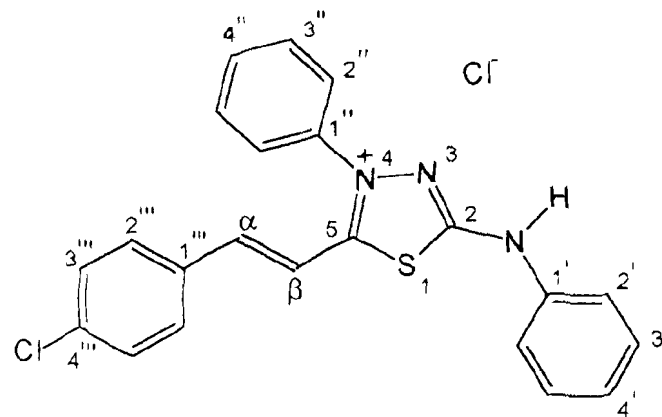
FIGURA 27: Espectro de IV para MIF

Tabela 14: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIF (75 MHz, DMSO- d_6).

δ (ppm)	C
159,13	2
146,2	α
136,97	1'
136,28	4'''
132,76	4''
131,62	1'''
130,69	3' e 5'
130,1	3'' e 5''
129,45	3''' e 5'''
129,21	2''' e 6'''
126,08	2'' e 6''
124,03	4'
118,67	2'
112,24	β
n.o	5 e 1''

Tabela 15: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIF (300 MHz, DMSO- d_6).

δ (ppm)	H	J (Hz)	$^1\text{H}\times^1\text{H}$ -COSY
12,61 (s)	NH	---	---
8,11 (d)	α	16,5	β
7,91	3''' e 5'''	8,7	2''' e 6'''
7,65	2''' e 6'''	8,7	---
7,22 (d)	β	16,2	---



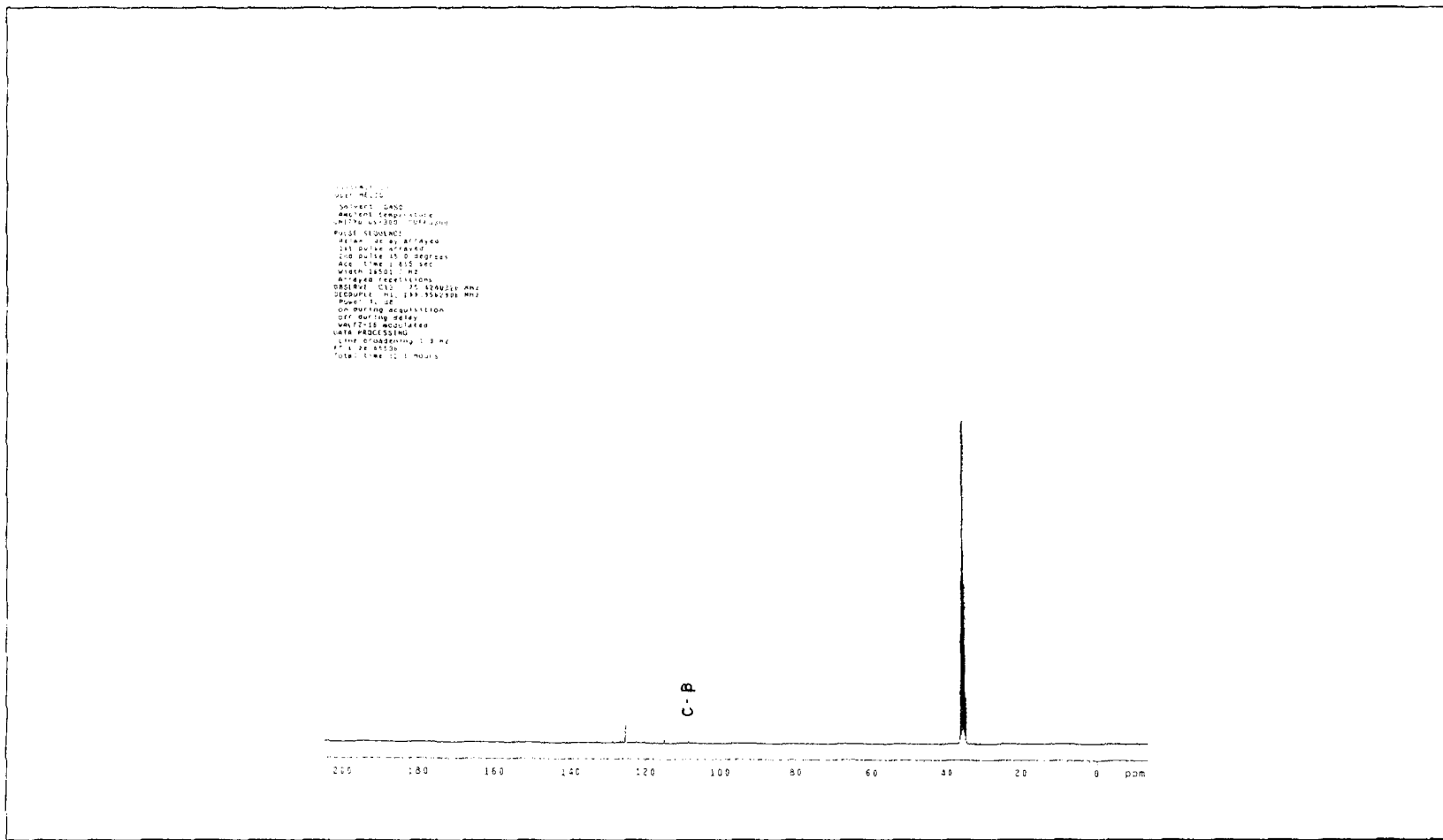


FIGURA 28: Espectro de RMN ^{13}C -PND (75 MHz, DMSO-d_6) de MIF

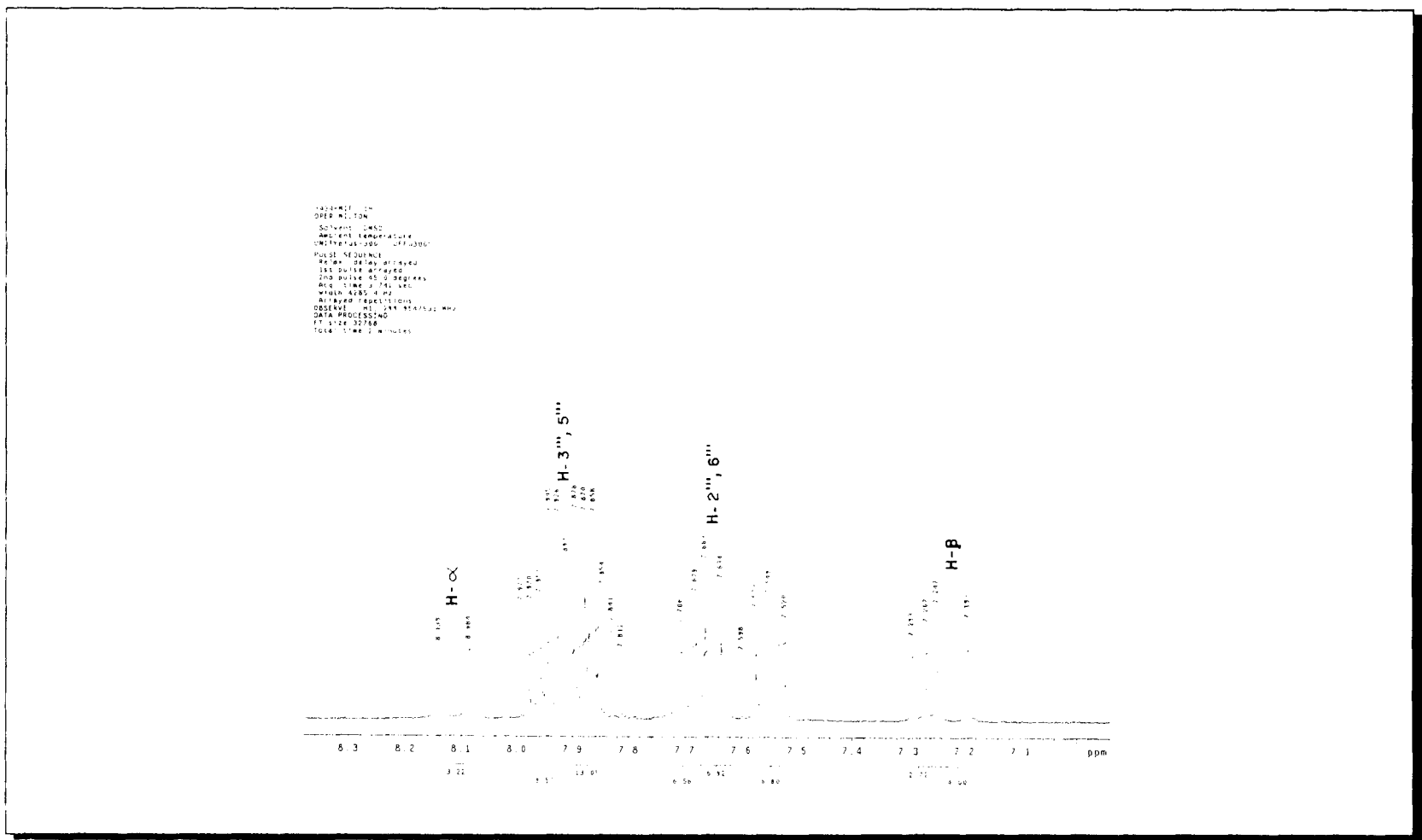


FIGURA 31: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) expandido de MIF

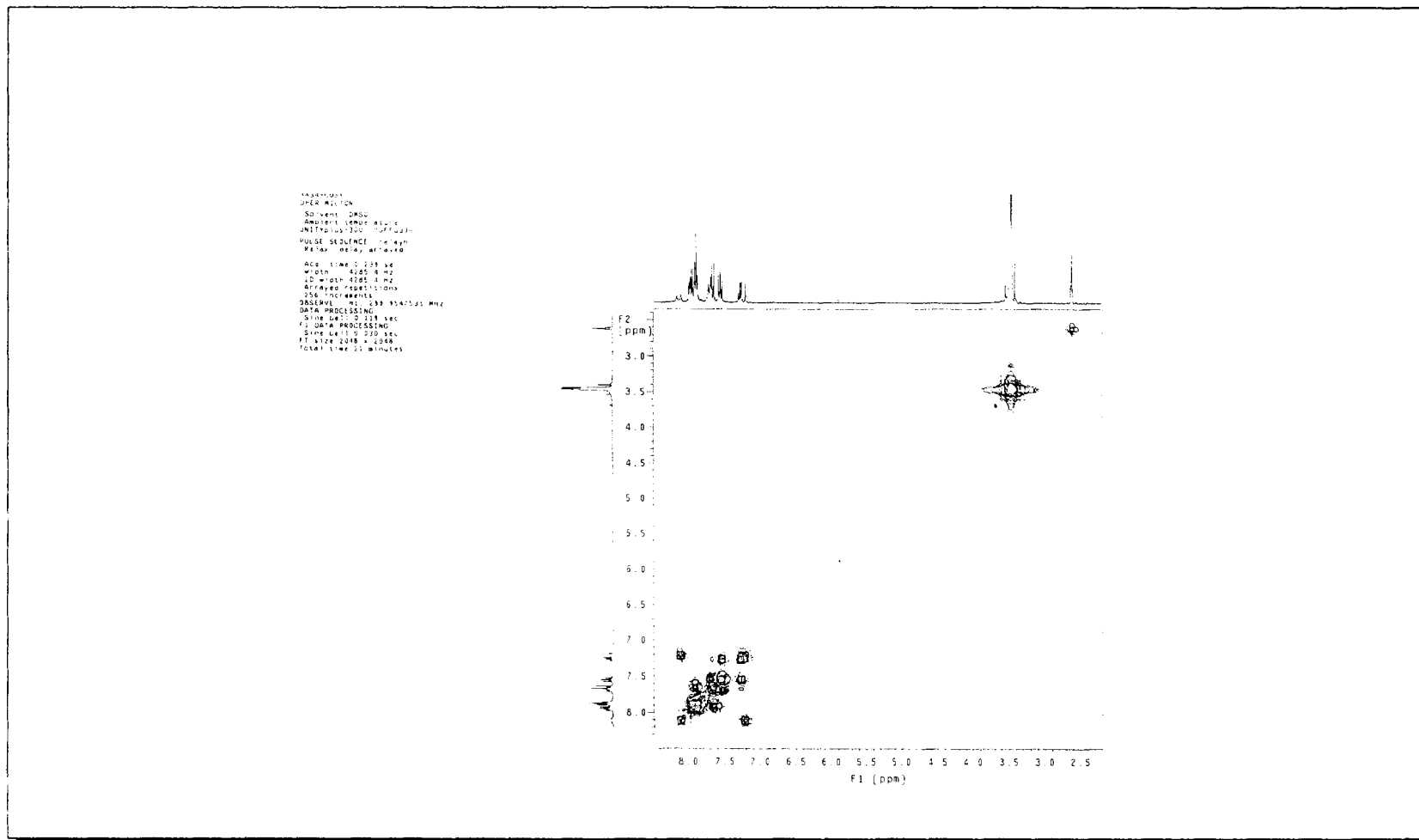


FIGURA 32: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (300 MHz, DMSO- d_6) de MIF

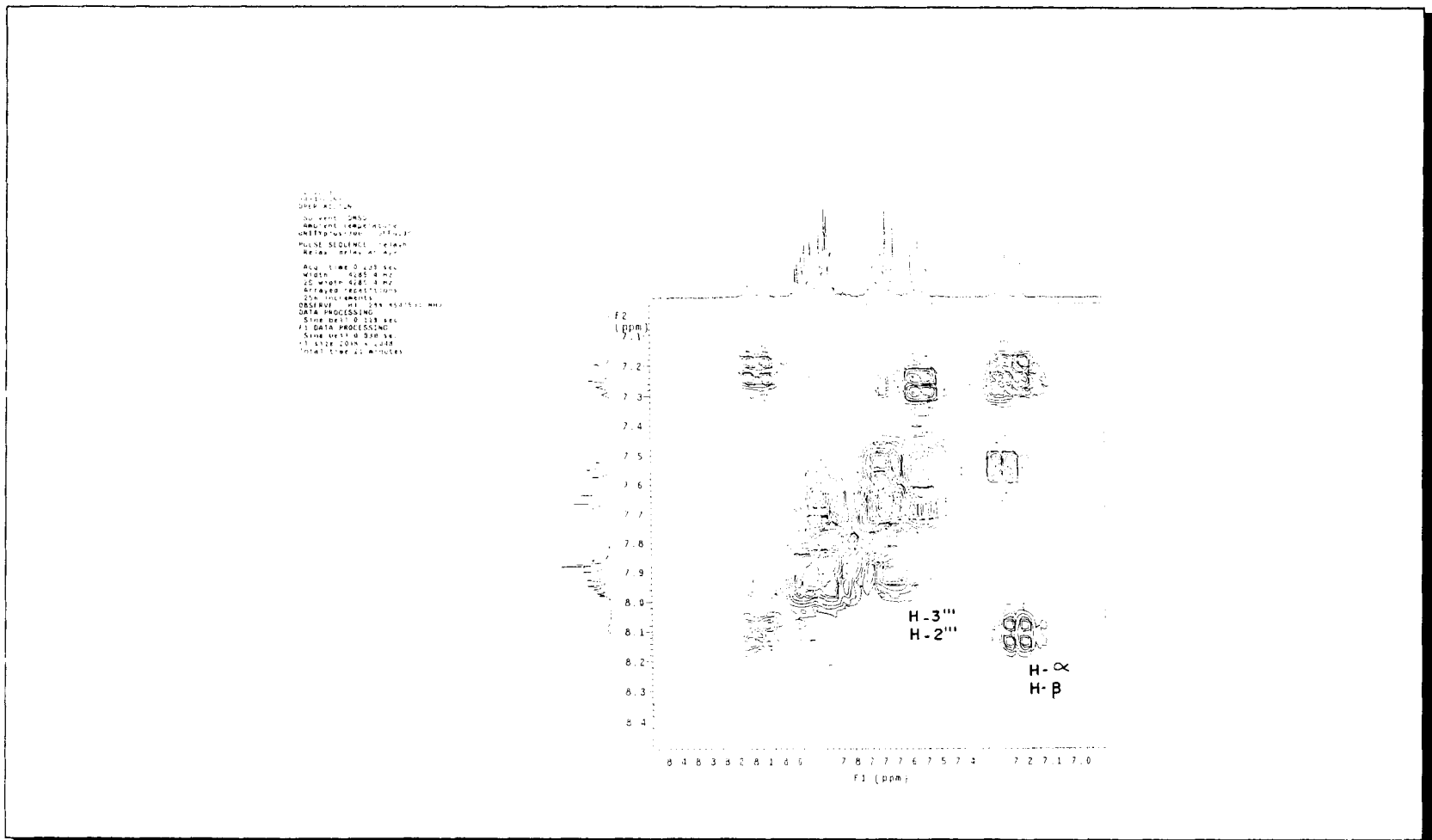


FIGURA 33: Espectro de RMN-2D ¹H X ¹H HOMOCOSY (300 MHz, DMSO-d₆) expandido de MIF

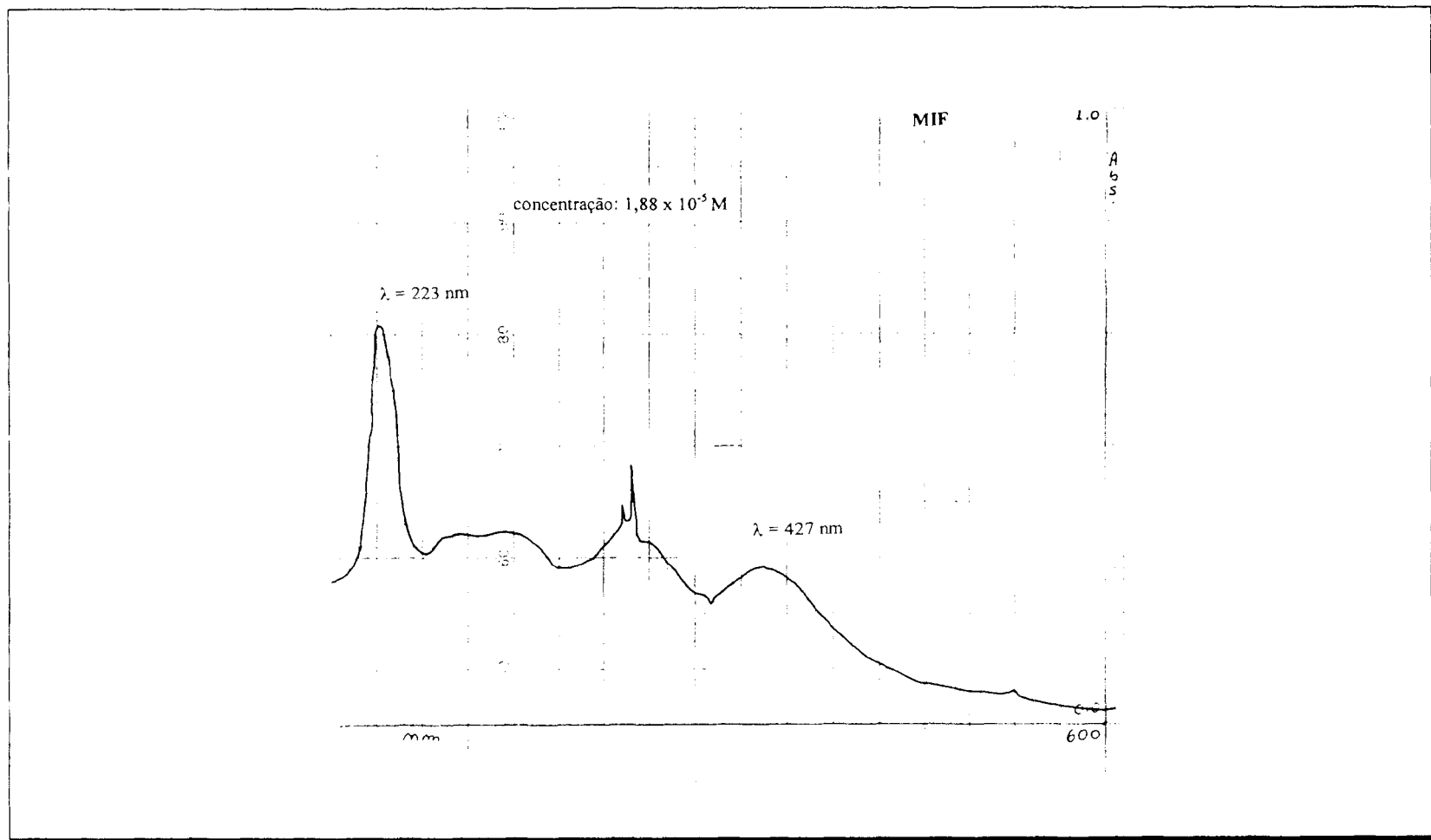


FIGURA 34: Espectro de UV/Vis de MIF em acetonitrila

MIG - Cloreto de 4-fenil-5-(4-cianocinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3404 (ν N-H); 2932 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2224 (ν C \equiv N); 1623 (ν C=C vinílico); 1564 (ν C=N); 1537, 1502 e 1420 (ν C=C aromático); 1310 (ν C-S); 980 (δ =C-H vinílico); 829 (δ $_{\text{Ar}}$ C-H no plano-2H viz.); 760 e 689 (δ $_{\text{Ar}}$ C-H no plano-5H viz.).

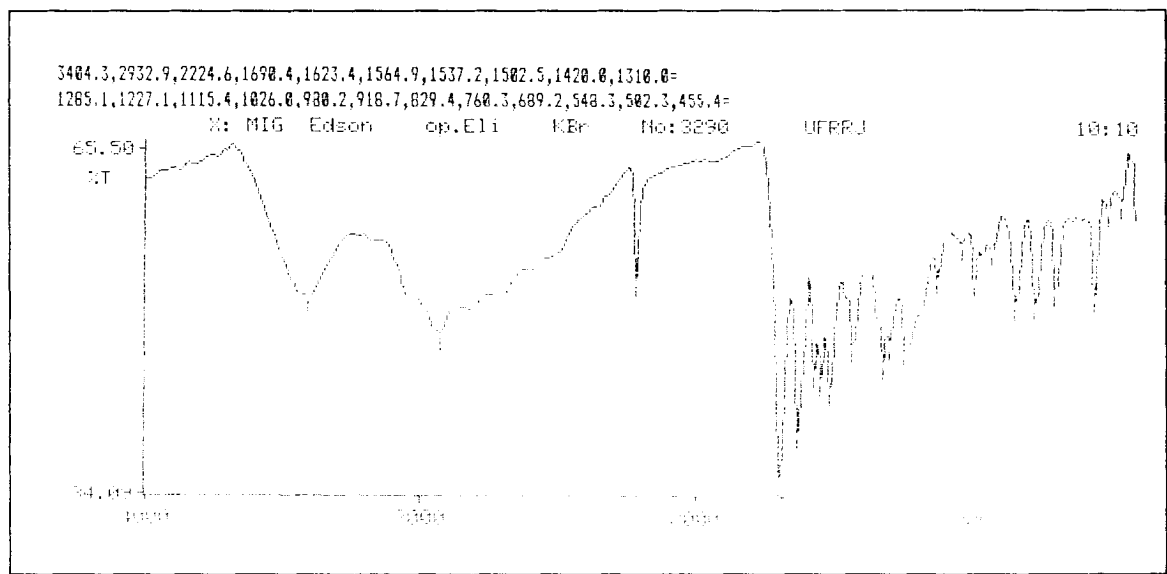
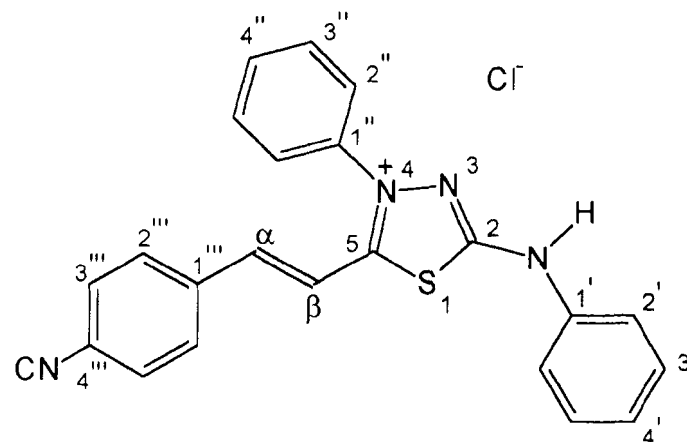


FIGURA 35: Espectro de IV para MIG

Tabela 16: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIG (50 MHz; CDCl_3 e CD_3OD).

δ (ppm)	C
161,00	5
145,38	α
137,34	1''
137,00	1'
132,94	3''' e 5'''
131,54	4''
129,61	3'' e 5''
128,69	2''' e 6'''
128,51	3' e 5'
124,92	2'' e 6''
124,36	4'
118,42	2' e 6'
117,3	CN
113,16	β
n.o	2, 1''' e 4'''



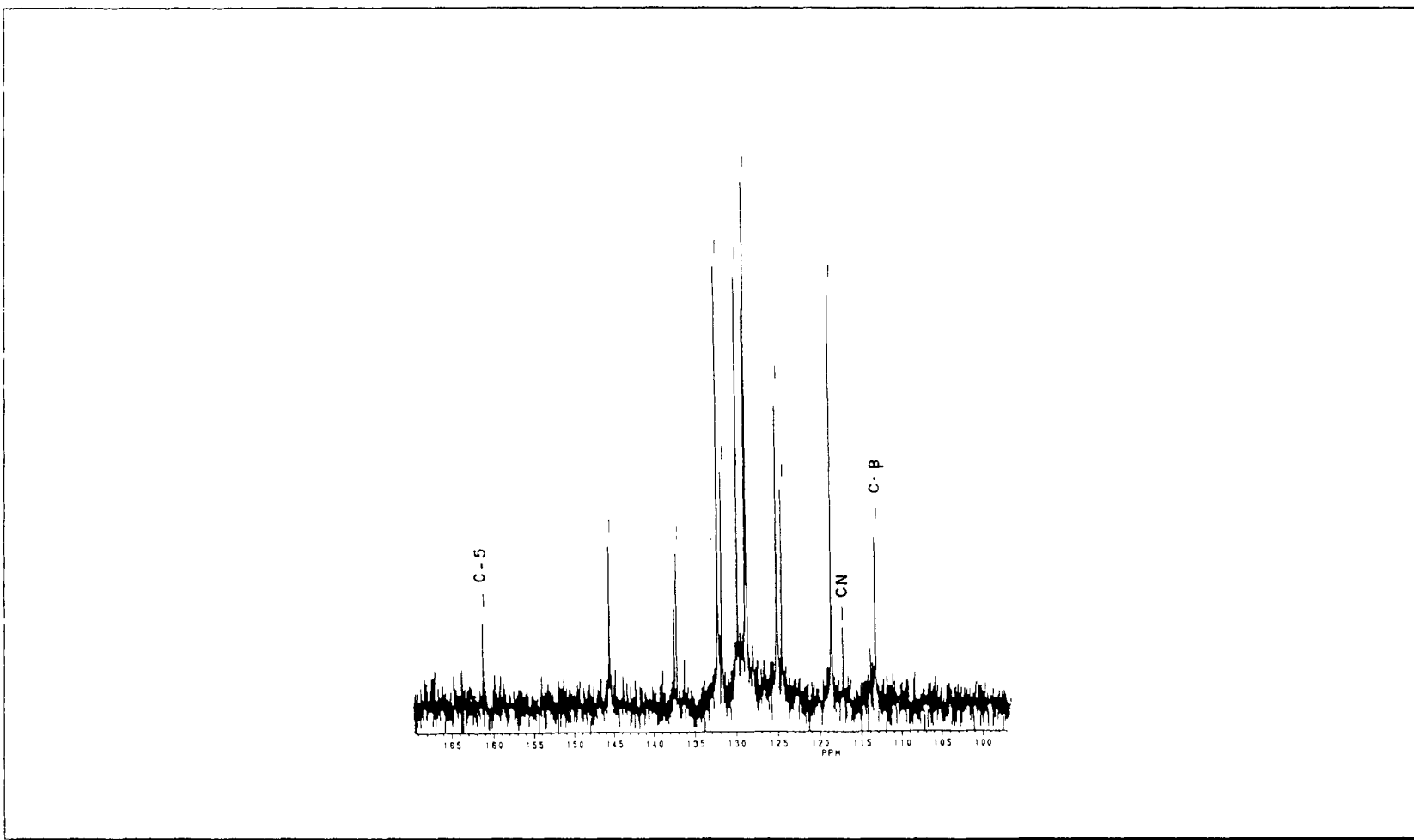


FIGURA 36: Espectro de RMN ^{13}C -PND (50 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) de MIG

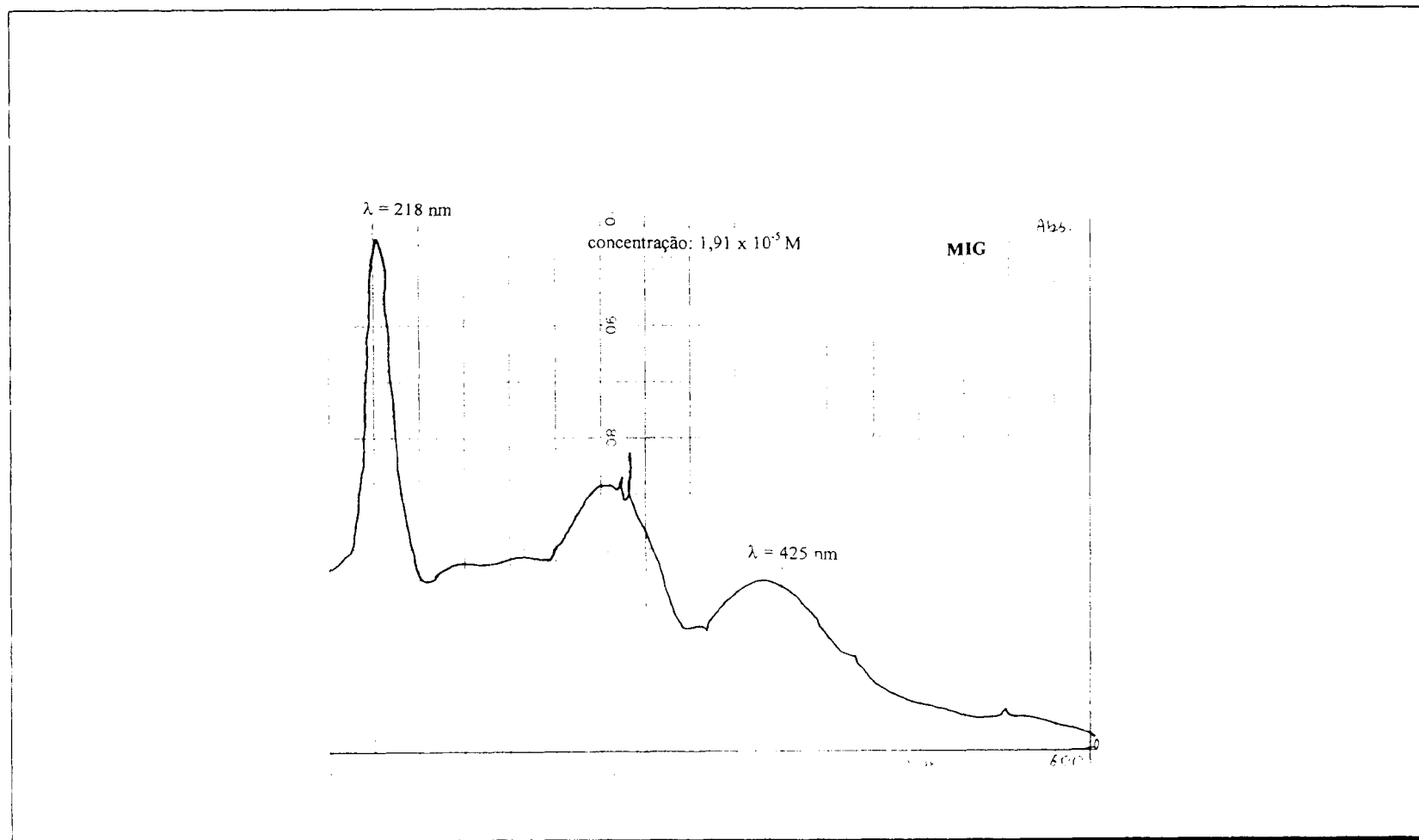


FIGURA 37: Espectro de UV/Vis de MIG em acetona

**MIH - Cloreto de 4-fenil-5-(4-nitrocinaoíl)-1,3,4-tiadiazólio-2-
(4-metoxifenilamina)**

Infra Vermelho (KBr; ν cm^{-1})

3417 (ν N-H); 3043 (ν C-H aromático e/ou ν C-H vinílico); 2925 (ν C-H alifático); 2717 (ν C=NH-); 1621 (ν C=C vinílico); 1576 (ν C=N); 1513 (ν C-NO₂ e/ou C=C aromático); 1340 (ν simétrico N=O e ν C-S); 1243 (ν ArC-O); 1112 (ν O-CH₃); 1035 (confirmação Ar-O-R); 829 (δ ArC-H no plano 2H viz.); 772 e 694 (δ ArC-H no plano 5H viz.).

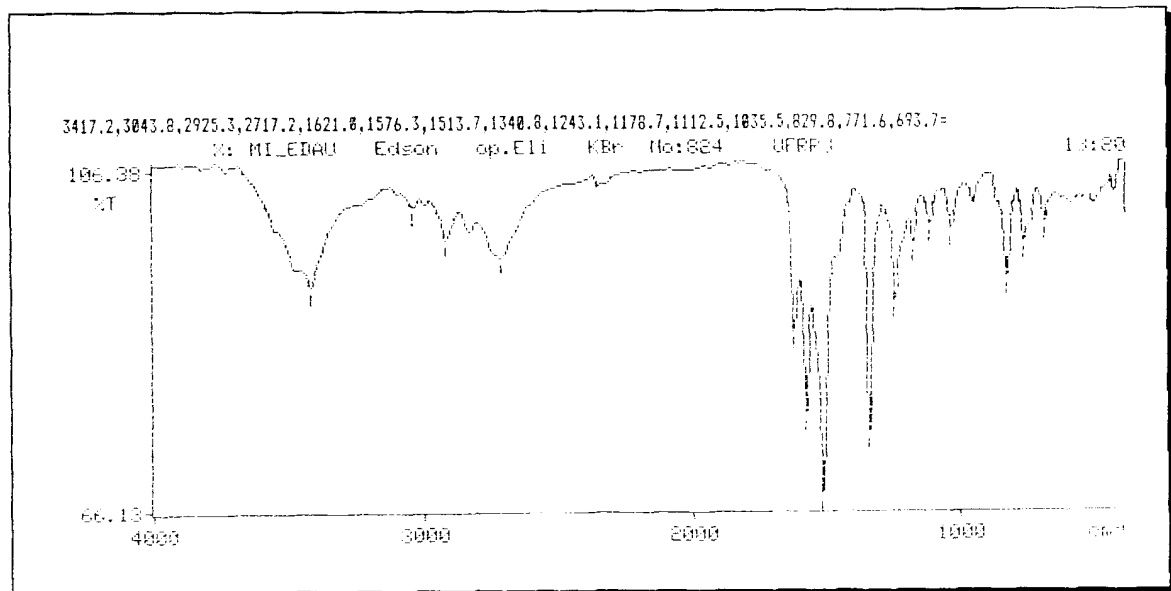


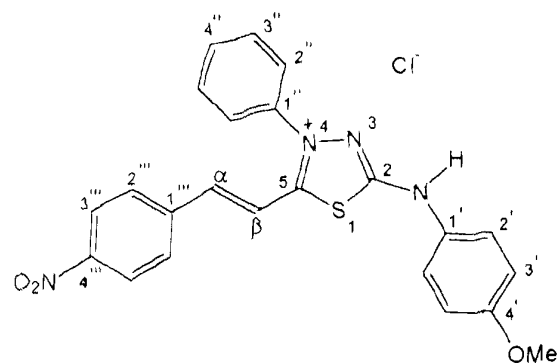
FIGURA 38: Espectro de IV para MIH

Tabela 17: Dados de RMN ^{13}C para o ácido conjugado do composto mesoiônico MIH (50 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	C
161,40	5
159,99	2
156,11	4'
148,50	4'''
144,20	1'''
140,02	α
138,96	1''
137,03	1'
131,73	4''
129,85	3'' e 5''
128,73	2''' e 6'''
125,89	2'' e 6''
124,03	3''' e 5'''
120,54	2' e 6'
115,53	β
114,69	3' e 5'
55,30	MeO

Tabela 18: Dados de RMN ^1H para o ácido conjugado do composto mesoiônico-MIH (200 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	H	J(Hz)	$^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$
12,62 (sl)	NH	---	---
8,26 (d)	3''' e 5'''	8,3	2''' e 6'''
8,11(d)	α	16,4	H- β
8,02 (d)	2''' e 6'''	8,4	
7,76-7,82 (m)	Ph	---	
7,53 (d)	3' e 5'	8,5	2' e 6'
7,26 (d)	β	16,2	---
7,00 (d)	2' e 6'	8,5	---
3,74 (s)	MeO	---	---



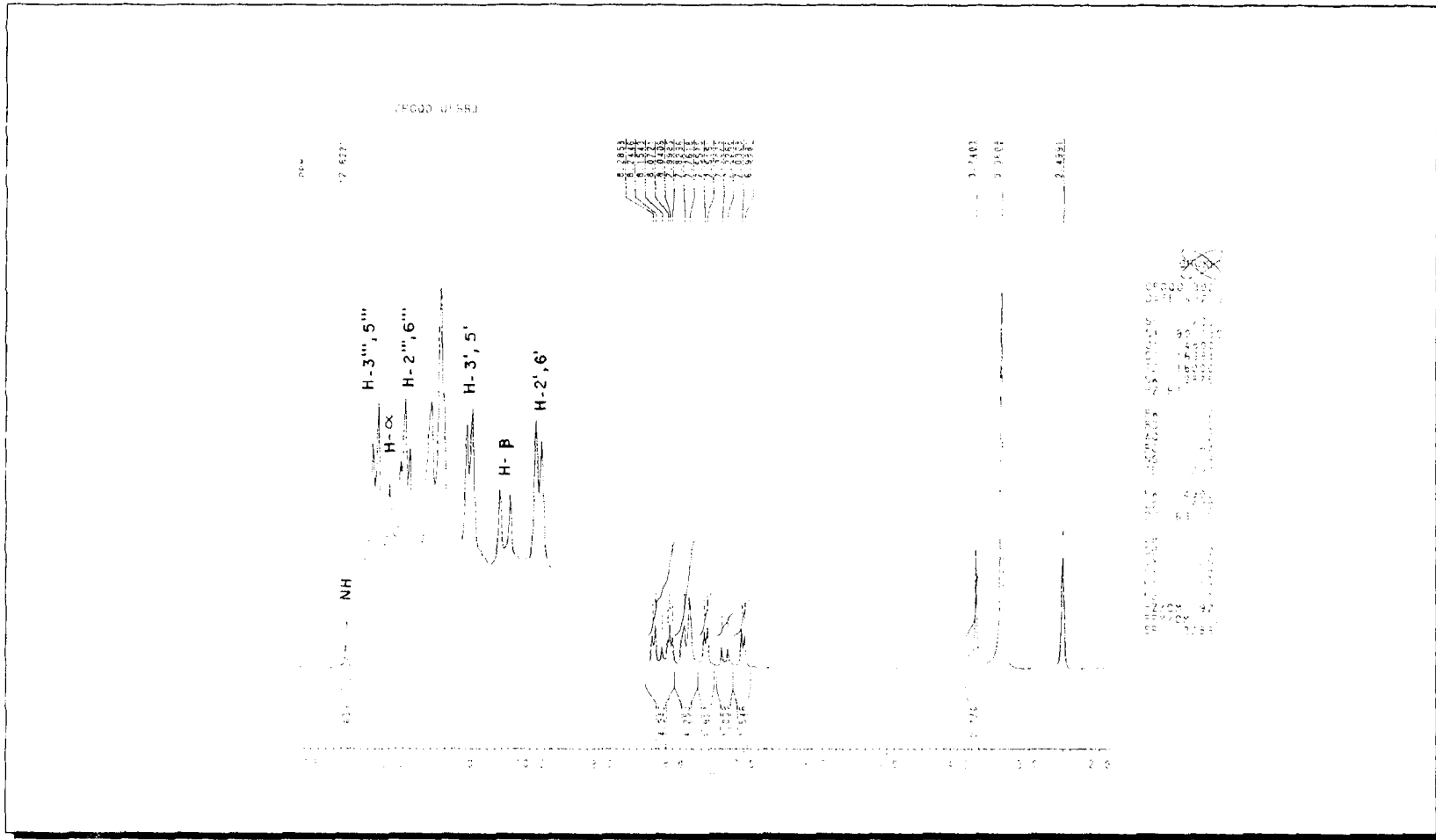


FIGURA 40: Espectro de RMN ¹H (200 MHz, DMSO-d₆) de MIH

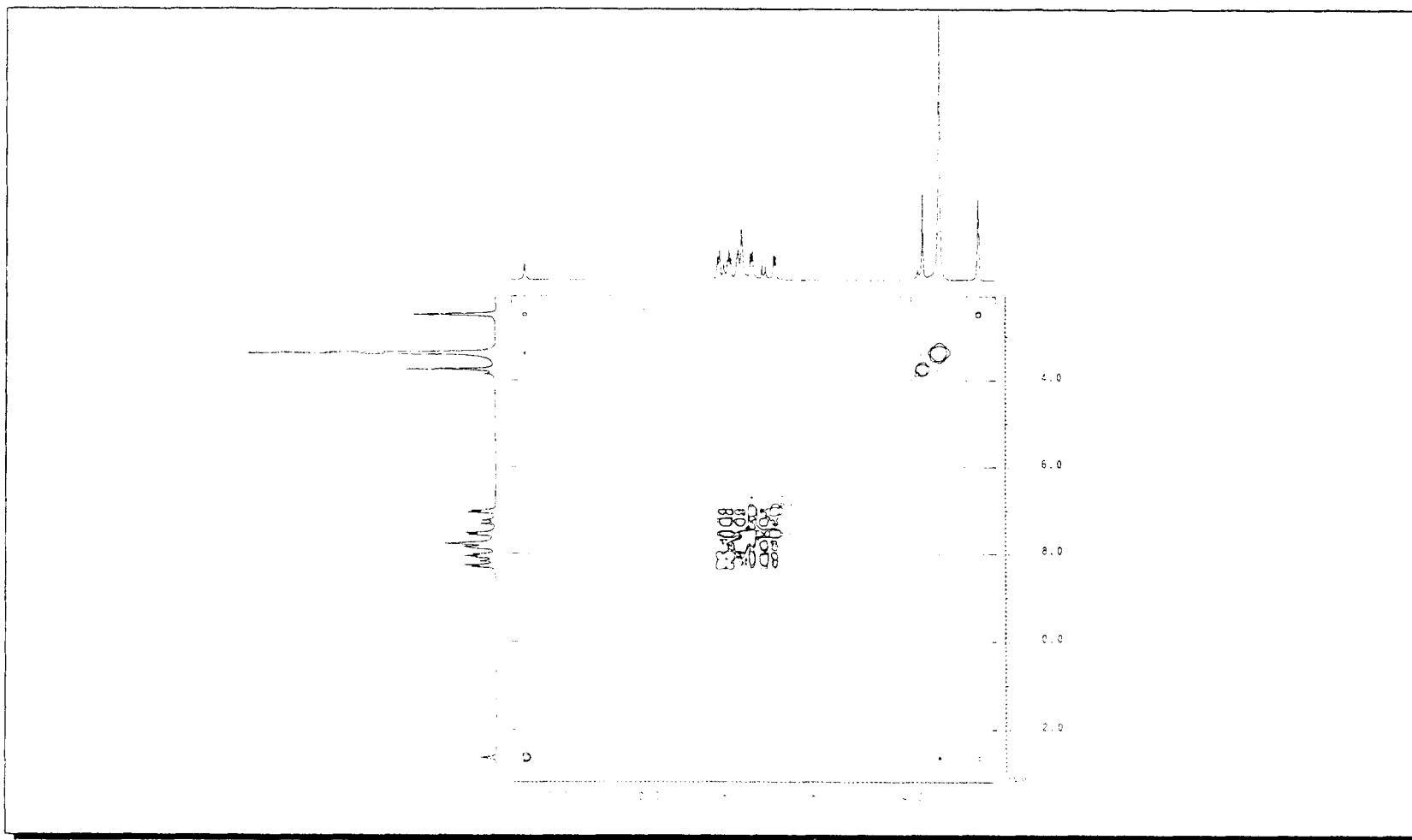


FIGURA 41: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (200 MHz, DMSO-d_6) de MIH

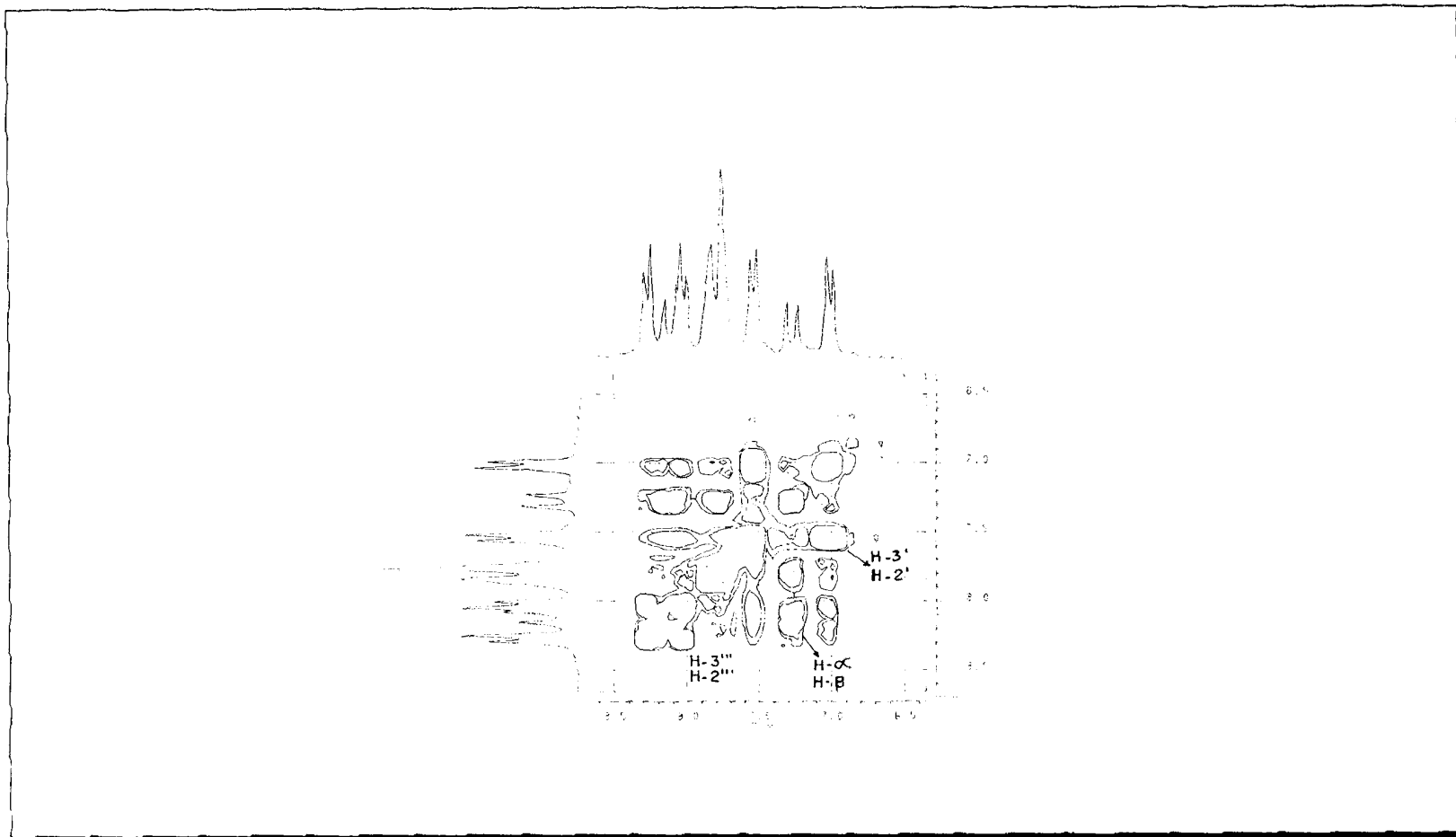
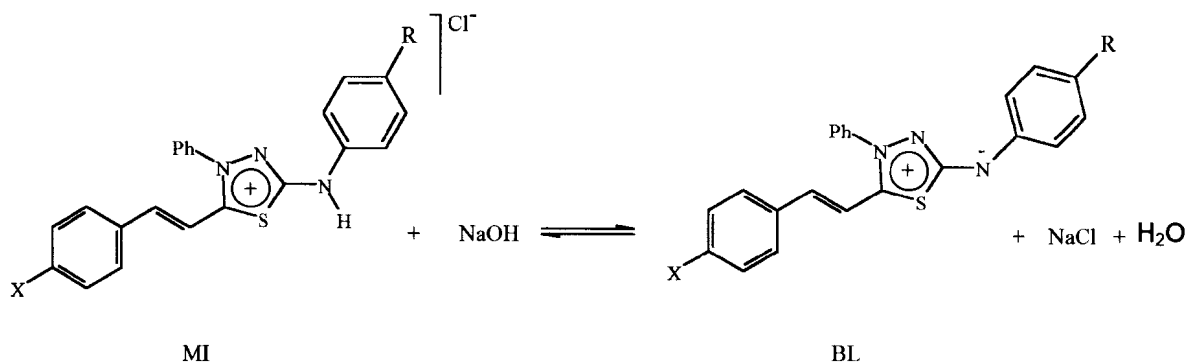


FIGURA 42: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (200 MHz, DMSO-d_6) expandido de MIH

3.2.5 Preparação dos Compostos Mesoiônicos (Bases Livres)



Os compostos mesoiônicos foram formados, através da adição de 2 eq. de NaOH aos respectivos cloretos de 4-fenil-5-[4-X-cinamoil]-1,3,4-tiadiazólio-2-[4-R-fenilamina].

Pesou-se 0,040 g de sal mesoiônico em Erlenmeyer e acrescentou-se 10 ml de metanol, fazendo com que todo sal se dissolvesse, logo após adicionou-se 30 ml de metanol-água (1:1). Com agitação magnética constante, fez-se a adição de NaOH (0,0227 N), por intermédio de uma bureta. Posteriormente a base livre formada foi filtrada por gravidade em funil simples e em seguida retirado o excesso de água em funil de Büchner, utilizando-se filtração à vácuo.

A base livre foi deixada por várias horas em pistola de Abderhalden, até a sua completa secagem, sendo obtida em rendimento quantitativo e alto grau de pureza.

Tabela 19: Pontos de fusão dos compostos mesoiônicos obtidos.

Compostos Mesoiónicos	X	R	Pontos de Fusão (°C)
BLA	H	H	94-95
BLC	OMe	H	151-152
BLD	NO ₂	H	162-163
BLH	NO ₂	MeO	112-113

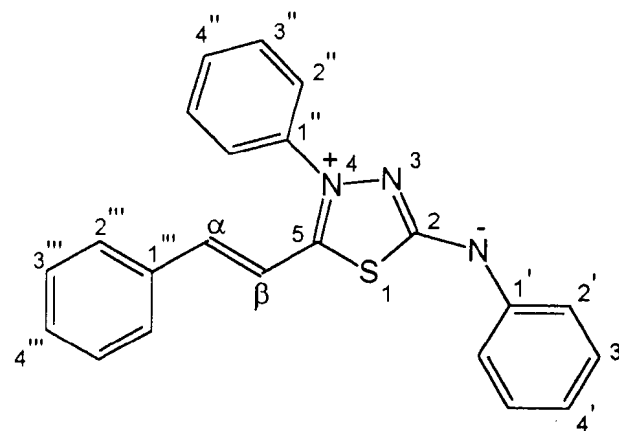
3.2.5.1 Dados Espectrométricos para os compostos Mesoiónicos.

Tabela 20: Dados de RMN ^{13}C para o composto mesoiônicoBLA (50 MHz; CD_3COCD_3).

δ (ppm)	C
160,39	5
142,69	2
140,87	α
139,08	1''
135,87	1'
131,50	4'''
130,33	4'', 2''' e 6'''
129,77	3''' e 5'''
128,81	3'' e 5''
126,45	3' e 5'
123,07	2'' e 6''
121,92	4'
113,67	2' e 6'
108,30	β
n.o	1'''

Tabela 21: Dados de RMN ^1H para o composto mesoiônicoBLA (200 MHz; CD_3COCD_3).

δ (ppm)	H	J (Hz)
8,02-6,99 (m)	Ar. e olefina	---



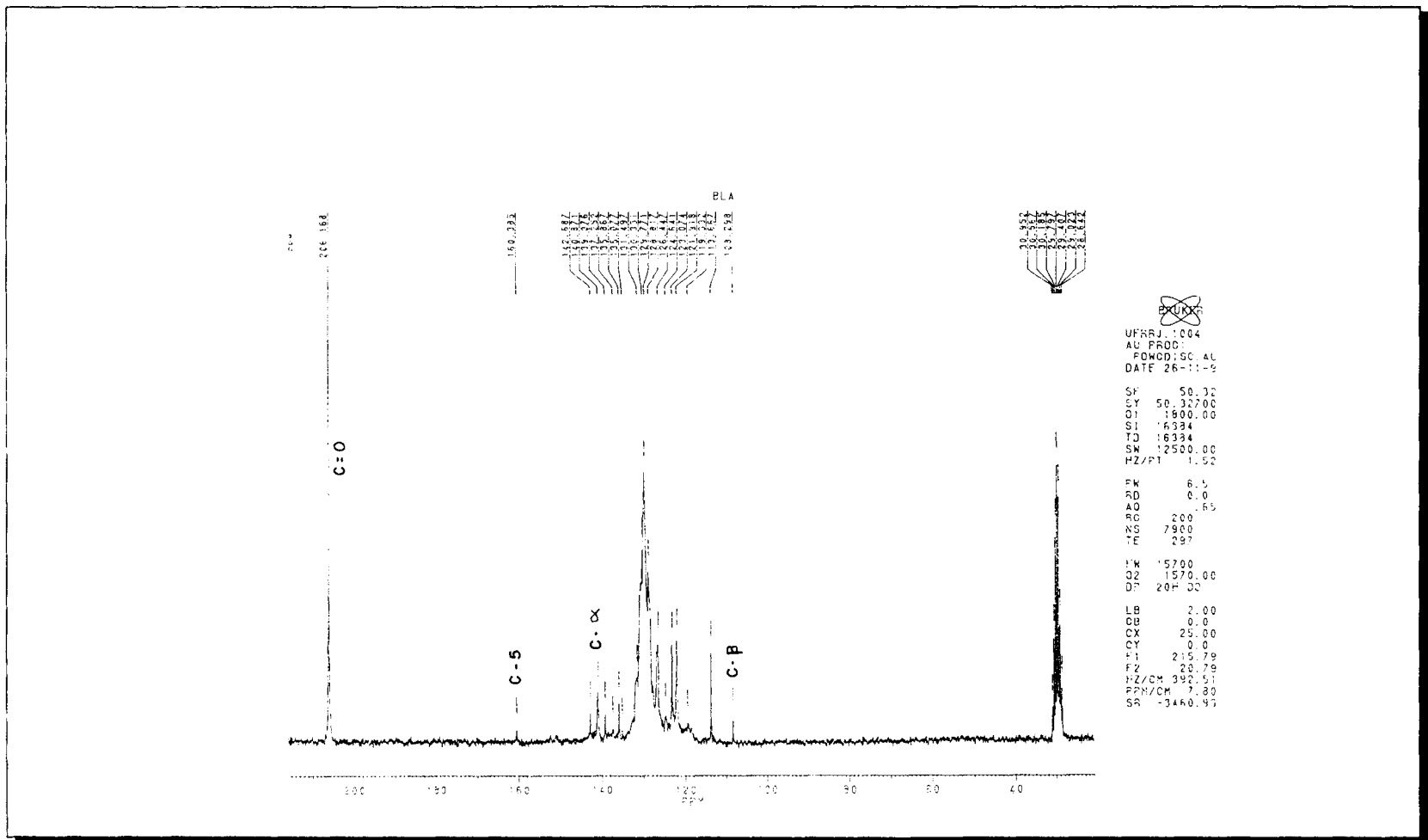


FIGURA 43: Espectro de RMN ^{13}C -PND (50 MHz, CD_3COCD_3) de BLA

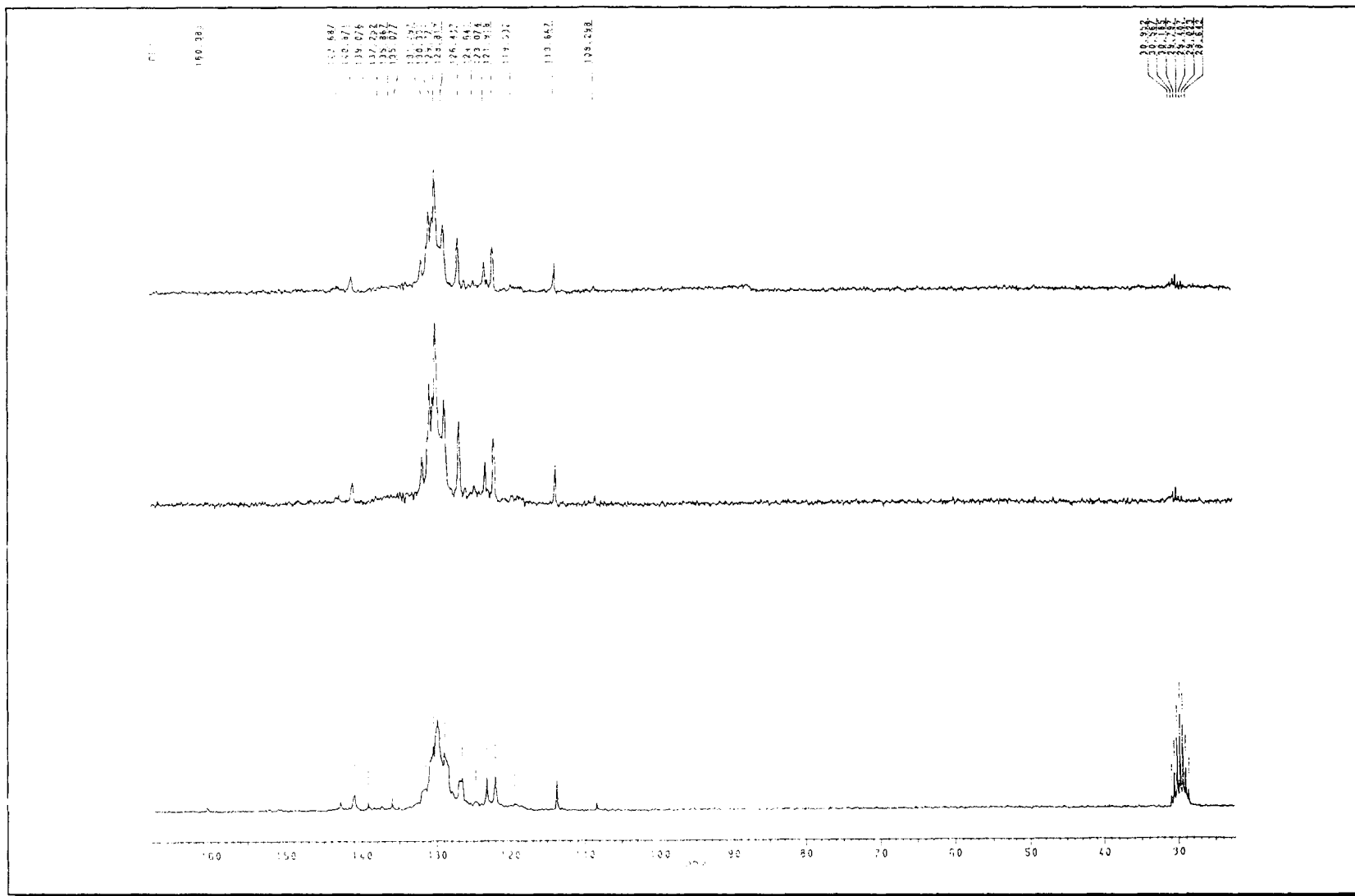


FIGURA 44: Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT [$\theta=135^\circ$ e $\theta=90^\circ$] (50 MHz, CD_3COCD_3) de BLA

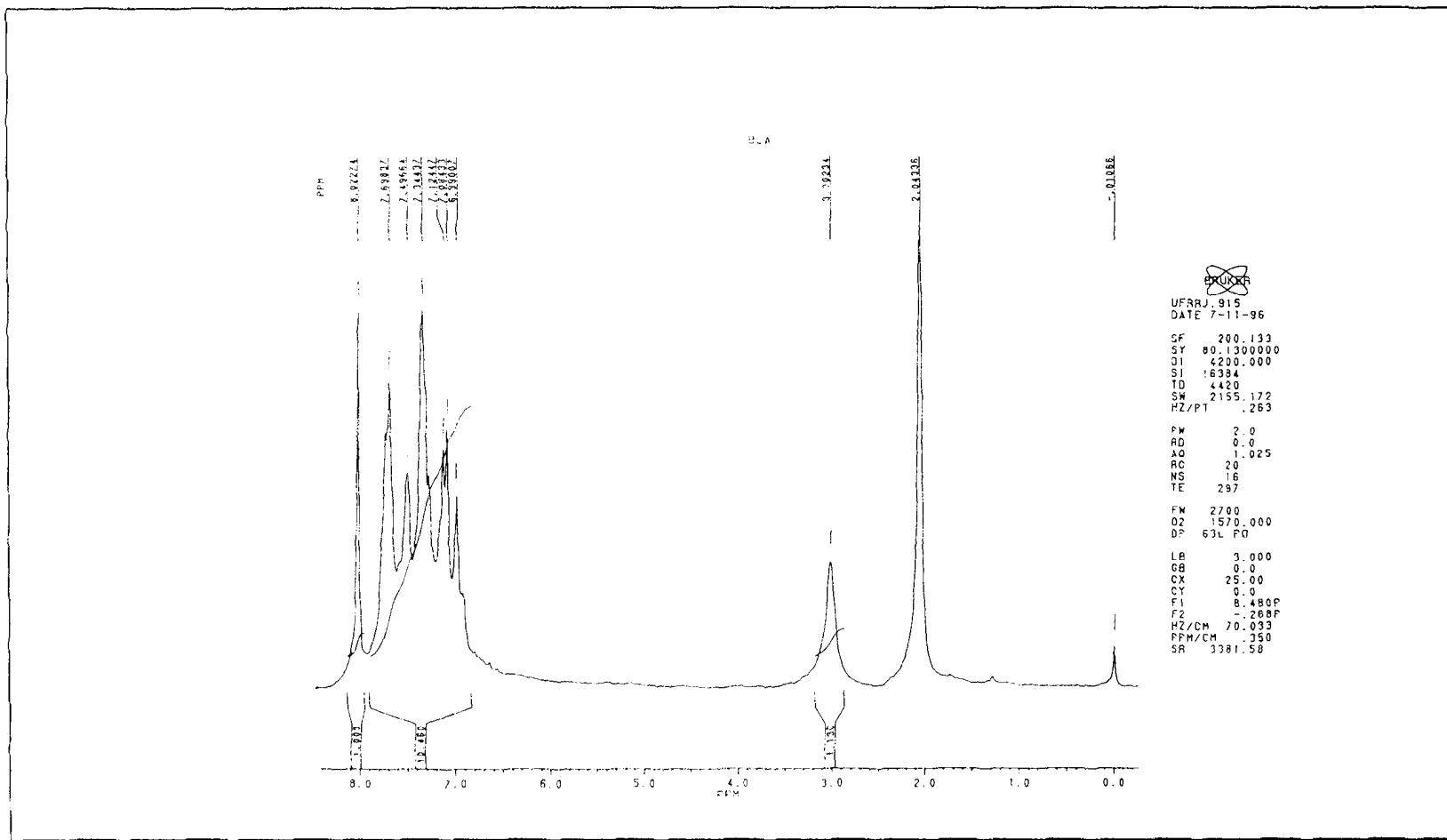


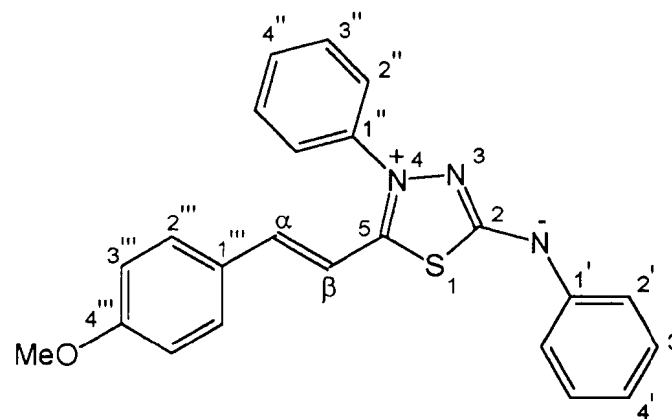
FIGURA 45: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3COCD_3) de BLA

Tabela 22: Dados de RMN ^{13}C para o composto mesoiônico BLC (50 MHz; CD_3COCD_3 e CD_3OD).

δ (ppm)	C
162,70	4''''
152,50	2
141,92	α
139,08	1''
132,06	4''
130,74	3'' e 5''
130,42	3' e 5'
128,43	1'
126,97	1''''
126,43	2'' e 6''
123,32	4'
122,43	2' e 6'
115,33	3'''' e 5''''
110,99	β
55,64	MeO
n. o	5, 2'''' e 6''''

Tabela 23: Dados de RMN ^1H para o composto mesoiônico BLC (200 MHz; CD_3COCD_3).

δ (ppm)	H	J (Hz)
8,01 (d)	2'''' e 6''''	8,0
7,45 (d)	3'''' e 5''''	8,0
7,28-6,83 (m)	Ar. e olefina	---
3,79 (s)	MeO	---



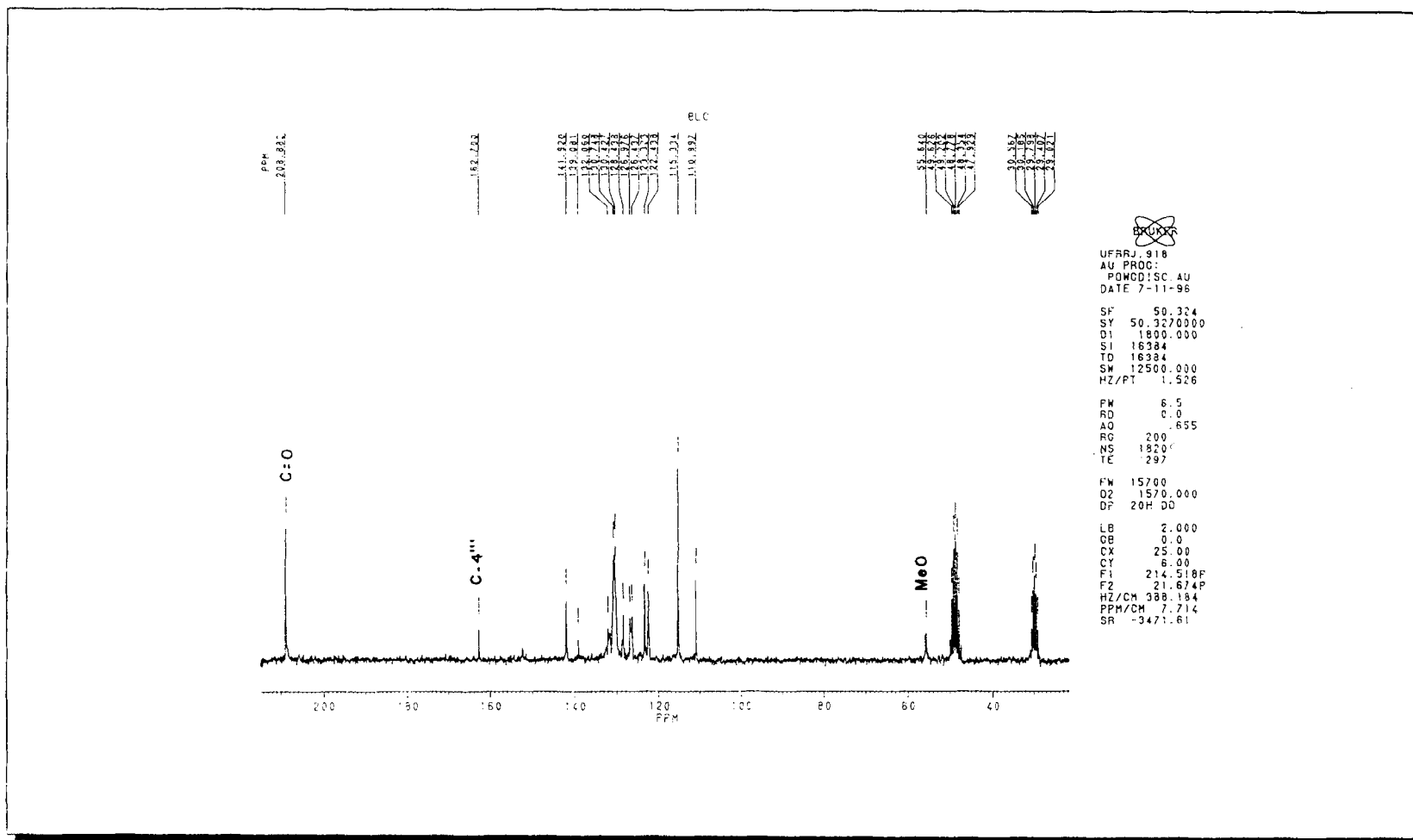


FIGURA 46: Espectro de RMN ^{13}C -PND (50 MHz, CD_3COCD_3 e CD_3OD) de BLC

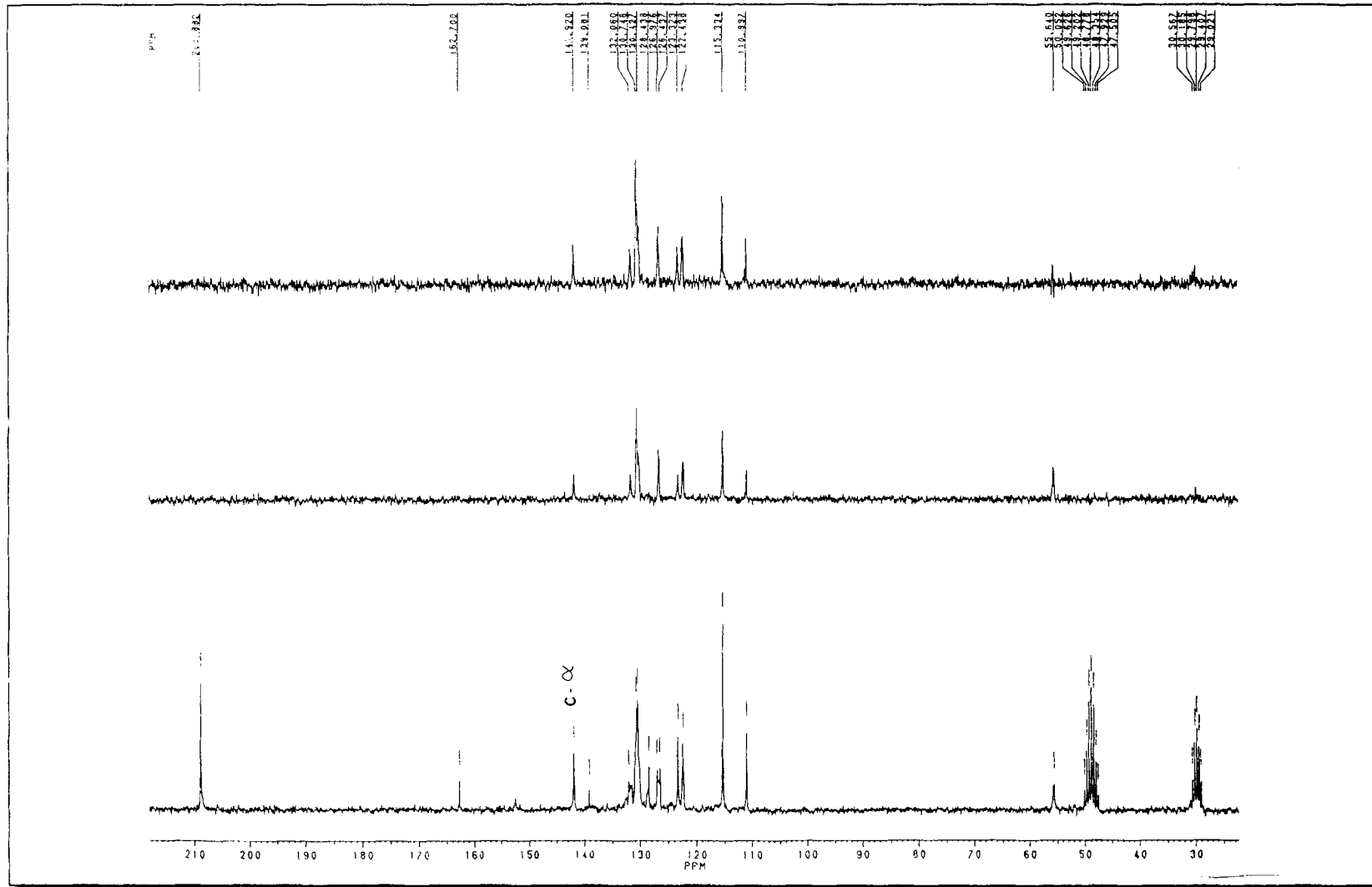


FIGURA 47: Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT [$\theta=135^\circ$ e $\theta=90^\circ$] (50 MHz, CD_3COCD_3 e CD_3OD) de BLC

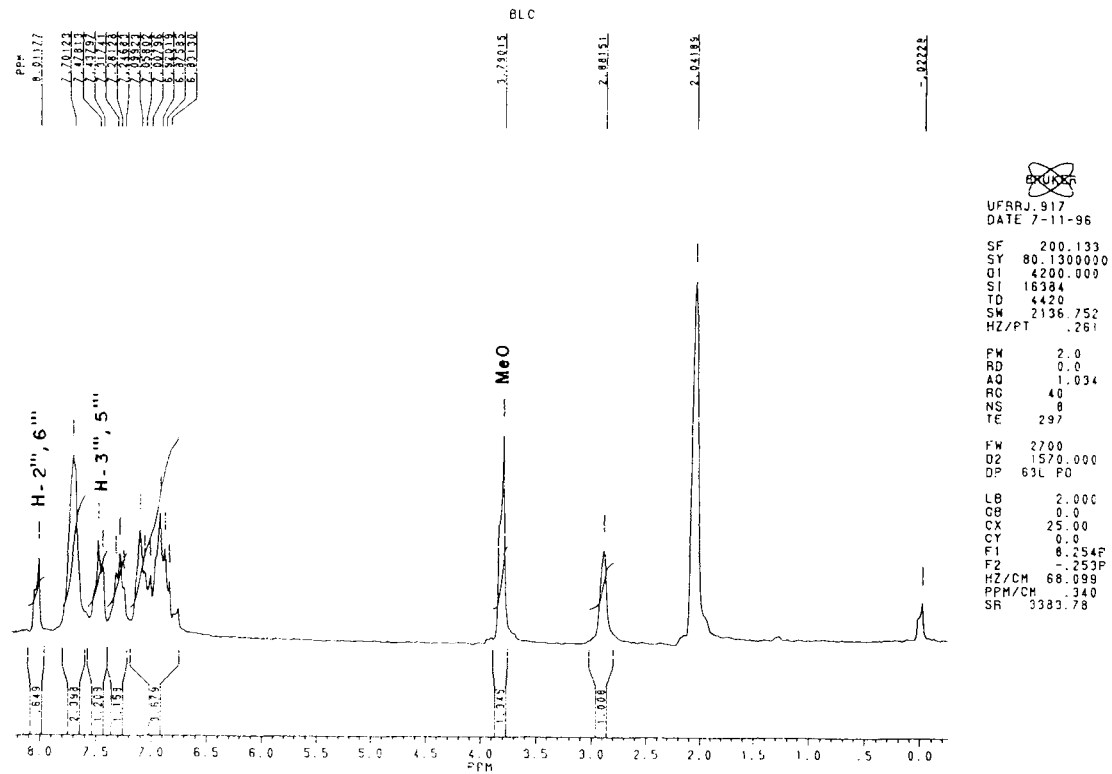


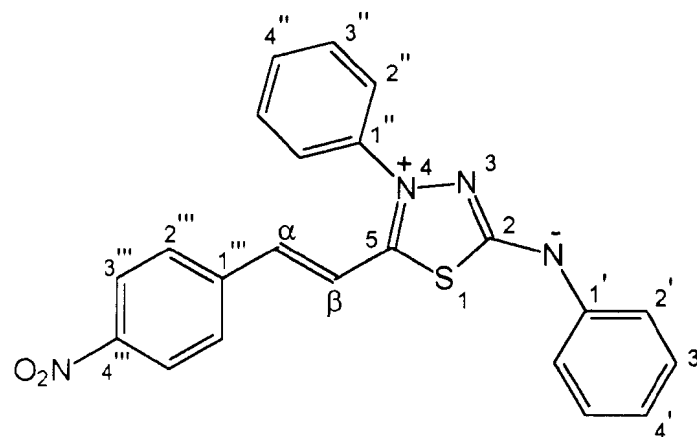
FIGURA 48: Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CD₃COCD₃) de BLC

Tabela 24: Dados de RMN ^{13}C para o composto mesoiônico BLD (50 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	C
159,21	5
152,48	2
147,31	4''''
141,38	α
137,80	1''''
136,30	1''
131,13	1'
129,80	4''
129,73	3'' e 5''
128,64	3' e 5'
128,40	2'''' e 6''''
125,85	2'' e 6''
124,32	3'''' e 5''''
122,48	4'
120,94	2' e 6'
116,57	β

Tabela 25: Dados de RMN ^1H para o composto mesoiônico BLD (200 MHz; DMSO- d_6)

δ (ppm)	H	J (Hz)
8,15 (d)	3'''' e 5''''	8,3
7,73 (d)	α	14,9
7,27 (d)	β	14,8
7,05-6,94 (m)	Aromático	---



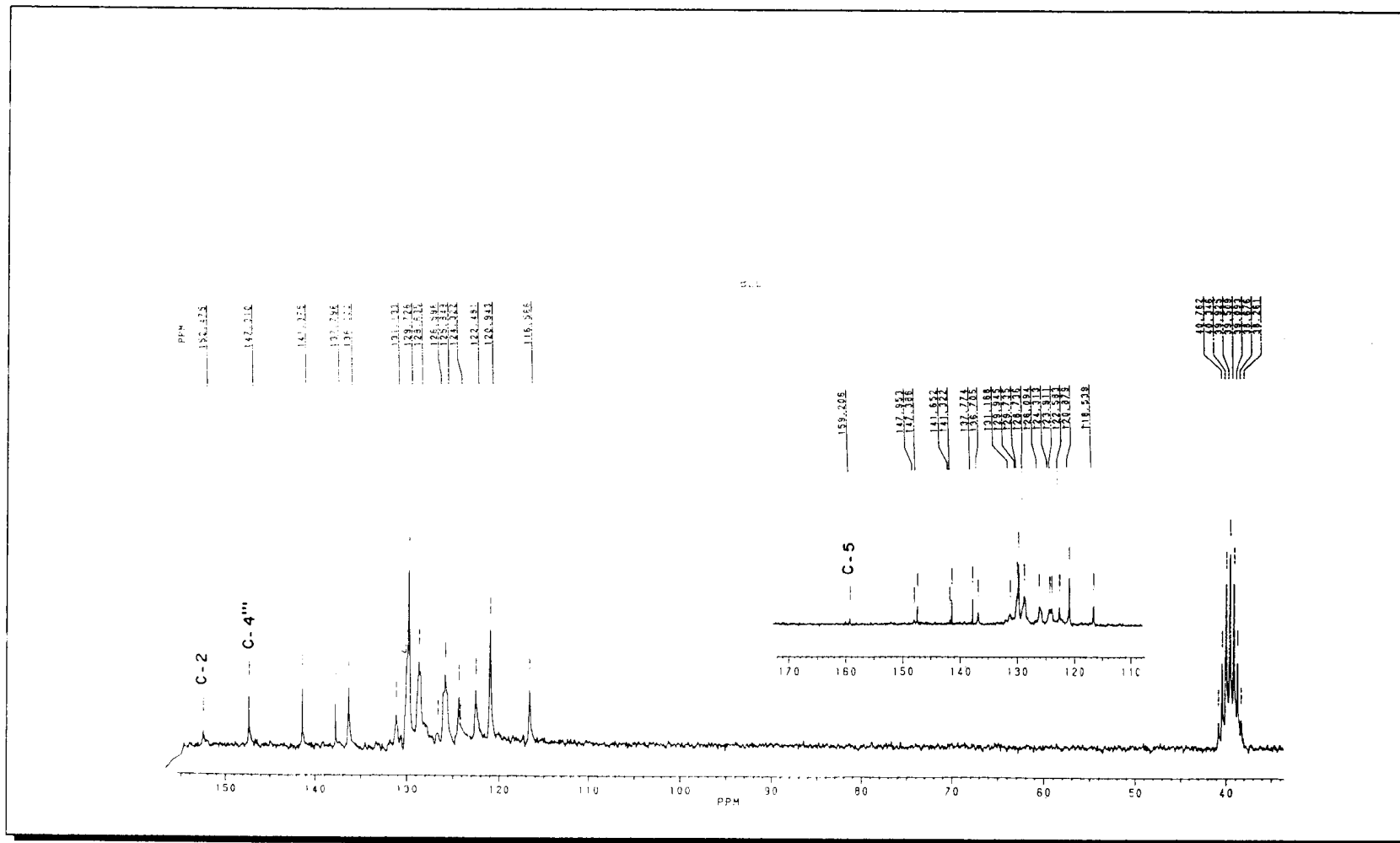


FIGURA 49: Espectro de RMN ^{13}C -PND (50 MHz, DMSO-d_6) de BLD

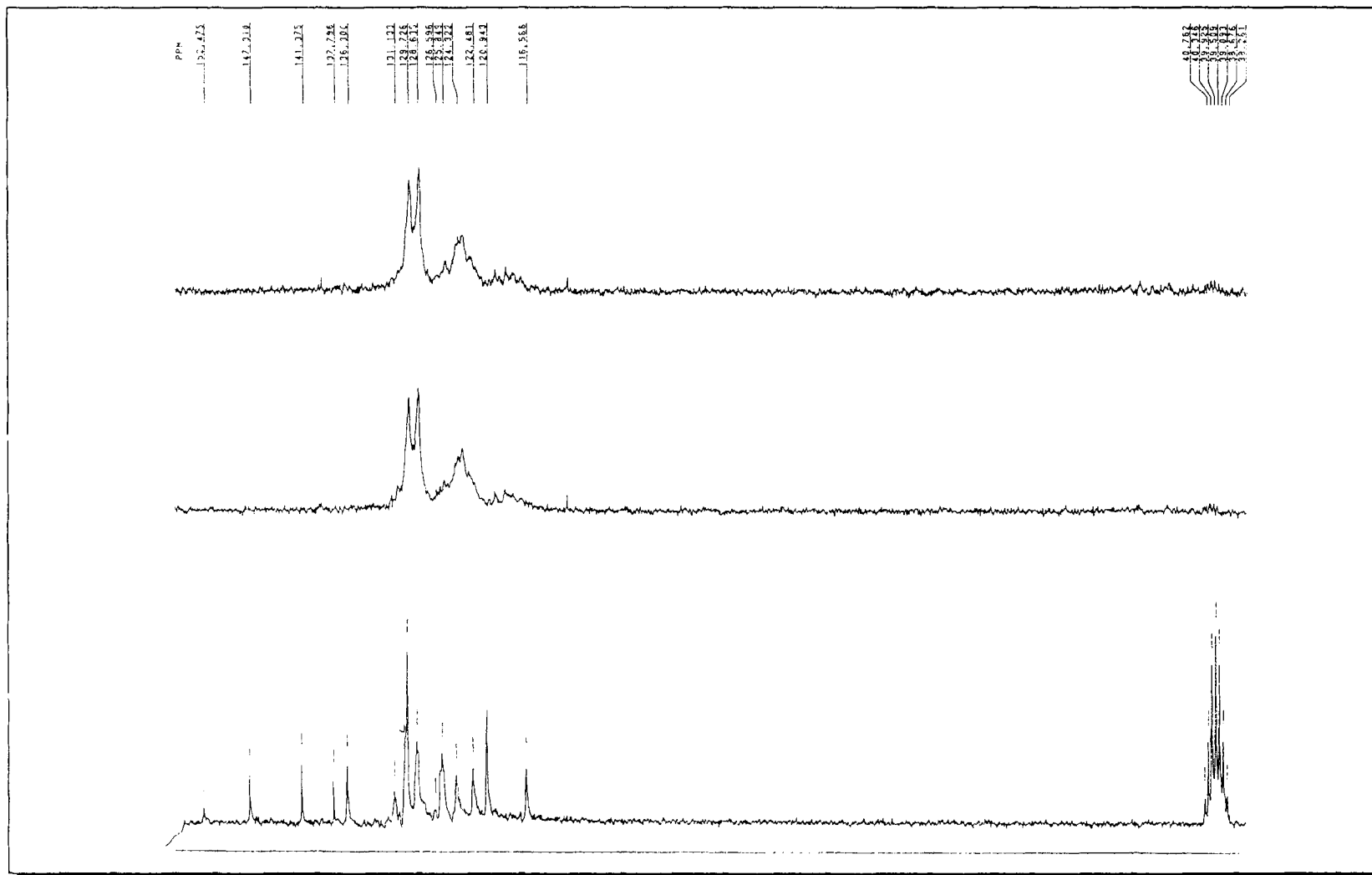


FIGURA 50: Espectro de RMN ^{13}C -PND e RMN ^{13}C -DEPT[$\theta=135^\circ$ e $\theta=90^\circ$] (50 MHz, DMSO- d_6) de BLD

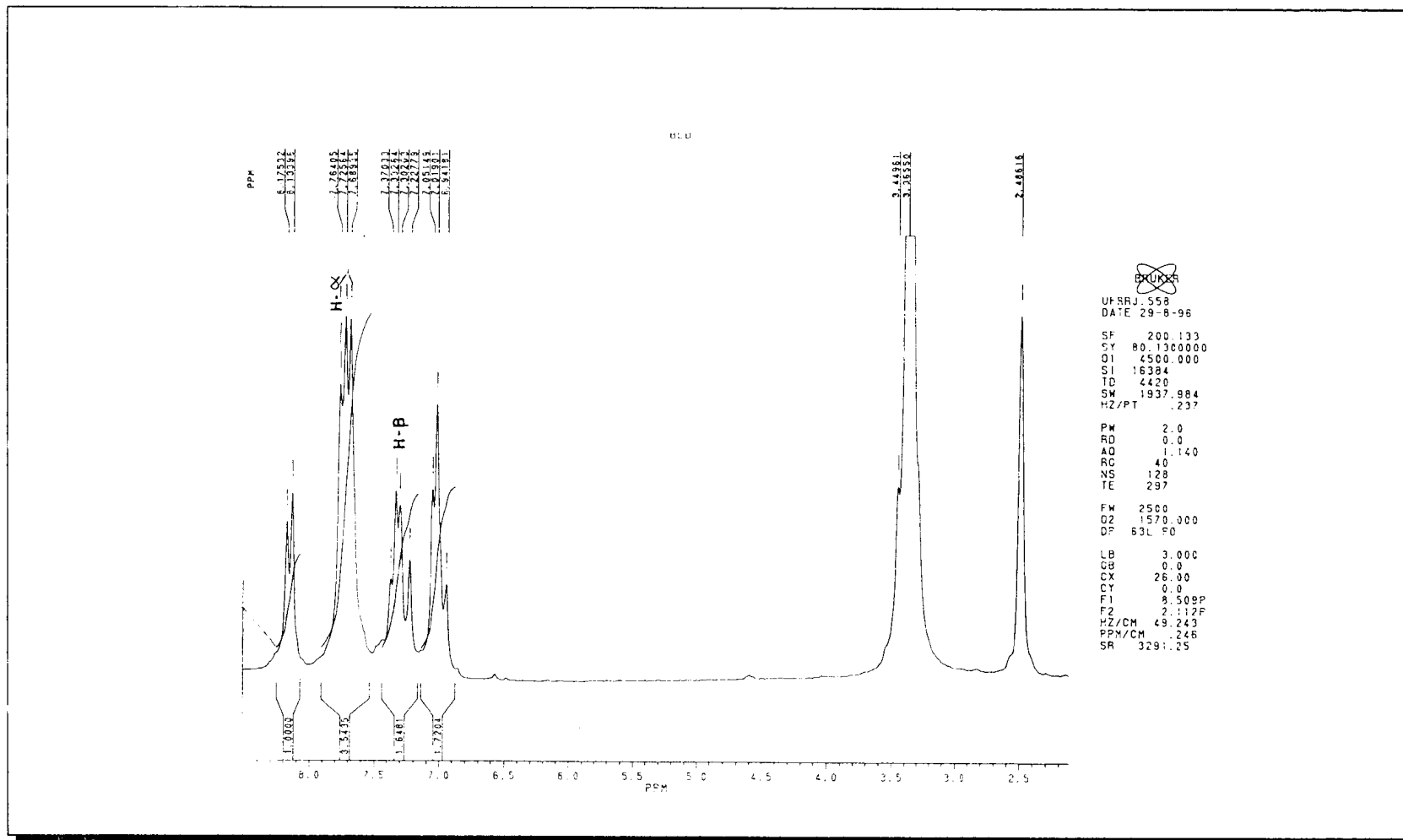


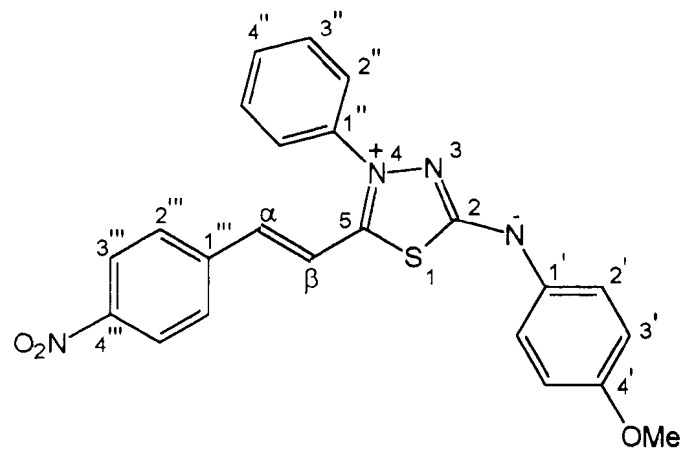
FIGURA 51: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) de BLD

Tabela 26: Dados de RMN ^{13}C para o composto mesoiônico BLH (75 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	C
159,00	5
154,99	2
147,30	4'
146,50	4'''
141,514	1'''
137,90	1'
135,80	α
131,11	4''
129,96	3'' e 5''
128,59	2''' e 6'''
125,86	2'' e 6''
124,11	3''' e 5'''
121,84	2' e 6'
116,66	β
115,02	3' e 5'
55,29	MeO
n.o	1''

Tabela 27: Dados de RMN ^1H para o composto mesoiônico BLH (300 MHz; DMSO- d_6).

δ (ppm)	H	J (Hz)	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY
8,28 (d)	3''' e 5'''	8,7	2''' e 6'''
7,87 (d)	2''' e 6'''	9,0	---
7,82-7,78 (m)	Aromático	---	---
7,34 (d)	α	15,9	β
7,10 (d)	β	15,9	---
3,86 (s)	MeO	---	---



12/11/97
 3250, BLEDAU, 13C, DMSO
 Oper. Ludella P. Costa
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 UNITplus-500 "uffus00"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay arrayed
 1st pulse arrayed
 2nd pulse 45.0 degrees
 Acc. time 1.815 sec
 Width 16501.7 Hz
 Arrayed repetitions
 OBSERVE C13, 75.4237199 MHz
 DECOUPLE H1, 299.9562106 MHz
 Power 42 dB
 on during acquisition
 off during delay
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 65536
 Total time 115 minutes

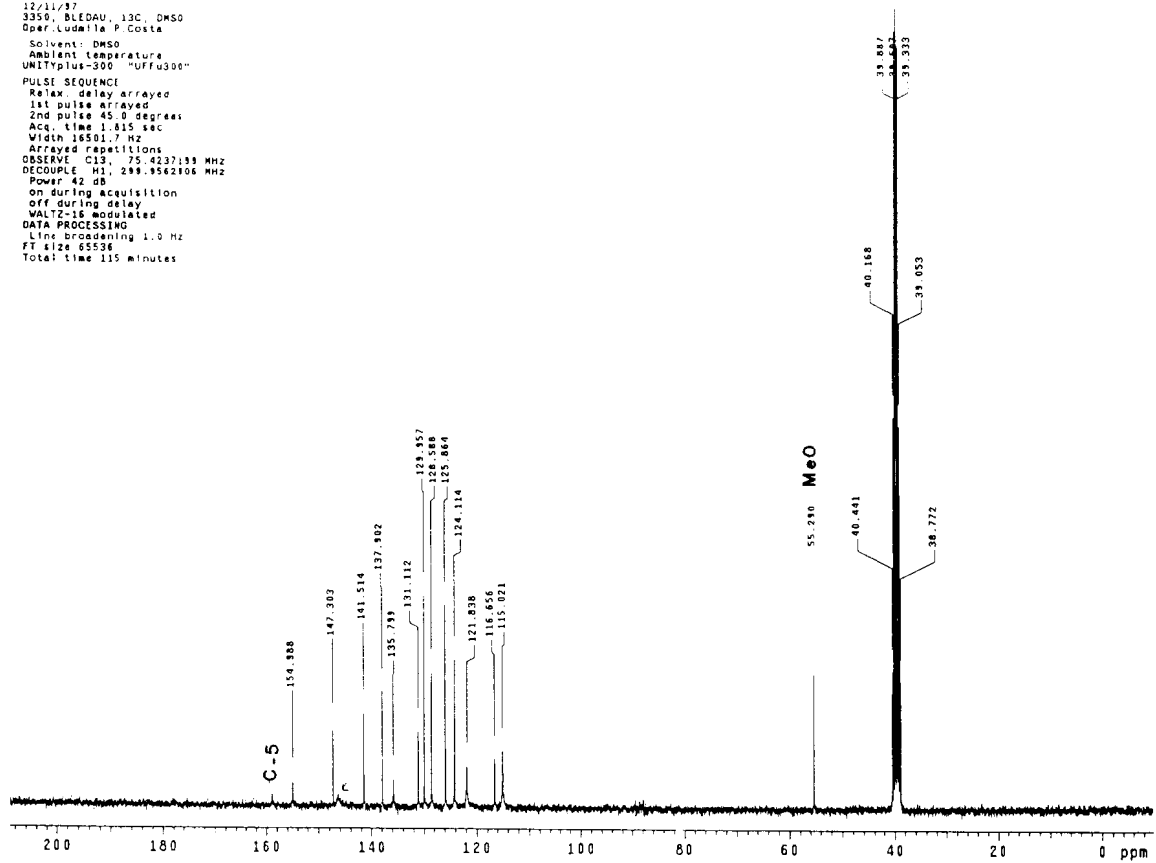


FIGURA 52: Espectro de RMN ^{13}C -PND (75 MHz, DMSO- d_6) de BLH

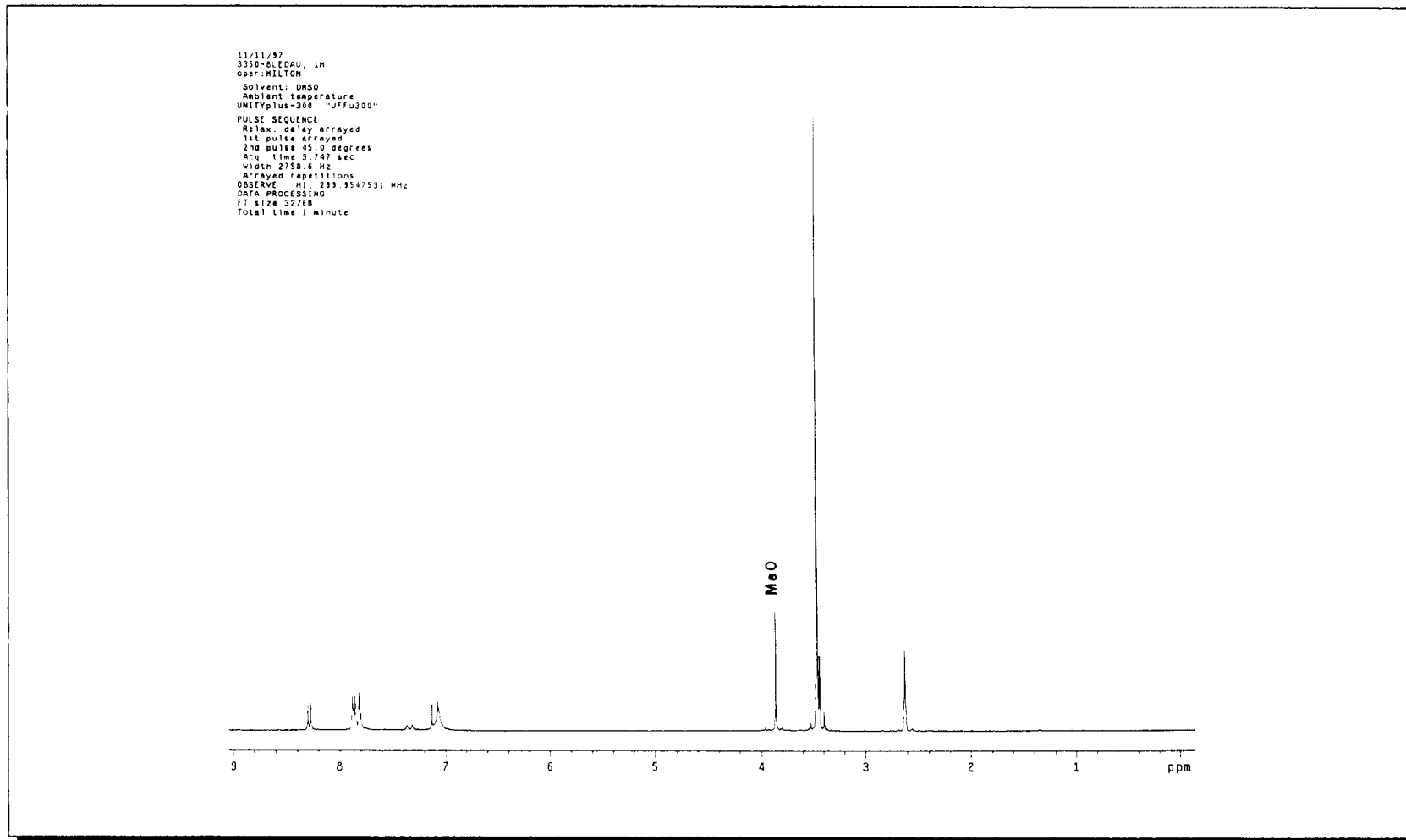


FIGURA 53: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) de BLH

12/11/77
355081000L 1H
OPR: MILLTON
Solvent: DMSO
Acquire temperature
UNIT: Plus-300 "UFFU300"
PULSE SEQUENCE
Relax: delay Arrayed
1st pulse Arrayed
2nd pulse 45.0 degrees
Acq. time 3.247 sec
Width: 2758.8 Hz
Arrayed: 160000
OBSERVE: H1: 299.1547531 MHz
DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 1 minute

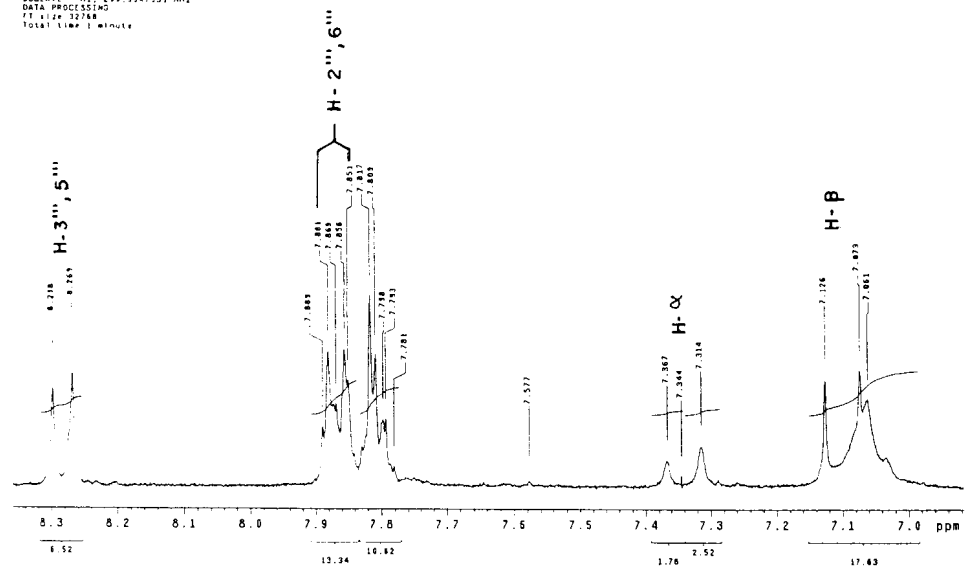


FIGURA 54: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) expandido de BLH

11/11/97
3350-BL EDAU. 1M
CPT-MULTON
Solvent: DMSO
Ambient temperature
UNITYplus-300 "UFFU300"
PULSE SEQUENCE: relayh
Relax. delay arrayed

Acq. time 0.186 sec
Width 2758.6 Hz
2D Width 2758.6 Hz
Arrayed repetitions
128 Increments
OBSERVE: H1, 299.9547531 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.093 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.023 sec
F1 size 1024 x 1024
Total time 10 minutes

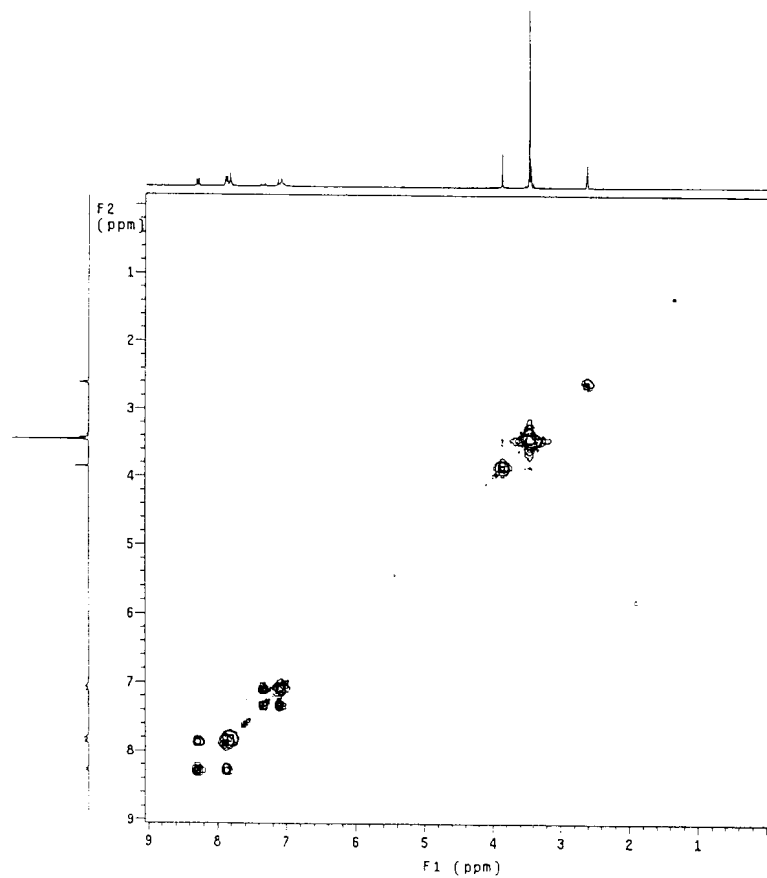


FIGURA 55: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (300 MHz, DMSO- d_6) de BLH

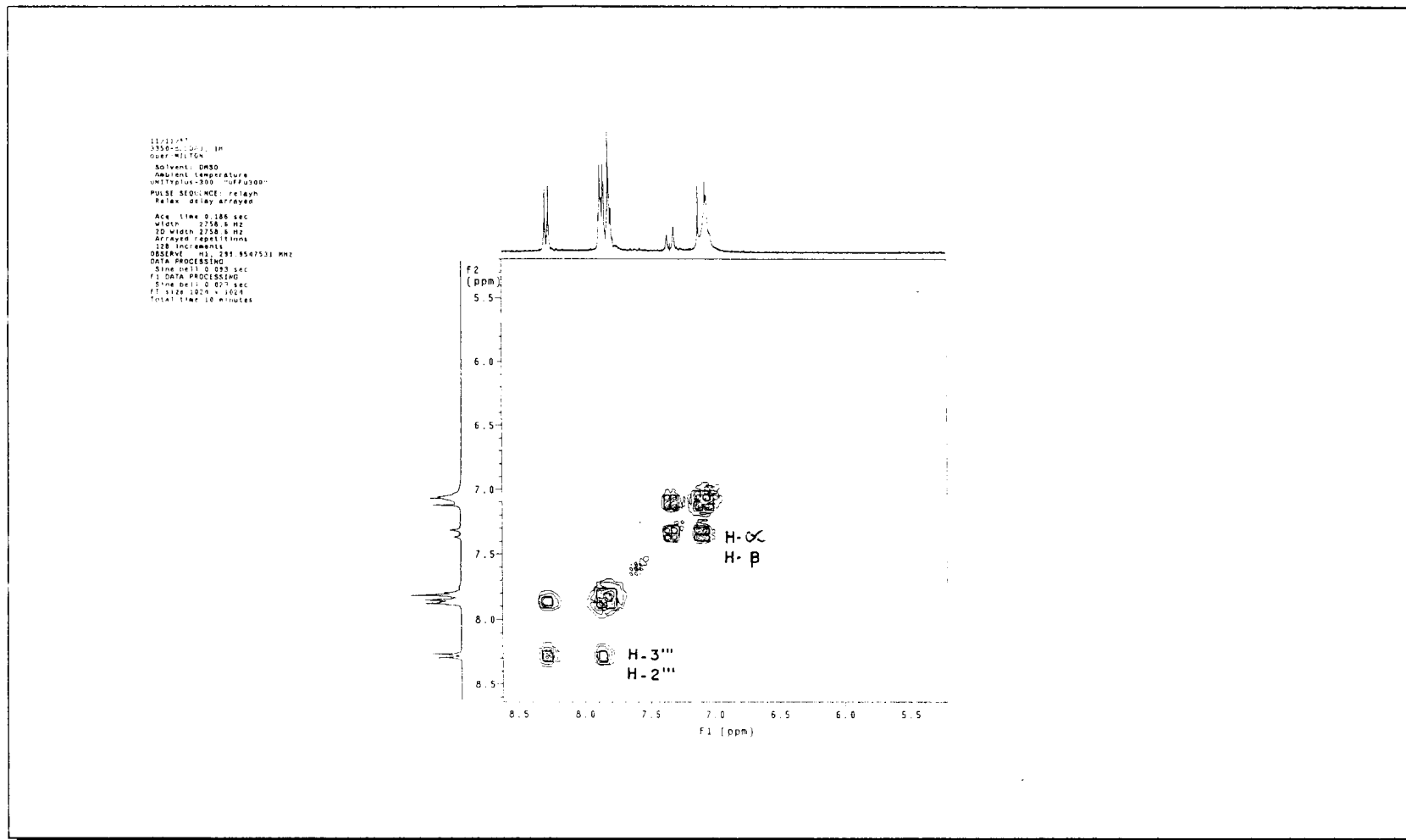


FIGURA 56: Espectro de RMN-2D $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ HOMOCOSY (300 MHz, DMSO- d_6) expandido de BLH

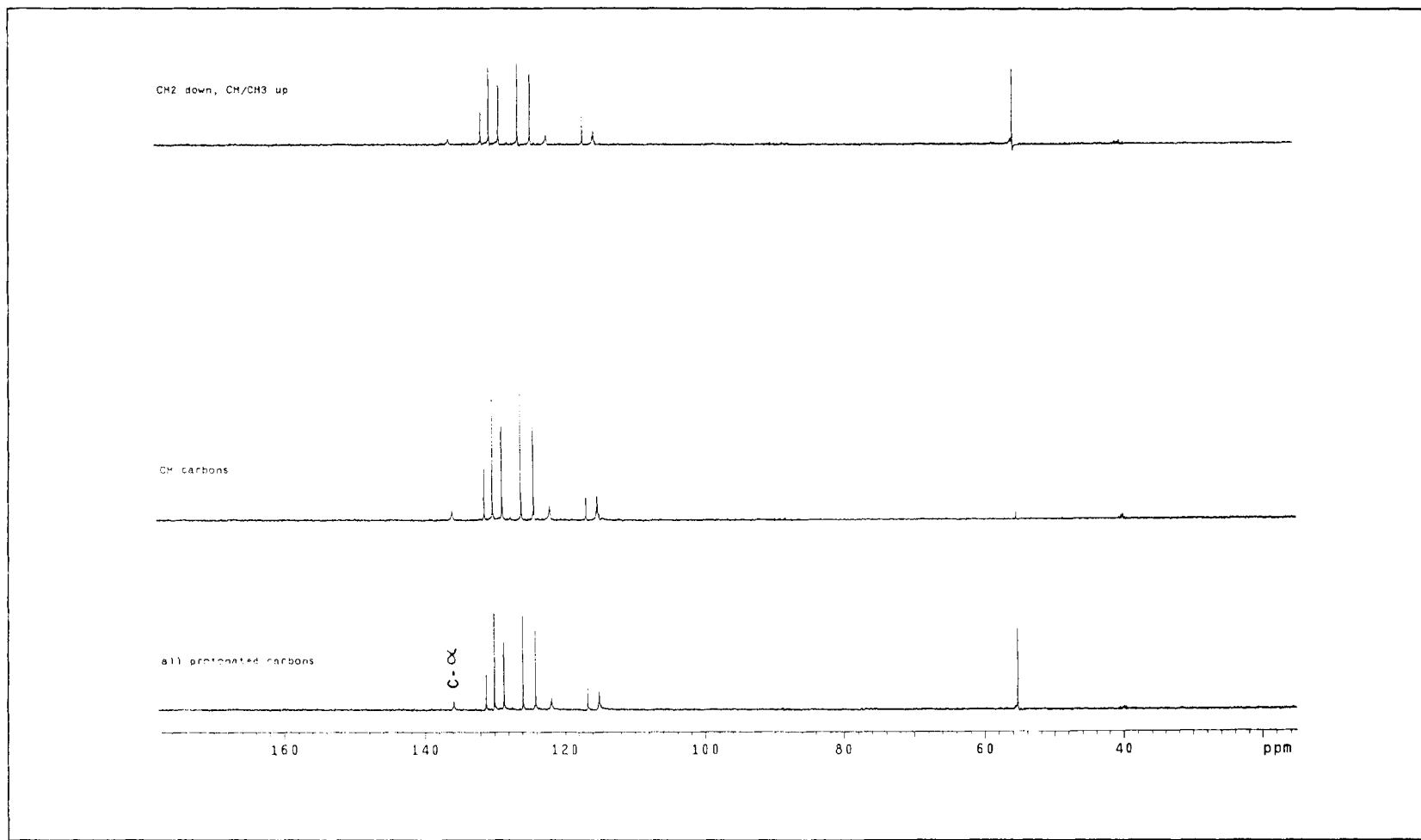


FIGURA 57: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT (75 MHz, DMSO- d_6) de BLH

3.3 ESTUDO SOLVATOCRÔMICO

3.3.1 Preparação das Soluções Utilizadas na Espectroscopia UV/Vis

Em balão volumétrico pesaram-se aproximadamente 2 mg de cada amostra (compostos mesoiônicos e cloridratos correspondentes), sendo posteriormente acrescentado o solvente desejado. Após sua total solubilização, fazendo-se necessário em alguns casos a utilização de ultra-som, transferiu-se utilizando-se pipetas volumétricas, o volume necessário para a obtenção da concentração final adequada à obtenção dos espectros. As concentrações finais estão representadas na Tabela 28.

Tabela 28: Concentrações das soluções dos sais (MI) e mesoiônicos (bases livres, BL) nos diferentes solventes.

Solvente	Concentração (M)					
	Sal		Mesoiónico			
	MID	MIH	BLA	BLC	BLD	BLH
MeOH	$1,8310 \times 10^{-5}$	$2,0345 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-4}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$2,0975 \times 10^{-5}$	$1,7654 \times 10^{-5}$
EtOH	$2,1055 \times 10^{-5}$	$8,5663 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-4}$	$2,2828 \times 10^{-4}$	$2,1975 \times 10^{-5}$	$1,8584 \times 10^{-4}$
1-BuOH	$1,8310 \times 10^{-4}$	$1,6276 \times 10^{-4}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,9513 \times 10^{-5}$
2-PrOH	$1,8310 \times 10^{-5}$	$8,5663 \times 10^{-5}$	$2,3631 \times 10^{-5}$	$1,9715 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,7654 \times 10^{-5}$
MeCN	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
DMSO	$1,8310 \times 10^{-5}$	$8,1379 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$2,0975 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
N, N-DMF	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
Acetona	$1,9225 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$2,1974 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
1,2-diClEt	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-4}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
CH₂Cl₂	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$1,9715 \times 10^{-5}$	$2,1974 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
CHCl₃	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,7132 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$2,1974 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
Acet. Et	-----*	-----*	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,8583 \times 10^{-5}$
Dioxana	$1,8310 \times 10^{-5}$	$1,5419 \times 10^{-5}$	$2,2505 \times 10^{-4}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,8584 \times 10^{-4}$
Benzeno	$2,0141 \times 10^{-5}$	$8,1379 \times 10^{-5}$	$1,913 \times 10^{-5}$	$2,8016 \times 10^{-5}$	$1,8978 \times 10^{-5}$	$1,7654 \times 10^{-5}$
Tolueno	-----*	$1,6276 \times 10^{-4}$	$2,2505 \times 10^{-5}$	$2,0752 \times 10^{-5}$	$1,9977 \times 10^{-5}$	$1,7654 \times 10^{-5}$

* praticamente insolúvel

3.4 DETERMINAÇÃO DOS pK_a (s) DOS SAIS DOS COMPOSTOS MESOIÔNICOS

3.4.1 Soluções Tampão dos Sais Mesoionicos

Foram preparadas soluções de Na_2HPO_4 (0,2 M), ácido cítrico (0,1 M), Na_2CO_3 (0,2 M) e $NaHCO_3$ (0,2 M), em balões volumétricos de 1.000, 500 e 250 ml, respectivamente. A partir dessas soluções foram preparadas as soluções tampão segundo as quantidades apresentadas nas Tabelas 29 e 30.

Tabela 29: Soluções tampão Na_2HPO_4 /Ác. Cítrico

pH	Na_2HPO_4, 0,2 M (ml)	Ác. Cítrico, 0,1 M (ml)
4,0	7,71	12,29
5,0	10,30	9,70
6,0	12,63	7,37
7,0	16,47	3,53
8,0	19,45	0,55

Tabela 30: Soluções tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}$.

pH	Na_2CO_3, 0,2M (ml)	NaHCO_3, 0,2 M (ml)	H_2O (ml)
9,2	0,8	9,2	10
10,0	5,5	4,5	10
10,7	9,0	1,0	10

Em balão volumétrico de 25 ml contendo 0,005 g do sal mesoiônico, adicionou-se acetonitrila grau espectroscópico até completar seu volume final. Estas soluções, juntamente com os tampões foram utilizadas para determinação dos pK_a (s).

3.4.2 Obtenção das Absorções dos Sais Mesoiônicos em Função do pH

Em 15 ml de solução tampão recém preparada, adicionou-se 1 ml da solução do sal (item 3.4.1). Posteriormente mediu-se o pH no potenciômetro e em seguida observou-se a absorção na região visível no comprimento de onda máximo ($\lambda_{\text{máx.}}$), específico para cada composto.

Tabela 31: Absorções obtidas em função da variação do pH para os sais MIA e MIB.

MIA			MIB		
pH	A	ϵ	pH	A	ϵ
3,3	0,717	22476,560	3,6	0,791	25683,986
3,6	0,709	22225,775	3,9	0,779	25294,343
4,3	0,674	21128,593	4,3	0,806	26171,040
6,2	0,634	19874,670	5,2	0,775	25164,462
8,0	0,598	18746,140	6,2	0,757	24579,997
9,3	0,285	8934,197	7,2	0,734	23833,181
9,7	0,283	8871,501	8,0	0,656	21300,500
10,5	0,281	8808,805	9,6	0,279	9059,206
11,2	0,257	8056,452	10,5	0,250	8117,568
			11,1	0,207	6721,347

Tabela 32: Absorções obtidas em função da variação do pH para os sais MIC e MID.

MIC			MID		
pH	A	ϵ	pH	A	ϵ
3,4	0,958	32332,642	3,3	0,436	15237,243
3,7	0,955	32231,391	3,6	0,433	15132,400
4,2	0,954	32197,641	4,3	0,427	14922,713
5,0	0,946	31927,640	5,1	0,421	14713,026
6,2	0,944	31860,139	6,1	0,413	14433,444
7,8	0,876	29565,129	7,1	0,386	13489,853
8,3	0,697	23523,853	8,0	0,311	10868,768
9,3	0,418	14107,562	9,6	0,256	
9,7	0,360	12150,053	10,5	0,250	
10,4	0,318	10732,547	11,2	0,228	7968,100
11,0	0,304	10260,045			

Tabela 33: Absorções obtidas em função da variação do pH para os sais MIE e MIF.

pH	MIE A	ϵ	pH	MIF A	ϵ
3,5	0,595	19508,453	3,5	0,562	19166,235
3,8	0,594	19475,665	3,8	0,560	19098,027
4,3	0,584	19147,792	4,3	0,535	18245,437
5,4	0,575	18852,706	5,2	0,515	17563,365
6,2	0,571	18721,557	6,1	0,522	17802,090
7,2	0,548	17967,449	8,0	0,414	14118,899
8,0	0,520	17049,404	8,2	0,321	10947,262
9,4	0,250	8196,829	8,6	0,239	8150,765
9,7	0,214	7016,486	9,0	0,188	6411,481
10,5	0,191	6262,377	9,5	0,179	6104,548
11,1	0,183	600,079	10,4	0,174	5934,030
			11,1	0,163	5558,890

Tabela 34: Absorções obtidas em função da variação do pH para o sal MIG.

pH	MIG	
	A	ϵ
3,5	0,486	16207,563
3,8	0,477	15907,424
4,4	0,465	15507,237
5,5	0,428	14273,328
6,2	0,459	15307,143
7,2	0,415	13839,792
8,0	0,374	12472,487
9,7	0,208	6936,570
10,5	0,178	5936,104
11,2	0,171	5702,661

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

4.1.1 Síntese

Os sais dos compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas, foram obtidos através da reação de acilação anidra entre 1,4-difeniltiossemicarbazida e os cloretos dos ácidos cinâmicos *p*-substituídos. Os ácidos cinâmicos *p*-substituídos foram preparados através da reação de Knoevenagel à partir do ácido malônico e os *p*-X-benzaldeídos apropriados em presença de piperidina e piridina. Os rendimentos obtidos foram bons, oscilando entre 75 e 90%, tendo sido purificados por recristalização em hexano e etanol (30:70, v/v).

A 1,4-difeniltiossemicarbazida foi preparada á partir do isotiocianato de fenila e anilina em tolueno anidro, com rendimento de 76% e utilizada sem purificação prévia. A metodologia empregada para as sínteses dos sais dos compostos mesoiônicos apresentaram bons rendimentos, entre 68 e

89 %, para MIA, MIB, MIC, MID, MIE, MIF e MIG. O composto MIH foi preparado utilizando-se a mesma metodologia à partir da 1-fenil-4-*p*-metoxifeniltiossemicarbazida e do cloreto de *p*-nitrocinamoíla, com 65% de rendimento.

A preparação dos compostos mesoiônicos (bases livres-BL), foi realizada a partir do tratamento dos respectivos sais com solução aquosa de NaOH, na relação de 1:2 equivalentes, sendo os rendimentos obtidos em âmbito quantitativo e puros, monitorada por cromatografia em camada fina. A Figura 58 mostra a análise retrossintética para a obtenção dos mesoiônicos.

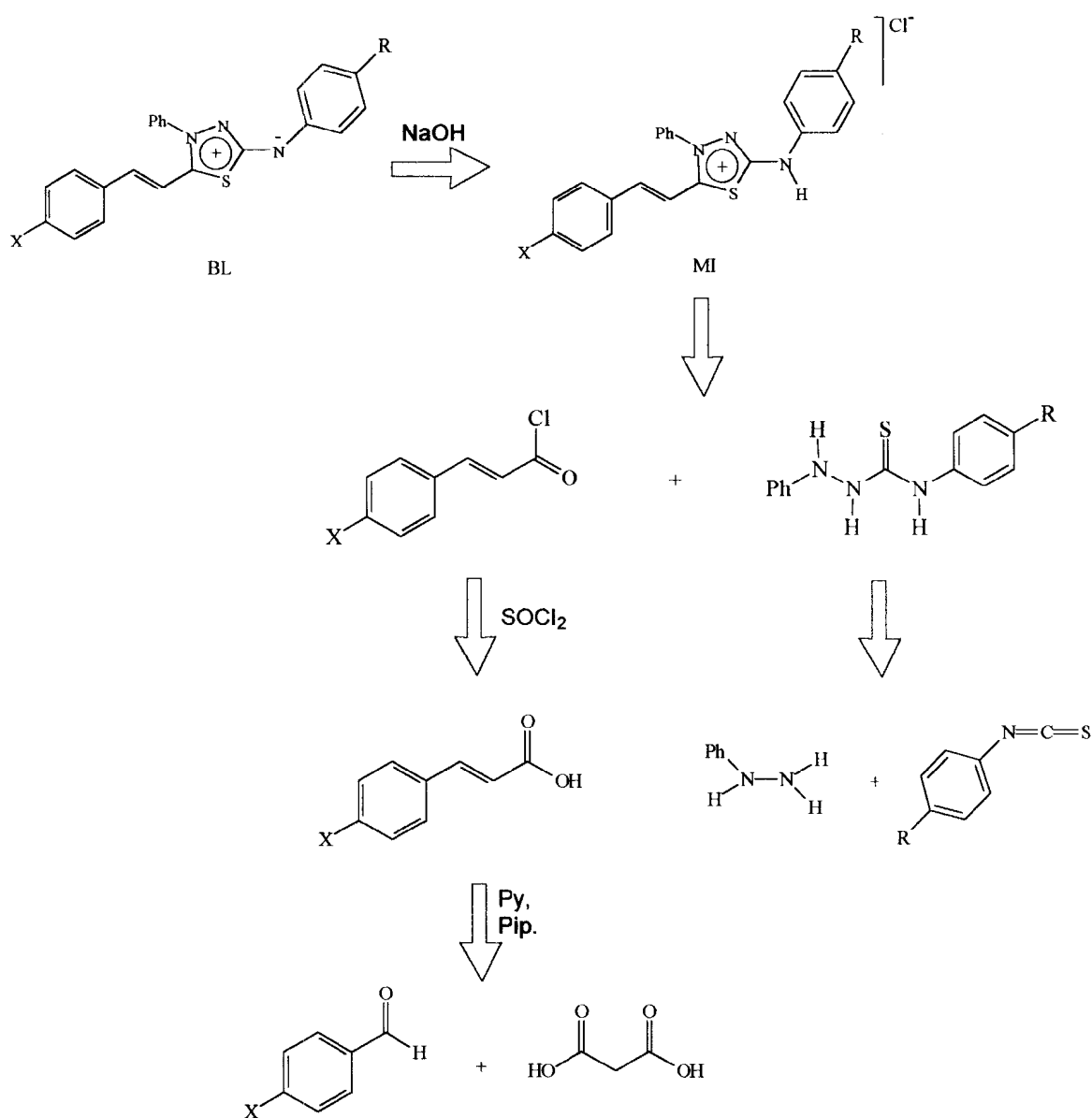
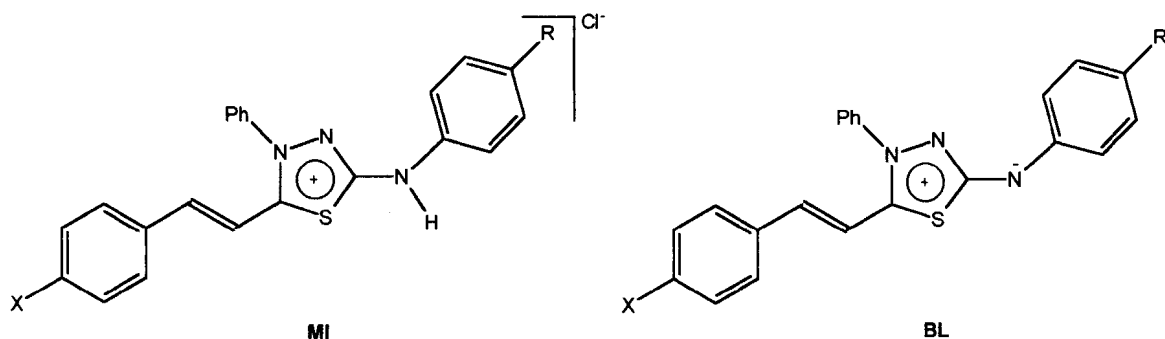


FIGURA 58: Análise retrosintética para os compostos mesoiônicos.

O sal MIH e todos os mesoiônicos (bases livres), foram sintetizados pela primeira vez neste trabalho de tese. A Figura 59 mostra os compostos aqui sintetizados.



MI	X	R	BL
MIA	H	H	BLA
MIB	Me	H	---
MIC	MeO	H	BLC
MID	NO ₂	H	BLD
MIE	F	H	---
MIF	Cl	H	---
MIG	CN	H	---
MIH	NO ₂	MeO	BLH

FIGURA 59: Estruturas dos compostos mesoiônicos e seus respectivos sais.

4.1.2 Caracterização Estrutural por RMN ^1H e ^{13}C

Neste tópico serão discutidos os espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos MIA, MIC, MID, MIH, BLA, BLC, BLD e BLH. Os demais sais (MIB, MIE, MIF e MIG, dados de RMN (tópico 3.2.4. 1) foram anteriormente sintetizados e tiveram seus espectros discutidos⁵¹.

Os espectros de RMN de hidrogênio dos cloridratos MIA, MIC, MID e MIH (tópico 3.2.4.1) mostraram sinais característicos do deslocamento químico $_{\text{exo}}\text{N-H}$ em δ 12,25, 11,8; 12,35 e 12,62, respectivamente, observando-se a ausência deste sinal nos respectivos espectros para os mesoiônicos (BLA, BLC, BLD e BLH, tópico 3.2.5.1). Os demais sinais, hidrogênios aromáticos e olefínicos, na maioria dos derivados estudados, apresentaram-se em multipletos de difícil atribuição.

Os sais MIC, MID e MIH apresentaram espectros com melhores resoluções, permitindo as atribuições considerando também os espectros de RMN ^1H bi-dimensionais ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - HOMOCOSY).

A Tabela 35 mostra os valores dos deslocamentos químicos atribuídos para os derivados acima citados. Os espectros de RMN ^1H para os três compostos apresentaram sinais passíveis de serem interpretados para os hidrogênios do anel aromático substituído, além dos H- α e H- β , e para os demais hidrogênios, com exceção do MIH, apresentaram-se em multipletos complexos.

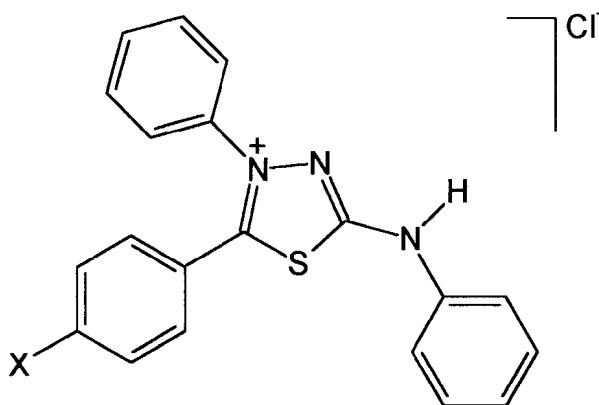
Tabela 35: Deslocamentos químicos de RMN ^1H para MIC, MID, e MIH em DMSO-d_6 (δ =ppm; J =Hz).

H	MIC δ	MID δ	MIH δ	MIH $^1\text{Hx}^1\text{H-COSY}$
NH	11,81 (s)	12,35 (s)	12,62 (s)	-----
3''' e 5'''	6,23 (d, $J=8,4$)	8,40 (d, $J=8,2$)	8,26 (d, $J=8,3$)	2''' e 6'''
α	7,13 (d, $J=16$)	8,26 (d, $J=16,6$)	8,11 (d, $J=16,4$)	β
2''' e 6'''	6,76 (d, $J=7,8$)	8,15 (d, $J=8,3$)	8,02 (d, $J=8,4$)	-----
Aromáticos	7,01-6,98 (m)	8,00-7,87 (m)	7,82-7,76 (m)	-----
3' e 5'	-----	-----	7,53 (d, $J=8,5$)	2' e 6'
β	6,23 (d, $J=15,4$)	7,41 (d, $J=16,2$)	7,26 (d, $J=16,2$)	-----
2' e 6'	-----	-----	7,00 (d, $J=8,5$)	-----
MeO	2,92 (s)	-----	3,74 (s)	-----

Os espectros de RMN ^{13}C dos cloridratos (tópico 3.2.4.1) e mesoiônicos (tópico 3.2.5.1) foram atribuídos por etapas, ou seja, consideraram-se os átomos de carbono dos anéis aromáticos ligados ao N-exocíclico e ao N-4 do anel heterocíclico na primeira etapa e, posteriormente o anel cinamoíla substituído.

As atribuições dos carbonos dos anéis aromáticos ligados ao N-exocíclico e ao N-4, foi realizada por comparação com valores da literatura para moléculas análogas da série dos cloretos de 4-fenil-5-(*p*-X-fenil)-1,3,4-

tiadiazólio-2-fenilaminas (36), propostos por Montanari¹⁹ e Maciel⁵³. As atribuições desses carbonos foram realizadas considerando-se resultados de difração de raio-X e cálculos teóricos¹⁴ e experimentos com RMN de ¹⁵N¹⁹.



36

Os carbonos do anel cinamoíla *p*-substituído foram atribuídos por comparação dos deslocamentos químicos das moléculas análogas estudadas por Santos⁵¹. Os átomos de carbono do anel heterocíclico foram assinalados com os maiores deslocamentos químicos, δ 162,05-161,40 para C-5 e δ 159,99-158,62 para C-2, com exceção do MIC, que apresentou maior valor para o C-4''' (162,72ppm) em posição *ipso* ao grupo substituínte MeO.

Os espectros de RMN ¹³C dos mesoiônicos BLA, BLC, BLD e BLH (tópico 3.2.5.1) foram atribuídos através das comparações com os correspondentes cloridratos, com o auxílio dos espectros RMN ¹³C-DEPT ($\theta = 90^\circ$ e 135°) e considerando-se o aumento da densidade de carga negativa sobre o N-exocíclico do anel heterocíclico. A Tabela 36 mostra os deslocamentos químicos para os cloridratos e respectivos mesoiônicos.

Tabela 36: Deslocamentos químicos (ppm) de RMN ^{13}C dos mesoiônicos e respectivos sais.

C	MIA	MIC	MID	MIH	BLA	BLC	BLD	BLH
5	161,74	162,54	162,05	161,40	160,39	n.o ^a	159,21	159,00
2	158,62	158,44	159,68	159,99	142,69	152,50	152,48	154,99
α	149,10	148,34	144,67	140,02	140,87	141,92	141,38	135,80
β	109,88	108,83	115,52	115,53	108,30	110,99	116,57	116,66
1'	136,45	137,07	137,05	137,03	135,87	128,43	131,13	137,90
2'e 6'	118,85	118,49	118,71	120,54	113,67	122,43	120,94	121,84
3' e 5'	129,15	129,48	130,15	114,69	126,45	130,42	128,64	115,02
4'	124,33	123,35	124,32	156,11	121,92	123,32	122,48	147,30
1''	137,82	138,60	138,54	138,96	139,08	139,08	137,80	n.o
2'' e 6''	125,33	126,21	126,23	125,89	123,07	126,43	125,85	125,86
3'' e 5''	128,85	130,19	130,25	129,85	128,81	130,74	129,73	129,96
4''	132,36	131,58	131,90	131,73	130,33 ^c	132,06	129,80	131,11
1'''	132,97	135,22 ^b	139,99	144,20	n.o	126,97	136,30	141,51
2''' e 6'''	130,18	126,57	129,56	128,73	130,33 ^c	n.o	128,40	128,59
3''' e 5'''	128,94	114,83	124,20	124,03	129,77	115,33	124,32	124,11
4'''	131,91	163,28	148,59	148,50	131,50	162,70	147,31	146,50
MeO	----	55,66	----	55,30	----	55,64	----	55,29

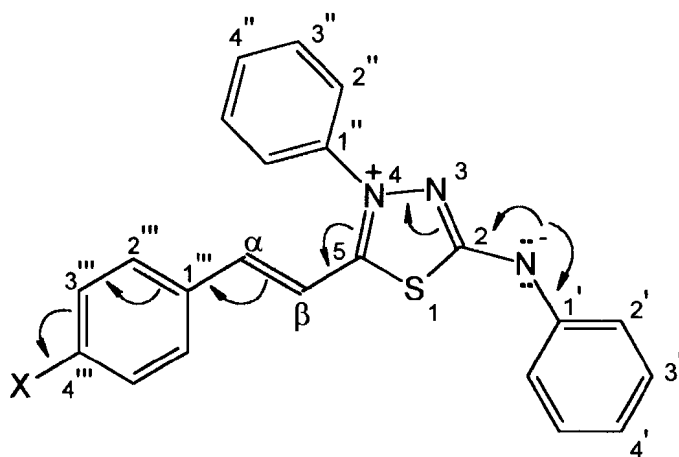
^a n.o Não observado.

^b Obtido em outro espectro não apresentado neste trabalho.

^c O sinal aparece sobreposto.

Os maiores valores de deslocamento químico foram atribuídos aos carbonos do anel heterocíclico, com exceção do BLC (C-4''' que possui o grupo MeO em posição *ipso*), variando de δ 160,39 a 159,00 para C-5 e δ 154,99 a 142,69 para C-2. Comparando-se os deslocamentos químicos obtidos com os respectivos valores de C-5 e C-2 nos cloridratos, observamos um efeito de proteção variando de aproximadamente 3ppm para o C-5 e, aproximadamente 6ppm para o C-2 (com exceção do BLA, $\Delta\delta$ 15,93). Esse efeito era esperado em função do aumento de densidade eletrônica sobre o N-exocíclico.

Os carbonos C- α e C- β apresentaram menores e maiores deslocamentos químicos, respectivamente, para os mesoiônicos quando comparados com os cloridratos. Essas variações estão coerentes com o efeito de ressonância, advindo do nitrogênio exocíclico.



As atribuições dos carbonos do anel aromático ligado ao N-4 apresentou de maneira geral, deslocamentos químicos com pequenas variações quando comparados aos respectivos sais, sendo portanto pouco afetados pelo aumento de carga negativa no N-exocíclico.

Os carbonos do anel aromático do grupo cinamoíla dos compostos mesoiônicos mostraram variações coerentes nos deslocamentos químicos quando comparados aos respectivos sais. Os carbonos C-3''' e C-5''', apresentaram-se ligeiramente desblindados enquanto os demais ligeiramente blindados, conforme esperado em função da natureza do substituinte.

O assinalamento dos carbonos do anel aromático ligado ao N-exocíclico mostrou efeito de blindagem para os C-1' e C-4', comparando-se aos respectivos sais. No caso do mesoiônico BLH, o deslocamento químico do C-4' apresentou maior efeito de blindagem, mesmo sendo em posição *ipso* ao grupo MeO.

4.2 ESTUDO DE SOLVATOCROMISMO

4.2.1 Espectros no Ultra violeta-Visível

Foram obtidos os espectros na região do UV/Vis dos compostos mesoiônicos BLA, BLC, BLD, BLH e dos sais MID e MIH em diferentes solventes. A Tabela 37 mostra os comprimentos de onda característicos do sistema mesoiônico em função da natureza do solvente, para os compostos estudados e a Figura 58 as cores observadas.

Os Gráficos 2 e 3 ilustram o comportamento nos espectros de UV/Vis do mesoiônico BLD e do sal MIH em relação aos solventes utilizados, considerando apenas a banda de absorção característica do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas.

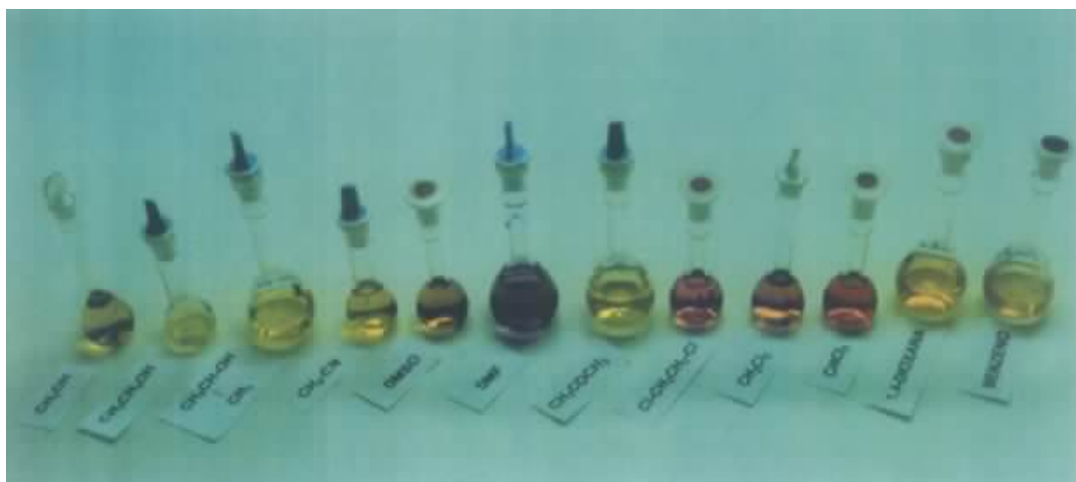


FIGURA 60: Cores do sal MID na presença de diferentes solventes.

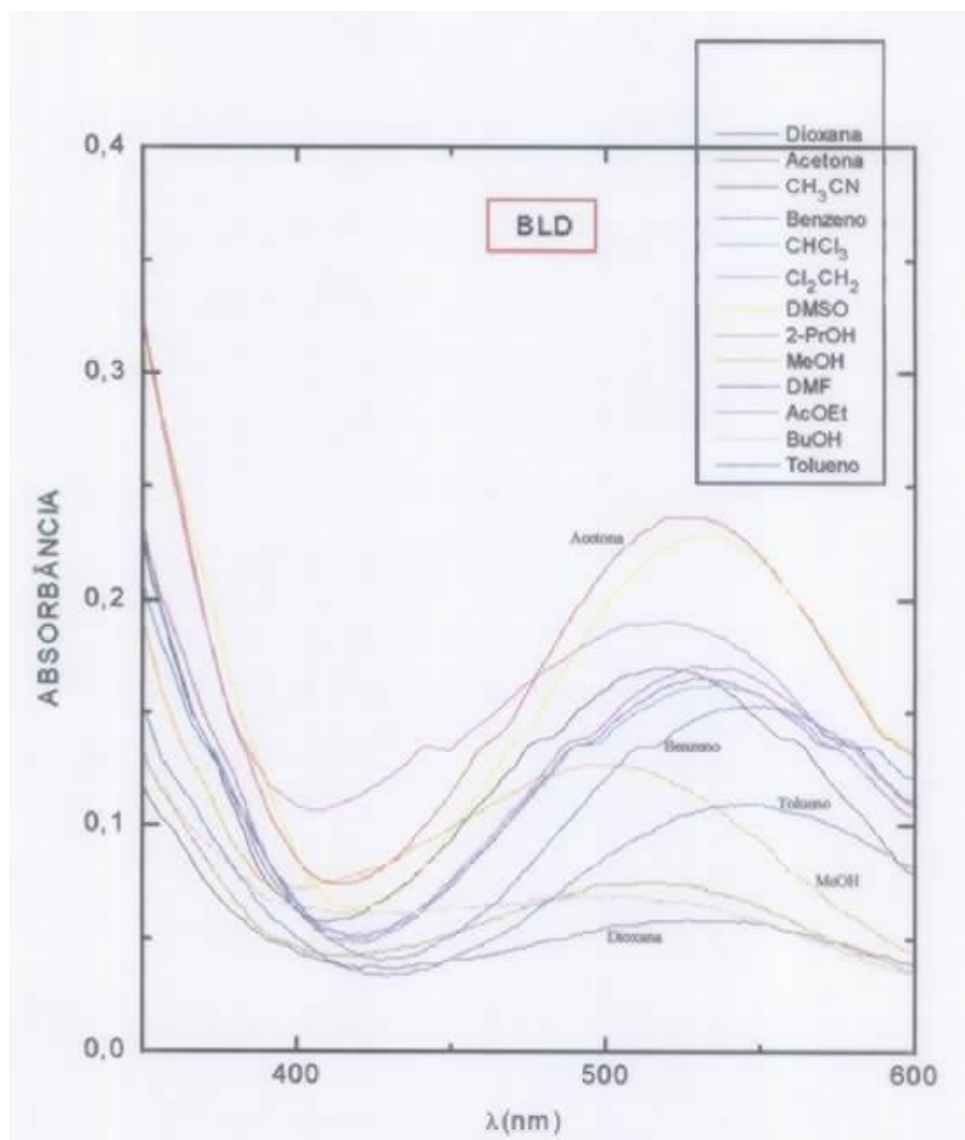


GRÁFICO 2: Bandas de absorção UV/Vis. características para o composto BLD em diferentes solventes

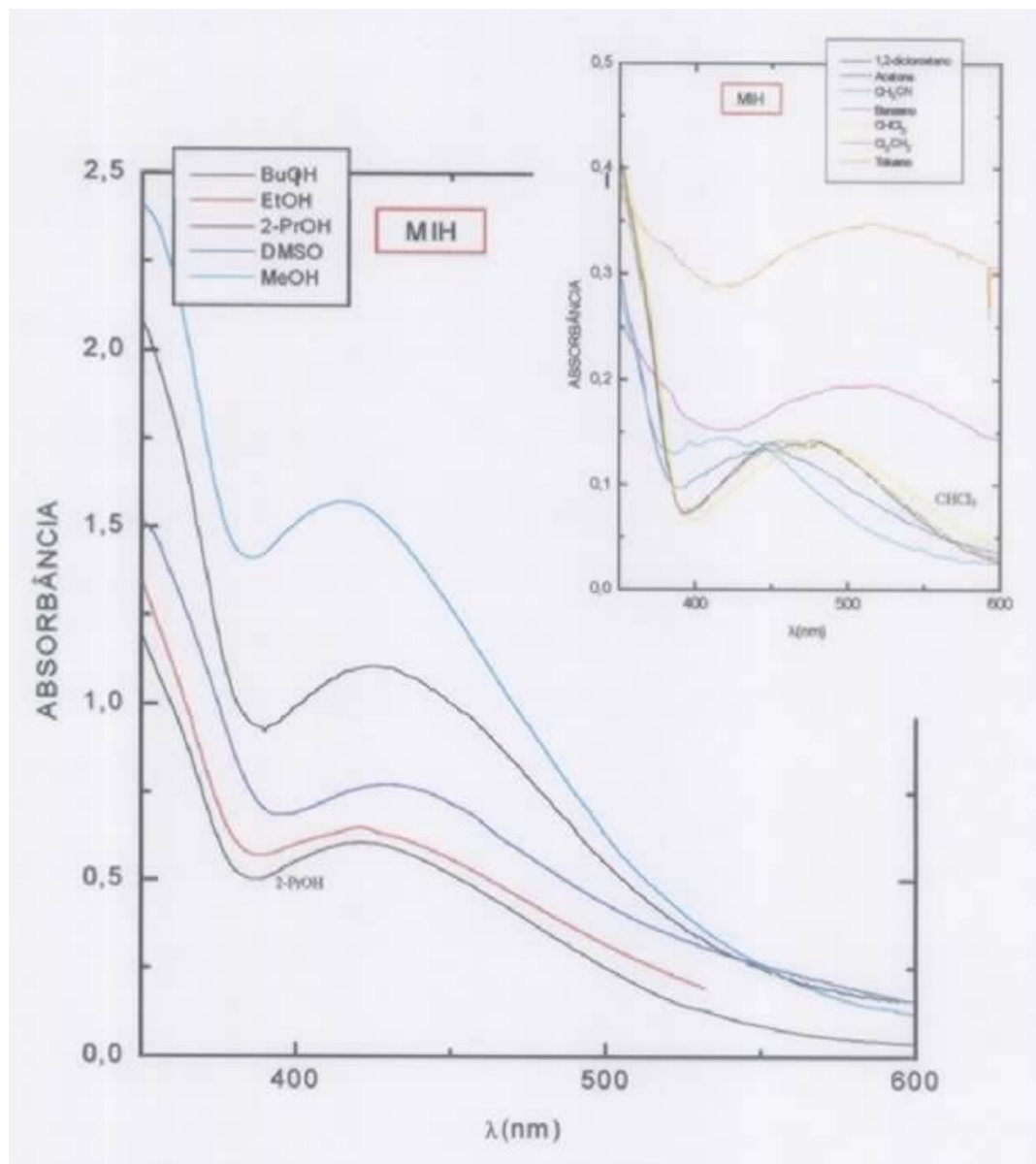


GRÁFICO 3: Bandas de absorção UV/Vis características para o sal MIH em diferentes solventes.

A análise dos espectros de todos os compostos estudados mostrou deslocamentos da banda característica do sistema mesoiônico, para maiores comprimentos de onda (deslocamento batocrômico) na presença de solventes menos polares e, para menores comprimentos de onda (deslocamento hipsocrômico) com o aumento da polaridade do solvente, caracterizando solvatocromismo negativo.

Os compostos estudados mostraram comportamento diferenciado nos espectros de UV/Vis em função da natureza dos grupos substituintes presentes. Os mesoiônicos BLD, e o sal MIH apresentaram comportamento mais coerente com a variação da polaridade do solvente.

Este resultado mostrou-se de acordo com a variação do momento dipolar dos compostos estudados, pois os mesoiônicos BLA e BLC foram os de comportamento menos coerente, devendo apresentar menores valores para os momentos dipolares. Os momentos dipolares para os sais MIA e MID, calculados por métodos semi-empíricos AM1, usando o programa MOPAC 6.0, foram 0,69 e 6,55D²⁹, respectivamente, apoiando assim nossa sugestão para os mesoiônicos BLA e BLC.

Tabela 37: Comprimentos de onda característicos do sistema mesoiônico, obtidos para os compostos estudados em diferentes solventes.

Solvente	MID λ (nm)	MIH λ (nm)	BLA λ (nm)	BLC λ (nm)	BLD λ (nm)	BLH λ (nm)
MeOH	491,75	415,37	466,20	426,69	499,80	----
EtOH	415,77	420,11	477,75	475,00	502,56	494,17
BuOH	416,77	425,22	484,44	485,91	498,33	526,15
2-PrOH	507,11	421,02	486,64	484,44	514,42	520,27
CH₃CN	406,21	420,11	480,79	486,64	519,54	516,61
DMSO	534,89	429,08	490,29	493,22	532,00	----
DMF	-----?	-----	-----	-----	530,5	530,50
acetona	422,30	445,69	488,10	434,00	526,12	510,03
1,2-DiClEt	431,80	466,90	-----	434,00	441,31	463,97
CH₂Cl₂	434,00	477,86	431,80	442,77	519,54	463,24
CHCl₃	450,08	484,44	490,29	426,69	534,89	503,45
AcOEt	-----*	-----*	488,10	499,80	532,7	550,63
dioxana	443,50	450,81	-----	430,34	528,31	448,14
benzeno	550,97	517,34	499,07	510,05	550,24	519,54
tolueno	-----*	515,15	493,22	510,76	543,66	566,33

* praticamente insolúvel.

4.2.2 Determinação dos Valores de E_T

Uma vez obtidos os espectros de UV/Vis dos sais MID e MIH, e dos mesoiônicos BLA, BLC, BLD e BLH nos diferentes solventes, pudemos, através da equação 2 (tópico 1.2) obter os valores de E_T para os compostos em estudo, apresentados na Tabela 38.

$$\begin{aligned}
 E_T (30) [\text{kcal/mol}] &= h c \tilde{\nu} N_A & (2) \\
 &= (2,8591 \times 10^{-3}) \cdot \nu_{\text{max}} [\text{cm}^{-1}] \\
 &= 28591/\lambda_{\text{max}} [\text{nm}]
 \end{aligned}$$

onde: λ_{max} = comprimento de onda da banda
característica no solvente em estudo

Tabela 38: Valores de E_T calculados para os sais e compostos mesoiônicos.

Solvente	E_T MID	E_T MIH	E_T BLA	E_T BLC	E_T BLD	E_T BLH
MeOH	58,14	68,83	61,33	67,01	57,20	-----
EtOH	68,77	68,06	59,85	60,19	56,89	57,86
BuOH	68,70	67,24	59,02	58,84	57,37	54,34
2-PrOH	56,38	67,91	58,75	59,02	55,58	54,95
CH₃CN	70,38	68,06	59,47	58,75	55,03	55,34
DMSO	53,45	66,63	58,31	57,97	53,67	-----
DMF	-----	-----	-----	-----	53,89	53,89
acetona	67,70	64,15	58,58	65,88	54,34	56,06
1,2-DiClEt	66,21	61,24	-----	65,88	64,79	61,62
CH₂Cl₂	65,88	59,83	66,21	64,57	55,03	61,72
CHCl₃	63,52	59,02	58,31	67,01	53,45	56,79
AcOEt	-----	-----	58,58	57,21	53,67	51,92
dioxana	64,47	63,42	-----	66,44	54,12	63,80
benzeno	51,89	55,26	57,29	56,06	51,96	55,03
tolueno	-----	55,50	57,97	55,98	52,59	50,48

Os valores de E_T dos compostos estudados foram correlacionados com os correspondentes valores de $E_T(30)$ da escala de Reichardt^{32, 36} e de Z da escala de Kosower^{32, 34}. A Tabela 39 mostra os valores de $E_T(30)$, Z e as correlações obtidas.

Tabela 39: Valores de $E_T(30)$, Z e correlações com E_T dos mesoiônicos.

Solvente	$E_T(30)$	Z	Solvente	$E_T(30)$	Z
MeOH	55,4	83,6	1,2-DiClEt	41,3	63,4
EtOH	51,9	79,6	CH₂Cl₂	40,7	64,2
1BuOH	50,2	77,7	CHCl₃	39,1	63,2
2-PrOH	48,4	76,3	AcOEt	38,1	59,4
CH₃CN	45,6	71,3	dioxana	36,0	----
DMSO	45,1	71,1	benzeno	34,3	54,0
DMF	43,8	68,5	tolueno	33,9	----
acetona	42,2	65,7			
Correlação	r^a	n^b	Correlação	r^a	n^b
E_T MID vs.$E_T(30)$	0,7467	9	E_T BLC vs.$E_T(30)$	0,8226	10
E_T MID vs.Z	0,1864	12	E_T BLC vs.Z	0,8981	7
E_T MIH vs.$E_T(30)$	0,9323	10	E_T BLD vs.$E_T(30)$	0,8840	13
E_T MIH vs.Z	0,8600	10	E_T BLD vs.Z	0,9277	11
E_T BLA vs.$E_T(30)$	0,8605	11	E_T BLH vs.$E_T(30)$	0,4063	12
E_T BLA vs.Z	0,7927	6	E_T BLH vs.Z	0,2007	11

^a coeficiente de correlação. ^b n^0 de pontos

Em função das melhores correlações com E_T (30) e Z , os valores de E_T (MIH) e (BLD) obtidos, foram comparados com outros valores de escalas empíricas de polaridade de solvente, visando buscar correlações entre os mesmos.

A Tabela 40 mostra as escalas escolhidas para as referidas correlações e a Tabela 41 indica os resultados.

Tabela 40: Valores utilizados das escalas empíricas de polaridade para os solventes estudados.

Solvente	Ω^a	S^b	Py^c	π^*d	$\beta(HBA)^e$	$\alpha(HBD)^f$	$E_T(26)^g$	\mathcal{A}_N^h	ϕ^i	χ_R^j	χ_B^k
MeOH	0,830	0,0499	1,35	0,60	0,62	0,93	50,8	16,210	0,285	43,1	63,0
EtOH	0,749	0	1,18	0,54	0,77	0,83	46,9	16,030	0,255	43,9	60,4
1BuOH	----	-0,0240	1,06	0,47	0,88	0,79	45,0	16,018	----	44,5	56,8
2-PrOH	----	-0,0413	----	0,48	0,95	0,76	40,4	15,973	0,190	44,5	56,1
CH₃CN	0,703	-0,1039	1,79	0,95	0,31	0,19	41,4	15,666	0,135	45,7	53,7
DMSO	----	----	1,95	1,00	0,76	0,00	----	15,692	0,115	----	----
DMF	0,620	-0,1416	1,81	0,88	0,69	0,00	----	15,635	0,135	43,7	51,5
acetona	0,616	-0,1748	1,64	0,71	0,48	0,08	37,9	15,527	----	45,7	50,1
1,2-DiClEt	0,604	-0,151	1,46	0,81	0,00	0,00	----	15,655	----	----	----
CH₂Cl₂	----	-0,1890	----	----	----	----	----	15,752	----	44,9	47,5
CHCl₃	----	-0,20	1,25	0,58	0,00	0,44	36,1	15,863	0,950	44,2	----
AcOEt	----	-0,21	1,37	0,55	0,45	0,00	35,4	----	----	47,2	----
dioxana	----	-0,179	1,50	0,55	0,37	0,00	34,2	15,452	0,115	48,4	----
benzeno	----	-0,215	1,05	0,59	0,10	0,00	33,2	15,404	0,020	46,9	----
tolueno	----	-0,237	1,04	0,54	0,11	0,00	33,0	15,347	----	47,2	41,7

^a Ref. 54 e 55; ^b Ref. 55; ^c Ref. 43, 44; ^d Ref. 38, 39; ^e Ref. 40, 41; ^f Ref. 39; ^g Ref. 55; ^h Ref. 32, 36; ⁱ Ref.: 32; ^j Ref. 56; ^k Ref. 56.

Tabela 41: Correlações entre as escalas empíricas de polaridade obtidas para o composto mesoiônico BLD e o sal MIH.

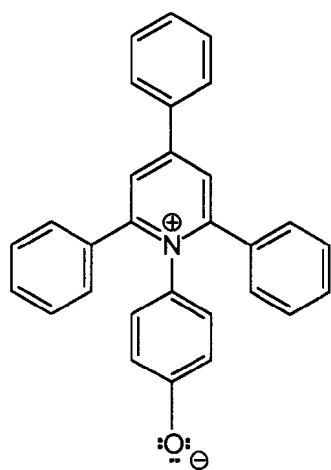
Correlação	r	n	Correlação	r	n
$E_T(26)$ vs. E_T BLD	0,9272	10	$E_T(26)$ vs. E_T MIH	0,7950	9
S vs. E_T BLD	0,9387	10	S vs. E_T MIH	0,9046	9
\mathcal{A}_N vs. E_T BLD	0,7849	11	\mathcal{A}_N vs. E_T MIH	0,8480	7
X_R vs. E_T BLD	-0,9047	9	X_R vs. E_T MIH	-0,9254	9
X_B vs. E_T BLD	0,8792	8	X_B vs. E_T MIH	0,9237	8
Py vs. E_T BLD	0,8927	9	Py vs. E_T MIH	0,9719	7
α (HBD) vs. E_T BLD	0,7500	6	Ω vs. E_T MIH	0,8838	5
β (HBA) vs. E_T BLD	0,7826	11			

As escalas E_T (26), S, X_R , X_B e Py foram as que apresentaram melhores correlações com as escalas E_T (BLD) e E_T (MIH).

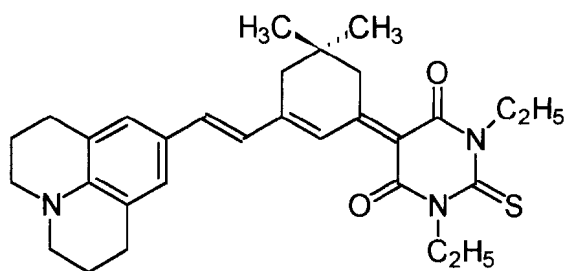
A similaridade do parâmetro utilizado pelas escalas E_T (26), X_R e X_B , além das E_T (30) e Z, ou seja, a energia de transição resultante da transferência de carga entre o estado fundamental e o excitado, indicou-o como mais significativo para nossas sondas de polaridade.

É interessante observar que apesar da utilização do mesmo parâmetro, as sondas empregadas apresentam estruturas bastante diferentes, ou

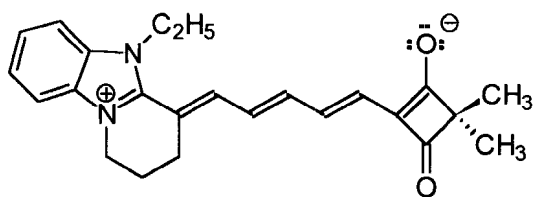
seja, a betaína 4-(2,4,6-trifenilpiridino)-2,6-difenilfenóxido (35a) para a escala E_T (30), as merocianinas⁵⁶ (ácido 1,3-dietil-5-[5-(2,3,6,7-tetraidro-1H,5H-benzo[*ij*]-quinolizin-9-il)-1,3-neopentileno-2,4-pentadienilideno]-2-tiobarbitúrico (37) e 4-[5-(5-etil-3-metil-1,2,3,5-tetraidropirido[1,2-*a*]benzimidazolil)-2,4-pentadienilideno]-2,2-dimetil-1,3-ciclobutanediona (38)), para as escalas X_R e X_R respectivamente, e o iodeto de 1-etil-4-metoxycarbonil-piridínio³⁵ (34) para a escala *Z* (Figura 59), apresentando, no entanto, grande capacidade de deslocalização eletrônica.



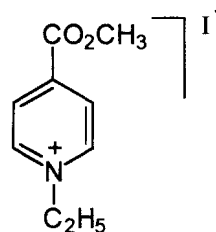
35a



37



38



34

FIGURA 61: Estruturas das sondas de polaridade empírica para solventes.

A escala S (escala de Browstein⁵⁵) foi obtida à partir das equações 6 e 7, utilizando o etanol e o iodeto de 1-etil-4-carbometoxi-piridínio (34) como solvente padrão e sonda, respectivamente, escolhidos arbitrariamente.

$$SR = \log (k_{\text{solv}}/k_{\text{EtOH}}) \quad (6)$$

onde: k = velocidade da reação ou

= constante de equilíbrio ou

= função do deslocamento espectral

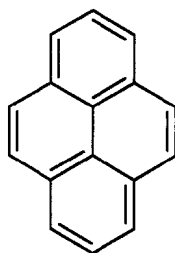
S = constante do solvente

R = constante de sensibilidade de uma reação ao efeito do solvente

$$SR = \frac{\tilde{\nu}_{\text{max solv.}} - \tilde{\nu}_{\text{max EtOH}}}{\tilde{\nu}_{\text{max EtOH}}} \quad (7)$$

A escala S envolve indiretamente o parâmetro Z^{35} , que por sua vez está fundamentado na variação de energia por transferência de carga, daí a correlação significativa com BLD e MIH.

No caso da escala py^{43} , a mesma utiliza a razão entre as intensidades das bandas (I_3/I_1) de fluorescência do pireno (39), que também está relacionada com a energia de transferência de carga, levando assim à correlações mais significativas.

**39**

4.3 AVALIAÇÃO DA QUIMIOSENSIBILIDADE

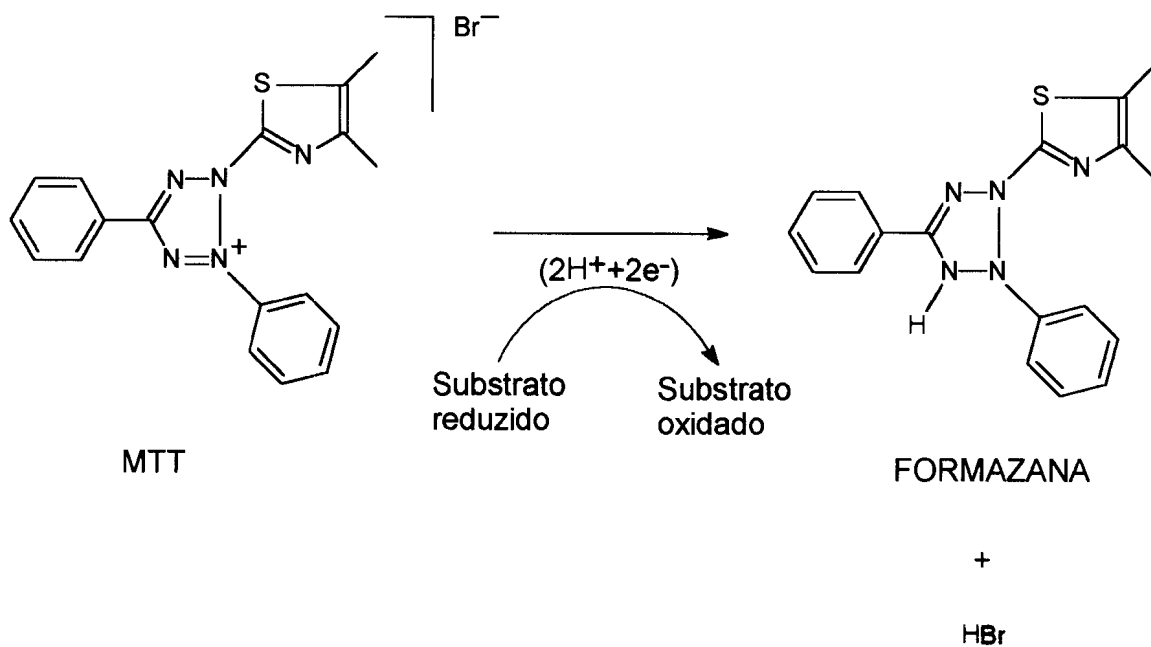
4.3.1 Ensaio Colorimétrico (*in vitro*)

Visando obter dados de sobrevivência celular, optamos pelo método de Mosmann⁵⁷, por envolver ensaios relativamente rápidos, quantitativos e de fácil execução.

O método Mosmann baseia-se na utilização de um substrato sem cor (ou de cor pouco intensa), que é modificado em produto colorido (ou de cor mais intensa) frente somente a células viáveis, sendo quantificado espectrofotometricamente.

Neste sentido escolheu-se como substrato o sal tetrazólio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), que quantifica a atividade de várias desidrogenases mitocondriais, através de sua redução originando uma formazana.

O MTT é um agente oxidante passando de coloração amarelo-pálido, em solução aquosa, para violáceo-marrom quando reduzido à formazana. A alteração molecular do acceptor artificial de elétrons, após a redução, é mostrada abaixo.



A concentração de formazana formada é medida através de espectroscopia na região do visível e a determinação da absorbância, a $\lambda=570$ nm, é diretamente proporcional ao número de células viáveis. O Gráfico 4 mostra esta proporcionalidade.

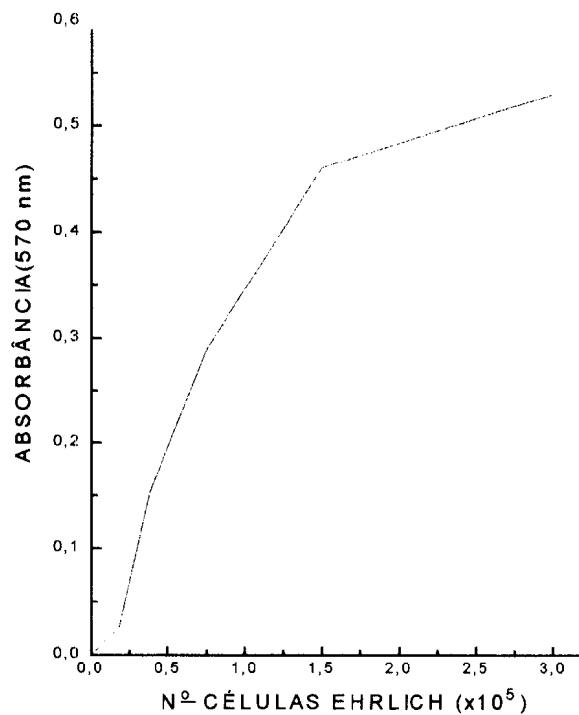
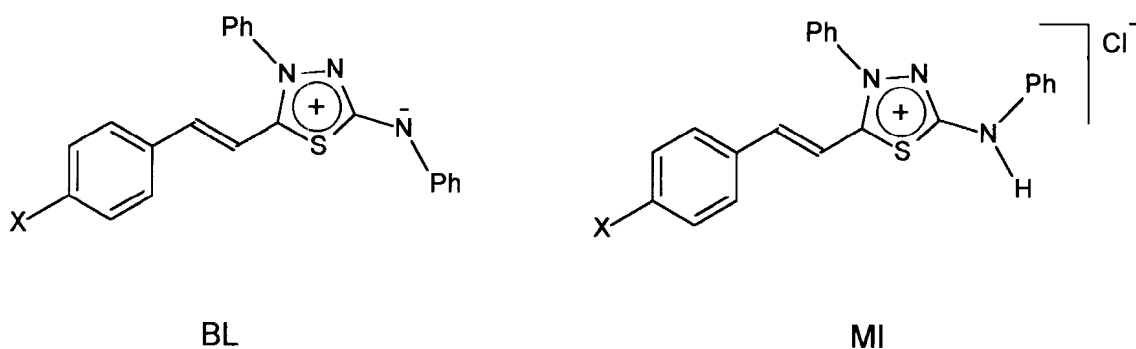


GRÁFICO 4: Absorbância obtida com MTT frente a células de Ehrlich.

As drogas ensaiadas foram os compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas e seus respectivos cloridratos.



X = H	BLA	MIA
MeO	BLC	MIC
NO ₂	BLD	MID

O tumor utilizado foi o carcinoma de Ehrlich, na forma ascítica, mantido em camundongos SW ou em camundongos singênicos C57BL/10 e C3H de ambos os sexos por transplantes semanais por via intraperitoneal, Figura 60.



FIGURA 62: Foto dos camundongos com tumor de Ehrlich (esquerda) e normal (direita)

Células ascíticas (5×10^5) de carcinoma de Ehrlich obtidas de camundongos portadores do tumor com 7 a 9 dias de crescimento, foram mantidas em cultura prévia de uma passagem pelo menos antes do início da experiência. Os ensaios foram feitos em microplacas em meio RPMI 1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino, 50 μM de 2-mercaptoetanol, 100 IU/ml de penicilina e 100 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomicina, na ausência ou presença de doses crescentes da droga em estudo.

As drogas foram dissolvidas em DMSO. A concentração final em DMSO foi ajustada à 0,3% para os ensaios com células tratadas e controle.

As culturas foram mantidas em atmosfera de 5% de CO_2 à 37°C por 24 horas. A seguir as culturas foram incubadas por 3 horas com 10 μl de solução de MTT (5mg/ml), dissolvido em salina tamponada com fosfato de sódio a pH=7,2 e posteriormente solubilizadas em isopropanol acidificado. Após alguns minutos realizou-se a leitura da absorbância à 570 nm em espectrofotômetro.

Os ensaios foram realizados em quadruplicata e indicaram boa reprodutibilidade.

Os valores de IC_{50} (inibição de 50% do crescimento das células tumorais) foram obtidos à partir das curvas de % de inibição do crescimento das células tumorais contra o log das doses da droga ensaiada. O Gráfico 5 ilustra a determinação do IC_{50} para a droga BLD.

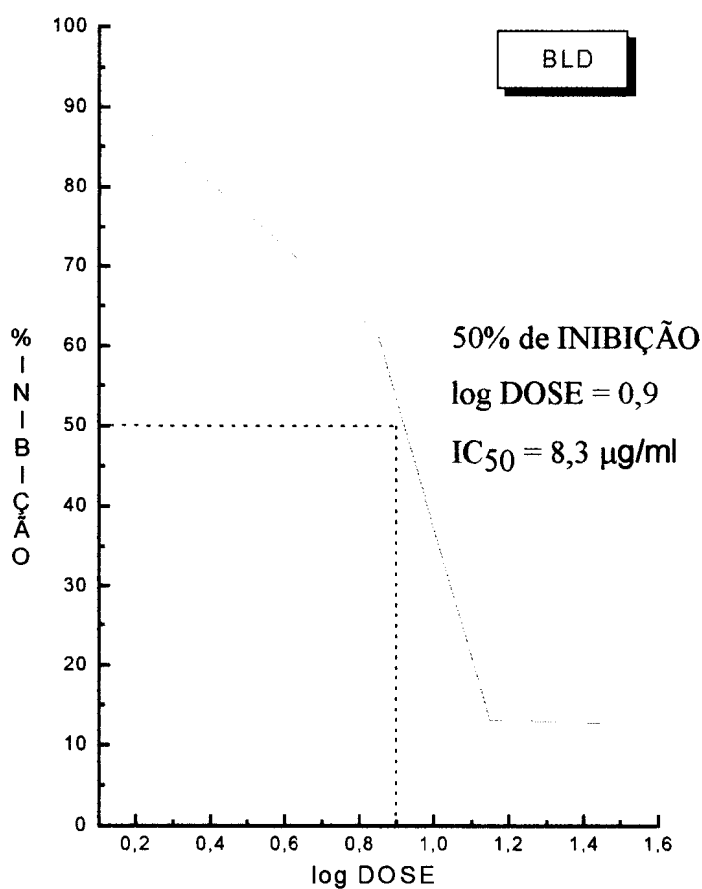


GRÁFICO 5: Determinação do valor de IC_{50} para o BLD frente a células tumorais de Ehrlich.

Os valores de IC_{50} para os compostos ensaiados estão apontados na Tabela 42.

Tabela 42: Valores de IC_{50} para os compostos mesoiônicos e seus respectivos sais frente à células tumorais de Ehrlich.

Drogas	IC_{50}	
	$\mu\text{g/ml}$	μM
BLA	4,9	13,8
BLC	6,2	16,1
BLD	8,3	20,7
MIA	7,0	17,9
MIC	14,4	34,1
MID	3,4	7,8

Os valores de IC_{50} obtidos, mostram que todos os compostos apresentaram-se citotóxicos contra o carcinoma de Ehrlich na faixa de concentração ensaiada, sendo que o MID exibiu a melhor atividade anti-tumoral, Gráfico 6.

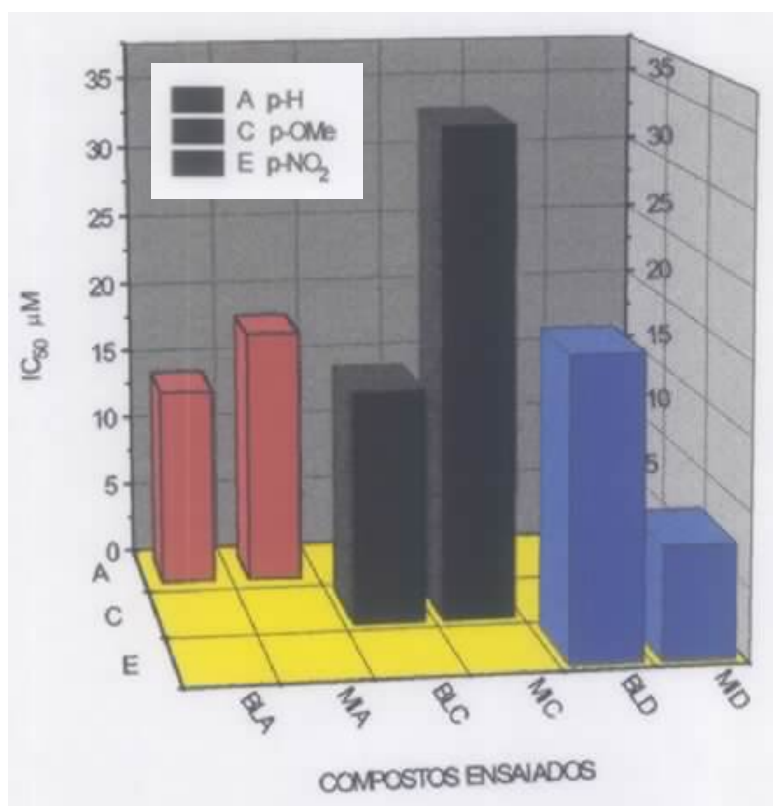


GRÁFICO 6: Compostos ensaiados frente a células do carcinoma de Ehrlich.

Em trabalho recente²⁸ relatamos a significativa atividade anti-tumoral *in vivo* (%T (tratados)/C (controle) = 176, para dose total de 25mg/Kg [%T/C ≥ 125 significativo]) para o composto MID (sal, X=NO₂). Comparando com os resultados obtidos no ensaio colorimétrico, para a droga MID, observamos correlação entre o efeito *in vivo* (pag.18) e *in vitro* com o mesmo tipo de células tumorais.

4. 4 DETERMINAÇÃO DOS VALORES DOS pK_a (s)

Os valores de pK_a (s) foram obtidos para os sais dos compostos mesoiônicos empregando-se o método espectrofotométrico⁵⁰, através da utilização da equação 5. A aplicação da equação foi realizada considerando o valor de A_{B^-} (absorção da base livre) igual ao valor da absorção no maior valor de pH e A_{BH^+} (absorção do sal) igual a absorção obtida no menor valor de pH.

$$pK_a = pH + \log [(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)] \quad (5)$$

onde, A = absorção para cada pH determinado

A_{B^-} = absorção da base livre

A_{BH^+} = absorção do sal

As Tabelas 43-49 mostram os pH (s) e os respectivos valores das variações de absorvância obtidas na região do UV/Vis e, dos logaritmos das razões entre essas variações.

Tabela 43: Dados obtidos para o sal MIA ($A_{B^-} = 0,257$; $A_{BH^+} = 0,717$).

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,3	0,460	0,00	----
3,6	0,452	0,008	1,750
4,3	0,417	0,043	0,987
6,2	0,377	0,083	0,657
8,0	0,341	0,119	0,457
9,3	0,028	0,432	-1,19
9,7	0,026	0,434	-1,22
10,5	0,024	0,436	-1,26
11,2	0,00	0,460	----

Tabela 44: Dados obtidos para o sal MIB ($A_{B^-} = 0,207$; $A_{BH^+} = 0,791$)

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,6	0,584	0,00	----
3,9	0,572	0,012	1,68
4,3	----	----	----
5,2	0,568	0,016	1,55
6,2	0,550	0,034	1,21
7,2	0,527	0,057	0,97
8,0	0,449	0,135	0,52
9,6	0,072	0,512	-0,85
10,5	0,043	0,541	-1,10
11,1	0,00	0,584	----

Tabela 45: Dados obtidos para o sal MIC ($A_{B^-} = 0,304$; $A_{BH^+} = 0,958$)

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,4	0,654	0,00	----
3,7	0,651	0,003	2,34
4,2	0,650	0,004	2,21
5,0	0,642	0,012	1,73
6,2	0,640	0,014	1,67
7,8	0,572	0,082	0,436
8,3	0,393	0,261	0,178
9,3	0,114	0,540	-0,68
9,7	0,056	0,598	-1,03
10,4	0,014	0,640	-1,66
11,0	0,00	0,654	----

Tabela 46: Dados obtidos para o sal MID ($A_{B^-} = 0,228$; $A_{BH^+} = 0,436$)

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,3	0,280	0,00	----
3,6	0,205	0,003	1,83
4,3	0,199	0,009	1,34
5,1	0,193	0,015	1,11
6,1	0,185	0,023	0,905
7,1	0,158	0,050	0,50
8,0	0,083	0,125	-0,18
9,6	0,028	0,180	-0,81
10,5	0,022	0,186	-0,93
11,2	0,00	0,208	----

Tabela 47: Dados obtidos para o sal MIE ($A_{B^-} = 0,183$; $A_{BH^+} = 0,595$)

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,5	0,412	0,00	----
3,8	0,411	0,001	2,61
4,3	0,401	0,011	1,56
5,4	0,392	0,020	1,29
6,2	0,388	0,024	1,21
7,2	0,365	0,047	0,890
8,0	0,337	0,075	0,653
9,4	0,067	0,345	-0,712
9,7	0,031	0,381	-1,090
10,5	0,008	0,404	-1,703
11,1	0,00	0,412	----

Tabela 48: Dados obtidos para o sal MIF ($A_{B^-} = 0,163$; $A_{BH^+} = 0,562$).

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,5	0,399	0,00	----
3,8	0,397	0,002	2,30
4,3	0,372	0,027	1,14
5,2	0,352	0,047	0,874
6,1	0,359	0,040	0,953
8,0	0,251	0,148	0,229
8,2	0,158	0,241	-0,183
8,6	0,076	0,323	-0,628
9,0	0,025	0,374	-1,17
9,5	0,016	0,383	-1,38
10,4	0,011	0,388	-1,55
11,1	----	0,399	----

Tabela 49: Dados obtidos para o sal MIG ($A_{B^-} = 0,171$; $A_{BH^+} = 0,486$).

pH	$A - A_{B^-}$	$A_{BH^+} - A$	$\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$
3,5	0,315	0,00	----
3,8	0,306	0,009	1,53
4,4	0,294	0,021	1,15
5,5	0,257	0,058	0,647
6,2	0,288	0,027	1,028
7,2	0,244	0,071	0,536
8,0	0,203	0,112	0,258
9,7	0,037	0,278	-0,876
10,5	0,007	0,308	-1,64
11,2	0,00	0,315	----

Foram então construídos os gráficos de $\log(A - A_{B^-}) / (A_{BH^+} - A)$ versus pH para os sais mesoiônicos, que apresentaram características lineares, levando em consideração as extrapolações envolvidas. Com isso, aplicando-se o tratamento de regressão linear, obtivemos os respectivos pK_a (s), os quais estão expressos na Tabela 50.

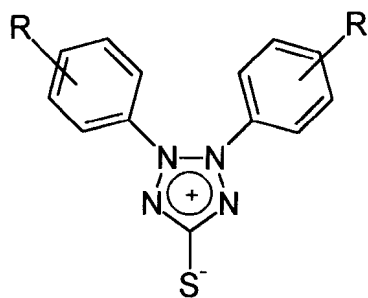
Tabela 50: Valores de pK_a (s) para os sais dos compostos mesoiônicos.

Sais	X	n ^a	pK_a	r ^b	d ^c
MIA	H	7	3,21	-0,9519	0,415
MIB	CH ₃	7	3,88	-0,9606	0,342
MIC	OMe	9	4,78	-0,9820	0,2998
MID	NO ₂	8	3,23	-0,9908	0,1480
MIE	F	9	4,53	-0,9642	0,3980
MIF	Cl	10	3,94	-0,9612	0,3700
MIG	CN	8	3,32	-0,9658	0,3010

^a n = número de pontos ^b r = coeficiente de correlação ^c d = desvio padrão

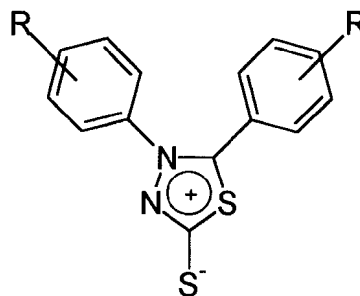
Os sais dos compostos mesoiônicos apresentaram-se como sendo ácidos fracos, tendo em vista que a variação dos pK_a (s) ficou na faixa de 3,22 a 4,78.

Estes valores estão de acordo com os resultados descritos por Kiwan & Wanas⁵⁸, que ao investigarem o equilíbrio de protonação de cinco compostos da série 2,3-diaril-2H-tetrazólio-5-tiolato (40) e seis da série 1,3,4-tiadiazólio-2-tiolato (41), obtiveram valores de pK_{BH^+} (mesoiônico protonado) nas faixas de 1,73 a 2,10 (para os tetrazólios) e de 2,02 a 3,02 (para os tiadiazólios).



40

- a; R = 3-Me
- b; R = H
- c; R = 4-F
- d; R = 3-F
- e; R = 2-Cl



41

- a; R = 2-MeO
- b; R = 4-Me
- c; R = H
- d; R = 4-F
- e; R = 3-Cl
- f; R = 4-Cl

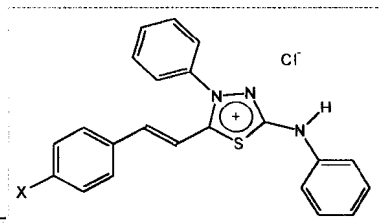
Os valores dos $pK_a(s)$ foram correlacionados com as constantes dos substituintes (σ_p), gerando a equação:

$$pK_a = (1,86 \pm 0,84) - (0,43 \pm 0,21) \cdot \sigma_p$$

onde, $r = -0,6710$ e $d = 0,33$ para $n = 7$, indicando uma correlação pouco satisfatória. Este resultado levou-nos a considerar a provável correlação com as constantes duais dos substituintes (σ_I e σ_R), onde a separação dos efeitos eletrônicos, indutivo e ressonância, poderia contribuir com o esclarecimento da relação do pK_a com o efeito dos substituintes.

A Tabela 51 mostra os valores dos $pK_a(s)$ e das constantes dos substituintes utilizados nas correlações.

Tabela 51: Valores dos pK_a (s) obtidos e as constantes dos substituintes.



Sais	X	pK_a	σ_I^a	σ_R^a	σ_P^b
MIA	H	3,21	0,00	0,00	0,00
MIB	CH ₃	3,88	-0,01	-0,16	-0,17
MIC	OMe	4,78	0,30	-0,58	-0,28
MID	NO ₂	3,23	0,67	0,10	0,78
MIE	F	4,53	0,54	-0,48	0,06
MIF	Cl	3,94	0,47	-0,25	0,22
MIG	CN	3,32	0,57	0,08	0,70

^a ref. 59.

^b ref. 60.

Os valores dos $pK_a(s)$ foram então correlacionados com σ_I e σ_R , separadamente, mostrando boa correlação para σ_R . Este resultado indicou a dependência linear do pK_a com o efeito de ressonância do grupo substituinte, afetando assim a acidez do próton exocíclico ao anel heterocíclico. Isto também foi confirmado pela regressão múltipla, considerando as duas constantes duais (σ_I e σ_R), que indicou a maior contribuição do efeito de ressonância.

As equações 8 e 9 mostram as correlações obtidas.

$$pK_a = (1,42 \pm 0,12) - (0,42 \pm 0,03) \cdot \sigma_R \quad (8)$$

onde: $r = -0,9865$

$$d = 0,048$$

$$n = 7$$

$$pK_a = (3,36 \pm 0,086) + (0,15 \pm 0,17) \cdot \sigma_I - (2,34 \pm 0,19) \cdot \sigma_R \quad (9)$$

onde: $r = 0,9885$

$$d = 0,12$$

$$n = 7$$

CONCLUSÃO

V - CONCLUSÃO

Considerando os diversos aspectos envolvendo os compostos heterocíclicos estudados neste trabalho, podemos concluir:

1. A metodologia utilizada para a síntese dos cloridratos dos mesoiônicos e posteriormente as bases livres, da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas, baseou-se na reação de acilação anidra das tiossemicarbazidas e os correspondentes cloretos de ácido cinâmico substituídos, sendo os sais obtidos tratados com base, posteriormente. Esta metodologia mostrou-se eficiente, fornecendo produtos com bons rendimentos (65-90 %) e alto grau de pureza, após recristalização. Os derivados MIH, BLA, BLC, BLD e BLH ainda não foram descritos na literatura.

2. A caracterização dos produtos obtidos, através de técnicas espectroscópicas de rotina, mostrou-se em concordância com as estruturas propostas.

3. A determinação dos valores de $pK_a(s)$ para os cloridratos dos mesoiônicos da classe estudada, indicou natureza moderadamente ácida ($pK_a \sim 3-4$) e na faixa de outros mesoiônicos já estudados na literatura. A correlação entre os valores de $pK_a(s)$ e as constantes dos substituintes (σ , σ_I e σ_R) mostrou maior contribuição do efeito de ressonância na acidez desses compostos.

4. A análise dos espectros de RMN ^{13}C dos mesoiônicos mostrou de maneira geral, deslocamentos químicos com menores valores, ou seja, os carbonos apresentaram efeito de blindagem, quando comparados aos respectivos cloridratos. Este fato indicou o aumento da densidade de carga negativa no átomo de nitrogênio exocíclico e sua deslocalização, principalmente no anel heterocíclico e no anel da cadeia lateral.

5. O estudo de solvatocromismo indicou os derivados BLD e MIH, como sendo mais adequados à utilização como sondas de polaridade, permitindo a construção de novas escalas que correlacionaram satisfatoriamente com as descritas na literatura. O estudo indicou também, o parâmetro transferência de carga, através da variação da energia de transição do estado fundamental e o excitado, na região do ultra-violeta, como mais relevante na construção da escala. Além disso, através das comparações, pôde-se observar que os compostos BLD e MIH não constituíram melhores escalas do que a $E_T(30)$ de Reichardt, mostrando entretanto a necessidade de variarmos a estrutura na busca de melhores resultados.

6. A avaliação da quimiosensibilidade frente à células do tumor de Ehrlich, utilizando o método colorimétrico de Mosmann, mostrou que os 6 compostos ensaiados foram citotóxicos, indicando uma promissora atividade anti-tumoral que deverá ser investigada *in vivo* em trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fischer, E. and Besthorn, E., *Ann.*, **212**, 316 (1882).
2. Besthorn, E. and Ibele, J., *Ber.*, **37**, 1236 (1904).
3. Newton, C. G. and Ramsden, C. A., *Tetrahedron*, **38**, 2965 (1982).
4. Earl, J. C. and Mackney, A. W., *J. Chem. Soc.*, 899 (1935).
5. Schönberg, A., *J. Chem. Soc.*, 824 (1938).
6. Kier, L. B. and Roche, E. B., *J. Pharm. Sci.*, **56**, 2, 149 (1967).
7. Simpson, J. C. and., *J. Chem. Soc.*, 95 (1946).
8. Baker, W. and Ollis, W. D., *Quart. Rev.*, **11**, 15 (1957).
9. Huisgen, R., *Chem. Soc. Spec. Publ.*, **21**, 51 (1967).
10. Sato, M. and Ujiie, S., *Chemistry Citation Index*, jan-dec (1996).

11. Moura, G. L. C.; Simas, A., e Miller, J., “ Mesoionic Rings as efficient Bridges for the Design of Compounds with Large Optical Nonlinearities”, 2nd Conference on Molecular Modeling, 26-28/1994, Rio de Janeiro(RJ).
12. Edward, J. T. and Sheffler, R. H., *ACS/CSJ Chemical Congress*, Abstract ORGN-168. Honolulu, Hawaii (1979).
13. Ollis, W. D.; Stanforth, S. P. and Ramsden, C. A., *Tetrahedron*, **41**, 2239 (1985).
14. Echevarria, A.; Cheung, K.-K.; Galembeck, S.; Maciel, M. A. M.; Miller, J.; Runjanek, V. M. and Simas, A. M., *Acta Cryst.*, **48**, 1471 (1992).
15. Echevarria, A. and Miller, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1425 (1989).
16. Araki, S.; Mizuya, J.; Aoyama, N. and Butsugan, Y., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, Iss 16, 1989 (1995).
17. Ollis, W. D. and Ramsden, C. A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 633 (1974).
18. Ollis, W. D. and Ramsden, C. A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1222 (1971).
19. Montanari, C. A.; Sandall, J. P. B.; Miyata, Y. and Miller, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2571 (1994).

20. Echevarria, A.; Galembeck, S.; Maciel, M. A. M.; Miller, J.; Runjanek, V. M.; Montanari, C. A.; Sandall, J. P. B and Simas, A. M., *Heterocyclic Comm.*, **1**, nov. 2-3, 129 (1995).
21. Cawkill, E.; Ollis, W. D.; Ramsden, C. A. and Rowson, G. P., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 439 (1976).
22. Montanari, C. A.; Sandall, J. P. B.; Miyata, Y.; Kyian, N. Z. and Miller, J., *Química Nova*, **16**, 5, 404 (1993).
23. Ernst, S. and Schulze, K., *J. Heterocyclic Chem.*, **33**, 203 (1996).
24. Stewart, T. G. and Kier, L. B., *J. Pharm. Sci.*, **54**, 731 (1965).
25. Grynberg, N.; Gomes, R.; Schinzato, T.; Echevarria, A. and Miller, J., *Anticancer Research*, **12**, 1025 (1992).
26. Schinzato, T.; Grynberg, N.; Gomes, R.; Echevarria, A. and Miller, J., *J. Med. Sci. Res.*, **17**, 865 (1989).
27. Hiremath, U. S.; Yelamaggad, C. V.; Badami, B. V. and Puranik, G. S., *J. Chem. Research(s)*, 502 (1994).
28. Grynberg, N.; Santos, A. C. and Echevarria, A., *Anticancer Drugs*, **8**, 88 (1997).
29. XV Congresso Brasileiro de Parasitologia 26 - 30 de outubro-1997.
30. Berthelot, M. and Saint-Gilles, C. P., *Ann. Chem. Phys.*, **65**, 385 (1862).

31. Menschutkin, N., *Z. Phys. Chem.*, **5**, 589 (1890).
32. Reichardt, C., *Atualidades de Físico-Química Orgânica*, 120 (1989).
33. Reichardt, C., *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 2nd ed.; Cambridge, New York-NY; VCH, 285 (1990).
34. Brooker, L. G. S.; Keyes, G. H. and Heseltine, D. W., *J Am. Chem. Soc.*, **73**, 5350 (1951).
35. Kosower, E. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3253 (1958).
36. Dimroth, K.; Reichardt, C.; Siepmann, T. and Bohlmann, F., *Liebigs Ann. Chem.*, **661**, 1 (1963).
37. Reichardt, C., *Chem. Soc. Rev.*, **21**, 147 (1992).
38. Reichardt, C. and Schöfer, G., *Liebigs Ann.*, 1579 (1995).
39. Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. and Taft, R. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 18, 6027 (1977).
40. Kamlet, M. J.; Abboud, J. L.; Abraham, M. H. and Taft, R. W., *J. Org. Chem.*, **48**, 2877 (1983).
41. Kamlet, M. J. and Taft, R. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 2, 377 (1976).
42. Minesinger, R. R.; Jones, M. E.; Taft, R. W. and Kamlet, M. J., *J. Org. Chem.*, **42**, 11, 1929 (1977).
43. Knauer, B. R. and Napier, J. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 15, 4395 (1976).

44. Dong, D. C. and Winnik, M. A., *Photochem. Photobiol.*, **35**, 17 (1982).
45. Dong, D. C. and Winnik, M. A., *Can. J. Chem.*, **62**, 2560 (1984).
46. (a) Reichardt, C., *Atualidades de Físico-Química Orgânica*, 1 (1993).
- (b) Rezende M. C., *Tetrahedron*, **44**, 3513 (1988).
- (c) Zalewski, R. I.; Adanczevska, I. and Reichardt, C., *J. Chem. Res.*, 280 (1990).
- (d) Taft, R. W.; Pienta, N. J.; Kamlet, M. J. and Arnett, E. M., *J. Org. Chem.*, **46**, 661 (1981).
- (e) Hyatt, J. A., *J. Org. Chem.*, **49**, 5097 (1984).
- (f) Zachariasse, K. A.; Phuc, N. V. and Kozankiewics, B., *J. Phys. Chem.*, **85**, 2676 (1981).
- (g) Langhals, H., *J. Chim.*, **5**, 97, 511 (1981).
- (h) Ref. 33.
- (i) e (j) Johnson, B. P.; Gabrielsen, B.; Matulenko, M.; Dorsey, J. G. and Reichardt, C., *Anal. Lett.*, **19**, 939 (1986).
47. Vogel, A. I., *Química Analítica Qualitativa*, Mestre Jou, 48 (1981).
48. Higuchi, T. and Davis, S. S., *J. Pharm. Sci.*, **59**, 1376 (1970).
49. Kubinyi, H., *Curso de QSAR-IQ/USP* (1990).

50. Almendral, F. C., *Espectroscopia Ultravioleta y Visible*, Ed. Alhambra S. A.; 2^a ed., 149 (1970).
51. Santos, A. C. S., Tese de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica-UFRRJ (1992).
52. Aldrich, *Catalog Handbook of Fine Chemicals*, (1993).
53. Maciel, M. A. M., *Química Nova*, no Prelo.
54. Berson, I. A., Hamlet, Z. and Mueller, W. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 297 (1962).
55. Herbrandson, H. F. and Neufeld, F. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **31**, 1140 (1966).
56. Brooker, L. G. S.; Craig, A. C.; Heseltine, D. W. and Lincoln, L. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 2443 (1965).
57. Mosmann, T., *J. Immunological Methods*, **65**, 55 (1983).
58. Kiwan, A. M. and Wanas, G. A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1534 (1981).
59. Charton, M., *Progress in Organic Physical Chemistry*, 119 (1991).
60. Martin, Y. M., *Quantitative Drug Design-A Cristal Introduction (Marcel Dekker), Inc.*, 376 (1979).