



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE, UTILIZANDO METODOLOGIAS ALTERNATIVAS, E
AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE COMPOSTOS MESOIÔNICOS DA
CLASSE 1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDA**

CAMILLA MORETTO DOS REIS

2008



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

SÍNTESE, UTILIZANDO METODOLOGIAS ALTERNATIVAS, E
AValiação CITOTÓXICA DE COMPOSTOS MESOIÔNICOS DA
CLASSE 1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDA

CAMILLA MORETTO DOS REIS

Sob orientação da Professora

Aurea Echevarria Aznar Neves Lima

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

Seropédica, RJ

Abril de 2008

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

CAMILLA MORETTO DOS REIS

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 04 / 04 / 2008



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



Dr^a Alice Maria Rolim Bernardino (Instituto de Química – UFF)



Dr. Marco Edilson Freire de Lima (Departamento de Química – UFRRJ)

Dr. Marcelo Genestra (Departamento de Imunologia – FIOCRUZ)

547

R375s

T

Reis, Camilla Moretto dos, 1980-
Síntese, utilizando metodologias
alternativas, e avaliação
citotóxica de compostos mesoiônicos
da classe 1,3,4- tiadiazólio-2-
amida/ Camilla Moretto dos Reis -
2008.

136f. : il.

Orientador: Áurea Echevarria
Aznar Neves Lima.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Instituto de Ciências
Exatas.

Bibliografia: f. 76-81.

1. Química orgânica - Teses. 2.
Síntese orgânica - Teses. 3.
Compostos heterocíclicos- Teses. 4.
Ultra-som - Teses. 5. Irradiação. I
Lima, Áurea Echevarria Aznar Neves,
1950- . II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Instituto
de Ciências Exatas. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/_____

**A DEUS, o meu socorro bem
presente na hora das angústias, em
quem eu posso sempre confiar.**

**Eu sei em quem tenho crido e sei que
ELE é poderoso para fazer
infinitamente mais do que tudo que
um dia pedi ou pensei.**

**Aos meus pais, Sebastião e
Aparecida, pela oportunidade,
incentivo e apoio.**

**Ao meu amado esposo Dyego pela
compreensão, dedicação, confiança e
amor.**

AGRADECIMENTOS

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

À Professora Aparecida Cayoco Ponzoni, por ter sido a primeira a acreditar em mim, no início do curso de graduação, e por ter me concedido o privilégio de conhecer a Professora Áurea.

À minha segunda mãe Sônia (sogra), que esteve sempre disposta a me ajudar durante esses anos, principalmente com um delicioso jantar depois de um longo dia de trabalho.

Ao amigo Cláudio Eduardo, pela ajuda, paciência e companhia no lanche da tarde.

A amiga Ana Paula pela amizade sincera e pelas orações.

Aos amigos e companheiros de laboratório Kenia, André, Myrtes, Patrícia, Andressa, Amanda Fraga, Amanda Esteves, Aline e Márcio pela amizade e companheirismo nos anos de trabalho.

As amigas Andréa Rosane e Regina, pela ajuda, conselhos e incentivo.

Aos professores Mário Geraldo, João Batista, Marco Edilson, Carlos Maurício, Rosane e todos os outros pertencentes ao Curso de Pós-Graduação que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação acadêmica.

À Dra Juliana Echevarria-Lima (UFRJ), pelos ensaios biológicos realizados.

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

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

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Sistemas heterocíclicos mesoiônicos do tipo A.....	4
Tabela 2: Sistemas heterocíclicos mesoiônicos do tipo B.....	7
Tabela 3: Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos obtidos via irradiação de microondas.....	36
Tabela 4: Rendimentos e pontos de fusão dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina e dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina preparados via metodologia tradicional.....	38
Tabela 5: Rendimentos e pontos de fusão dos compostos mesoiônicos.....	38
Tabela 6: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de microondas e cloreto de tionila.....	40
Tabela 7: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de microondas e cloreto de trimetil silano.....	41
Tabela 8: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de ultra-som e cloreto de tionila.....	42
Tabela 9: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de ultra-som e cloreto de trimetil silano.....	43
Tabela 10: Rendimento dos ácidos cinâmicos obtidos via irradiação de microondas e pela metodologia tradicional.....	54
Tabela 11: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional e irradiação de microondas com cloreto de tionila como ácido de Lewis.....	58
Tabela 12: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional e irradiação de microondas com SOCl ₂ e TMS-Cl como ácido de Lewis.....	60
Tabela 13: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional, irradiação de microondas e irradiação de ultra-som com SOCl ₂ como ácido de Lewis.....	63
Tabela 14: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional, irradiação de microondas e irradiação de ultra-som com SOCl ₂ e TMS-Cl como ácido de Lewis.....	64
Tabela 15: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais característicos de RMN ¹³ C para os sais mesoiônicos.....	67
Tabela 16: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais característicos de RMN ¹³ C para os mesoiônicos na forma de base livre.....	68

Tabela 17: Valores de IC₅₀ (μM) para as células Daudi e K562.....73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Reação de cicloadição 1,3-dipolar do 2,4-difenil-3-metil-1,3-oxadiazólio-5-olato...	3
Figura 2: Reação de abertura de anel da deidroditizona.....	3
Figura 3: Síntese de mesoiônico utilizando <i>N</i> -tioacilidrazinas e dicloretos de isocianetos de arila.....	10
Figura 4: Síntese de mesoiônico utilizando cloretos de ácido e tiossemicarbazidas substituídas.....	11
Figura 5: Síntese de mesoiônico utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida.....	11
Figura 6: Síntese de mesoiônico utilizando <i>N</i> -alquil- <i>N</i> -tioacetil hidrazinas com isotiocianatos acil-substituídos.....	12
Figura 7: Síntese de mesoiônico utilizando dibromodiazabutadienos substituídos e <i>N</i> -tiobenzoil hidrazinas, também substituídas.....	12
Figura 8: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de microondas.....	18
Figura 9: Adição de Michael com irradiação de microondas.....	19
Figura 10: Preparação de lactama assistida por microondas.....	19
Figura 11: Reação de redução em forno de microondas.....	20
Figura 12: Síntese de amida assistida por irradiação de microondas.....	20
Figura 13: Síntese de derivados de 1,4-diidropiridinas assistida por irradiação de microondas.....	20
Figura 14: Síntese de derivados de imidazol assistida por irradiação de microondas.....	21
Figura 15: Reação de trans-esterificação assistida por irradiação de microondas.....	22
Figura 16: Reação de desprotonação do dimetilsulfóxido com irradiação de ultra-som.....	24
Figura 17: Reação do brometo de benzila com cianeto de potássio assistido por irradiação de ultra-som e por agitação mecânica.....	25
Figura 18: Reação de alquilação do indol com irradiação de ultra-som.....	25
Figura 19: Reação de preparação do intermediário organoalumínio assistida por ultra-som.....	26
Figura 20: Hidrólise alcalina de éster com irradiação de ultra-som.....	26
Figura 21: Síntese de derivados 1,5-benzodiazepínicos utilizando irradiação de ultra-som.....	27
Figura 22: Reação de ciclopropagação utilizando zinco metálico como catalisador assistida por irradiação de ultra-som.....	27

Figura 23: Aparelho de ultra-som utilizado neste trabalho.....	43
Figura 24: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido benzóico devidamente substituído utilizando a metodologia tradicional.....	52
Figura 25: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido cinâmico devidamente substituído utilizando a metodologia tradicional.....	53
Figura 26: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos cloretos de ácidos.....	55
Figura 27: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais precursores dos mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida nas condições tradicionais.....	56
Figura 28: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do benzaldeído devidamente substituído utilizando as metodologias alternativas.....	57
Figura 29: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do cinamaldeído devidamente substituído utilizando as metodologias alternativas.....	57
Figura 30: Polarização da molécula da água com o campo magnético	58
Figura 31: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando SOCl ₂ como ácido de Lewis.....	60
Figura 32: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando TMS-Cl como ácido de Lewis.....	62
Figura 33: Estrutura geral dos cloridratos e dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.....	65
Figura 34: Estruturas gerais e numeradas dos cloridratos mesoiônicos sintetizados.....	68
Figura 35: Estruturas gerais e numeradas dos mesoiônicos sintetizados.....	69
Figura 36: Estrutura químicas dos compostos mesoiônicos testados.....	70
Figura 37: Efeito do composto mesoiônico 24 sobre as células Daudi nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias.....	71
Figura 38: Efeito do composto mesoiônico 24 sobre a linhagem K562 nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias.....	72
Figura 39: Atividade citotóxica do composto 24 sobre células HL60.....	73

ÍNDICE DE ANEXOS

Espectro de IV do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	83
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	84
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	85
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	86
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	87
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	88
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	89
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	90
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	91
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	92
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-difenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	93
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-difenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	94
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	95
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	96
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4- tiadiazólio-2-fenilamina.....	97
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	98
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	99
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio- 2-fenilamina.....	100
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4- tiadiazólio-2-fenilamina.....	101

Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	102
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	103
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	104
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	105
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	106
Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	107
Espectro de RMN ¹ H do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	108
Espectro de RMN ¹³ C do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	109
Espectro de IV do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.....	110
Espectro de RMN ¹ H do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	111
Espectro de RMN ¹³ C do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	112
Espectro de IV do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	113
Espectro de RMN ¹ H do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	114
Espectro de RMN ¹³ C do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	115
Espectro de IV do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	116
Espectro de RMN ¹ H do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	117
Espectro de RMN ¹³ C do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.....	118

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

Cat.	Catalisador
CCF	Cromatografia de camada fina
céls/mL	Células por mililitro
d	dupleto
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EBV	Vírus Epstein-Barr
Ph	fenil
GHz	Gigahertz
IC ₅₀	Concentração inibitória de 50% das células viáveis
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
MTT	Brometo de 3,4,5-dimetiazol-2,5difeniltetrazol
m	multipleto
MeOD	Metanol deuterado
MO	Microondas
N	Normal (Unidade de Concentração)
n.o.	Não observado
Pf	Ponto de fusão
Py	Piridina
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrognio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s	simpleto
TMS	Tetrametilsilano
TMS-Cl	Cloreto de Trimetil Silano
v/v	Porcentagem volume por volume (Unidade de Concentração)
WHO	World Health Organization
	Deslocamento químico
v	Estiramento
)))	Ultra-som

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Compostos Mesoioônicos	1
1.1.1	Histórico e estrutura	1
1.1.2	A classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	8
1.1.3	Síntese de mesoioônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	10
1.1.4	Atividade biológica dos compostos mesoioônicos	13
1.2	Novas Metodologias para a Síntese Orgânica	16
1.2.1	Uso de microondas em síntese orgânica	18
1.2.1.1	Tipos de forno de microondas utilizados na síntese orgânica	23
1.2.2	Uso do ultra-som em síntese orgânica	24
1.3	O Câncer	28
1.3.1	Leucemias	29
1.3.2	Linfomas	29
2	OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS	31
2.1	Objetivos Específicos	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Material	33
3.1.1	Equipamentos	33
3.1.2	Reagentes e solventes	33
3.2	Metodologia Sintética	35
3.2.1	Síntese dos intermediários	35
a)	Preparação da 1,4-difeniltiossemicarbazida	35
b)	Preparação dos ácidos 4-X-cinâmicos utilizando irradiação em forno de microondas	35
c)	Preparação dos cloretos de ácido benzóico substituídos	36
3.2.2	Síntese dos compostos mesoioônicos: Metodologia clássica	37
a)	Preparação dos cloridratos mesoioônicos	37
b)	Preparação dos compostos mesoioônicos	38
3.2.3	Síntese dos compostos mesoioônicos: Metodologias alternativas a partir de aldeídos substituídos	39

3.2.3.1	Preparação dos cloridratos mesoiônicos utilizando microondas	39
a)	Utilizando como ácido de Lewis cloreto de tionila (SOCl ₂)	39
b)	Utilizando como ácido de Lewis cloreto de trimetil silano (TMS-Cl)	40
3.2.3.2	Preparação dos cloridratos mesoiônicos utilizando ultra-som	41
a)	Utilizando como ácido de Lewis cloreto de tionila (SOCl ₂)	41
b)	Utilizando como ácido de Lewis cloreto de trimetil silano (TMS-Cl)	42
3.3	Dados espectrométricos para os mesoiônicos sintetizados	44
i)	Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	44
ii)	Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	44
iii)	Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	45
iv)	Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	45
v)	Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	46
vi)	Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	46
vii)	Cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	47
viii)	Cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	48
ix)	Cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina	48
x)	4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida	49
xi)	4-Fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida	49
xii)	4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida	50
3.5	Ensaio Biológico	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1	Síntese dos Cloridratos Mesoiônicos Utilizando a Metodologia Tradicional	52
4.1.1	Preparação dos intermediários	53
4.1.2	Preparação dos cloridratos mesoiônicos	55
4.1.3	Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclicização	55
4.2	Preparação dos Cloridratos Mesoiônicos Utilizando Metodologias Alternativas	56
4.2.1	Metodologia via irradiação de microondas	58
a)	Preparação dos cloridratos mesoiônicos via irradiação de microondas usando SOCl ₂ como ácido de Lewis	59
b)	Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclicização utilizando SOCl ₂	60
c)	Preparação dos cloridratos mesoiônicos via irradiação de microondas usando TMS-Cl como ácido de Lewis	61
d)	Proposta do mecanismo para a síntese dos sais mesoiônicos utilizando TMS-Cl	62

4.2.2	Metodologia via irradiação de ultra-som	63
a)	Usando SOCl_2 como ácido de Lewis	63
b)	Usando TMS-Cl como ácido de Lewis	64
4.3	Preparação dos Mesoioônicos na forma de suas bases livres	65
4.4	Análise Espectroscópica	66
4.4.1	Infravermelho	66
4.4.2	RMN ^1H e RMN ^{13}C	66
4.5	Atividade Biológica	70
4.5.1	Ação citotóxica dos compostos mesoioônicos e seus cloridratos na linhagem Daudi	71
4.5.2	Ação citotóxica do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) na linhagem de leucemia K562	72
4.5.3	Ação citotóxica do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) na linhagem de leucemia HL60	73
4.5.4	Comparação do efeito do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) sobre as células K562 e Daudi	73
5	CONCLUSÕES	75
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
7	ANEXOS	82

RESUMO

Os compostos mesoiônicos apresentam estruturas especiais que proporcionam diferentes possibilidades para a síntese de novas substâncias heterocíclicas, além de possibilitar interações com biomoléculas, tais como o DNA e proteínas, fatores importantes que contribuem para explicar suas variadas atividades biológicas.

Nos dias atuais as demandas por processos sintéticos mais limpos e eficientes têm sido consideradas muito relevantes, devido especialmente aos aspectos ambientais. Assim, neste trabalho de dissertação foram sintetizados precursores dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, na forma de cloridratos, utilizando a metodologia tradicional, que envolveu a reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiossemicarbazida na presença de cloretos de ácidos devidamente substituídos, e também utilizando duas metodologias alternativas.

Buscando adequar a síntese desses compostos aos princípios da Química Verde, os cloridratos mesoiônicos foram obtidos, também, por duas metodologias diferentes a partir da reação da 1,4-difeniltiossemicarbazida com o aldeído apropriado na presença de um ácido de Lewis e 1,4-dioxano como solvente orgânico. Nas duas metodologias fez-se uso de dois ácidos de Lewis diferentes, o cloreto de tionila (SOCl_2) e o cloreto de trimetil silano (TMS-Cl). O uso do aldeído e do ácido de Lewis visou à eliminação de uma etapa de reação em relação à metodologia tradicional, que utiliza o ácido carboxílico e a posterior preparação do cloreto de ácido. Uma das metodologias consistiu na irradiação por microondas dos reagentes por 5 minutos e na outra metodologia a irradiação dos reagentes foi feita por ultra-som durante 10 minutos.

O uso dessas novas metodologias proporcionou a síntese dos cloridratos mesoiônicos, 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas, em tempos de reação muito menores quando comparados a metodologia tradicional de 4 horas e de 5 minutos para o uso da irradiação de microondas, na ausência de solvente, e 10 minutos para o ultra-som, além da diminuição de uma etapa na reação, para os derivados do benzaldeído e duas etapas para os derivados do cinamaldeído. Todos os compostos obtidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, como Infravermelho, RMN ^1H e ^{13}C .

Foram avaliadas, também, as atividades citotóxicas de alguns dos mesoiônicos sintetizados nas linhagens leucêmicas humanas HL60 e K562 e na linhagem de linfoma Daudi, obtendo-se resultados bastante promissores e satisfatórios para um dos compostos ensaiados, o cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.

Palavras-chave: compostos mesoiônicos, 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, microondas e ultra-som.

ABSTRACT

Mesoionic compounds present special structures that allow several opportunities for new synthesis of heterocyclic compounds, besides the possibility of biomolecular interactions, such as DNA and proteins, which are very important factors that contribute to explain the diversified biological activities.

At present, a cleaner and more efficient synthetic process has been considered especially necessary in order to respect environmental issues. Thus, in this work the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide mesoionic class precursors were synthesized, as hydrochloride form using the traditional methodology through anydroacylation reaction of 1,4-diphenylthiosemicarbazide in the presence of substituted acid chlorides, and also by alternative methodologies.

Searching the adequate synthesis to meet the Green Chemistry concepts the mesoionic hydrochlorides were also obtained through two different methodologies from 1,4-diphenylthiosemicarbazide with the appropriate aldehyde in the presence of acid Lewis and 1,4-dioxane as organic solvent. Both methodologies used two different acid Lewis, the thionyl chloride (SOCl_2) and trimethylsilyl chloride (TMS-Cl). The use of aldehyde and acid Lewis aimed to eliminate one or two steps in relation to the traditional methodology, in which the carboxylic acid and, later, the chloride acid are prepared. One of the methodologies used the microwave irradiation of the reactants for 5 minutes, while the other used ultrasound irradiation for 10 minutes.

The use of these new methodologies allowed the mesoionic hydrochloride synthesis, 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamines, in better yields and lower reaction times when compared to the 4 hour traditional methodology; it took 5 minutes to microwave irradiation and solvent free conditions, and 10 minutes to ultrasound irradiation, in addition to the elimination of a step to benzaldehyde derivatives and two steps to cinnamaldehyde derivatives. All the compounds were characterized by spectroscopic techniques as NMR ^1H , ^{13}C and infrared.

Furthermore, the cytotoxic activities of some mesoionic compounds were evaluated against HL60 and K562 human leukemia lines, and Daudi lymphoma line, showing promising results, specially to 4-phenyl-5-(4'-nitro-estryl)-1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chloride derivative.

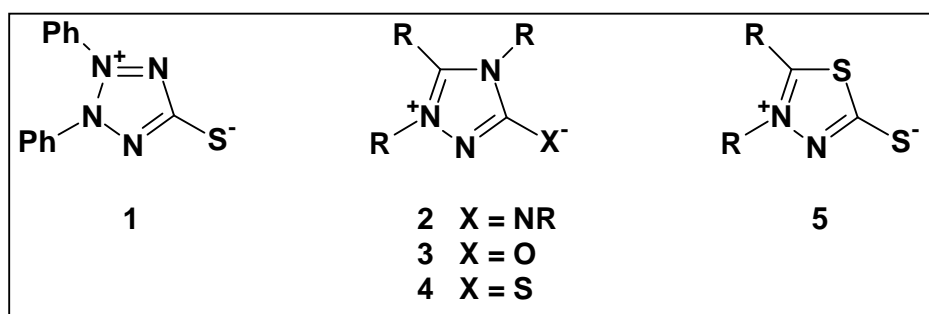
Key words: mesoionic compounds, 1,3,4- thiadiazolium-2-aminide, microwave and ultrasound.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Compostos Meso-iônicos

1.1.1 Histórico e estrutura

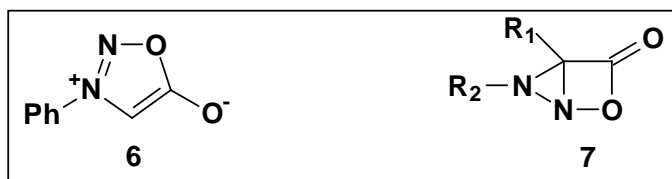
O primeiro composto meso-iônico (**1**) foi sintetizado em 1882 por Emil Fischer e Emil Besthorn (OLLIS *et al.*, 1985). Durante o período de 1895 a 1905, Max Busch, despertado pelo trabalho inicial de Fischer, descreveu a preparação e as propriedades químicas de alguns compostos meso-iônicos (**2-5**) (NEWTON & RAMSDEN, 1982).



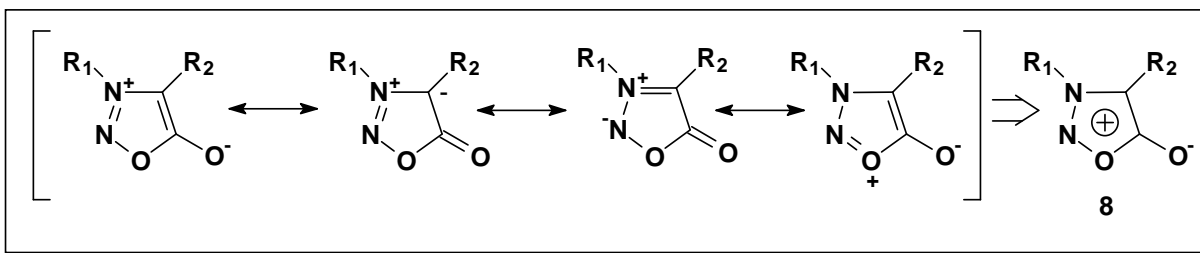
Em 1935, Earl e Mackney, sintetizaram o primeiro composto meso-iônico da classe das sidnonas (**6**), tendo esse nome por ter sido sintetizado pela primeira vez na cidade de Sidney, na Austrália (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

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

Em 1946, Baker e Ollis, propuseram que as sidnonas, até então com estrutura de β -lactamas (**7**), também fossem representadas como híbridos de ressonância das diversas formas canônicas possíveis (**8**) (KIER & ROCHE, 1967).



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



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

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

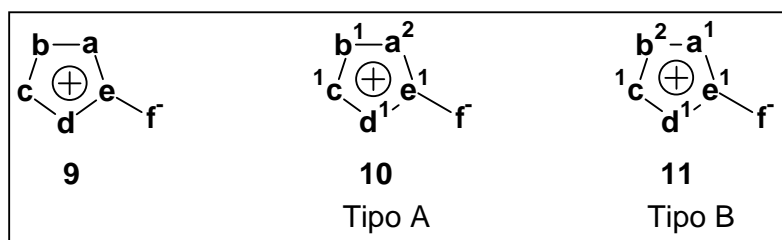
Em 1976 foi proposta por Ollis e Ramsden uma modificação nesta definição. O termo “mesoiônico” ficaria restrito a anéis heterocíclicos com cinco membros: “*um composto pode ser apropriadamente classificado como mesoiônico quando for constituído por um anel heterocíclico de cinco membros, o qual não pode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

Essa definição pode ser estendida a uma grande variedade de sistemas com anéis de 5-membros, totalizando 228 estruturas possíveis, sendo que o “conceito de mesoiônico” (mesomérico + iônico) pode ser extrapolado para anéis maiores e também condensados (OLLIS *et al.*, 1985).

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

Conforme definição, os compostos mesoiônicos são representados pela estrutura química genérica (9) onde **a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** podem ser: carbono, nitrogênio, oxigênio, enxofre e

selênio com seus respectivos substituintes (OLLIS & RAMSDEN, 1976; NEWTON & RAMSDEN, 1982). Esses compostos podem ser classificados em tipo A (**10**) e tipo B (**11**), de acordo com a natureza dos átomos que compõem o anel e com a origem dos elétrons π , onde os números sobrescritos correspondem ao número de elétrons com que cada átomo contribui para formar os orbitais π .



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

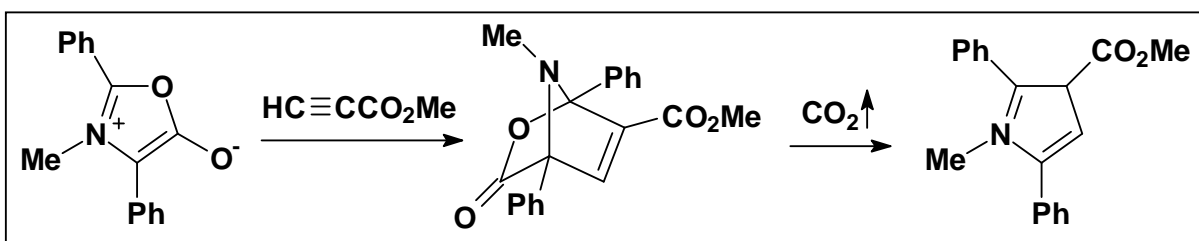


Figura 1: Reação de cicloadição 1,3-dipolar do 2,4-difenil-3-metil-1,3-oxadiazólio-5-olato (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Os compostos do tipo B apresentam uma característica importante, que é o fato de sofrerem abertura no anel, fornecendo o tautômero acíclico correspondente, conforme apresentado na figura 2. As tabelas 1 e 2 apresentam a relação dos sistemas heterocíclicos que fazem parte destas classes (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

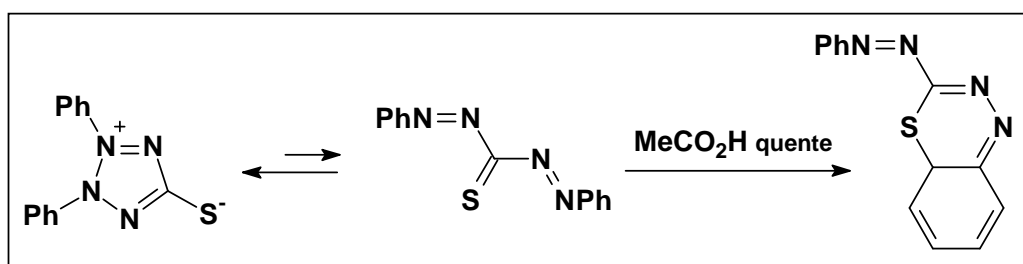


Figura 2: Reação de abertura de anel da deidroitizona (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Tabela 1: Sistemas heterocíclicos mesoiônicos do tipo A

SISTEMAS	ÁTOMOS ou GRUPOS					
	a	b	c	d	e	f
Oxazóis						
1,3-oxazol-4-olatos	NR	CR	O	CR	C	O
1,3-oxazol-5-olatos	O	CR	NR	CR	C	O
1,3-oxazol-5-aminidas	O	CR	NR	CR	C	NR
1,3-oxazol-4-aminidas	NR	CR	O	CR	C	O
Dioxóis						
1,3-dioxol-4-olatos	O	CR	O	CR	C	O
Diazóis						
1,3-diazol-4-olatos	NR	CR	NR	CR	C	O
1,3-diazol-4-aminidas	NR	CR	NR	CR	C	NR
1,3-diazol-4-tiolatos	NR	CR	NR	CR	C	S
1,3-diazol-4-metilidas	NR	CR	NR	CR	C	CXY ^a
Tiazóis						
1,3-tiazol-5-olatos	S	CR	NR	CR	C	O
1,3-tiazol-4-olatos	NR	CR	S	CR	C	O
1,3-tiazol-5-aminidas	S	CR	NR	CR	C	NR
1,3-tiazol-5-tionas	S	CR	NR	CR	C	S
1,3-tiazol-4-aminidas	NR	CR	S	CR	C	NR
Ditióis						
1,3-ditiol-4-olatos	S	CR	S	CR	C	O
1,3-ditiol-4-aminidas	S	CR	S	CR	C	NR
Oxadiazóis						
1,3,4-oxadiazol-2-olatos	O	CR	NR	N	C	O
1,3,4-oxadiazol-2-aminidas	O	CR	NR	N	C	NR
1,3,4-oxadiazol-2-tiolatos	O	CR	NR	N	C	S
1,3,4-oxadiazol-2-metilidas	O	CR	NR	N	C	CXY ^a
1,2,3-oxadiazol-5-olatos (sidnonas)	O	N	NR	CR	C	O
1,2,3-oxadiazol-5-aminidas	O	N	NR	CR	C	NR
1,2,3-oxadiazol-5-tiolatos	O	N	NR	CR	C	S

(continua)

Continuação da tabela 1

SISTEMAS	ÁTOMOS ou GRUPOS					
Oxatiazóis						
1,3,2-oxatiazol-5-olatos	O	N	S	CR	C	O
Triazóis						
1,2,3-triazol-4-olatos	NR	N	NR	CR	C	O
1,2,3-triazol-4-aminidas	NR	N	NR	CR	C	NR
1,2,3-triazol-4-tiolatos	NR	N	NR	CR	C	S
1,2,4-triazol-3-olatos	NR	CR	NR	N	C	O
1,2,4-triazol-3-aminidas	NR	CR	NR	N	C	NR
1,2,4-triazol-3-tiolatos	NR	CR	NR	N	C	S
1,2,4-triazol-3-metilidas	NR	CR	NR	N	C	CXY ^a
Tiadiazóis						
1,3,4-tiadiazol-2-olatos	S	CR	NR	N	C	O
1,3,4-tiadiazol-2-aminidas	S	CR	NR	N	C	NR
1,3,4-tiadiazol-2-tiolatos	S	CR	NR	N	C	S
1,3,4-tiadiazol-2-metilidas	S	CR	NR	N	C	CXY ^a
1,2,3-tiadiazol-4-olatos	NR	N	S	CR	C	O
1,2,3-tiadiazol-5-olatos	S	N	NR	CR	C	O
1,2,3-tiadiazol-5-aminidas	S	N	NR	CR	C	NR
1,2,3-tiadiazol-5-tiolatos	S	N	NR	CR	C	S
1,2,3-tiadiazol-5-metilidas	S	N	NR	CR	C	CXY ^a
1,2,4-tiadiazol-3-olatos	NR	CR	S	N	C	O
1,2,4-tiadiazol-3-aminidas	NR	CR	S	N	C	NR
Oxatriazóis						
1,2,3,4-oxatrizol-5-olatos	O	N	NR	N	C	O
1,2,3,4-oxatrizol-5-aminidas	O	N	NR	N	C	NR
1,2,3,4-oxatrizol-5-tiolatos	O	N	NR	N	C	S
Tetrazóis						
1,2,3,4-tetrazol-5-olatos	NR	N	NR	N	C	O
1,2,3,4-tetrazol-5-aminidas	NR	N	NR	N	C	NR
1,2,3,4-tetrazol-5-tiolatos	NR	N	NR	N	C	S
1,2,3,4-tetrazol-5-metilidas	NR	N	NR	N	C	CXY ^a
1,2,3,4-tetrazol-5-selenolatos	NR	N	NR	N	C	Se

Continuação da tabela 1

SISTEMAS	ÁTOMOS ou GRUPOS					
Tiatriazóis						
1,2,3,4-tiatriazol-5-olatos	S	N	NR	N	C	O
1,2,3,4-tiatriazol-5-aminidas	S	N	NR	N	C	NR
1,2,3,4-tiatriazol-5-tiolatos	S	N	NR	N	C	S
1,2,3,4-tiatriazol-5-metilidas	S	N	NR	N	C	CXY ^a
Oxatióis						
1,3-oxatiol-4-olatos	S	CR	O	CR	C	O
1,3-oxatiol-5-olatos	O	CR	S	CR	C	O
Selenazóis						
1,3-selenazol-4-olatos	NR	CR	Se	CR	C	O
Ditiadiazóis						
1,3,2,4-ditiadiazol-5-olatos	S	N	S	N	C	O
1,3,2,4-ditiadiazol-5-aminidas	S	N	S	N	C	NR

^a Nestes compostos o grupo f estabilizado é um resíduo do tipo carbânion estável. Os substituintes X e Y incluem CO₂Et, CN ou um resíduo fluorenilida.

Tabela 2: Sistemas heterocíclicos mesoiônicos do tipo B

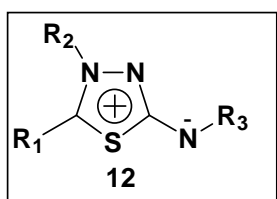
SISTEMAS	ÁTOMOS ou GRUPOS					
	a	b	c	d	e	f
Oxazóis						
1,2-oxazol-4-olatos	CR	O	NR	CR	C	O
1,2-oxazol-4-aminidas	CR	O	NR	CR	C	NR
Diazóis						
1,2-diazol-4-olatos	CR	NR	NR	CR	C	O
1,2-diazol-4-aminidas	CR	NR	NR	CR	C	NR
Tiazóis						
1,3-tiazol-4-olatos	CR	S	NR	CR	C	O
1,3-tiazol-4-aminidas	CR	S	NR	CR	C	NR
Ditióis						
1,2-ditiol-4-olatos	CR	S	S	CR	C	O
1,2-ditiol-4-tiolatos	CR	S	S	CR	C	S
Tiadiazóis						
1,2,5-tiadiazol-3-olatos	N	S	NR	CR	C	O
Tetrazóis						
1,2,3,4-tetrazol-5-olatos	N	NR	NR	N	C	O
1,2,3,4-tetrazol-5-aminidas	N	NR	NR	N	C	NR
1,2,3,4-tetrazol-5-tiolatos	N	NR	NR	N	C	S
1,2,3,4-tetrazol-5-metilidas	N	NR	NR	N	C	CXY ^a

^a Nestes compostos o grupo f estabilizado é um resíduo carbânion estável. Os substituintes X e Y incluem CO₂Et, CN ou um resíduo fluorenilida.

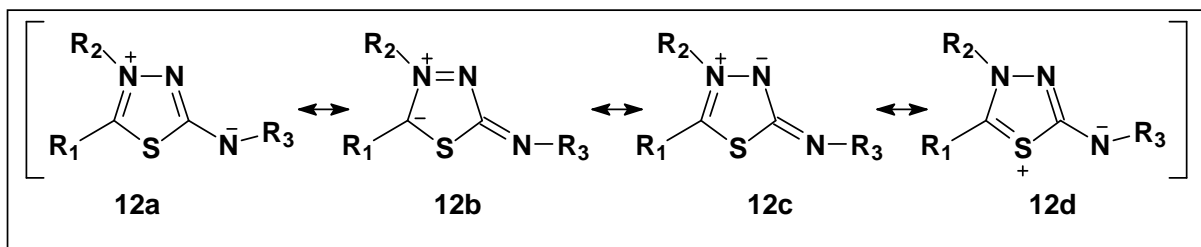
Neste trabalho de dissertação o sistema heterocíclico mesoiônico estudado foi o 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, sendo assim, esta classe de compostos será mais bem discutida a seguir.

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

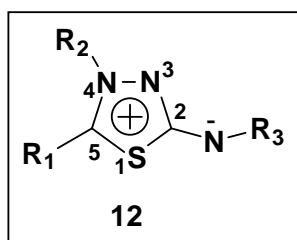
Os compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas (**12**), que são heterocíclios do tipo A, também são descritos como pertencentes ao grupo das betaínas, mais especificamente, a das betaínas mesoméricas heterocíclicas conjugadas. As betaínas mesoméricas são moléculas conjugadas que podem ser representadas por estruturas dipolares, em que as cargas positivas e negativas estão em conjugação mútua e associadas ao sistema de elétrons π (POTTS *et al*, 1978). Mas, assim como as sidnonas, a classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas também é representada por um híbrido de ressonância das diversas formas canônicas (GRYNBERG *et al*, 1997).



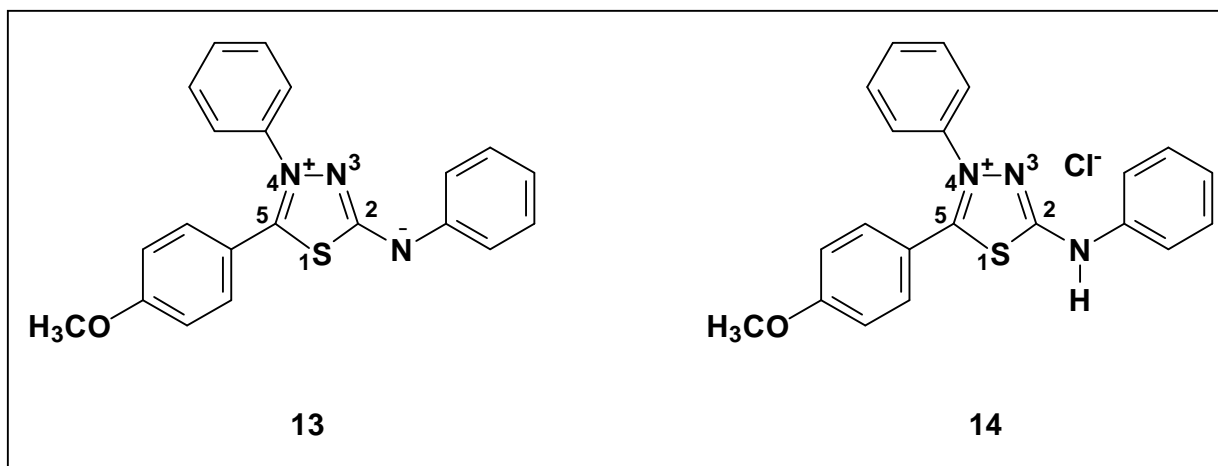
A aromaticidade desses compostos está associada a deslocalização dos elétrons, como mostrado nas estruturas de ressonância **12a** - **12d**. Em função de seu comportamento físico e químico, a aromaticidade desses compostos é variável e poderiam ser representados, também, como betaínas heteroaromáticas, como a estrutura geral **12**.



Os compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina, apresenta uma nomenclatura relativamente simples, no que diz respeito a numeração do anel heterocíclico. Nestes compostos há um átomo de enxofre, que recebe o número 1, obedecendo a seqüência de prioridade utilizada em compostos heterocíclicos: oxigênio, enxofre e nitrogênio (DA SILVA, 1997). A estrutura **12** ilustra a numeração adotada na literatura para esta classe de compostos.



Echevarria e colaboradores, em 1992, através de difração de raios-X e cálculos teóricos, estudaram o composto mesoiônico 4-fenil-5-(4'-metoxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (**13**) e seu cloridrato (**14**) (ECHEVARRIA *et al.*, 1992). Os resultados desses estudos sugeriram que em **13** e **14**, a carga positiva está associada com o átomo de N-4 e seu grupo fenila, enquanto a negativa formalmente localizada no átomo de N-exocíclico.



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

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

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

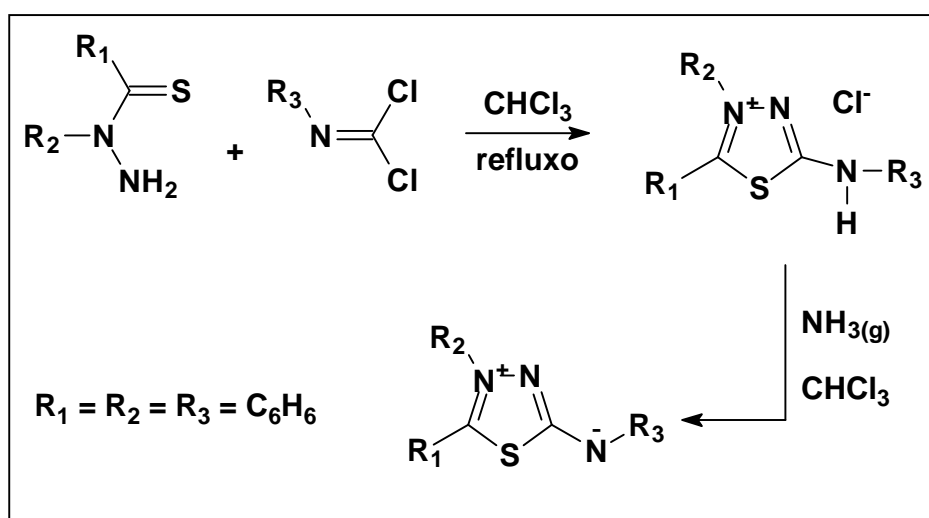


Figura 3: Síntese de mesoiônico utilizando *N*-tioacilidrazinas e dicloretos de isocianetos de arila (OLLIS & RAMSDEN, 1971).

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

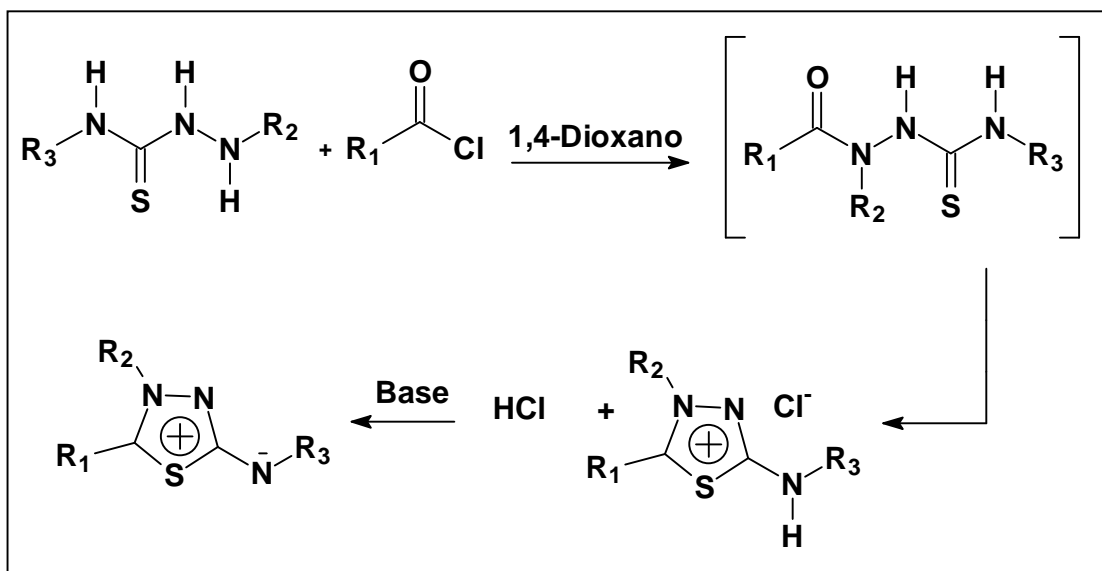


Figura 4: Síntese de mesoiônico utilizando cloretos de ácido e tiossemicarbazidas substituídas (MACIEL *et al.*, 1998).

Kappel relatou a síntese de derivados da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminidas utilizando, como produtos de partida, a 1,4-difeniltiossemicarbazida e aldeídos aromáticos, tratados com cloreto de trimetilsilano (KAPPEL *et al.*, 2004). A figura 3 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese.

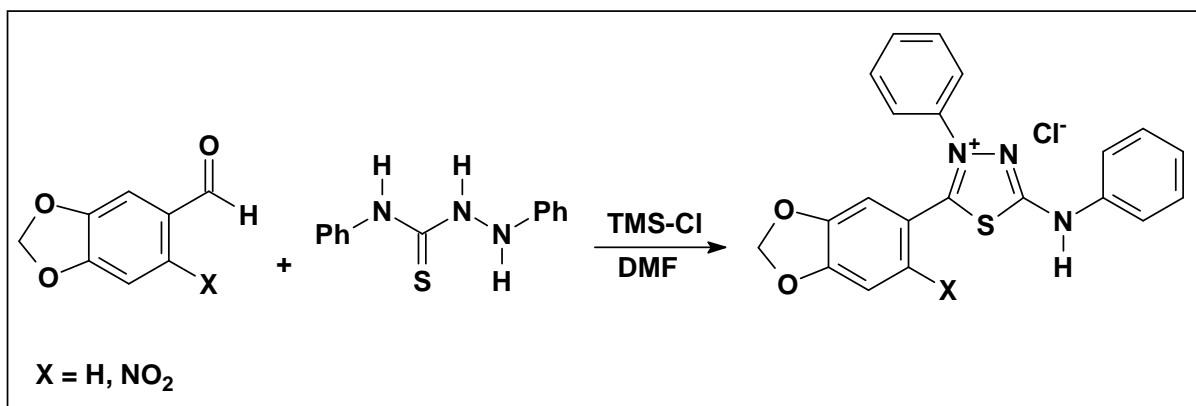


Figura 5: Síntese de mesoiônico utilizando aldeídos aromáticos e 1,4-difeniltiossemicarbazida (KAPPEL *et al.*, 2004).

Outra metodologia citada na literatura para a síntese de compostos mesoiônicos da classe em questão envolve a condensação de N-alkil-N-tioacetilidrazinas com isotiocianatos substituídos com grupos alquil ou benzil substituídos (NEWTON *et al.*, 1982). A figura 4 mostra um exemplo para a rota citada.

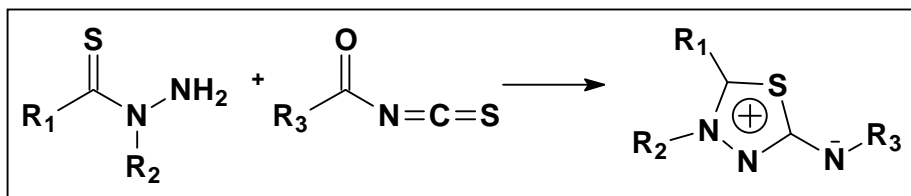


Figura 6: Síntese de mesoiônico utilizando N-alkil-N-tioacetilidrazinas com isotiocianatos substituídos com grupos alquil ou benzil substituídos (NEWTON *et al.*, 1982).

Há também na literatura a descrição de uma outra metodologia para a síntese de mesoiônicos da classe dos tiadiazólio-aminidas onde os produtos de partida são dibromodiazabutadienos substituídos e N-tiobenzoilidrazinas, também substituídas (NEWTON *et al.*, 1982). A figura 5 mostra as reações envolvidas nesta rota de síntese.

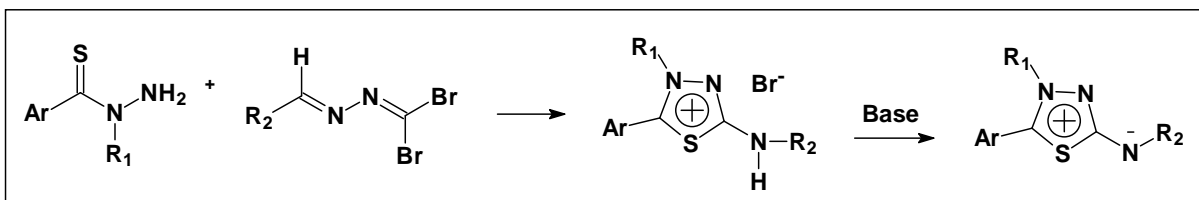


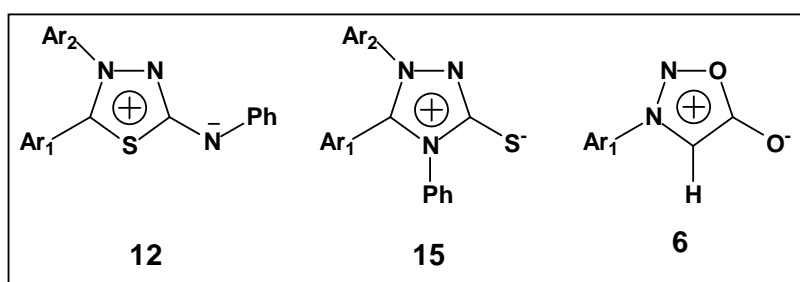
Figura 7: Síntese de mesoiônico utilizando dibromodiazabutadienos substituídos e N-tiobenzoilidrazinas, também substituídas (NEWTON *et al.*, 1982).

1.1.4 Atividade biológica dos compostos mesoiônicos

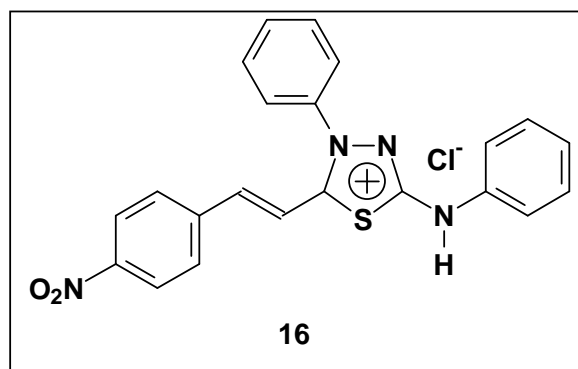
O grande potencial de atividade biológica apresentada pelos compostos mesoiônicos abre uma perspectiva interessante para a busca de novos fármacos para o tratamento de diversas doenças.

Os pesquisadores no campo da química medicinal possuem um considerável interesse nos compostos mesoiônicos devido a determinadas características estruturais que estes possuem. A atividade biológica desses compostos tem sido relacionada ao caráter aromático planar do anel heterocíclico, ao seu tamanho relativamente pequeno, à variação da densidade eletrônica em torno do anel e à possibilidade de diferentes padrões de distribuição eletrônica em função dos variados sistemas heterocíclicos. A estrutura dotada de carga positiva e negativa, bem separadas, possibilita a interação com várias biomoléculas, entre as quais os ácidos nucleicos e proteínas, fator este importante que contribui ao grande potencial desses compostos como agentes medicinais (NEWTON *et al.*, 1982; SHINZATO *et al.*, 1989).

Derivados da classe 1,3,4-triazólio-5-tiolato foram testados frente a fungos dermatófitos, bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras mostrando atividade bastante interessante, o que levou a ensaiar diferentes compostos mesoiônicos, das classes dos 1,3,4-triazólio-5-tiolatos (**15**), 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas (**12**) e 1,2,3-oxadiazólio-5-olatos (**6**, sidnonas) frente a células tumorais *in vitro* e *in vivo*. Os resultados obtidos foram bastante interessantes, sendo que foram observados a inibição do crescimento dos tumores ensaiados e o aumento significativo da sobrevivência dos animais tratados (ECHEVARRIA *et al.*, 1987; GRYNBERG *et al.*, 1992). Os tumores ensaiados foram: carcinoma de Ehrlich, Sarcoma 180, leucemia L1210 e o tumor B10MCII.

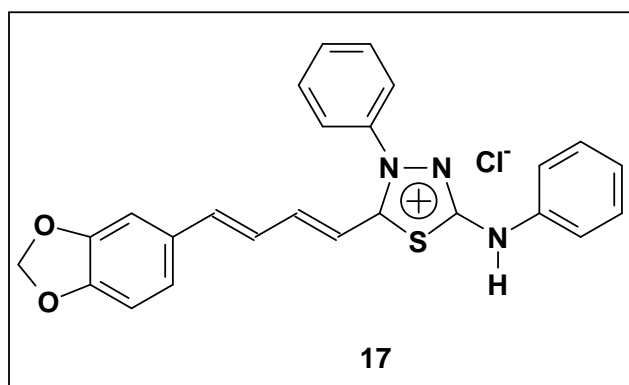


Estudos recentes apresentaram atividade significativa do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazolium-2-fenilamina (**16**) contra o modelo B16-F10 de melanoma murino. Este mesoiônico também apresentou consideráveis efeitos citotóxicos e anti-proliferativos em linhagens celulares de melanoma humano possibilitando o registro de patente em 2004. (SEFFF-RIBEIRO *et al.*, 2004).

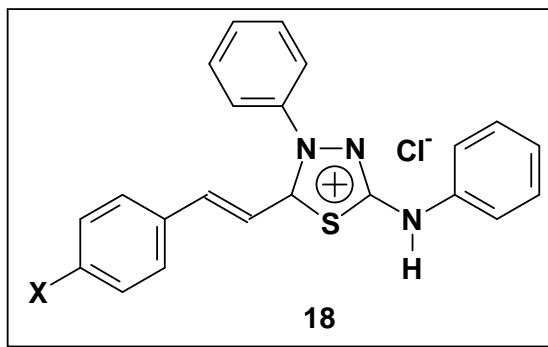


Recentemente, foi relatado, também, a ação antiparasitária significativa de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (**12**) frente aos parasitos causadores da leishmaniose, especificamente a *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania chagasi* (DA SILVA, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2007).

Além disso, Ferreira e colaboradores relatam, recentemente, significativa ação antiparasitária *in vivo* e *in vitro* do composto mesoiônico cloreto de 4-fenil-5-[4'-(3,4-metilenodioxifenil)-1(e)-3(e)-butadienil]-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**17**) frente ao *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da doença de Chagas (FERREIRA *et al.*, 2008).



Compostos heterocíclicos derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas-*para*-estiril-substituídos (**18**), na forma de seus cloridratos, foram também, recentemente testados frente as enzimas DNA topoisomerase I e topoisomerase II α , apresentando satisfatória ação inibitória (DA SILVA, 2007).



1.2 Novas Metodologias para a Síntese Orgânica

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

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

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

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

- I) O uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima;
- II) Aumento da eficiência de energia, ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto;
- III) Evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas.

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

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

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

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

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

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

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

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

Neste trabalho de dissertação foram utilizadas como metodologias alternativas de síntese a irradiação de microondas e de ultra-som, sendo assim, estas técnicas serão mais bem discutidas a seguir.

1.2.1 Uso de microondas em síntese orgânica

Nos dias atuais as demandas por processos sintéticos mais limpos e eficientes têm sido consideradas muito relevantes devido a aspectos ambientais, e uma condição reacional que parece bastante adequada em escala preparativa, consiste no uso de irradiação de microondas (MO) levando a aceleração de diversas reações. Neste sentido, devido à eficiência dos aparelhos de microondas em aquecer rapidamente meios reacionais, estes têm sido muito utilizados em diversas transformações orgânicas reduzindo seus tempos de realização, muitas vezes de dias e horas para minutos ou segundos (SILVA *et al.*, 2006).

Os primeiros relatos de reações orgânicas conduzidas em forno de microondas surgiram em 1986 em dois trabalhos independentes de Gedye e Guigere (SANSEVERINO, 2002). A figura 6 ilustra exemplos das primeiras reações assistidas por microondas.

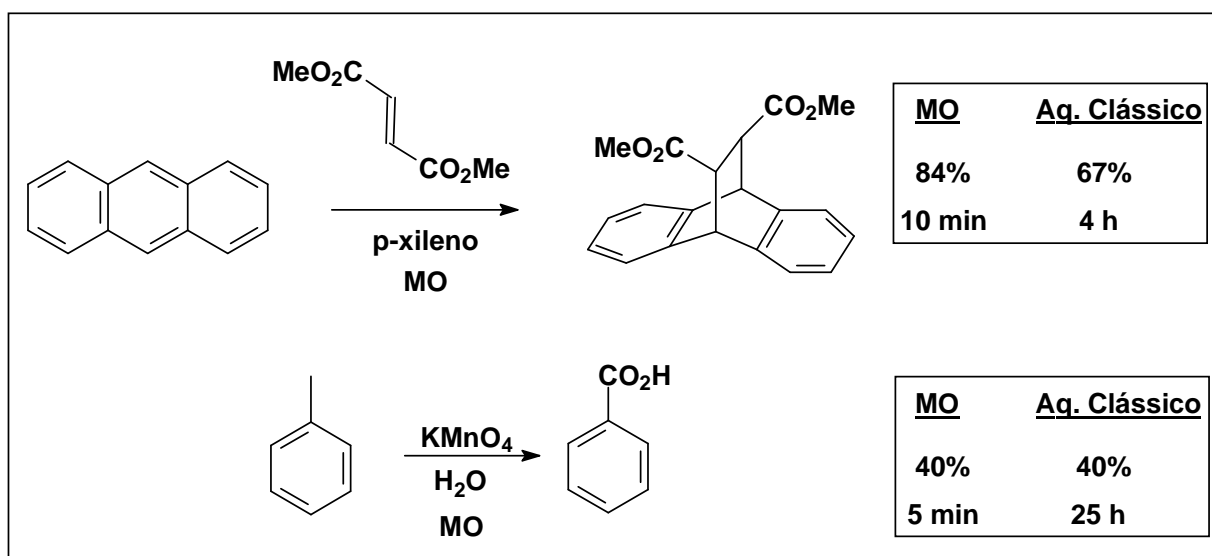


Figura 8: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de microondas (SANSEVERINO, 2002).

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

A reação de adição de Michael, também foi estudada em forno de microondas com resultados bastante interessantes (PERREUX & LOUPY, 2001). A figura 7 exemplifica a reação estudada.

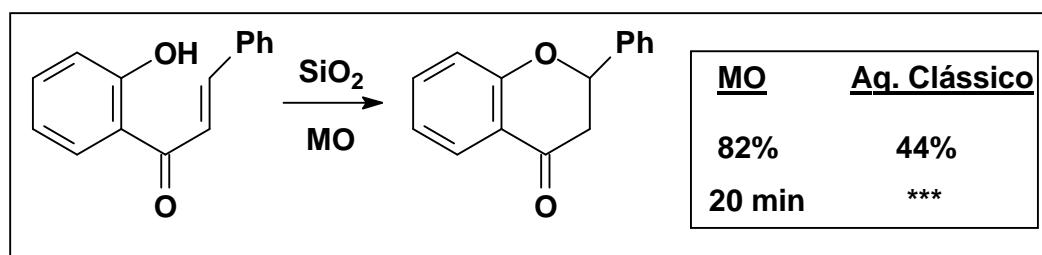


Figura 9: Adição de Michael com irradiação de microondas (PERREUX & LOUPY, 2001).

A preparação de lactamas via adição *in situ* de ceteno envolve uma reação que foi conduzida com irradiação por microondas em forno doméstico na presença de solvente, onde a respectiva lactama foi obtida, em um tempo reacional de apenas 5 minutos (BOSE *et al.*, 1991). As lactamas são substâncias que apresentam considerável importância sintética, principalmente na área farmacêutica, sendo assim, o método utilizando o forno de microondas para obtenção destas substâncias parece bastante atraente. A figura 8 mostra a síntese descrita por Bose.

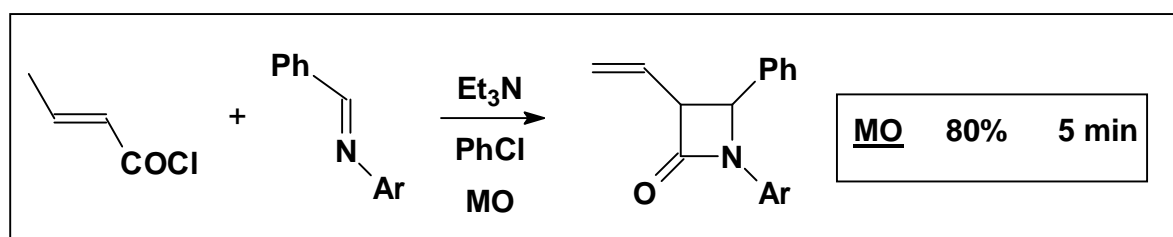


Figura 10: Preparação de lactama assistida por microondas (BOSE *et al.*, 1991).

Bose e colaboradores, também realizaram reações de redução em um forno de microondas doméstico não modificado, usando formiato de amônio, como doador de hidrogênio, e etilenoglicol como solvente (BOSE *et al.*, 1991). O procedimento, de acordo com os autores, foi conduzido sem nenhum problema. A figura 9 exemplifica uma reação de redução assistida por microondas.

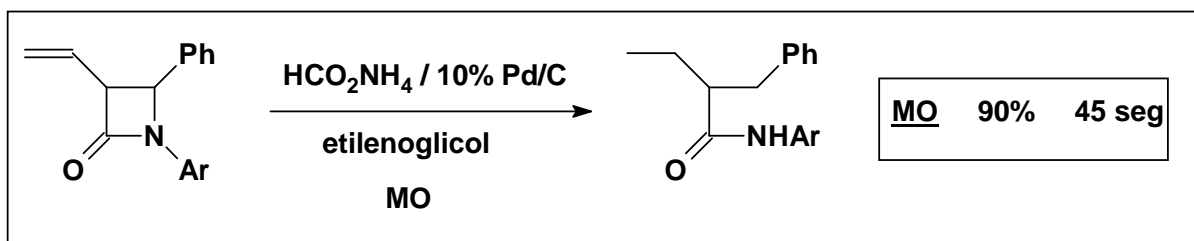


Figura 11: Reação de redução em forno de microondas (BOSE *et al.*, 1991).

Diferentes amidas, incluindo amidas quirais, foram sintetizadas por Gelens e colaboradores a partir da reação, assistida por irradiação de microondas, de um ácido carboxílico com uma amina, estas reações se deram na ausência de solvente e os resultados obtidos foram bastante satisfatórios. A figura 10 exemplifica a reação descrita por Gelens.

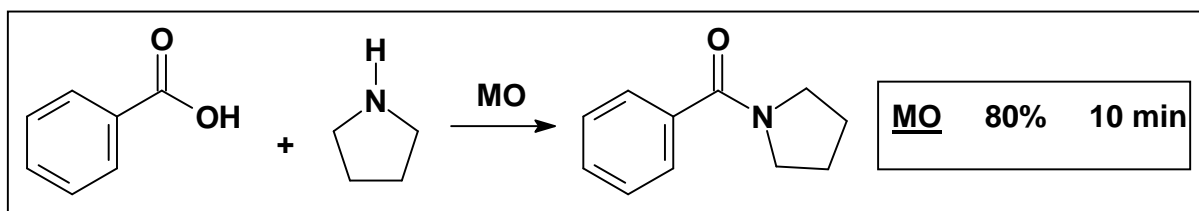


Figura 12: Síntese de amida assistida por irradiação de microondas (GELENS *et al.*, 2005).

Kotharkar e Shinde, em 2006, relataram a síntese de derivados da classe 1,4-diidropiridinas, que são fármacos vitais para o tratamento de angina e hipertensão, utilizando irradiação no forno de microondas doméstico na ausência de solvente orgânico. Esta nova rota sintética proporcionou uma considerável diminuição no tempo de reação de obtenção dos produtos, isso comparado com a metodologia tradicional, além de ser um processo promissor dentro dos princípios da Química Verde (KOTHARKAR & SHINDE, 2006). A figura 11 ilustra a reação de obtenção de derivados de 1,4-diidropiridinas, assistida por irradiação de microondas.

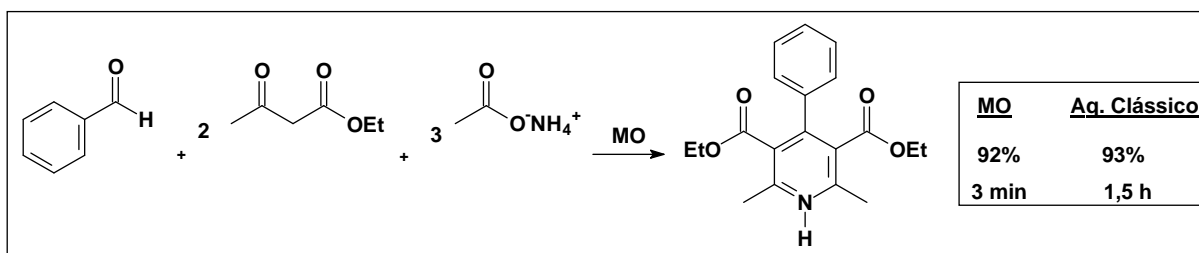


Figura 13: Síntese de derivados de 1,4-diidropiridinas assistida por irradiação de microondas (KOTHARKAR & SHINDE, 2006).

Derivados de imidazol também foram sintetizados utilizando a metodologia por irradiação de microondas, de maneira mais simples, com a eliminação de solventes orgânicos, com melhores rendimentos e diminuição no tempo de reação quando comparado com o aquecimento convencional (SHIH *et al.*, 2007). A figura 12 ilustra a reação de obtenção de derivados de imidazol assistida por irradiação de microondas.

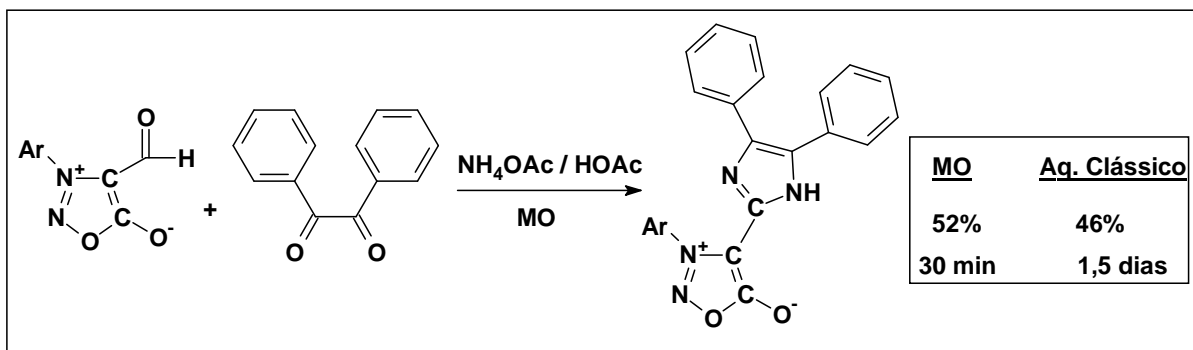


Figura 14: Síntese de derivados de imidazol assistida por irradiação de microondas (SHIH *et al.*, 2007).

O uso de argilas como catalisadores tem merecido atenção na síntese orgânica, principalmente no que se relaciona ao baixo custo de materiais, às condições reacionais brandas, à sua fácil obtenção e possibilidade de sua reutilização. Silva e colaboradores relataram a realização de reações de trans-esterificação sob refluxo e catálise por argilas em um microondas doméstico adaptado, de modo que possa vir a ser utilizado por longos períodos de tempo. As reações de trans-esterificação têm recebido maior destaque mais recentemente devido à demanda por biodiesel. Estas reações também são importantes do ponto de vista preparativo, pois ésteres complexos podem ser obtidos a partir de outros mais simples. Este processo normalmente é realizado sob temperaturas elevadas e por tempos reacionais superiores a 24 horas. O uso de catalisadores heterogêneos, como argilas e outros sólidos inorgânicos, leva à diminuição deste tempo de reação (SILVA *et al.*, 2006). A figura 13 mostra a síntese descrita por Silva e colaboradores.

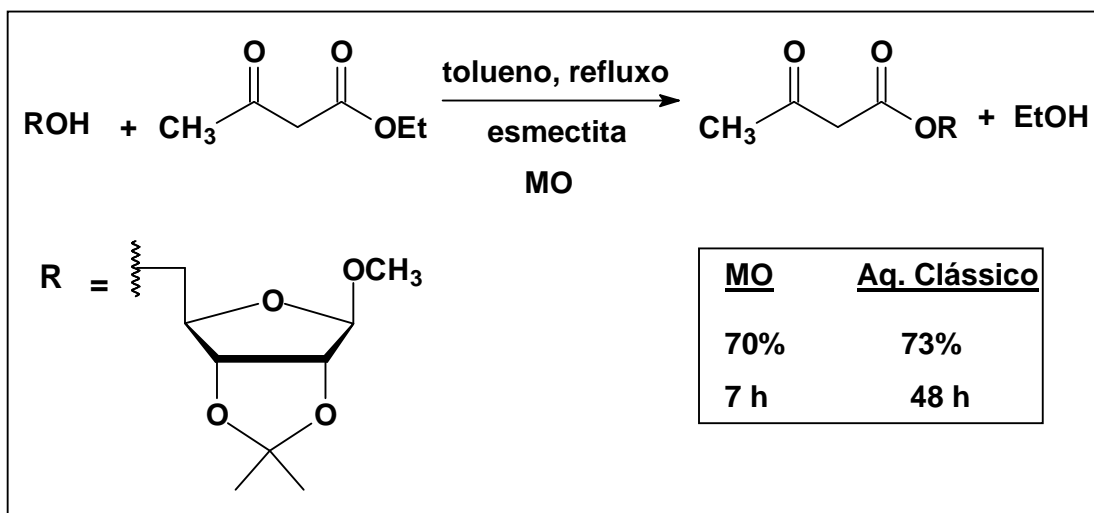


Figura 15: Reação de trans-esterificação assistida por irradiação de microondas
(SILVA et al., 2006).

As principais vantagens da utilização da energia de microondas sobre o aquecimento convencional para uma reação química seriam (SANSEVERINO, 2002):

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

1.2.1.1 Tipos de forno de microondas utilizados na síntese orgânica

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

O surgimento do reator de microondas para condução de reações orgânicas ocorreu como consequência direta do estudo das reações em forno doméstico, que demonstrou o grande potencial desta técnica. Estes aparelhos apresentam vantagens marcantes sobre o forno de microondas doméstico, tais como: possibilidade de realização de refluxo, controle de temperatura e pressão, que não é possível no forno doméstico e que evita decomposição térmica em certas reações. A segurança operacional também seria muito maior, já que o forno de microondas de cozinha não foi fabricado para o uso em Química. Outro fator importante, é que esses reatores operam de forma diferente que o forno de microondas doméstico, onde a distribuição de microondas no interior do forno não é homogênea (forno multimodo), já nos equipamentos de microondas científicos, a distribuição é homogênea (monomodo). Além disso, a potência em um forno de microondas doméstico não é, na realidade, passível de variação, pois o que ocorre é uma interrupção sequencial da irradiação que corresponde aos níveis de potência do seletor, sendo assim, a amostra está submetida sempre a mesma potência, mas por períodos de tempo diferentes. Assim, os reatores de microondas são mais eficientes do ponto de vista energético, e garante uma maior reprodutibilidade nos experimentos (RANER *et al.*, 1995).

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

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

1.2.2 Uso do ultra-som em síntese orgânica

Recentemente, uma metodologia que tem sido muito utilizada na síntese orgânica, consiste na condução das reações aceleradas por irradiação de ultra-som. Comparando-se com os métodos tradicionais, esta técnica é muito conveniente, pois é facilmente controlada, e em muitos casos, há aumento dos rendimentos e das velocidades das reações, além de ser bem promissora, dentro dos princípios da Química Verde (GUZEN *et al.*, 2006).

Em 1927, Alfredo Loomis e colaboradores observaram, pela primeira vez, os efeitos das ondas ultra-sonoras em sistemas químicos e biológicos. Em 1950, foram comercializados os primeiros aparelhos geradores de ondas ultra-sonoras, o que possibilitou estudar o efeito destas ondas sobre sistemas químicos. O estudo da influência das ondas ultra-sonoras sobre sistemas químicos é denominado sonoquímica e a aplicação destas ondas sonicação (BARBOZA & SERRA, 1992).

As primeiras tentativas para colocar em evidência o papel específico das ondas ultra-sonoras na química foram realizadas através de várias reações em meio aquoso, porém os primeiros resultados apresentaram efeitos modestos ou complexos, sem grande interesse. Os primeiros resultados significativos para seu uso na química só apareceram com o estudo da sonoquímica em sistemas heterogêneos. A primeira utilização do ultra-som em sistema heterogêneo sólido-líquido foi empregada por Sjoberg, em 1966, para desprotonar dimetilsulfóxido em presença de hidreto de sódio (BARBOZA & SERRA, 1992). A figura 14 mostra a reação descrita.

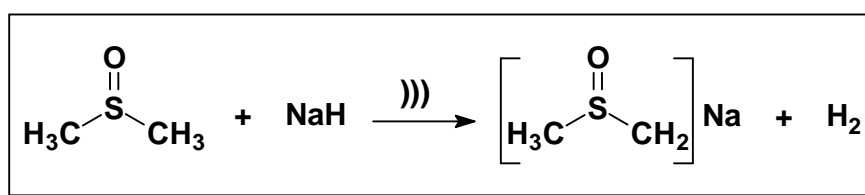


Figura 16: Reação de desprotonação do dimetilsulfóxido com irradiação de ultra-som (BARBOZA & SERRA, 1992).

A partir de 1980 a sonoquímica sofreu grande avanço e muitos trabalhos foram publicados em diferentes sistemas (MARTINES *et al.*, 2000).

Ando e colaboradores, ao observar a eficiência das ondas ultra-sonoras em reações heterogêneas de um sal inorgânico, em meio orgânico, reagiram brometo de benzila e cianeto de potássio, em presença de alumina e tolueno como solvente orgânico. Esta reação mostrou impedimento em função do caminho escolhido se apresentado como um caso raro. Sob a sonicção a reação forneceu como produto o cianeto de benzila. Entretanto, sob agitação mecânica, obteve-se o diarilmetano (BARBOZA & SERRA, 1992). A figura 15 mostra as duas rotas sintéticas descritas.

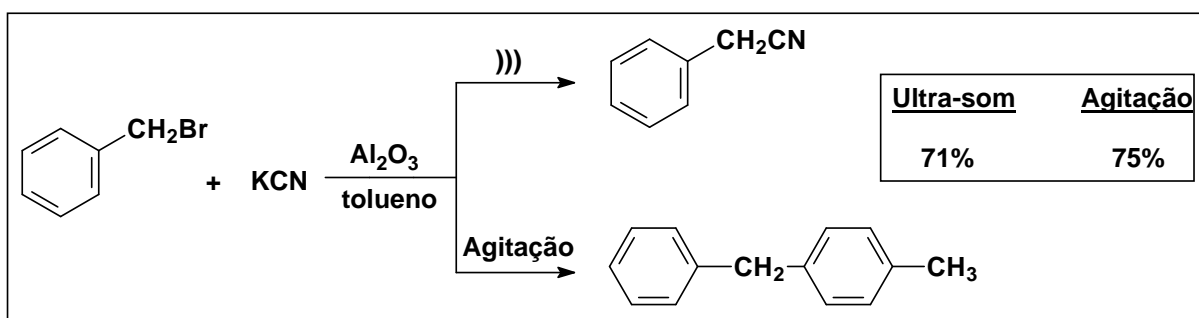


Figura 17: Reação do brometo de benzila com cianeto de potássio assistido por irradiação de ultra-som e por agitação mecânica (BARBOZA & SERRA, 1992).

A reação de alquilação do indol, também foi favorecida pela irradiação de ultra-som, aumentando o rendimento de obtenção do produto de 19%, pela metodologia tradicional, para 90%, além de diminuir o tempo de reação de três horas para uma hora e trinta minutos, aumentando a pureza do produto obtido (MARTINES *et al.*, 2000). A figura 16 mostra a reação envolvida nesta síntese.

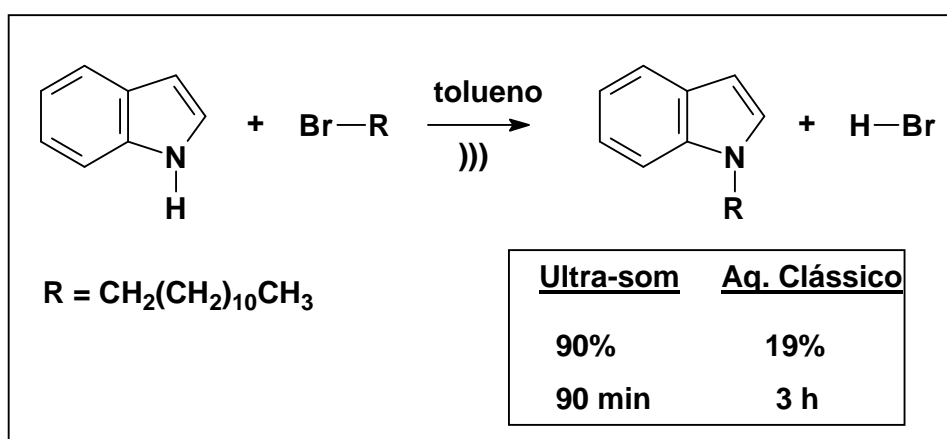


Figura 18: Reação de alquilação do indol com irradiação de ultra-som (MARTINES *et al.*, 2000).

Dentre os trabalhos publicados sobre a utilização de ondas ultra-sonoras na química de compostos organoalumínio, destaca-se a preparação dos mesmos a partir de haletos orgânicos e alumínio em pó. Liou e colaboradores prepararam um intermediário organoalumínio sob sonicação a temperatura ambiente, porém sob agitação magnética, nesta mesma temperatura, a reação não ocorreu (LIOU *et al.*, 1985). A figura 17 mostra a reação desenvolvida por Liou.

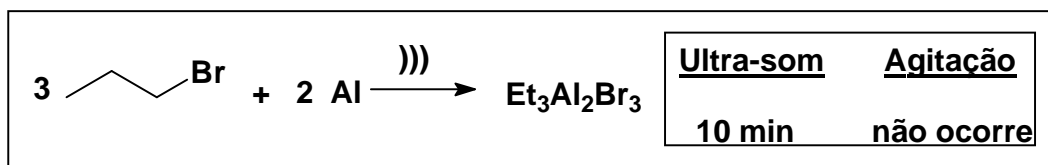


Figura 19: Reação de preparação do intermediário organoalumínio assistida por ultra-som (LIOU *et al.*, 1985).

A hidrólise de ésteres é uma reação que também foi conduzida por irradiação de ultra-som com sucesso. Esta metodologia sintética proporcionou o aumento do rendimento de obtenção do produto de 15% para 94% e também, uma diminuição no tempo de reação de noventa minutos para sessenta minutos, isso comparado com a metodologia tradicional, sob refluxo (MARTINES *et al.*, 2000). Na figura 18 encontra-se a reação descrita.

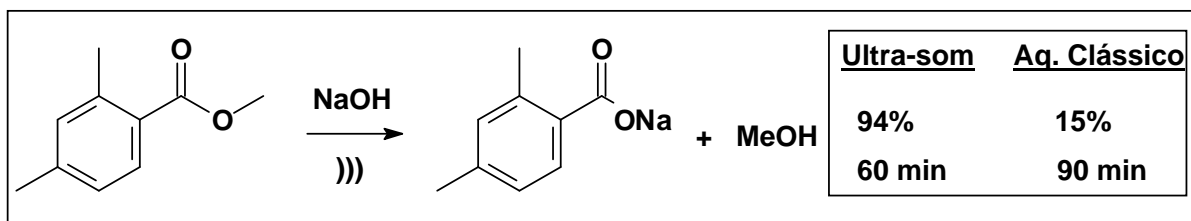


Figura 20: Hidrólise alcalina de éster com irradiação de ultra-som (MARTINES *et al.*, 2000).

Recentemente, Guzen e colaboradores relataram a síntese de derivados 1,5-benzodiazepínicos utilizando irradiação de ultra-som na presença de solvente e um catalisador, onde o produto foi obtido em um tempo reacional de apenas 20 minutos, conforme a figura 19 (GUZEN *et al.*, 2006).

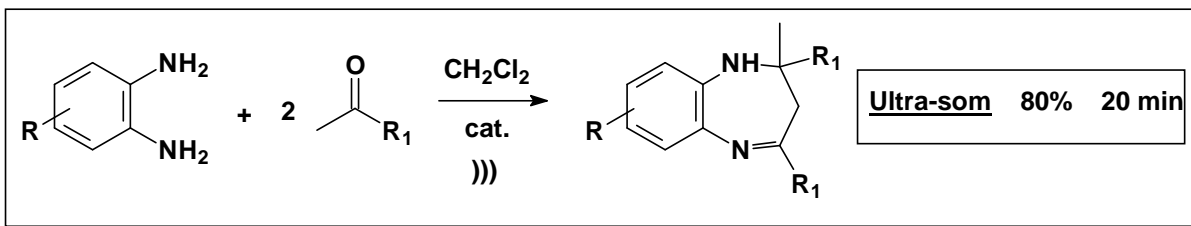


Figura 21: Síntese de derivados 1,5-benzodiazepínicos utilizando irradiação de ultra-som (GUZEN *et al.*, 2006).

Reações contendo zinco metálico como catalisador são favorecidas pela utilização de ultra-som que limpa a superfície do zinco, facilitando o transporte dos reagentes, e provavelmente, a erosão do zinco pode gerar partículas pequenas do metal. Por exemplo, na reação de ciclopropanação que ocorre usando-se zinco como catalisador dispensando o uso do catalisador zinco-cobre (MARTINEZ *et al.*, 2000). A figura 20 exemplifica a reação descrita.

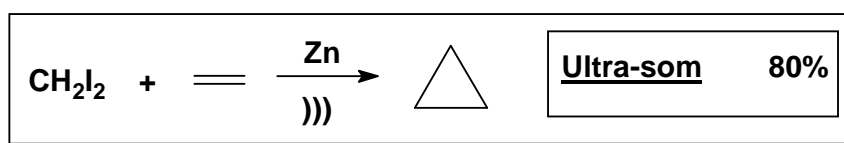


Figura 22: Reação de ciclopropanação utilizando zinco metálico como catalisador assistida por irradiação de ultra-som (MARTINEZ *et al.*, 2000).

A utilização do ultra-som em reações químicas possui algumas vantagens se comparado a metodologias conhecidas como tradicionais, entre elas (BARBOZA & SERRA, 1992):

- ✓ Redução do tempo de reação;
- ✓ Redução da quantidade de reagentes;
- ✓ Aumento de rendimento;
- ✓ Seletividade;
- ✓ Favorecimento de reações que não ocorrem em condições normais.

Devido aos ensaios realizados frente a células de leucemias e linfoma, a seguir será apresentada uma breve descrição sobre o câncer.

1.3 O Câncer

O câncer é uma das doenças que mais causam temor na sociedade, por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor (ALMEIDA *et al.*, 2005).

A palavra câncer é de origem latina, e significa caranguejo. Esta denominação está associada à forma de crescimento do tumor e à formação de inúmeros vasos sanguíneos, semelhantes às patas de um caranguejo. O termo câncer é usado genericamente para mais de 100 diferentes doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células e a capacidade de invadir os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se por todo o corpo, fenômeno chamado de metástase. Atualmente, a definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia, e especificamente, aos tumores malignos (ALMEIDA *et al.*, 2005).

O câncer é a segunda causa de mortes no mundo com um percentual de 12%, matando cerca de 6 milhões de pessoas por ano. Em aproximadamente 20 anos, o número de mortes anuais causadas por esta doença aumentará de cerca de 6 milhões para 10 milhões. Os principais fatores que contribuem para este aumento são: a proporção crescente de pessoas idosas no mundo, em decorrência do declínio de mortes causadas por doenças transmissíveis, além das mudanças nos comportamentos sociais e sexuais, e do maior grau de exposição aos fatores de risco ambientais (WHO, 2008).

Atualmente no Brasil, o câncer também é a segunda causa de mortes por doença, correspondendo a cerca de 13% do total de óbitos, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares (www.universia.com.br, 2008).

A maioria dos cânceres é relacionada aos fatores dietéticos ou ao tabagismo. Dietas ricas em gordura, proteína animal e calorias têm sido correlacionadas com tumores de mama, cólon e próstata. Já alimentos defumados e conservados com sal estão associados com tumores de esôfago e estômago. O uso de bebidas alcoólicas, particularmente em pacientes fumantes, predispõe aos tumores de boca, faringe, laringe, esôfago e fígado. (MURAD e KOTZ, 1996).

O câncer é classificado de acordo com o tecido e com o tipo de célula que o originou. Os tumores originados de células epiteliais são chamados de carcinoma e os originados de tecidos conjuntivos ou de células musculares são denominados sarcomas. Aqueles que não pertencem a estas categorias incluem os cânceres derivados de tecido linfo-hematopoiético, como as leucemias e os linfomas, e os derivados do sistema nervoso (ALBERTS *et al.*, 2002).

1.3.1 Leucemias

A leucemia é uma doença maligna dos glóbulos brancos (leucócitos) de origem, na maioria das vezes, não conhecida. Ela tem como principal característica o acúmulo de células jovens (blásticas) anormais na medula óssea, que substituem as células sanguíneas normais (www.inca.gov.br, 2008).

No Brasil, a leucemia representa numericamente cerca de 2% de todos os tipos de câncer, sendo uma das poucas neoplasias que atingem não só adultos e idosos como também menores de 14 anos (FUNDAÇÃO ONCOCENTRO DE SÃO PAULO, 2006).

Tradicionalmente, as leucemias são classificadas em aguda ou crônica de acordo com o grau de diferenciação da célula envolvida. Deste modo, leucemias agudas caracterizam-se pela presença de muitas células imaturas e por um desenvolvimento rápido. Por outro lado, leucemias crônicas estão associadas a leucócitos em um estágio de diferenciação mais avançado e a um desenvolvimento lento da doença. As duas maiores variantes de leucemias agudas e crônicas compreendem as leucemias linfocíticas e mielocíticas classificadas desta forma, de acordo com o tipo celular envolvido (COTRAN *et al.*, 1994).

1.3.2 Linfomas

O linfoma é um tumor maligno de linfócitos B ou T normalmente se manifestando e se espalhando entre os tecidos linfóides, mas que também pode se disseminar para outros tecidos (ABBAS & LICHTMAN, 2005).

Os linfomas são classificados como linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, sendo que estes apresentam ainda subclassificações (COTRAN *et al.*, 1994).

A maior parte dos linfomas não Hodgkin (80 a 85%) são de células B e apresenta-se usualmente como uma linfadenopatia generalizada ou localizada. Contudo, em aproximadamente um terço dos casos, a doença pode se desenvolver primariamente em outros sítios onde tecidos linfóides são encontrados como, intestino, medula óssea e pele (COTRAN *et al.*, 1994).

O linfoma de Burkitt, uma doença não Hodgkin, é um tumor maligno de células B. Normalmente nas células do linfoma de Burkitt, existe a translocação entre os cromossomos 8 e 14 envolvendo os genes *Ig* e *myc*. Esta translocação leva a uma expressão desregulada do gene *myc*, acarretando a proliferação celular descontrolada. O vírus Epstein-Barr (EBV), muitas vezes está associado a este processo. A forma africana da doença é endêmica de regiões onde são comuns tanto às infecções pelo vírus Epstein-Barr (EBV) quanto por malária. Nessas regiões, o tumor ocorre com frequência em crianças pequenas, tendo início

geralmente na mandíbula. Praticamente 100% dos pacientes com linfoma de Burkitt africano apresentam evidências de infecção anterior por EBV (ABBAS & LICHTMAN, 2005).

Os linfomas de Hodgkin são neoplasias linfoproliferativas, de etiologia mal definida, caracterizadas histopatologicamente pela presença de células malignas denominadas Reed-Sternberg, e que se apresenta na maioria dos casos como uma linfadenomegalia periférica indolor (MURAD & KOTZ, 1996).

2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

Nos últimos anos, questões ambientais têm merecido destaque na mídia nacional e internacional. O mundo está em um processo de conscientização com relação ao meio ambiente e agora procura por progresso baseado no desenvolvimento sustentável. Uma estratégia neste sentido é a Química Verde. Cada vez que conseguimos cumprir com alguns dos quesitos da Química Verde para a realização dos processos que envolvem a química estamos caminhando para a utilização mais consciente dos nossos recursos naturais e para a manutenção da vida no planeta.

Com o avanço de novas tecnologias em química orgânica, torna-se necessário abordar formas de transferência de energia inovadoras, mais eficientes e que agridam menos o meio ambiente. Sendo assim, as metodologias que utilizam energia de microondas e de ultra-som são técnicas que têm sido muito usadas para efetuar transformações químicas com grande sucesso por minimizarem o tempo de aquecimento e ocorrerem em solventes menos agressivos ao meio ambiente ou em sua ausência.

Desta forma, temos como objetivos gerais neste trabalho sintetizar os cloridratos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida utilizando a metodologia tradicional e através de duas novas metodologias alternativas, utilizando irradiação de microondas e de ultra-som, buscando satisfazer alguns quesitos da Química Verde.

2.1 Objetivos Específicos

- 1- Sintetizar os cloretos de 4-fenil-5-(X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina, e os cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina onde X = H, 4'-OCH₃ e 4'-NO₂, através da metodologia tradicional.
- 2- Sintetizar os correspondentes mesoiônicos 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida onde X = H, 4'-OCH₃ e 4'-NO₂.
- 3- Sintetizar os cloretos de 4-fenil-5-(X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina onde X = H, 4'-OCH₃, 4'-NO₂ e 3',4'-metilenodioxí e os cloretos de 4-fenil-5-(X-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina onde X = H, 4'-N(CH₃)₂, 2'-OCH₃ utilizando irradiação de microondas e de ultra-som.

- 4- Caracterizar os compostos obtidos por técnicas espectroscópicas de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C .

- 5- Avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Equipamentos

- i) Os espectros de ressonância magnética nuclear foram confeccionados em espectrômetro da Bruker, modelo AC200 (200 MHz, ^1H e 50,3 MHz, ^{13}C), usando solventes deuterados e TMS como referência interna;
- ii) Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Perkin Elmer 1605;
- iii) Os pontos de fusão foram determinados utilizando-se um aparelho tipo Kofler e um aparelho da marca Quimis, e não foram corrigidos;
- iv) O forno de microondas utilizado na síntese foi da marca Panasonic Piccolo, modelo NN-S45BH com 800W de potência e frequência de 2450 MHz.
- v) Foi utilizado aparelho de ultra-som da marca Ultracleaner 700 para a preparação dos compostos mesoiônicos.

3.1.2 Reagentes e solventes

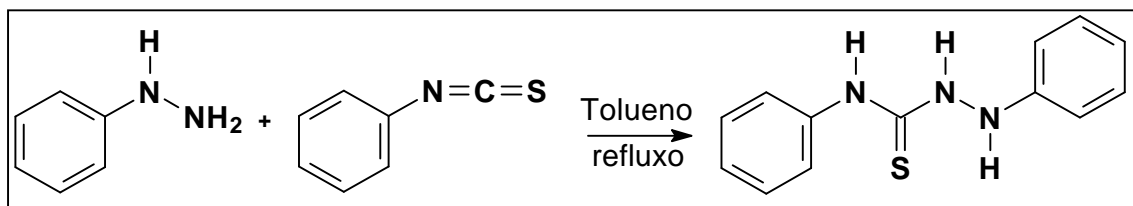
- i) Pastilhas de KBr foram usadas como meio para obtenção dos espectros de Infravermelho;
- ii) Os espectros de RMN foram obtidos utilizando-se metanol, clorofórmio e dimetilsulfóxido deuterados como solventes;
- iii) Os solventes utilizados nas sínteses, recristalizações e cromatografia em camada fina foram todos de grau P.A. da Vetec, sendo eles:
 - Tolueno
 - 1,4-Dioxano
 - Éter etílico
 - Clorofórmio
 - Hexano
 - Tetracloroeto de carbono
 - Metanol
 - Etanol
 - Acetona

- Dicloro metano
- iv) Os reagentes utilizados nas sínteses dos intermediários e compostos mesoiônicos foram das marcas Merck, Aldrich, Carlo Erba, Baker e Vetec:
 - Isotiocianato de fenila
 - Fenilidrazina
 - Ácido benzóico
 - Ácido 4-metoxi-benzóico
 - Ácido 4-nitro-benzóico
 - Benzaldeído
 - *p*-Nitro-benzaldeído
 - *p*-Metoxi-benzaldeído
 - Cinamaldeído
 - *o*-Metoxi-cinamaldeído
 - *p*-Dimetilamino-cinamaldeído
 - Piperonal
 - Ácido malônico
 - Cloreto de benzoíla
 - Cloreto de tionila
 - Cloreto de trimetil silano
 - Piperidina
 - Hidróxido de sódio
 - Gel de sílica 60 (230-400 mesh)
 - Ácido sulfúrico concentrado

3.2 Metodologia Sintética

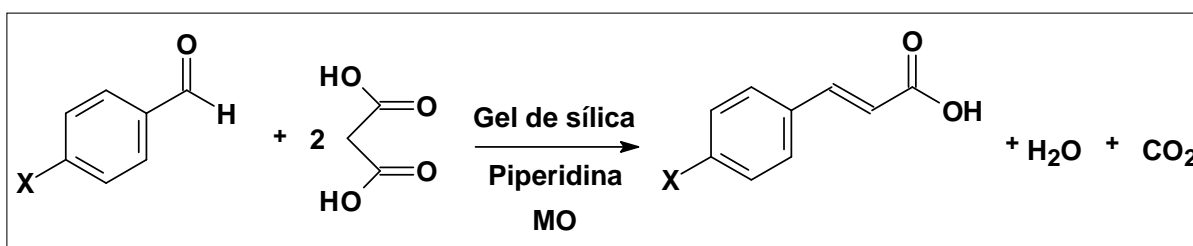
3.2.1 Síntese dos intermediários

a) Preparação da 1,4-difeniltiossemicarbazida



Foram adicionados 70 mL de tolueno anidro e 53 mmoles de isotiocianato de fenila, 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 fenilidrazina, através do funil de adição. O produto formado instantaneamente, precipitou no fundo do balão em forma de flocos de coloração branca e posteriormente foi filtrado à vácuo, sendo lavado com éter etílico gelado. O ponto de fusão obtido foi de 174-176°C (176°C, SANTOS, 1993), e o rendimento bruto foi de 86%.

b) Preparação dos ácidos 4-X-cinâmicos utilizando irradiação em forno de microondas



Pesou-se em placa de Petri, 1,54 mmoles de ácido malônico e acrescentou-se 0,77 mmoles de benzaldeído substituído, gel de sílica ativada e 5 gotas de piperidina. Adicionou-se dicloro metano em quantidade suficiente para homogeneizar a mistura reacional e evaporou-se o mesmo. Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 10 minutos de irradiação em forno de microondas na potência dez. Em seguida, extraiu-se o produto da sílica com metanol

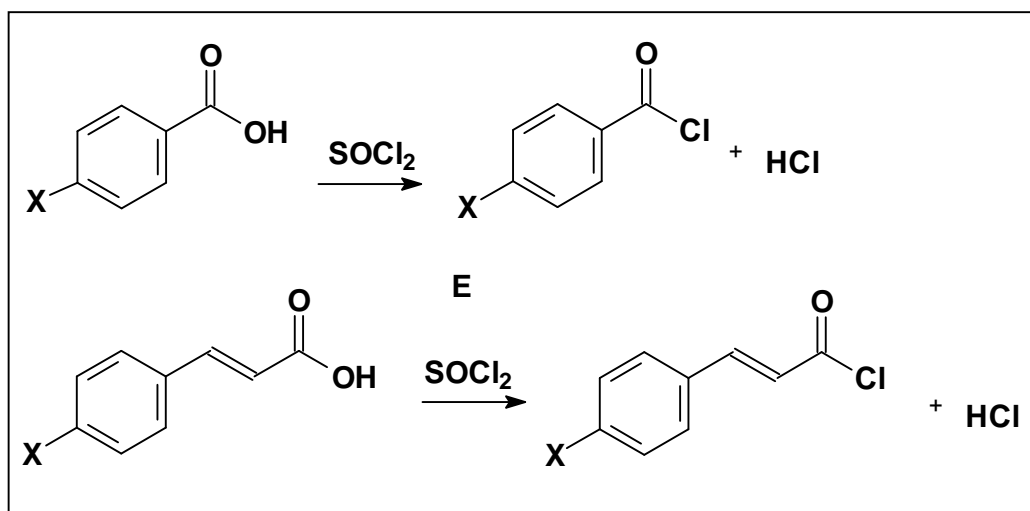
e acidificou-se a mistura com HCl 20% v/v, havendo imediata precipitação de cristais e desprendimento de gás. O precipitado foi lavado com HCl 20 % (v/v) e água destilada gelada, sendo seco em estufa. A Tabela 3 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 3: Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos obtidos via irradiação de microondas.

PRODUTO	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
Ácido cinâmico	134 - 136 (132 - 133) ^a	40
Ácido 4-metoxi-cinâmico	168 - 169 (172 - 173) ^a	63
Ácido 4-nitro-cinâmico	280 - 282 (287 - 288) ^a	47

^a(DA SILVA, 2007)

c) Preparação dos cloretos de ácido benzóico substituídos

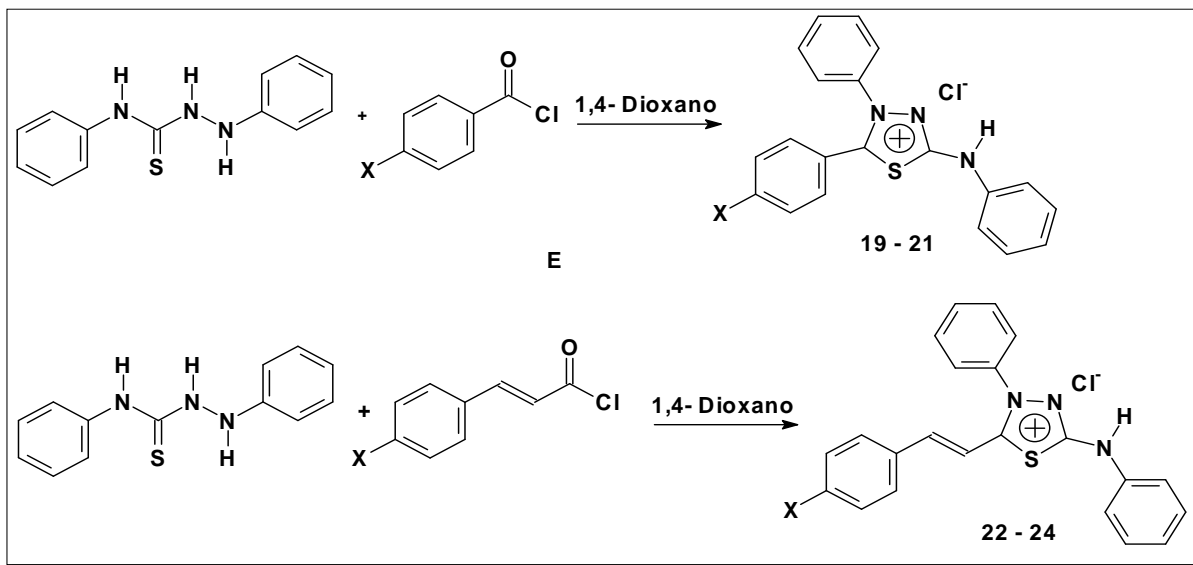


Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 17 mmoles do ácido carboxílico substituído e 51 mmoles (3 x excesso) de cloreto de tionila. A reação foi mantida a uma temperatura de aproximadamente 50 °C durante 6 horas, sendo acompanhada por CCF (do éster metílico correspondente, formado através da reação instantânea de uma alíquota do cloreto de acila com metanol). Ao balão foi adaptado um condensador de refluxo com um tubo de cloreto de cálcio na extremidade. O excesso de SOCl_2 foi removido em evaporador

rotatório, restando apenas o cloreto de acila que foi utilizado sem tratamento, devido à sua instabilidade em atmosfera úmida.

3.2.2 Síntese dos compostos mesoiônicos: Metodologia clássica

a) Preparação dos cloridratos mesoiônicos

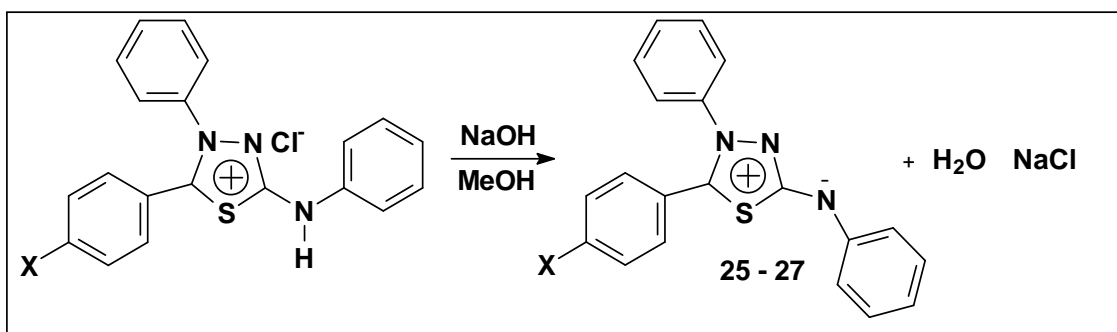


Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se uma suspensão de 17 mmoles de 1,4-difeniltiossemicarbazida em 15 mL de 1,4-dioxano, e uma solução de 17 mmoles de cloreto de benzoíla substituído em 4 mL de 1,4-dioxano. Esta última solução foi adicionada lentamente já com agitação. A agitação foi interrompida após 4 horas de reação. Deixou-se em repouso por 24 horas. O precipitado de cor amarela foi filtrado em funil de Buchner, e lavado com 1,4-dioxano e éter etílico gelados. Os sais foram recristalizados em clorofórmio: etanol (60:40, v/v). A Tabela 4 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 4: Rendimentos e pontos de fusão dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina e dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina preparados via metodologia tradicional.

	SAIS MESOIÔNICOS (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
19	H	276 - 278	87
20	4'-OCH ₃	242 - 243	52
21	4'-NO ₂	238 - 239	78
22	H estiril	264 - 265	58
23	4'-OCH ₃ -estiril	235 - 237	48
24	4'-NO ₂ -estiril	274 - 276	60

b) Preparação dos compostos mesoiônicos



Pesou-se 0,50 mmoles do cloridrato mesoiônico em um erlenmeyer e acrescentou-se metanol em quantidade suficiente para a solubilização do sal. Com agitação magnética constante, fez-se a adição, por intermédio de uma bureta, de 1,5 mL de uma solução de NaOH 0,5 N. O precipitado de cor amarela foi filtrado em funil de Buchner, e lavado com éter etílico gelado. A Tabela 5 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

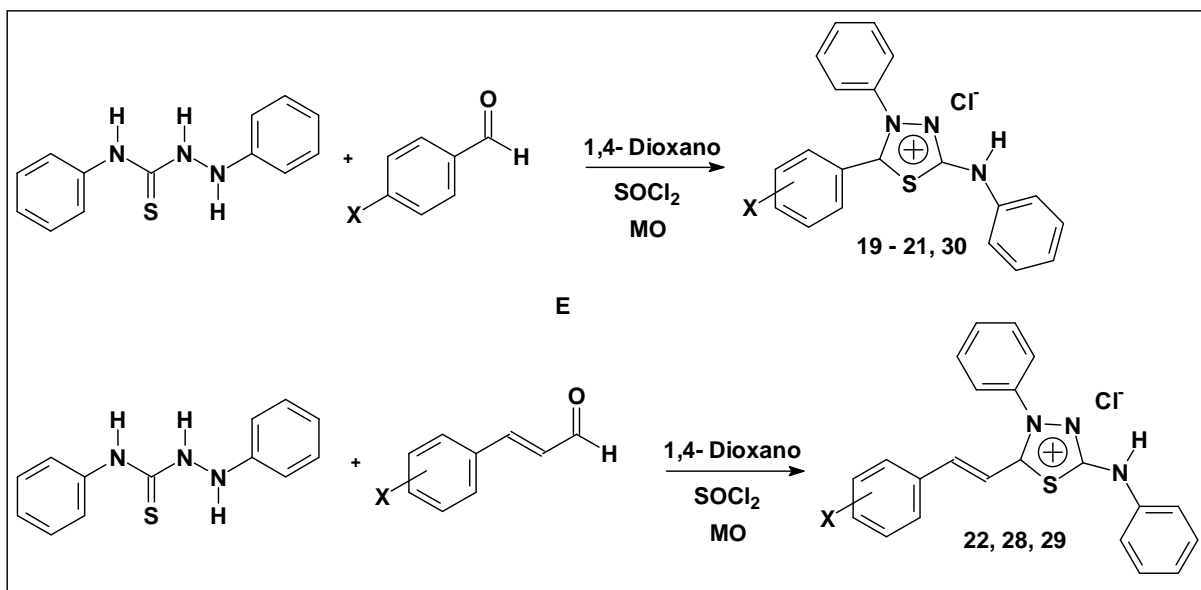
Tabela 5: Rendimentos e pontos de fusão dos compostos mesoiônicos

	MESOIÔNICOS (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
25	H	350 - 352	61
26	4'-OCH ₃	295 - 297	72
27	4'-NO ₂	279 - 280	56

3.2.3 Síntese dos compostos mesoiônicos: Metodologias alternativas a partir de aldeídos substituídos

3.2.3.1 Preparação dos cloridratos mesoiônicos utilizando microondas

a) Utilizando como ácido de Lewis cloreto de tionila (SOCl_2)

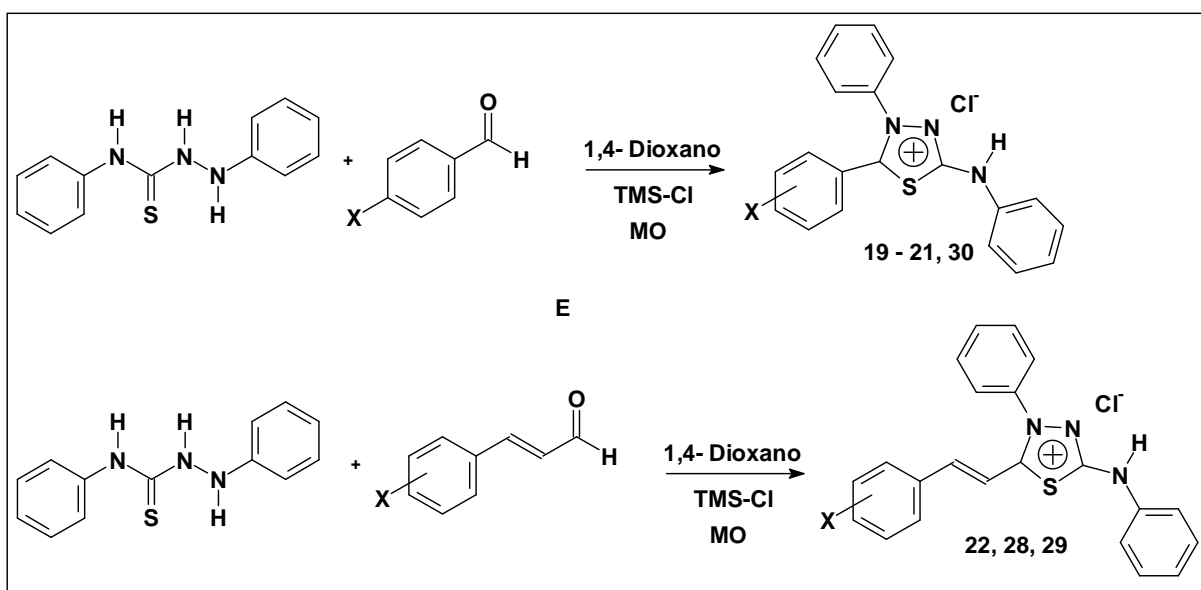


Pesou-se em placa de Petri, 0,35 mmoles de 1,4-difeniltiossemicarbazida com 0,35 mmoles do aldeído substituído. Adicionou-se 1 mL de 1,4-dioxano para solubilizar os reagentes e em seguida acrescentou-se 1,05 mmoles de cloreto de tionila (3 x excesso). Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 5 minutos de irradiação em forno de microondas na potência 2. Após a irradiação acrescentou-se mais 1 mL de 1,4 dioxano na mistura reacional e esta ficou em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano e água destilada gelada. A Tabela 6 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 6: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de microondas e cloreto de tionila.

	MESOIÔNICO (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
19	H	273 - 275	92
20	4'-OCH ₃	242 - 244	96
21	4'-NO ₂	241 - 242	98
22	H-estiril	266 - 268	90
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	201 - 203	91
29	2'-OCH ₃ -estiril	198 - 200	95
30	2',4'-metilenodioxi	290 - 293	92

b) Utilizando como ácido de Lewis cloreto de trimetil silano (TMS-Cl)



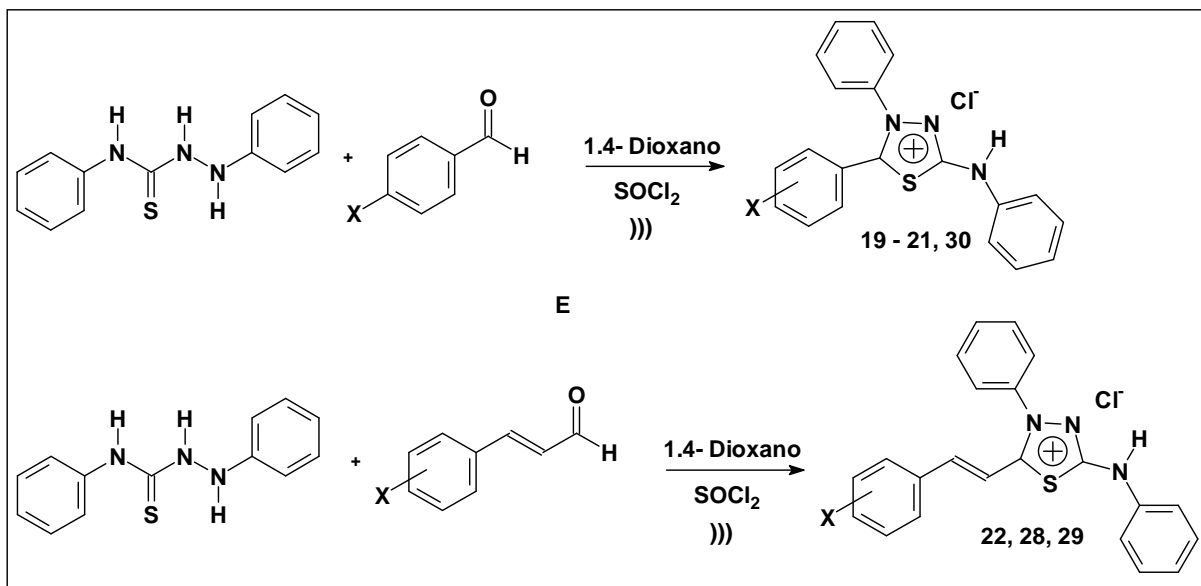
Pesou-se em placa de Petri, 0,35 mmoles de 1,4-difeniltiossemicarbazida com 0,35 mmoles do aldeído substituído. Adicionou-se 1 mL de 1,4-dioxano para solubilizar os reagentes e em seguida acrescentou-se 0,70 mmoles de cloreto de trimetil silano (2 x excesso). Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 5 minutos de irradiação em forno de microondas na potência 2. Após a irradiação acrescentou-se mais 1 mL de 1,4 dioxano na mistura reacional e esta ficou em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano e água destilada gelada. A Tabela 7 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 7: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de microondas e cloreto de trimetil silano.

	MESOIÔNICO (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
19	H	275 - 277	68
20	4'-OCH ₃	246 - 250	41
21	4'-NO ₂	245 - 247	95
22	H-estiril	265 - 267	87
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	198 - 200	93
29	2'-OCH ₃ -estiril	208- 212	87
30	2',4'-metilenodioxi	287 - 289	74

3.2.3.2 Preparação dos cloridratos mesoiônicos utilizando ultra-som

a) Utilizando como ácido de Lewis cloreto de tionila (SOCl₂)



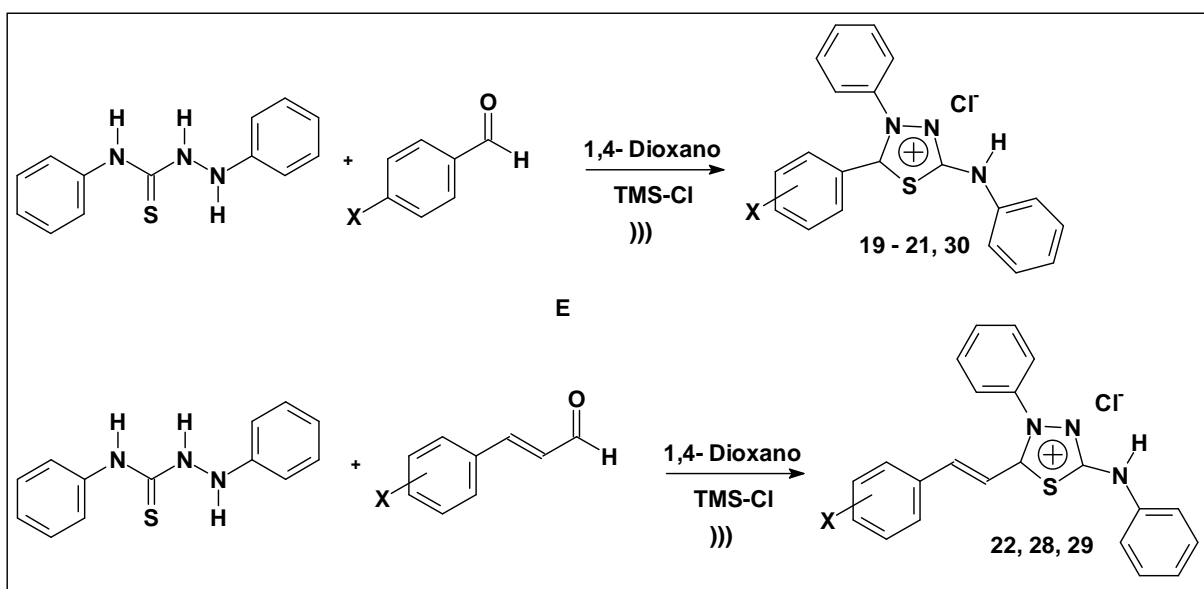
Pesou-se em um becher, 0,35 mmoles de 1,4-difeniltiossemicarbazida com 0,35 mmoles do aldeído substituído. Adicionou-se 1 mL de 1,4-dioxano para solubilizar os reagentes e em seguida acrescentou-se 1,05 mmoles de cloreto de tionila (3 x excesso). Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 10 minutos de irradiação em um banho de ultra-som. Após a irradiação acrescentou-se mais 1 mL de 1,4 dioxano na mistura reacional e

esta ficou em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano e água destilada gelada. A Tabela 8 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 8: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de ultra-som e cloreto de tionila.

	MESOIÔNICO (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
19	H	276 - 277	83
20	4'-OCH ₃	238 - 240	74
21	4'-NO ₂	249 - 252	83
22	H-estiril	265 - 266	86
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	199 - 201	72
29	2'-OCH ₃ -estiril	205 - 208	84
30	2',4'-metilenodioxí	288 - 290	87

b) Utilizando como ácido de Lewis cloreto de trimetil silano (TMS-Cl)



Pesou-se em um becher, 0,35 mmoles de 1,4-difeniltiossemicarbazida com 0,35 mmoles do aldeído substituído. Adicionou-se 1 mL de 1,4-dioxano para solubilizar os reagentes e em seguida acrescentou-se 0,70 mmoles de cloreto de trimetil silano (2 x

excesso). Posteriormente, submeteu-se a mistura reacional a 10 minutos de irradiação em um banho de ultra-som. Após a irradiação acrescentou-se mais 1 mL de 1,4 dioxano na mistura reacional e esta ficou em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano e água destilada gelada. A Tabela 9 indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos. A figura 23 mostra o aparelho de ultra-som utilizado neste trabalho.

Tabela 9: Rendimentos e pontos de fusão dos cloridratos mesoiônicos preparados via irradiação de ultra-som e cloreto de trimetil silano.

	MESOIÔNICO (X)	PF (°C)	RENDIMENTO (%)
19	H	269 - 271	89
20	4'-OCH ₃	240 - 243	66
21	4'-NO ₂	246 - 248	98
22	H-estiril	260 - 263	73
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	202 - 204	68
29	2'-OCH ₃ -estiril	198 - 200	83
30	2',4'-metilenodioxi	286 - 288	87



Figura 23: Aparelho de ultra-som utilizado neste trabalho.

3.3 Dados espectrométricos para os compostos sintetizados

i) Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

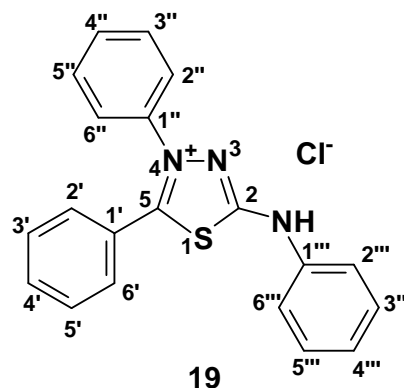
3419 (ν N-H); 3047 (ν C-H aromático); 2723 (ν C=NH⁺); 1569 (ν C=N); 1542, 1494 e 1444 (ν C=C aromático); 1319 (ν C-S); 755 e 690 (δ ArC-H no plano - 5H viz).

RMN ¹H (CDCl₃, δ)

7,72 - 7,08 (m, 15 H, H-C aromáticos).

RMN ¹³C (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ)

163,84 (C-5), 160,48 (C-2) e 138,56 - 118,33 (18 C aromáticos).



ii) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

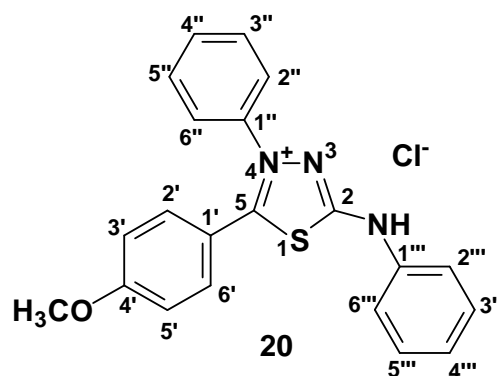
3425 (ν N-H); 3048 (ν C-H aromático); 2935 (ν C-H alifático); 2665 (ν C=NH⁺); 1602, 1542 e 1448 (ν C=C aromático); 1567 (ν C=N); 1309 (ν C-S); 1175 (ν ArC-O); 1024 (confirmação Ar-O-C); 827 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 752 e 692 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

RMN ¹H (CDCl₃, δ)

12,90 (s, 1H, N-H), 7,70 - 7,25 (m, 14 H, H-C aromáticos), 3,86 (s, 3H, OC-H).

RMN ¹³C (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ)

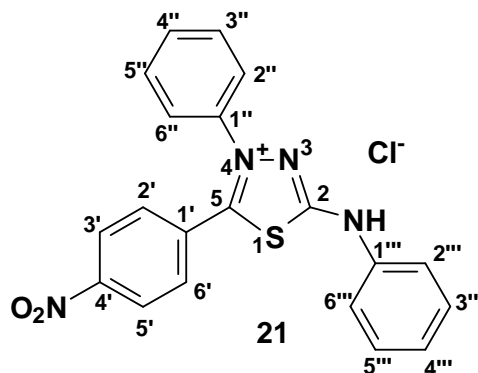
163,00 (C-5), 159,48 (C-2), 138,34 - 114,69 (17 C aromáticos) e 55,54 (OCH₃).



iii) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3434 (ν N-H); 3043 (ν C-H aromático); 2721 (ν C=NH⁺); 1573 (ν C=N); 1537 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1454 (ν C=C aromático); 1348 (ν simétrico N=O e ν C-S); 854 (δ ArC-H no plano – 2H viz); 746 e 694 (δ C-H aromático no plano – 5H viz).



RMN ¹H (CDCl₃, δ)

7,71 - 7,0 (m, 14 H, H-C aromáticos).

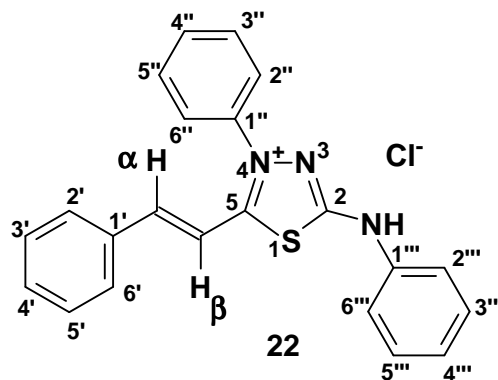
RMN ¹³C (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ)

160,84 (C-5), 149,20 (C-2), 137,95 (C-4') e 136,95 - 118,24 (17 C aromáticos).

iv) Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3432 (ν N-H); 3056 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2670 (ν C=NH⁺); 1604 (ν C=C vinílico); 1567 (ν C=N); 1538, 1498 e 1448 (ν C=C aromático); 1330 (ν C-S); 954 (δ =C-H vinílico); 746 e 690 (δ ArC-H no plano – 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

7,95 (d, H α , H-C vinílico), 7,83 - 7,19 (m, 15 H, H-C aromáticos) e 7,06 (d, H β , H-C vinílico).

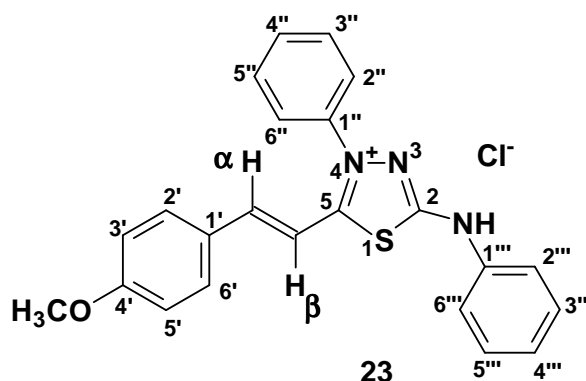
RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

159,24 (C-5), 147,84 (C-2), 137,04 (C- α), 133,87 - 118,73 (18 C aromáticos) e 111,62 (C- β).

v) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3432 (ν N-H); 3025 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2969 (ν C-H alifático); 2696 (ν C=NH⁺); 1614 (ν C=C vinílico); 1600, 1513 e 1450 (ν C=C aromático); 1567 (ν C=N); 1311 (ν C-S); 1253 (ν ArC-O); 1112 (ν O-CH₃); 1025 (confirmação Ar-O-R); 952 (δ =C-H vinílico); 806 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 750 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

7,89 (d, H α , H-C vinílico), 7,76 - 7,01 (m, 14 H, H-C aromáticos), 6,97 (d, H β , H-C vinílico) e 3,84 (s, 3H, OC-H).

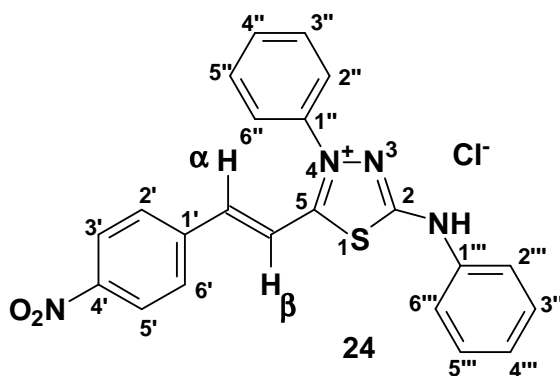
RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

163,28 (C-4'), 162,54 (C-5), 158,44 (C-2), 148,34 (C- α), 138,66 - 114,82 (17 C aromáticos), 108,77 (C- β) e 55,55 (OCH₃).

vi) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3432 (ν N-H); 3048 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2721 (ν C=NH⁺); 1616 (ν C=C vinílico); 1571 (ν C=N); 1519 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1450 (ν C=C aromático); 1342 (ν simétrico N=O e ν C-S); 956 (δ =C-H vinílico); 840 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

8,04 (d, H_α, H-C vinílico), 7,80 - 7,39 (m, 14 H, H-C aromáticos) e 7,33 (d, H_β, H-C vinílico).

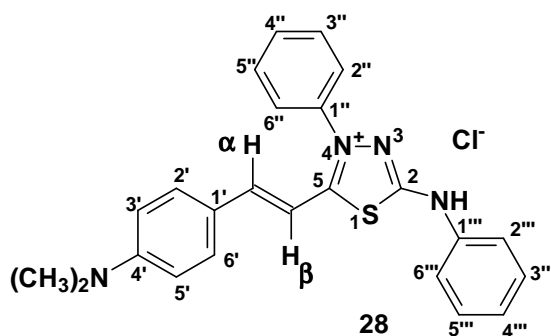
RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

162,04 (C-5), 159,68 (C-2), 148,58 (C-4'), 144,66 (C-α), 139,99 - 118,71 (17 C aromáticos) e 115,51 (C-β).

vii) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

Infravermelho (KBr; ν cm⁻¹)

3425 (ν N-H); 3062 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2923 (ν C-H alifático); 2852 (ν C=NH⁺); 1612 (ν C=C vinílico); 1565 (ν C=N); 1577, 1525 e 1444 (ν C=C aromático); 1378 (ν C-S); 1268 (ν C-N); 941 (δ =C-H vinílico); 808 (δ_{Ar} C-H no plano - 2H viz); 750 e 692 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

10,24 (s, 1H, N-H), 7,90 (d, H_α, H-C vinílico), 7,73 - 7,13 (m, 14 H, H-C aromáticos), 6,74 (d, H_β, H-C vinílico) e 3,05 - 2,94 (m, 6H, NC-H).

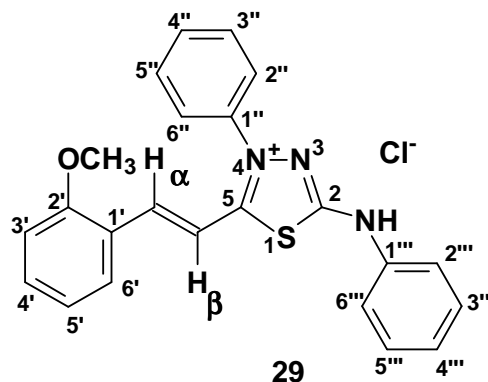
RMN ¹³C (CD₃OD, δ)

164,85 (C-4'), 155,14 (C-5), 151,77 (C-2), 140,01 (C-α), 138,66 (C-1'''), 133,17 (C-2' e C-6'), 132,61 (C-1'), 131,43 (C-4''), 131,03 (C-5'' e C-3''), 130,48 (C-6'' e C-2''), 127,04 (C-5''' e C-3'''), 122,53 (C-1'), 121,13 (C-4'''), 119,84 (C-6''' e C-2'''), 113,12 (C-3' e C-5'), 104,04 (C-β) e 40,16 (N(CH₃)₂).

viii) *Cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina*

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3423 (ν N-H); 3054 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2925 (ν C-H alifático); 2786 (ν C=NH⁺); 1604 (ν C=C vinílico); 1594, 1540 e 1444 (ν C=C aromático); 1565 (ν C=N); 1295 (ν C-S); 1249 (ν ArC-O); 1110 (ν O-CH₃); 1031 (confirmação Ar-O-R); 966 (δ =C-H vinílico); 836 (δ ArC-H no plano – 2H viz); 754 e 690 (δ C-H aromático no plano – 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

7,92 (d, H α , H-C vinílico), 7,77 - 7,10 (m, 14 H, H-C aromáticos), 7,05 (d, H β , H-C vinílico) e 3,81 (s, 3H, OC-H).

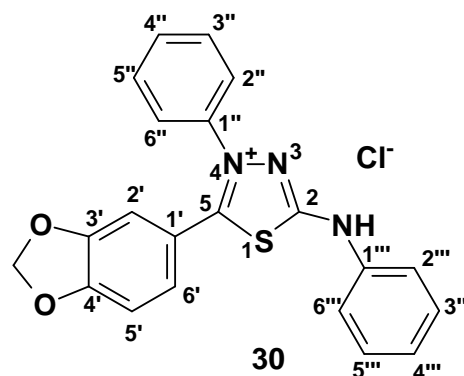
RMN ¹³C (CDCl₃, δ)

162,29 (C-2'), 159,15 (C-5), 158,57 (C-2), 144,58 (C- α), 138,26 - 118,89 (17 C aromáticos), 111,40 (C- β) e 55,45 (OCH₃).

ix) *Cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina*

Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3438 (ν N-H); 3050 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2902 (ν C-H metilenodioxílico); 2642 (ν C=NH⁺); 1604, 1540 e 1450 (ν C=C aromático); 1567 (ν C=N); 1311 (ν C-S); 1243 (ν ArC-O); 1105 (ν O-CH₂); 1037 (confirmação Ar-O-R); 754 e 694 (δ C-H aromático no plano – 5H viz).



RMN ¹H (CD₃OD, δ)

9,76 (s, 1H, N-H), 7,62 - 6,60 (m, 13 H, H-C aromáticos), e 6,08 (s, 2H, OC-H).

RMN ^{13}C (CD_3OD , δ)

165,13 (C-5), 161,47 (C-2), 152,72 - 110,38 (16 C aromáticos), 152,72 (C-3'), 149,04 (C-4') e 103,91 (OCH_2O).

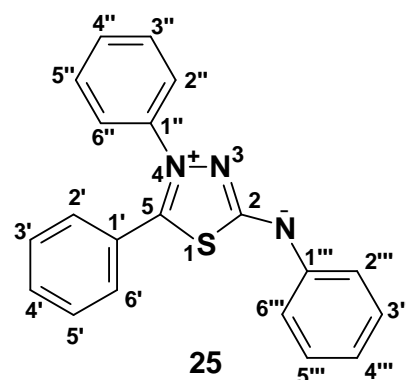
x) 4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida

Infravermelho (KBr; $\nu \text{ cm}^{-1}$)

3056 (ν C-H aromático); 1510 (ν C=N); 1592, 1473 e 1442 (ν C=C aromático); 1292 (ν C-S); 763 e 690 (δ ArC-H no plano - 5H viz).

RMN ^1H (CDCl_3 , δ)

7,45 - 7,04 (m, 15 H, H-C aromáticos).



RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ)

169,80 (C-5), 147,94 (C-2), 135,81 - 122,01 (18 C aromáticos).

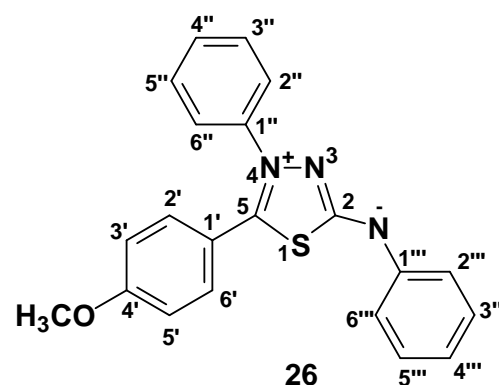
xi) 4-Fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida

Infravermelho (KBr; $\nu \text{ cm}^{-1}$)

3054 (ν C-H aromático); 2969 (ν C-H alifático); 1614, 1511 e 1475 (ν C=C aromático); 1594 (ν C=N);; 1346 (ν C-S); 1261 (ν ArC-O); 1166 (ν O- CH_3); 1025 (confirmação Ar-O-R); 842 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

RMN ^1H (CDCl_3 , δ)

7,46 - 7,22 (m, 14 H, H-C aromáticos) e 3,76 (s, 3H, OC-H).



RMN ¹³C (CDCl₃, δ)

161,13 (C-4'), 148,03 (C-5), 136,02 (C-2), 134,29 - 113,91 (17 C aromáticos) e 55,08 (OCH₃).

xii) 4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida

Infravermelho (KBr; ν cm⁻¹)

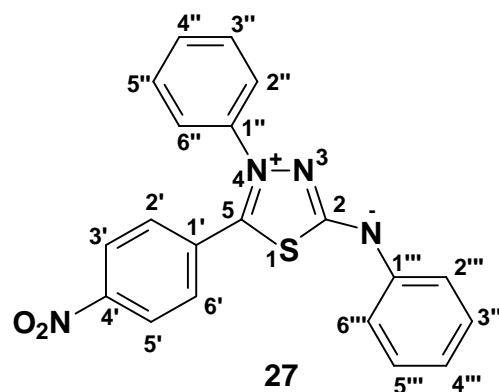
3066 (ν C-H aromático); 1556 (ν C=N); 1525 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1594 e 1452 (ν C=C aromático); 1344 (ν simétrico N=O e ν C-S); 856 (δ_{Ar}C-H no plano - 2H viz); 742 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

RMN ¹H (CDCl₃, δ)

7,87 - 7,03 (m, 14 H, H-C aromáticos).

RMN ¹³C (CDCl₃, δ)

170,27 (C-5), 148,78 (C-2), 147,20 (C-4') e 146,20 - 123,09 (17 C aromáticos).



3.4 Ensaios Biológicos

Os ensaios para avaliação da atividade citotóxica foram realizados em placas de 96 poços, no volume total de 200 µL, em triplicata. As células K562 (2×10^4 céls/ml), HL60 (2×10^4 céls/ml) e Daudi (4×10^4 céls/ml) foram incubadas na presença ou na ausência dos compostos mesoiônicos em diferentes concentrações (3,125 a 50 µM). Após os períodos de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias de incubação em atmosfera de 5% de CO₂ à 37 °C, adicionaram-se 20 µL de MTT (5mg/mL) em cada poço e a placa foi novamente incubada por 3 horas nas mesmas condições. Em seguida, centrifugou-se a placa à 200g por 7 minutos. O sobrenadante foi desprezado e adicionaram-se 200 µl de DMSO para solubilizar os cristais formados. A densidade óptica foi medida em um leitor de ELISA (Thermo Max - Molecular Devices), em um comprimento de onda de 490 nm. Foram realizados, no mínimo, três ensaios independentes, sendo cada concentração em triplicata. Foi utilizado o teste t-Student para a avaliação estatística.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2 Síntese dos Cloridratos Meso-iônicos Utilizando a Metodologia Tradicional

Diversas metodologias, conforme apresentado na introdução deste trabalho, podem ser utilizadas para a síntese dos compostos meso-iônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. A estratégia de síntese dos cloridratos meso-iônicos, para a metodologia tradicional utilizada nesta dissertação, envolveu rota convergente tendo como última etapa uma reação de anidroacilação da 1,4-difeniltiossemicarbazidas com cloretos de ácidos substituídos (MACIEL, *et al.*, 1998), conforme mostrado nas figuras 21 e 22. Neste trabalho foram preparados seis cloridratos meso-iônicos (19-24) e três bases livres (25-27) através da metodologia tradicional.

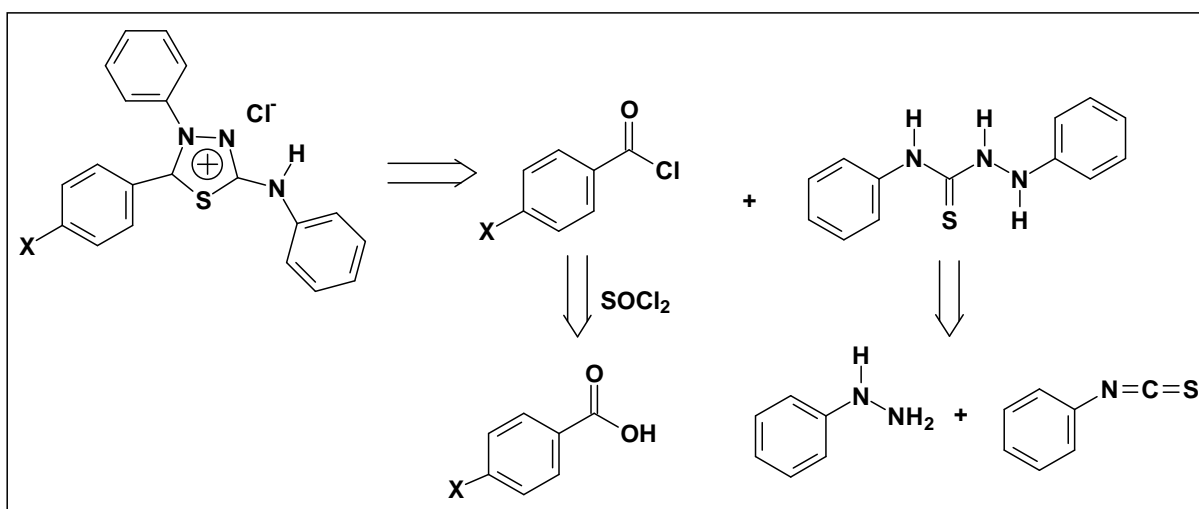


Figura 24: Retrossíntese para os cloridratos meso-iônicos preparados a partir do ácido benzóico devidamente substituído utilizando a metodologia tradicional.

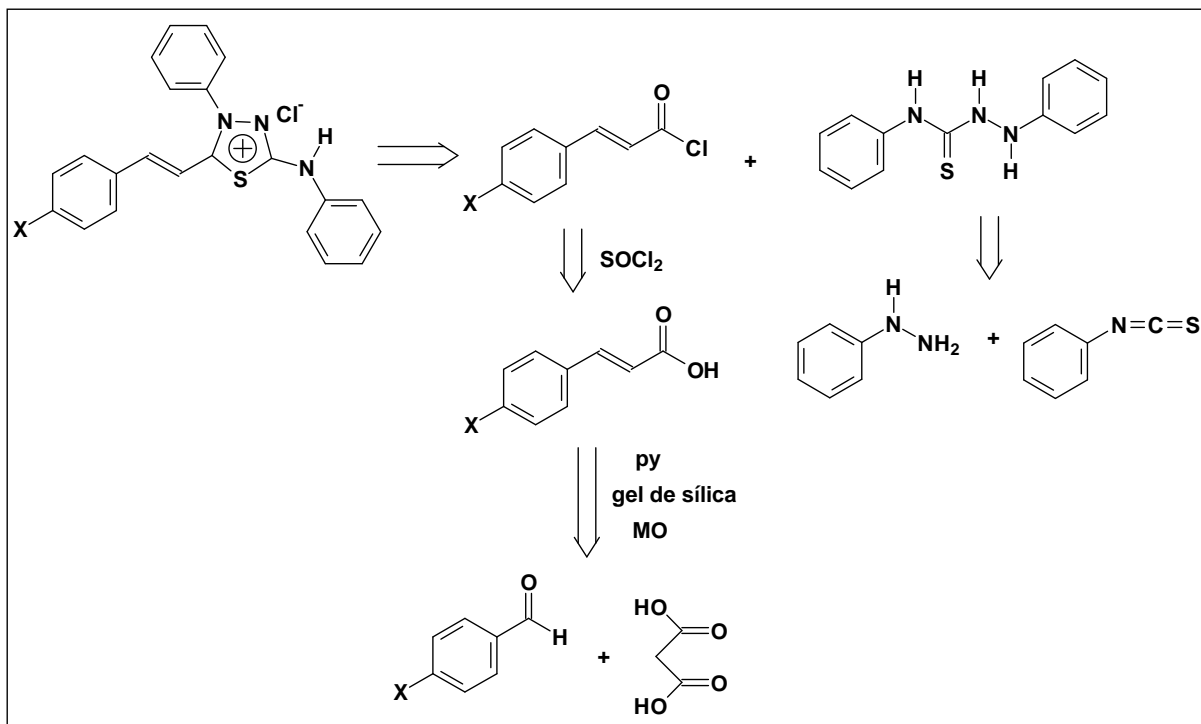


Figura 25: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido cinâmico devidamente substituído utilizando a metodologia tradicional.

4.1.1 Preparação dos intermediários

Os intermediários utilizados para a síntese dos cloridratos mesoiônicos foram a 1,4-difeniltiossemicarbazida, os ácidos cinâmicos e seus respectivos cloretos, adequadamente substituídos. A utilização de cloretos de ácidos se faz necessária devido a maior reatividade do que os respectivos ácidos carboxílicos, frente a este tipo de reação.

A 1,4-difeniltiossemicarbazida foi preparada de forma eficiente a partir da fenilhidrazina e o isotiocianato de fenila, em tolueno como solvente. Esta metodologia permitiu a obtenção do produto desejado com alto grau de pureza e rendimento satisfatório de 86% (SANTOS, 1993).

Neste trabalho de dissertação foram preparados cloretos de benzoíla e de cinamoíla, devidamente substituídos, sendo que para a preparação dos cloretos de cinamoíla se fez necessária à síntese dos correspondentes ácidos cinâmicos. A preparação dos ácidos cinâmicos foi feita através da reação de condensação de Koevenagel-Dobner a partir do benzaldeído, adequadamente substituído, com ácido malônico na presença de piperidina como catalisador e gel de sílica como suporte sólido, utilizando irradiação em forno de microondas. A metodologia utilizando irradiação de microondas visou à obtenção mais rápida dos respectivos ácidos, além de ser uma técnica que se adapta aos princípios da Química Verde

devido a não utilização de solvente, que na metodologia tradicional seria a piridina (SANTOS, 1993), e a diminuição considerável do tempo de reação.

Os ácidos cinâmicos substituídos foram isolados após precipitação ao serem extraídos com solução de HCl 20% (v/v). Assim, obtiveram-se os ácidos desejados com alto grau de pureza e rendimentos variando de 40 a 63% em apenas dez minutos de irradiação. A pureza dos compostos obtidos foi observada por cromatografia em camada fina, e os mesmos caracterizados através da comparação dos pontos de fusão com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007). A tabela 10 compara os rendimentos para os ácidos cinâmicos substituídos obtidos via metodologia tradicional e utilizando irradiação de microondas que apesar de proporcionar rendimentos mais baixos, esta metodologia alternativa, possibilitou a reação em meio sólido, suportada em gel de sílica, e na ausência de solvente.

Tabela 10: Rendimento dos ácidos cinâmicos obtidos via irradiação de microondas e pela metodologia tradicional.

PRODUTO	MET. TRAD. / 2 horas (%)	MO / 10 min (%)
Ácido cinâmico	79	40
Ácido 4-metóxi-cinâmico	82	63
Ácido 4-nitro-cinâmico	85	47

Os cloretos dos ácidos substituídos foram preparados através do tratamento dos respectivos ácidos carboxílicos aromáticos com cloreto de tionila a refluxo (FURNISS, *et al.*, 1989). A formação do cloreto de ácido teve como objetivo sintetizar um intermediário mais reativo frente à reação de anidrocilação que daria origem aos cloridratos mesoiônicos. Por apresentar alta reatividade os cloretos de ácido sintetizados não foram purificados por nenhuma técnica, foram todos considerados puros pelo acompanhamento por CCF (pela formação instantânea do éster metílico, pela reação com metanol), e utilizados logo em seguida, após remoção do excesso de cloreto de tionila em evaporador rotatório. A figura 23 mostra o mecanismo de reação proposto para a obtenção dos cloretos de ácidos.

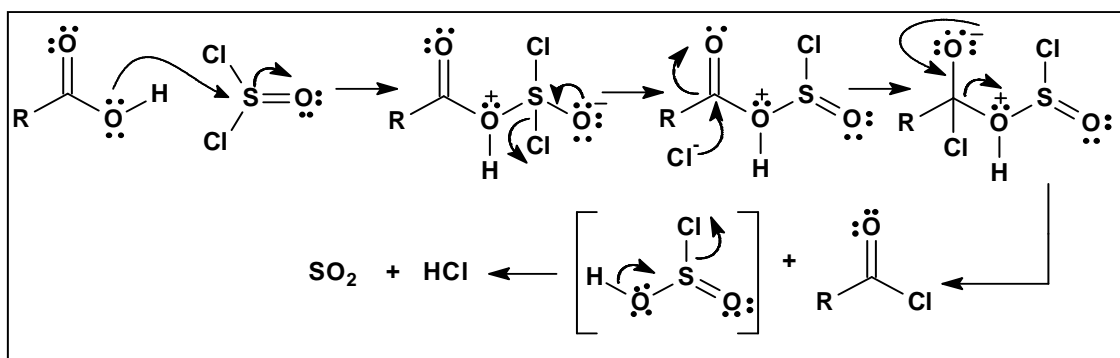


Figura 26: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos cloretos de ácidos.

4.1.2 Preparação dos cloridratos mesoiônicos

Os cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-fenil ou cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina, onde X = H, OCH₃ e NO₂, foram sintetizados a partir da reação de anidroacilação dos respectivos cloretos de ácido e a 1,4-difeniltiossemicarbazida na presença de 1,4-dioxano como solvente a temperatura ambiente. Os produtos finais foram obtidos em rendimentos brutos variando de 48% a 87%, após 4 horas de agitação, sendo posteriormente, a mistura reacional deixada em repouso por 24 horas. Os sais de mesoiônicos foram recristalizados em clorofórmio: etanol (60: 40 v/v) e os pontos de fusão obtidos foram comparados com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007). A tabela 4, em Materiais e Métodos, mostra os pontos de fusão e rendimentos obtidos para cada composto.

4.1.3 Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclização

O mecanismo sugerido para a etapa de heterociclização, que é a etapa final na síntese dos sais mesoiônicos, envolve inicialmente o ataque nucleofílico da 1,4-difeniltiossemicarbazida ao carbono carbonílico do cloreto de ácido formando um intermediário N-acilado que em seguida é atacado pelo átomo de enxofre do grupo tiocarbonila. Posteriormente, ocorre a aromatização do anel heterocíclico com a saída de uma molécula de água. A figura 24 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais que originam os mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida nas condições tradicionais utilizadas neste trabalho.

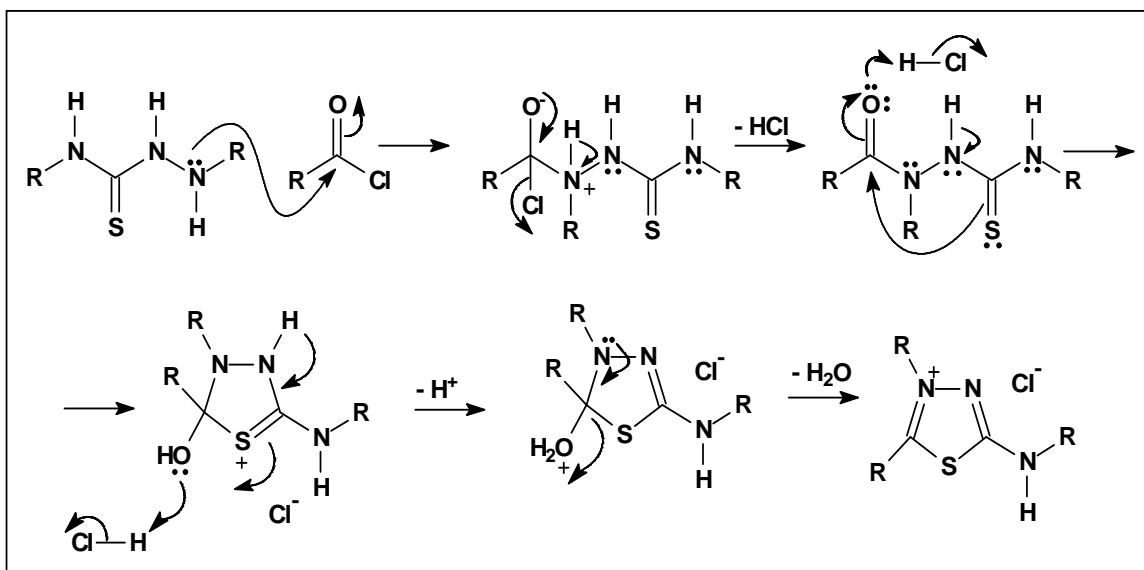


Figura 27: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais precursores dos mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida nas condições tradicionais.

4.2 Preparação dos Cloridratos Meso-iônicos Utilizando Metodologias Alternativas

Os mesoiônicos, na forma de sais, foram obtidos por duas metodologias alternativas diferentes, visando à diminuição nos tempos de reação e adequando a preparação desses compostos aos princípios da Química Verde. A estratégia de síntese dos cloridratos mesoiônicos, para as metodologias alternativas utilizadas neste trabalho, envolveu a reação da 1,4-difeniltiossemicarbazida com o aldeído apropriado na presença de um ácido de Lewis e 1,4-dioxano como solvente orgânico, conforme mostrado nas figuras 25 e 26. Nas duas metodologias fez-se uso de dois ácidos de Lewis diferentes, o cloreto de tionila (SOCl_2) e o cloreto de trimetil silano (TMS-Cl). O uso do aldeído e do ácido de Lewis visou à eliminação de uma etapa de reação em relação à metodologia tradicional, que utiliza o ácido carboxílico e a posterior preparação do cloreto de ácido, bem como a diminuição do tempo de obtenção dos compostos. Neste trabalho foram preparados sete cloridratos mesoiônicos (**19-22**, **28-30**) através das metodologias alternativas.

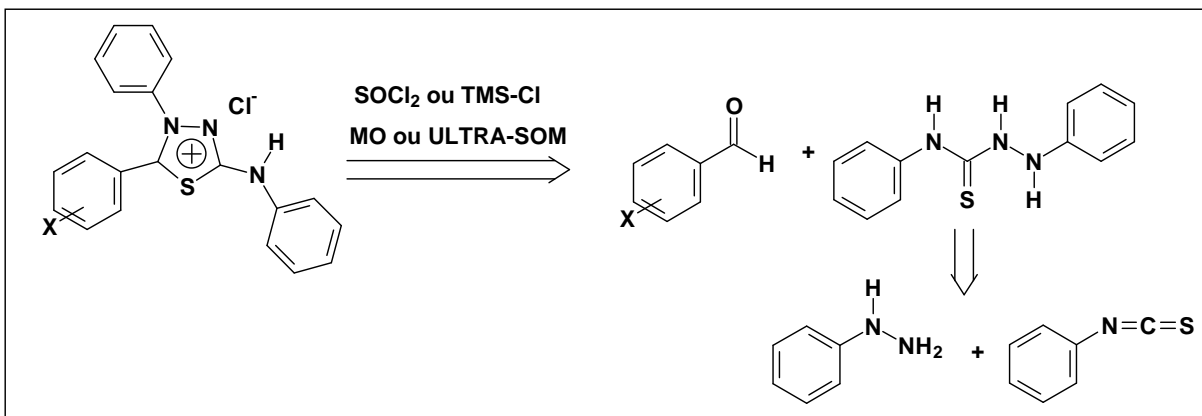


Figura 28: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do benzaldeído devidamente substituído utilizando as metodologias alternativas.

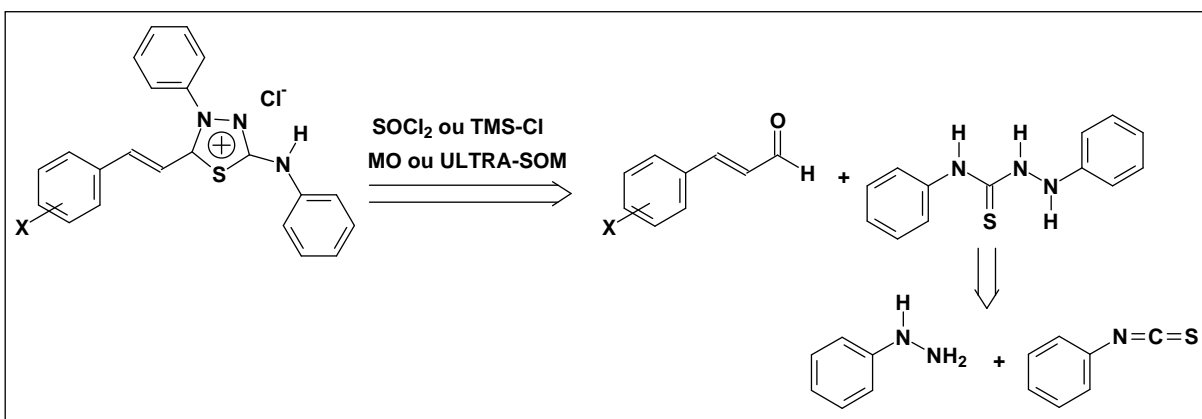


Figura 29: Retrossíntese para os cloridratos mesoiônicos preparados a partir do cinamaldeído devidamente substituído utilizando as metodologias alternativas.

4.2.1 Metodologia via irradiação de microondas

O aquecimento por microondas é também chamado de aquecimento dielétrico, e existem dois mecanismos principais para a transformação de energia eletromagnética em calor. O primeiro deles é chamado rotação de dipolo, e relaciona-se com o alinhamento das moléculas, que tem dipolos permanentes ou induzidos, com o campo elétrico aplicado. Quando o campo é removido as moléculas voltam a um estado desordenado, e a energia que foi absorvida para esta orientação nestes dipolos é dissipada na forma de calor. Como o campo elétrico na frequência de 2,45 GHz, que é a da microonda, oscila $4,9 \times 10^9$ vezes por segundo, ocorre um pronto aquecimento destas moléculas (SANSEVERINO, 2002). Uma representação esquemática é mostrada na Figura 27, onde se usou a água como exemplo.

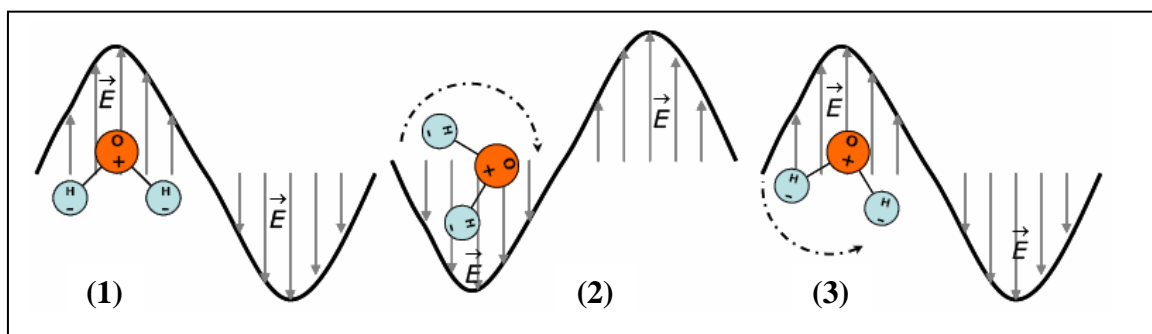


Figura 30: Polarização da molécula da água com o campo magnético (SANSEVERINO, 2002).

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

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

Além das vantagens reacionais proporcionadas pelo aquecimento por microondas esta técnica pode ser considerada como um processo promissor dentro dos princípios da Química Verde. Sendo assim, esta metodologia, foi alvo de estudos neste trabalho de dissertação.

a) Preparação dos cloridratos mesoiônicos via irradiação de microondas usando SOCl₂ como ácido de Lewis

As reações para a obtenção dos cloridratos mesoiônicos foram realizadas utilizando quantidades equivalentes do aldeído substituído e 1,4-difeniltiossemicarbazida, sob irradiação de microondas, na presença de cloreto de tionila (3x excesso) como ácido de Lewis e 1,4-dioxano em quantidade suficiente para homogeneizar os reagentes. O tempo de exposição à irradiação de microondas foi de 5 minutos na potência 2, posteriormente a mistura reacional foi vertida em 1,4-dioxano e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e posteriormente lavado com 1,4-dioxano gelado e água destilada, também gelada, obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Os pontos de fusão foram comparados com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007 e FERREIRA, 2007). A tabela 11 mostra os rendimentos dos sais mesoiônicos obtidos utilizando a metodologia tradicional e a irradiação de microondas com SOCl₂ como ácido de Lewis, sendo observado que todos os compostos foram obtidos com melhores rendimentos.

O cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina foi sintetizado pela primeira vez neste trabalho utilizando as metodologias alternativas, sendo assim, não há relatos da obtenção desse composto via metodologia tradicional.

Tabela 11: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional e irradiação de microondas com cloreto de tionila como ácido de Lewis.

MESOIÔNICO (X)	MET. TRAD. 4 horas (%)	MO / 5 min (%)
		SOCl ₂
19	H	92
20	4'-OCH ₃	96
21	4'-NO ₂	98
22	H-estiril	90
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	91
29	2'-OCH ₃ -estiril	95
30	2',4'-metilenodioxo	92

^aDA SILVA, 2007; ^bFERREIRA, 2006.

b) Proposta do mecanismo para a etapa de heterociclicização utilizando SOCl₂

O mecanismo sugerido para a síntese dos sais mesoiônicos utilizando SOCl₂ envolve inicialmente o ataque dos pares de elétrons não-ligantes do oxigênio do grupo carbonila do aldeído ao átomo de enxofre do cloreto de tionila, formando um intermediário com um carbono com maior caráter eletrofílico. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico da 1,4-difeniltiossemicarbazida a este carbono eletrofílico formando um intermediário N-acilado que posteriormente é atacado pelo átomo de enxofre do grupo tiocarbonila eliminando uma molécula de SO₂ e levando a formação do sistema cíclico. Posteriormente, ocorre a aromatização do heterociclo com a retirada de um hidrogênio pelo íon cloreto formando ácido clorídrico. A figura 28 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando cloreto de tionila como ácido de Lewis.

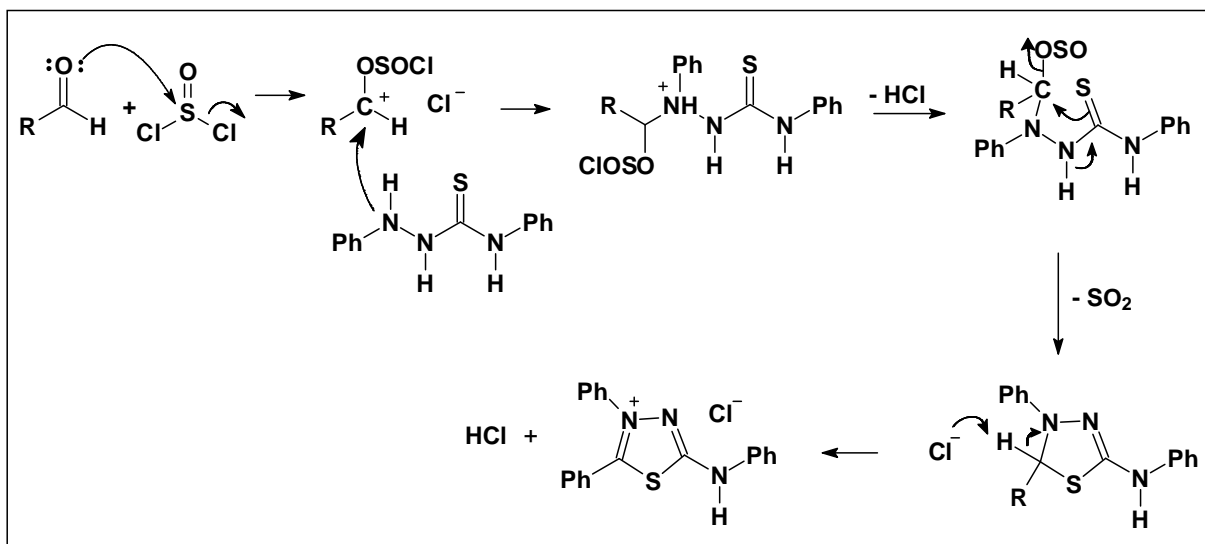


Figura 31: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando SOCl₂ como ácido de Lewis.

c) Preparação dos cloridratos mesoiônicos via irradiação de microondas usando TMS-Cl como ácido de Lewis

Os sais dos compostos mesoiônicos também foram obtidos a partir da reação da 1,4-difeniltiossemicarbazida com o aldeído adequadamente substituído, em quantidades equivalentes sob irradiação de microondas, na presença de cloreto de trimetil silano (TMS-Cl) (2x excesso) como ácido de Lewis e 1,4-dioxano em quantidade suficiente para homogeneizar os reagentes. O tempo de exposição à irradiação de microondas foi também, de 5 minutos na potência 2, sendo posteriormente a mistura reacional vertida sobre 1,4-dioxano e deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e lavado com 1,4-dioxano gelado e água destilada também gelada, obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Os pontos de fusão foram comparados com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007 e FERREIRA, 2007). A tabela 12 mostra os rendimentos dos sais mesoiônicos obtidos utilizando a metodologia tradicional e a irradiação de microondas com SOCl_2 e TMS-Cl para comparação da eficiência dos ácidos de Lewis. O cloreto de tionila mostrou-se mais eficiente na obtenção dos mesoiônicos, com exceção do 4'-N(CH₃)₂-estiril substituído que apresentou rendimento similar.

Tabela 12: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional e irradiação de microondas com SOCl_2 e TMS-Cl como ácidos de Lewis.

MESOIÔNICO (X)	MET. TRAD. 4 horas (%)	MO / 5 min (%)		
		SOCl_2	TMS-Cl	
19	H	87	92	68
20	4'-OCH ₃	52	96	41
21	4'-NO ₂	78	98	95
22	H-estiril	58	90	87
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	***	91	93
29	2'-OCH ₃ -estiril	73 ^a	95	87
30	2',4'-metilenodioxí	68 ^b	92	74

^aDA SILVA, 2007; ^bFERREIRA, 2006.

d) Proposta do mecanismo para a síntese dos sais mesoiônicos utilizando TMS-Cl

O mecanismo sugerido para a síntese dos sais mesoiônicos utilizando TMS-Cl, envolve inicialmente o ataque dos pares de elétrons não-ligantes do oxigênio do grupo carbonila do aldeído ao átomo de silício do cloreto de trimetil silano, formando um intermediário com um carbono mais eletrofílico. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico da 1,4-difeniltiossemicarbazida a este carbono eletronicamente deficiente, formando um intermediário N-acilado que é atacado pelo átomo de enxofre do grupo tiocarbonila eliminando o grupo trimetil silano e promovendo o fechamento do anel heterocíclico. Posteriormente, ocorre a aromatização do heterociclo com a retirada de um hidrogênio pelo grupo trimetil silano formando o trimetil silanol. A figura 29 mostra o mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando trimetil silano como ácido de Lewis.

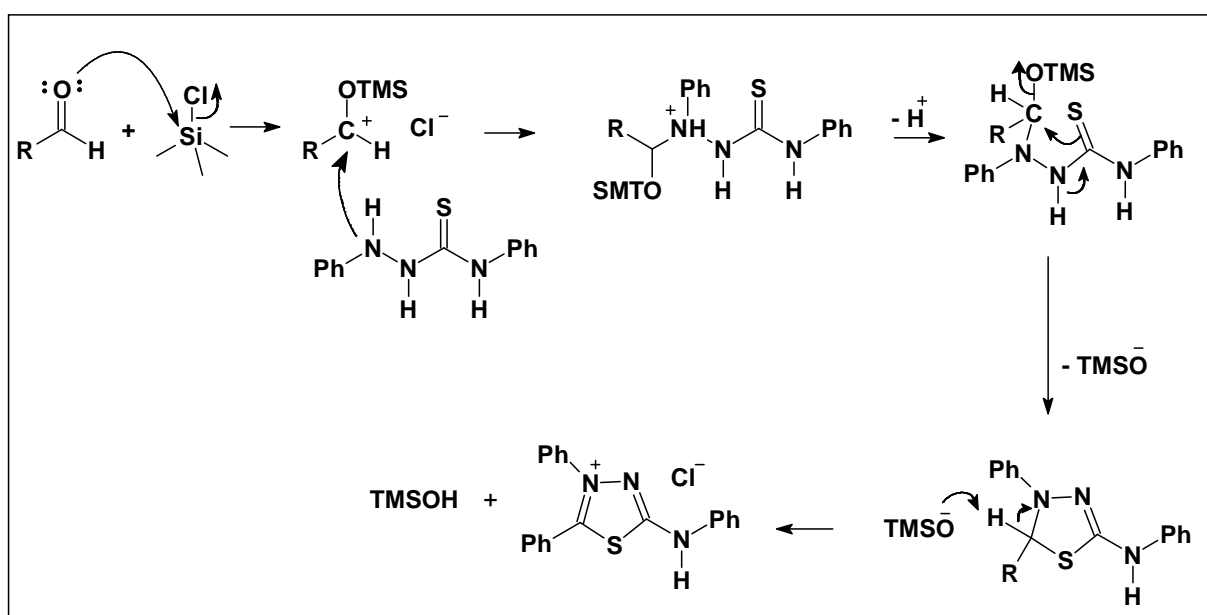


Figura 32: Mecanismo de reação sugerido para a obtenção dos sais mesoiônicos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas utilizando TMS-Cl como ácido de Lewis.

4.2.2 Metodologia via irradiação de ultra-som

A produção de ultra-som é um fenômeno físico baseado no processo, denominado cavitação, de criar, aumentar e implodir cavidades de vapor e gases em um líquido promovendo efeitos de ativação em reações químicas. A origem da cavitação se deve ao fato que, durante a expansão, os gases adsorvidos no líquido ao redor da cavidade ou na interface, evaporam-se resultando na expansão da cavidade. Durante a etapa de compressão estes gases ou vapores não retornam completamente ao líquido, resultando num aumento efetivo da cavidade. Ciclos periódicos de compressão e expansão causam aumento do tamanho da cavidade. A cavidade ao atingir um tamanho crítico implode-se, liberando grande quantidade de calor e pressão num curto período de tempo e em pontos localizados do líquido provocando um efeito não usual em reações químicas, diminuindo o tempo das reações e aumentando consideravelmente o rendimento (MARTINES *et al.*, 2000).

Esta técnica também é considerada como bem promissora dentro dos princípios da Química Verde e foi estudada como metodologia alternativa neste trabalho de dissertação.

a) Usando SOCl_2 como ácido de Lewis

As reações para a obtenção do cloridratos mesoiônicos foram realizadas utilizando quantidades equivalentes do aldeído substituído e 1,4-difeniltiossemicarbazida, sob irradiação de ultra-som, na presença de cloreto de tionila (2x excesso) como ácido de Lewis e 1,4-dioxano como solvente. O tempo de exposição à irradiação de ultra-som foi de 10 minutos, sendo a solução contendo a mistura reacional deixada em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e posteriormente lavado com 1,4-dioxano gelado e água destilada, também gelada obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Os pontos de fusão foram comparados com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007 e FERREIRA, 2007). A tabela 13 mostra os rendimentos dos sais mesoiônicos obtidos utilizando a metodologia tradicional, a irradiação de microondas e irradiação de ultra-som, ambas com SOCl_2 como ácido de Lewis. Os resultados obtidos indicaram melhores rendimentos do que através da metodologia tradicional, exceto para o derivado não-substituído, mas inferiores quando utilizado o método por irradiação em forno de microondas para todos os compostos sintetizados.

Tabela 13: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional, irradiação de microondas e irradiação de ultra-som com SOCl_2 como ácido de Lewis.

	MESOIÔNICO (X)	MET. TRAD. 4 horas (%)	MO	ULTRA-SOM
			5 min (%)	10 min (%)
			SOCl_2	SOCl_2
19	H	87	92	83
20	4'-OCH ₃	52	96	74
21	4'-NO ₂	78	98	83
22	H-estiril	58	90	86
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	***	91	72
29	2'-OCH ₃ -estiril	73 ^a	95	84
30	2',4'-metilenodioxi	68 ^b	92	87

^aDA SILVA, 2007; ^bFERREIRA, 2006.

b) Usando TMS-Cl como ácido de Lewis

Os sais dos compostos mesoiônicos também foram obtidos a partir da reação da 1,4-difeniltiossemicarbazida com o aldeído substituído, em quantidades equivalentes sob irradiação de microondas, na presença de cloreto de trimetil silano (2x excesso), como ácido de Lewis, e 1,4-dioxano como solvente. O tempo de exposição à irradiação de ultra-som foi também, de 10 minutos, sendo deixados, posteriormente, em repouso por 24 horas. O precipitado formado foi filtrado e em seguida lavado com 1,4-dioxano gelado e água destilada, também gelada, obtendo-se os produtos finais puros em rendimentos satisfatórios. Os pontos de fusão foram comparados com os correspondentes da literatura (DA SILVA, 2007 e FERREIRA, 2007). A tabela 14 mostra os rendimentos dos sais mesoiônicos obtidos utilizando a metodologia tradicional, as metodologias alternativas com irradiação de microondas e de ultra-som com SOCl_2 e TMS-Cl como ácidos de Lewis. A comparação entre todas as metodologias utilizadas indicou que os melhores rendimentos foram obtidos quando usada à irradiação de microondas e o cloreto de tionila como ácido de Lewis.

Tabela 14: Rendimentos dos cloridratos mesoiônicos preparados via metodologia tradicional, irradiação de microondas e irradiação de ultra-som com SOCl_2 e TMS-Cl como ácidos de Lewis.

MESOIÔNICO (X)	MET. TRAD. 4 horas (%)	MO		ULTRA-SOM		
		5 min (%)		10 min (%)		
		SOCl_2	TMS-Cl	SOCl_2	TMS-Cl	
19	H	87	92	68	83	89
20	4'-OCH ₃	52	96	41	74	66
21	4'-NO ₂	78	98	95	83	98
22	H-estiril	58	90	87	86	73
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	***	91	93	72	68
29	2'-OCH ₃ -estiril	73 ^a	95	87	84	83
30	2',4'-metilenodioxi	68 ^b	92	74	87	87

^aDA SILVA, 2007; ^bFERREIRA, 2006.

4.3 Preparação dos Mesoiônicos na Forma de suas Bases Livres

Os mesoiônicos 2,4-difenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, onde X = H, OCH₃ e NO₂, foram preparados a partir da desprotonação dos correspondentes cloridratos com solução aquosa de NaOH, conforme mostrado na figura 30. Obtiveram-se os produtos finais puros e rendimentos de 61, 72 e 56%, respectivamente, e os pontos de fusão foram comparados com os correspondentes da literatura (MACIEL *et al.*, 1998). A tabela 5, em Materiais e Métodos, mostra os rendimentos e pontos de fusão para os compostos mesoiônicos preparados.

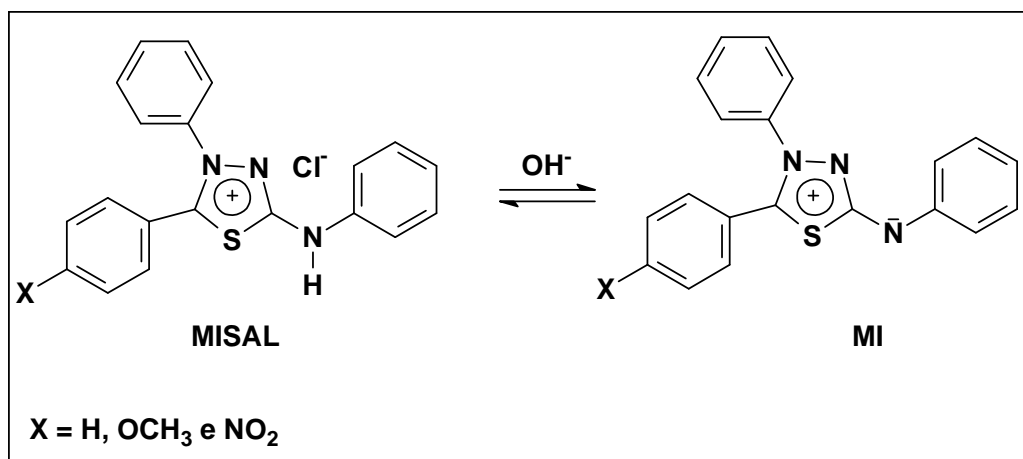


Figura 33: Estrutura geral dos cloridratos e dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

4.4 Análise Espectroscópica

Os compostos mesoiônicos sintetizados neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C .

Dos doze compostos sintetizados nove foram na forma de cloridratos (**19-24**, **28-30**) e três na forma de bases livres (**25-27**), sendo que destes, onze já apresentam sua determinação estrutural descrita na literatura (MACIEL *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2000 e DA SILVA, 2007), e para estes foram destacados somente os valores de deslocamentos químicos mais característicos nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C .

O mesoiônico cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**28**), que está sendo descrito pela primeira vez na literatura, foi caracterizado com maior detalhamento, incluindo todos os valores de deslocamentos químicos, principalmente de RMN ^{13}C . No entanto, sua atribuição estrutural foi feita por comparação com os outros mesoiônicos já conhecidos.

A atribuição para cada composto está descrita no tópico **3.4** da seção Materiais e Métodos e os espectros obtidos encontram-se na seção de Anexos deste trabalho.

4.4.1 Infravermelho

Os espectros de infravermelho dos compostos sintetizados indicaram, para os cloridratos mesoiônicos, absorções características nas faixas correspondentes aos grupos N-H em 3400 cm^{-1} , C=NH⁺ em 2600 cm^{-1} e C=N em 1560 cm^{-1} . Considerando-se os derivados contendo o grupo estiril foram observadas, também, absorções características para os grupamentos C=C vinílico em 1600 cm^{-1} , além das bandas típicas referentes às ligações C-H e C=C aromáticas indicando o perfil de substituição.

4.4.2 RMN ^1H e RMN ^{13}C

Os espectros de RMN de ^1H apresentaram, de maneira geral, pouca informação sobre as estruturas dos mesoiônicos devido à presença de três anéis aromáticos, sendo dois deles com deslocamentos químicos muito próximos por possuírem ambientes químicos similares envolvendo o átomo de nitrogênio. Um outro inconveniente foi o fato de algumas amostras serem solúveis apenas em clorofórmio, dificultando ainda mais a visualização dos sinais na região aromática.

No entanto, puderam ser observados para os cloridratos mesoiônicos derivados do ácido cinâmico devidamente substituído (**22-24**, **28** e **29**), os deslocamentos químicos

característicos dos hidrogênios olefínicos entre δ 7,89 a 8,04 para H α , e δ 6,74 a 7,33 para H β , de acordo com os efeitos eletrônicos esperados.

Para os sais dos mesoiônicos não foi possível observar o hidrogênio ligado ao nitrogênio exocíclico (com exceção dos derivados **20**, **28** e **30**), provavelmente, devido à troca isotópica favorecida pelos solventes deuterados utilizados, clorofórmio ou metanol.

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos mesoiônicos, foi possível observar os deslocamentos químicos característicos dos carbonos C-2 e C-5 do anel heterocíclico. Para os cloridratos mesoiônicos, (**19-24**, **28-30**), o C-5 foi assinalado com os maiores deslocamentos químicos, na faixa de δ 155,14 a 165,13, e o C-2 com os menores deslocamentos químicos δ 147,84 a 161,47, em relação aos primeiros, ambos carbonos quaternários.

Os carbonos C- α e C- β , para os cloridratos que apresentam o grupo esteril (**22-24**, **28** e **29**), tiveram deslocamentos químicos refletindo o efeito retirador de elétrons do anel heterocíclico, ou seja, o C- α mostrou-se sempre mais desprotegido na faixa de δ 137,04 a 162,04, enquanto que o C- β mais protegido na faixa de δ 104,04 a 144,66.

Os deslocamentos para os carbonos em posição *ipso* ao grupo substituinte também foram observados (com exceção do derivado **20**). Para os cloridratos substituídos com grupos doadores de elétrons (**23**, **28** e **29**) as absorções apresentaram-se na faixa de δ 162,29 a 164,85, em campo mais baixo comparando-se com os derivados substituídos com grupos retiradores de elétrons, cujos deslocamentos para o carbono *ipso* ao substituinte foram de δ 137,95 (**21**) e 148,58 (**24**), de acordo com a natureza do grupo.

Para o mesoiônico cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (**28**), foi possível observar os deslocamentos químicos dos carbonos do anel heterocíclico de δ 155,14 para C-5 e δ 151,77 para C-2. Dos compostos obtidos este derivado foi o que apresentou maior valor de deslocamento químico para o carbono *ipso* ao substituinte de δ 164,85, isso porque os dois grupos metila, doadores de elétrons, aumentam a densidade eletrônica do nitrogênio tornando-o mais eletronegativo e aumentando a diferença dessa eletronegatividade em relação ao carbono *ipso*, apresentando, assim, o seu deslocamento em campo mais baixo em comparação com derivado 4'-nitro-esteril (**24**), para o qual observou-se o deslocamento químico do carbono *ipso* em campo mais alto, ou seja, δ 148,58. Os carbonos vinílicos deste derivado também apresentaram valores coerentes com o efeito retirador do anel heterocíclico, sendo δ 140,01 para C- α e δ 104,04 para C- β .

Para os mesoiônicos na forma de bases livres também foi possível observar os deslocamentos químicos dos carbonos do anel heterocíclico C-5 δ 148,03 a 170,27, e C-2 δ

136,02 a 148,78. As figuras 31 e 32 mostram as estruturas gerais e numeradas dos compostos mesoiônicos sintetizados.

As tabelas 15 e 16 mostram os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C mais característicos para os carbonos dos compostos sintetizados, os cloridratos e mesoiônicos, respectivamente.

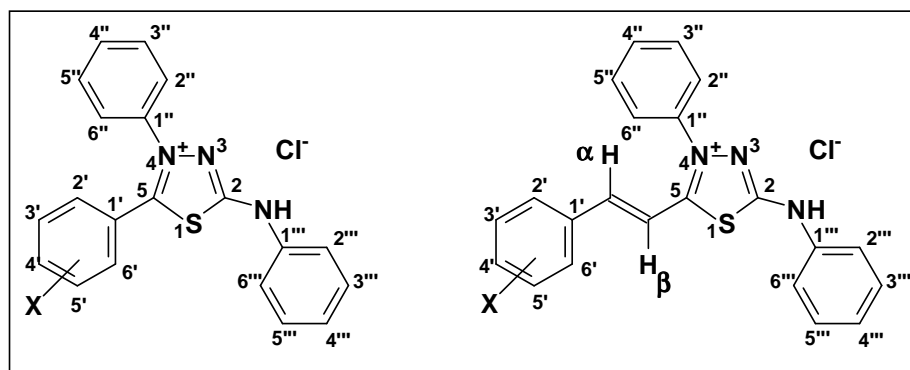


Figura 34: Estruturas gerais e numeradas dos cloridratos mesoiônicos sintetizados.

Tabela 15: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais característicos de RMN ^{13}C para os sais mesoiônicos.

	SAIS MESOIÔNICOS (X)	δ C-5	δ C-2	δ C- <i>ipso</i>	δ C- α	δ C- β
19	H	163,84	160,48	-	-	-
20	4'-OCH ₃	163,00	159,48	n.o.	-	-
21	4'-NO ₂	160,84	149,20	137,95	-	-
22	H-estiril	159,24	147,84	-	137,04	111,62
23	4'-OCH ₃ -estiril	162,54	158,44	163,28	148,34	108,77
24	4'-NO ₂ -estiril	162,04	159,68	148,58	144,66	115,51
28	4'-N(CH ₃) ₂ -estiril	155,14	151,77	164,85	140,01	104,04
29	2'-OCH ₃ -estiril	159,15	158,57	162,29	144,58	111,40
30	3',4'-metilenodioxi	165,13	161,47	-	-	-

n.o. Não observado

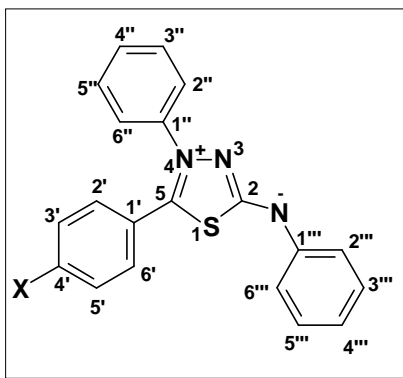


Figura 35: Estruturas gerais e numeradas dos mesoiônicos sintetizados.

Tabela 16: Deslocamentos químicos (ppm) dos sinais característicos de RMN ^{13}C para os mesoiônicos na forma de base livre.

MESOIÔNICOS (X)		δ C-5	δ C-2	δ C- <i>ipso</i>
25	H	169,80	147,97	-
26	4'-OCH ₃	148,03	136,02	161,13
27	4'-NO ₂	170,27	148,78	147,20

4.5 Atividade Biológica

Nos últimos anos, devido às suas características estruturais especiais, as diferentes classes de mesoiônicos têm sido alvo de inúmeros estudos incluindo a atividade anti-câncer. Além disto, como já mencionado na Introdução, existem na literatura diversos relatos de suas diversificadas atividades biológicas. Assim, foram avaliadas as atividades citotóxicas dos cloridratos mesoiônicos **19**, **21** e **24** e dos mesoiônicos **25** e **27**, nas linhagens leucêmicas humanas HL60 e K562 e na linhagem de linfoma Daudi. A figura 33 mostra as estruturas químicas dos compostos ensaiados.

Os ensaios foram executados pela aluna de iniciação científica Amanda Fraga Miranda no Laboratório de Imunologia Tumoral da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob a orientação da professora Dra. Juliana Echevarria-Lima.

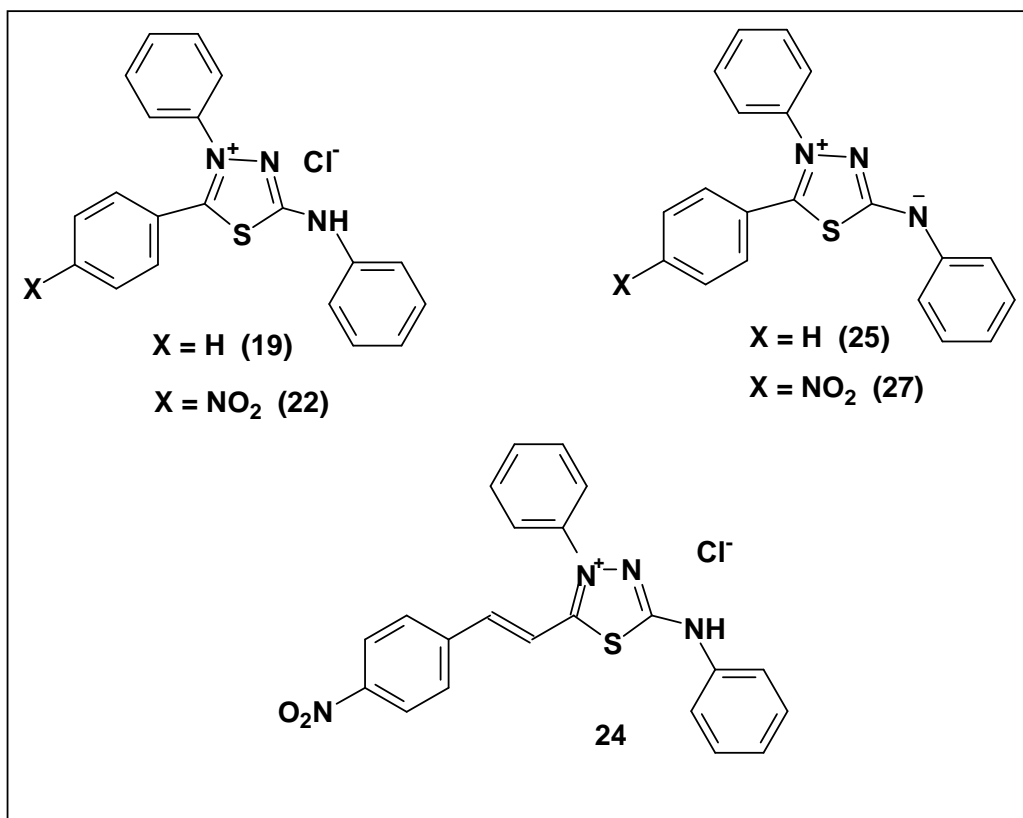


Figura 36: Estruturas químicas dos compostos mesoiônicos testados.

4.5.1 Ação citotóxica dos compostos mesoiônicos e seus cloridratos na linhagem Daudi

Os compostos mesoiônicos **25** e **27** foram ensaiados frente à linhagem de células Daudi em cultura de 96 horas, utilizando-se o método do MTT (MOSSMANN, 1983), sendo que os resultados mostraram que estes mesoiônicos não apresentaram atividade citotóxica nas condições utilizadas.

Os cloridratos **19** e **22** também foram avaliados frente às células de Daudi, nas mesmas condições experimentais, revelando baixa atividade para o derivado nitro-substituído, mas ainda não significativa. Este resultado levou-nos a ensaiar o derivado mais lipofílico **24** em culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, também, utilizando o método do MTT (MOSSMANN, 1983). As médias dos percentuais, em relação ao controle co DMSO, obtidos à partir dos valores de D.O., foram relacionadas com as respectivas concentrações obtendo-se os gráficos que indicaram os efeitos antiproliferativos. Os resultados mostraram atividade citotóxica significativa a partir de 24 horas de cultura frente às células da linhagem Daudi, conforme figura 34, sendo os efeitos inibitórios dependente da dose.

Assim, frente a esses resultados diversos outros ensaios foram realizados com o derivado **24**, incluindo outras linhagens de células tumorais.

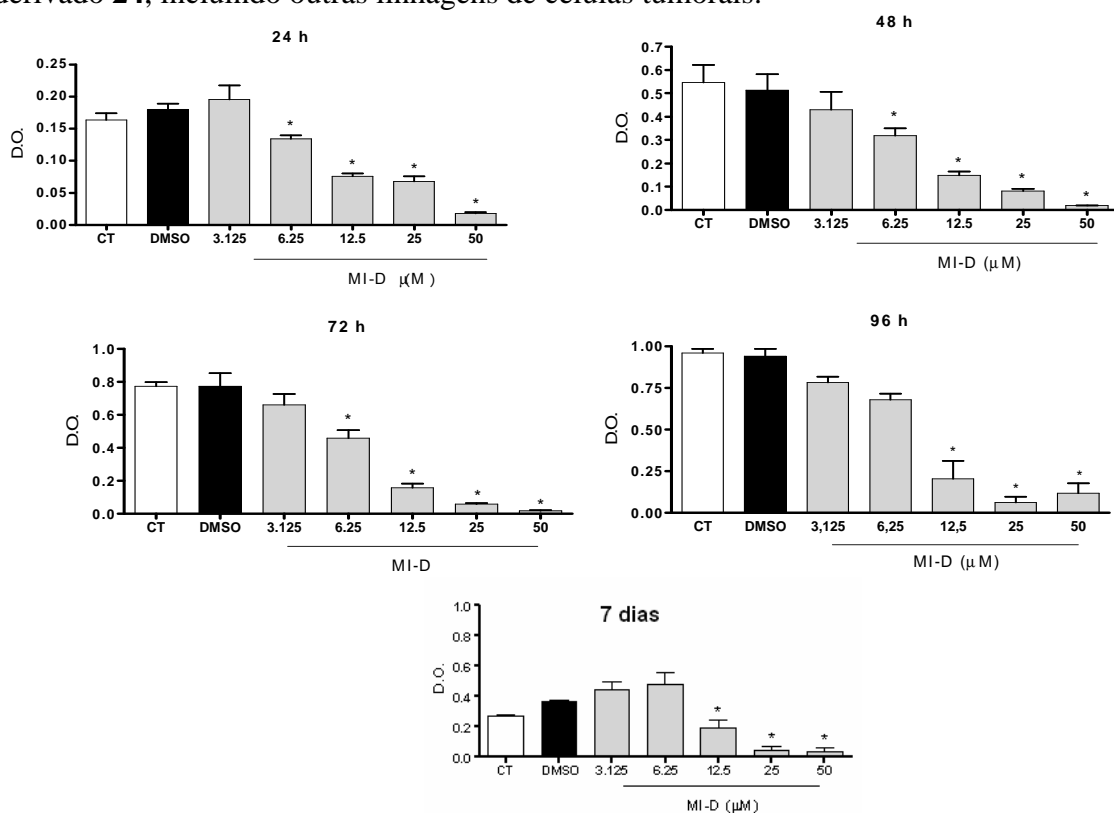


Figura 37: Efeito do composto mesoiônico **24** sobre as células Daudi nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT = controle e DMSO indica o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

4.5.2 Ação citotóxica do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) na linhagem de leucemia K562

O composto **24** foi ensaiado frente à linhagem de células K562 em cultura de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, utilizando-se o método do MTT (MOSSMANN, 1983). As médias dos percentuais, em relação ao controle co DMSO, obtidos à partir dos valores de D.O., foram relacionadas com as respectivas concentrações obtendo-se os gráficos que indicaram os efeitos antiproliferativos. Foi observado nos resultados obtidos que este mesoiônico reduziu a viabilidade das células K562 a partir das primeiras 24 horas de incubação, aumentando seu efeito, dose-dependente, de acordo com o tempo de exposição ao mesoiônico **24**, conforme figura 35.

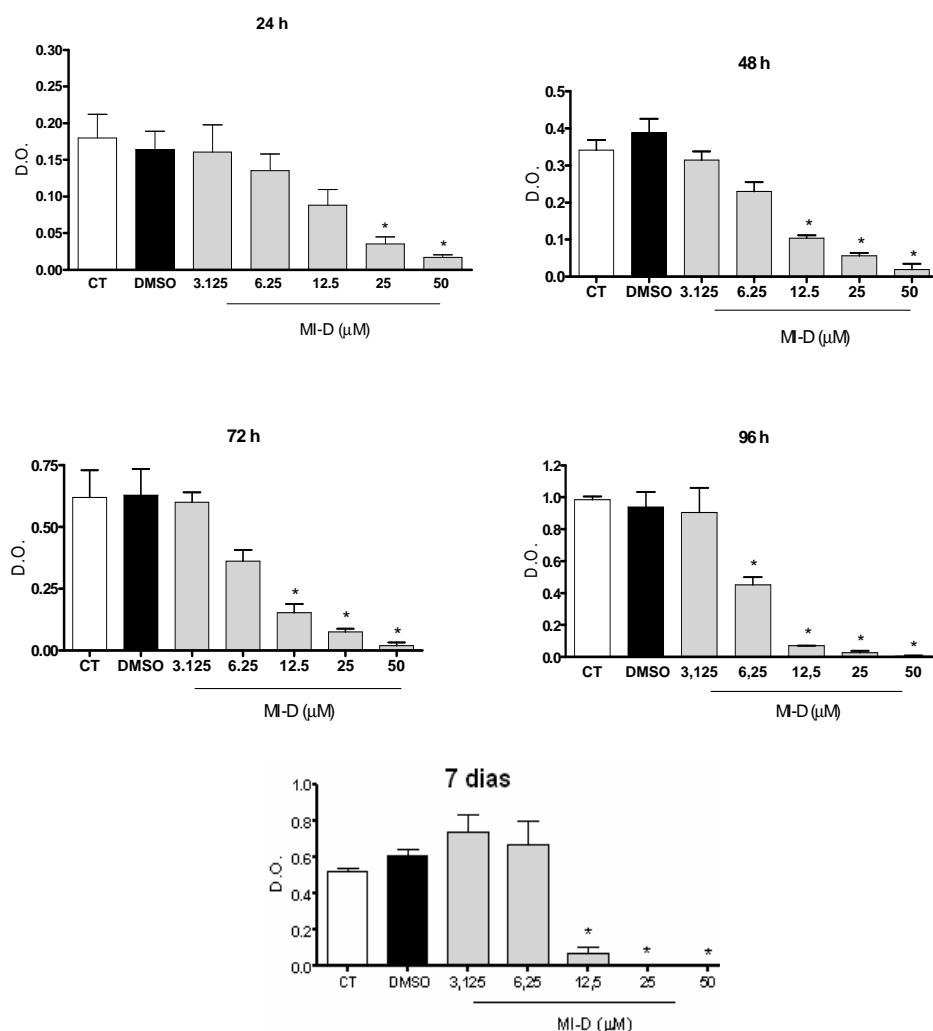


Figura 38: Efeito do composto mesoiônico **24** sobre a linhagem K562 nas culturas de 24, 48, 72, 96 horas e 7 dias, onde CT = controle e DMSO indica o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

4.5.3 Ação citotóxica do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) na linhagem de leucemia HL60

O composto **24** foi ensaiado frente à linhagem de células leucêmicas HL60 em cultura de 96 horas, utilizando-se o método do MTT (MOSSMANN, 1983). As médias dos percentuais, em relação ao controle co DMSO, obtidos à partir dos valores de D.O., foram relacionadas com as respectivas concentrações obtendo-se o gráfico (figura 38) que indicou o efeito antiproliferativo dose-dependente. Os resultados mostraram que o mesoiônico **24** foi muito ativo contra a linhagem celular HL60 a partir da concentração de 3,125 μM com um IC_{50} de 2,85 μM , conforme a figura 36. Além disso, a atividade citotóxica observada para o composto **24** foi muito maior sobre as células HL60 do que sobre as células de outra linhagem de leucemia mielóide, a K562 e também do que sobre a linhagem do linfoma Daudi.

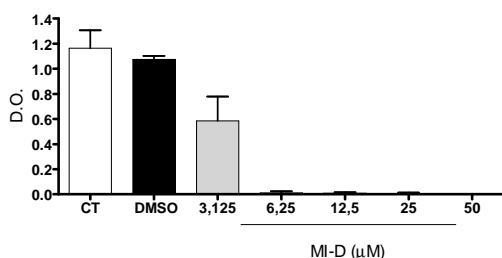


Figura 39: Atividade citotóxica do composto **24** sobre células HL60, onde CT = controle e DMSO indica o resultado apenas com o veículo utilizado nos ensaios. Os efeitos de D.O. foram registrados em 490 nm.

4.5.4 Comparação do efeito do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (24) sobre as células K562 e Daudi

As linhagens celulares Daudi e K562 foram cultivadas desde 24h até o período de 7 dias na presença de diferentes concentrações do composto mesoiônico **24**. A partir desses resultados foram realizados os cálculos para os valores do IC_{50} , descritos na tabela 17.

Tabela 17: Valores de IC_{50} (μM) para as células Daudi e K562.

TEMPO	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)	IC_{50} (μM)
	DAUDI	K562	HL60
24 h	10,76	12,12	***
48 h	8,62	7,63	***
72 h	7,93	7,08	***
96 h	10,17	6,03	***
7 dias	11,55	8,76	2,85

Ao compararmos os valores de IC_{50} para as 2 linhagens celulares testadas, observamos que as células Daudi, de origem linfóide, são tão sensíveis a ação citotóxica do mesoiônico **24** quanto a linhagem de origem mielóide K562 nas primeiras 72 horas. Já com 96 horas e 7 dias de incubação, as células K562 apresentaram maior quimiosensibilidade que as células Daudi.

5 CONCLUSÕES

A metodologia tradicional utilizada para a síntese dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminada, a partir dos cloretos de ácido e 1,4-difeniltiossemicarbazida, mostrou-se eficiente originando os produtos em alto grau de pureza .

O uso da metodologia alternativa utilizando irradiação em forno de microondas para a síntese dos ácidos cinâmico, intermediários na obtenção dos mesoiônicos, proporcionou uma diminuição considerável no tempo de reação em relação à metodologia tradicional com bons rendimentos.

As metodologias sintéticas utilizando irradiação de microondas e ultra-som proporcionaram a obtenção dos produtos em curto tempo reacional e melhores rendimentos quando comparadas a metodologia tradicional, permitindo, também, a eliminação de uma etapa de reação. Dentre os ácidos de Lewis utilizados o cloreto de tionila mostrou-se mais eficiente, bem como a técnica via irradiação de microondas em comparação com o cloreto de trimetil silano e a irradiação em banho de ultra-som. As técnicas utilizadas podem ser consideradas bem promissoras na ótica dos conceitos da Química Verde.

O estudo da atividade anti-tumoral dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2 aminada contra as linhagens de leucemias K562 e HL60, e a linhagem do linfoma Daudi, revelou que o composto **24** apresentou potente atividade anti-neoplásica contra todas as linhagens celulares testadas. O efeito citotóxico deste mesoiônico não se mostrou restrito a um tipo de linhagem.

Portanto, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, é possível propor a continuidade dos estudos, especialmente dos prováveis mecanismo de ação, além de sugerir que o mesoiônico **24** se apresenta como um promissor agente para a quimioterapia do câncer.

Além disso, os resultados mostraram que moléculas pertencentes a um mesmo grupo químico podem ter toxicidades distintas, caso existam pequenas alterações em suas estruturas, já que o mesoiônico **24** foi o único composto ativo contra as linhagens tumorais estudadas.

As metodologias alternativas com menos etapas e menor tempo de obtenção, levando a melhores rendimentos dos mesoiônicos, podem ser consideradas promissoras uma vez que essa classe de compostos apresenta-se como potencial fonte de novos agentes para a quimioterapia do câncer.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K. e LICHTMAN, A. H. *Imunologia celular e molecular*. Editora Elsevier, Rio de Janeiro. 5ª edição, Capítulos 7 e 17 (2005).

ALBERTS, B., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. e WALTER, P. *Cancer in Molecular Biology of the Cell*. Editora Garland Science, New York and London. 4ª edição, 23, 1313-1362 (2002).

ALMEIDA, V. L., LEITÃO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C. A. e DONNIEL, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. *Química Nova*, 28, 118-129 (2005).

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

BARBOSA, J. C. S. e SERRA, A. A. Ultra-som (I): Influencia do ultra-som na química. *Química Nova*, 15 (4), 302-316 (1992).

BOSE, A., K., MAGHAR, S. MANHAS, M. S., GHOSH, M., SHAH, M., RAJU, V. S.; BARI, S. S., NEWAZ, S. N., BANIK, B. K., CHAUDHARY, A. G. e BARAKAT, K. J. Microwave-Induced Organic Reaction Enhancement Chemistry. 2. Simplified Techniques, *Journal Organic Chemistry*, 56, 6968-6970 (1991).

COTRAN, R. S., KUMAR, V. e ROBBINS, S. L. *Patologic basis of disease*. Editora WB Saunders Company, Rio de Janeiro. 5 th Edition, 14, 648-658 (1994).

DA SILVA, E.F., ECHEVARRIA, A., BRAZ, V.R., CANTO-CAVALHEIRO, M., CYSNE-FINSKELSTEIN, L. e LEON, L. Synthesis, and biological evaluation of new 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine derivatives against *Leishmania amazonensis* promastigotes and amastigotes, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37, 979-984 (2002).

DA SILVA, E. F. Mesoiônicos, 1,3,4-tiadiazólio-2-amidinas: Síntese, solvatocromismo & citotoxicidade. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ (1997).

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

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

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

ECHEVARRIA, A., GRYNBERG, N. F., SHIZATO, T. O. e GOMES, M. R. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 33 (3), 274 (1987).

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

FERREIRA, W. S., Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ (2006).

FERREIRA, W. S., LIMA, L. F., SARAIVA, V. B., SILVA, F. A., PREVIATO, L. M., PREVIATO, J. O., ECHEVARRIA, A. e LIMA, M. E. F. Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: Chemical and biological studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2008).

FUNDAÇÃO ONCOCENTRO DE SÃO PAULO. *Boletim do Registro Hospitalar de Câncer*. Ano 6, Boletim 27 (2006).

FURNISS, B.S, HANNAFORD, A. J., SMITH, .W.P.G. e TATCHELL, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 692 (1989).

GELENS, E., SMEETS, L., SLIEDREGT, L. A. J. M., STEEN, B. J. V., KRUSE, C. G., LEURS, R. e ORRU, R. V. A. An atom efficient and solvent-free synthesis of structurally diverse amides using microwaves, *Tetrahedron Letters*, 46, 3751-3754 (2005).

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

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

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

GUZEN, K. P., CELLA, R. e STEFAN, H. A. Ultrasound enhanced synthesis of 1,5-benzodiazepinic heterocyclic rings, *Tetrahedron Letters*, 47, 8133-8136 (2006).

KAI-CHUNG, K., ECHEVARRIA, A., GALLEMBECK, S., MACIEL, M.A., MILLER, J., RUMJANEK, V. e SIMAS, A. *Acta Crystallographica*, 49, 1092-1094 (1993).

KAPPEL, J. C., YOKUM, T. S., BARANY, G. Parallel solid-phase synthesis of 1,3,4-thiadiazolium-2-aminides, *J. Comb. Chem.*, 6, 746-752 (2004).

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

KOTHARKAR, S. A. e SHINDE, D. B. Microwave assisted synthesis of 1,4-dihydropyridines, *Ukrainica Bioorganica Acta*, 1, 3-5 (2006).

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

LIU, K. F., YANG, P. H. e LIN, Y.T. Ultrasonic irradiation in the synthesis of triethylborane from ethyl bromide via ethylaluminum sesquibromide, *Journal of Organometallic Chemistry*, 294 (2), 145-149 (1985)

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

MARTINES, M. A. U., DAVOLOS, M. R. e JAFELICCI, M. J. O efeito do ultra-som em reações químicas, *Química Nova*, 23 (2), 251-256 (2000).

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

MURAD, A. M. e KOTZ, A. *Oncologia - Bases clínicas do tratamento*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro (1996).

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

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

OLLIS, W. D. e RAMSDEN, C. A. Meso-ionic compounds. *Adv. Heterocycl. Chem.*, 19 (1) 1-121 (1976).

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

PERREUX, L. e LOUPY, A. A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations, *Tetrahedron*, 57, 9199-9223 (2001).

POTTS, K.T., *Lect Heterocy. Chem.*, 4 (35), (1978).

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

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

RANER, K. D., STRAWS, C. R. e TRAINOR, R. W. A New Microwave Reactor for Batchwise Organic Synthesis, *Journal of Organic Chemistry*, 60, 2456-2460 (1995).

RODRIGUES, R. F., DA SILVA, E. F., ECHEVARRIA, A., FAJARDO-BONIN, R., AMARAL, V. F., LEON, L. L. e CANTO-CAVALHEIRO, M. M. A comparative study of mesoionic compounds in *Leishmania* sp. and toxicity evaluation, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42, 1039-1043 (2007).

SANTOS, A. C. S. Síntese, Espectroscopia e Correlações de Energia Livre de Novos Heterociclos Mesoiónicos da Classe dos 1,3,4-Tiadiazólio-2-fenilaminas, Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ (1993).

SANTOS, A.C.S. e ECHEVARRIA, A. Electronic effects on ^{13}C NMR chemical shifts of substituted 1,3,4-thiadiazolium salts, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39, 182-186 (2001).

SANSEVERINO, A. M. Microondas em síntese orgânica, *Química Nova*, 25, 660-667 (2002).

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

SHIH, M. H., TSAI, C. H., WANG, Y. C., SHEIH, M. Y., LIN, G. L. e WEI, C. Y. Microwave assisted synthesis of sydnonyl-substituted imidazoles, *Tetrahedron*, 63, 2990-2999 (2007).

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

SHINZATO, T.O., GRYNBERG, N.F., GOMES, M.R., ECHEVARRIA, A. e MILLER, J. "Antitumor activity of a new mesoionic compound of the 1,3,4-triazolium-5-thiolate class." Second International Conference of Anticancer Research, 11-15/10/88, Saronis, Greece.

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

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

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

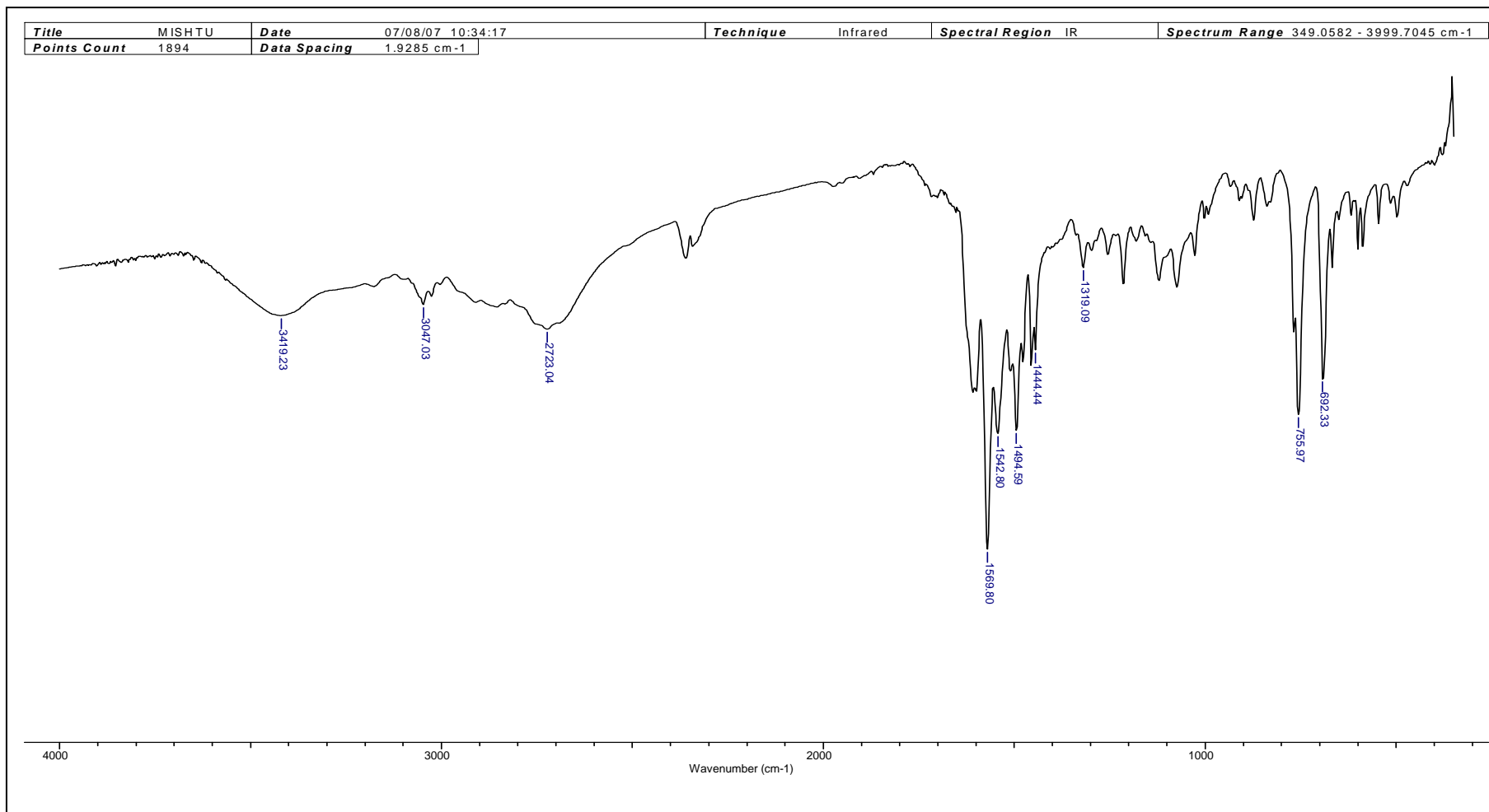
www.inca.gov.br, acessado em 08/02/2008.

www.universia.com.br, acessado em 08/02/2008.

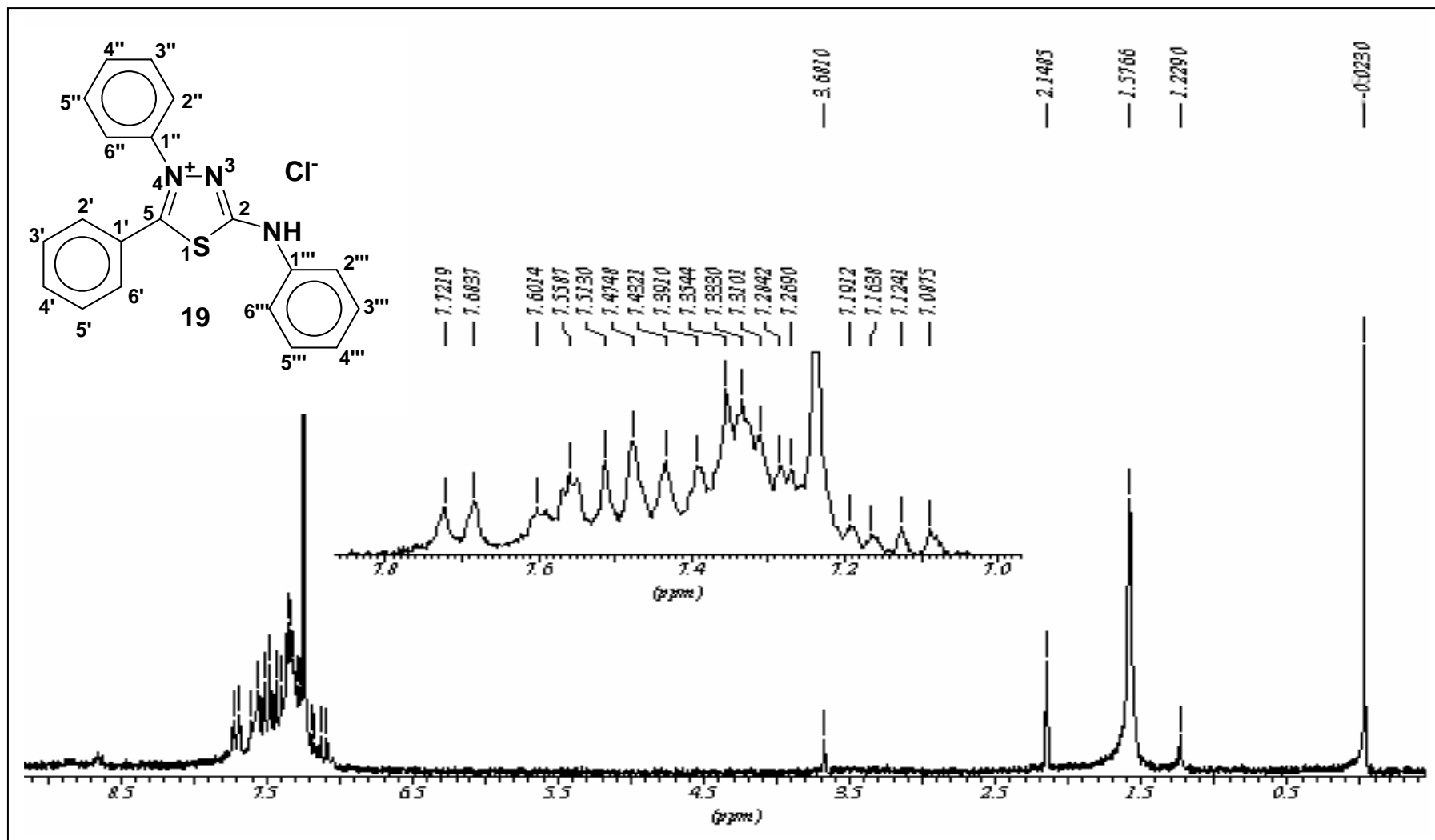
www.who.int/en (World Health Organization), acessado em 09/02/2008.

7 ANEXOS

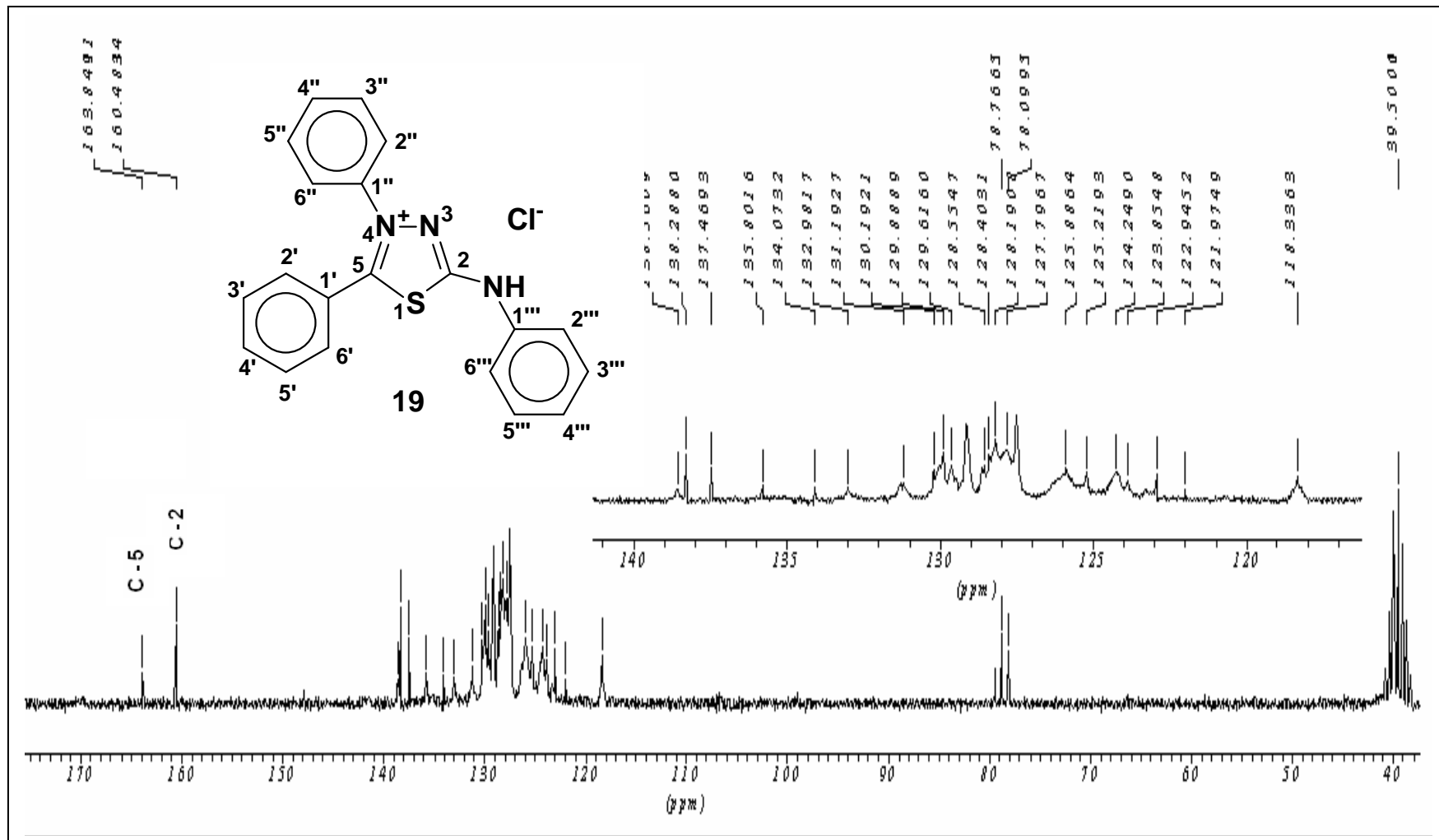
7.1 Espectro de IV do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



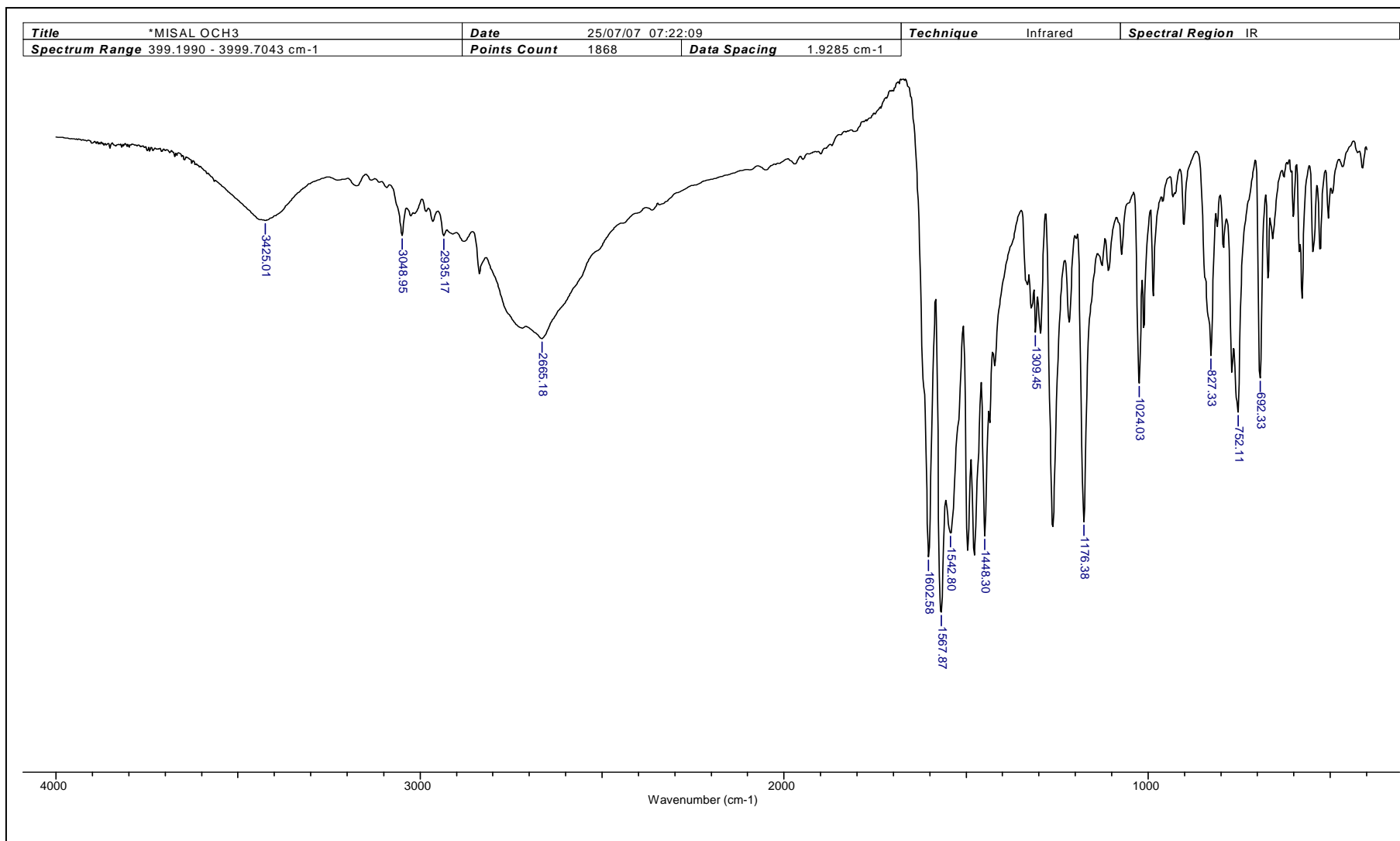
7.2 Espectro de RMN ^1H do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



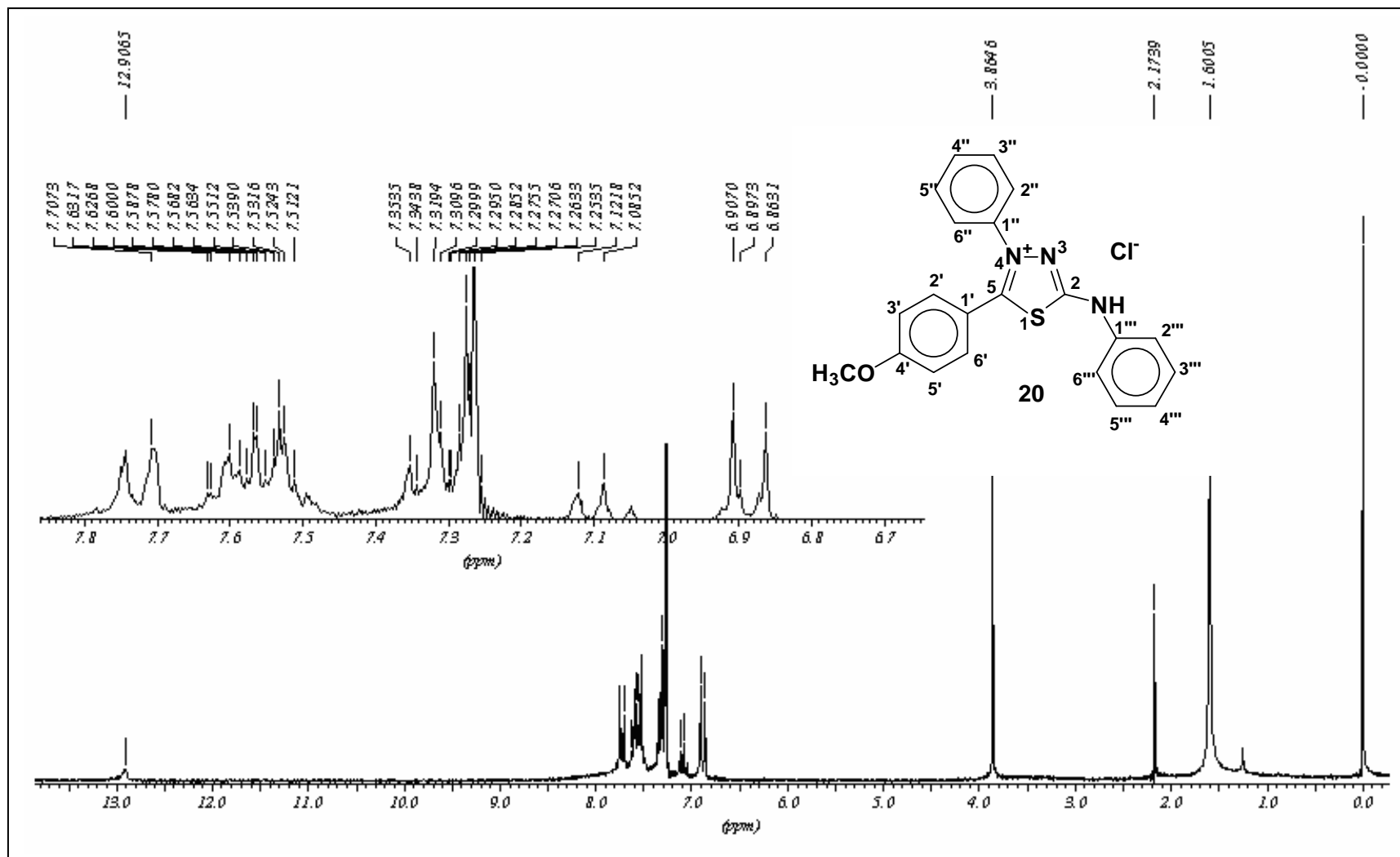
7.3 Espectro de RMN ^{13}C do cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



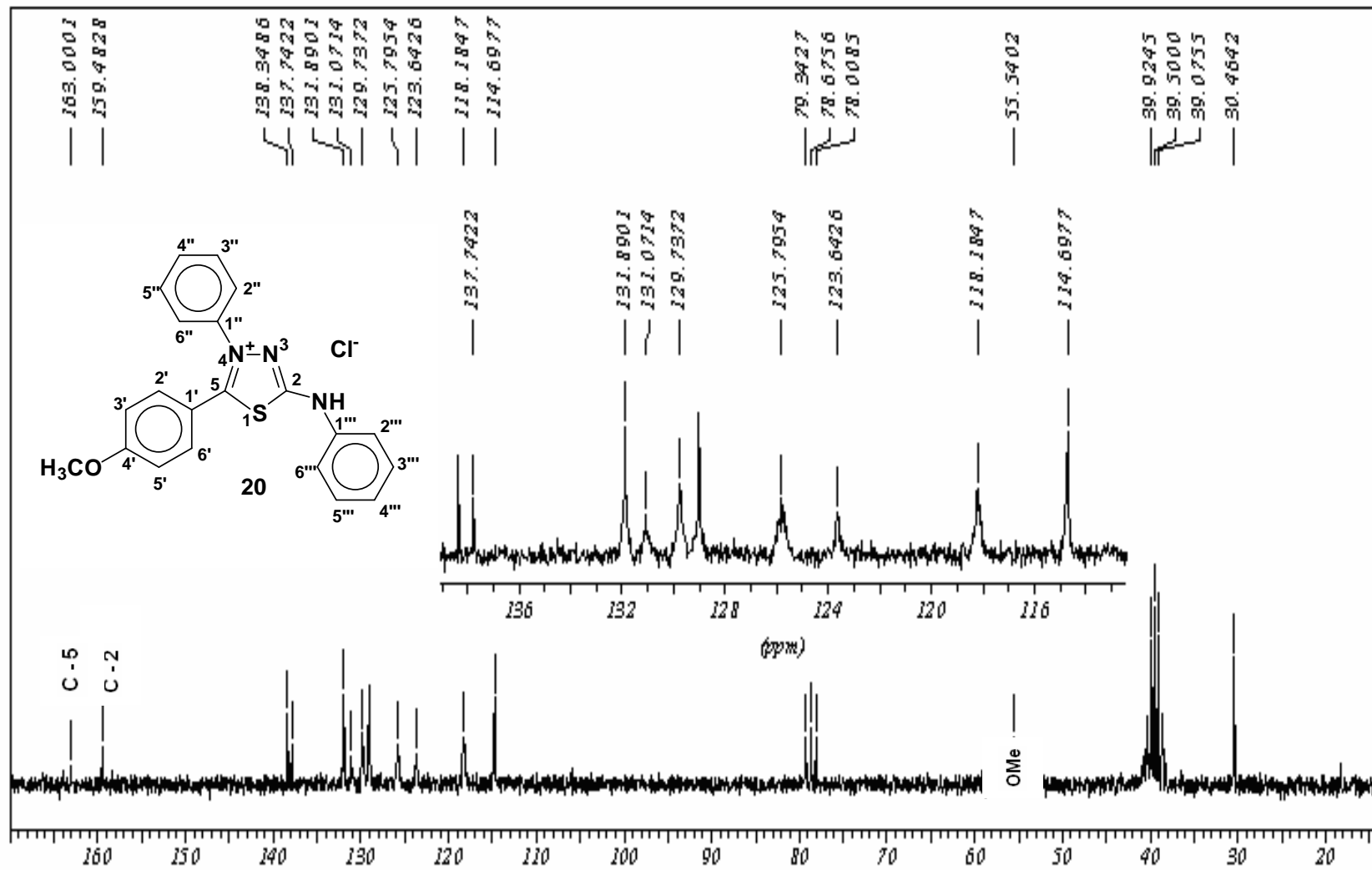
7.4 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



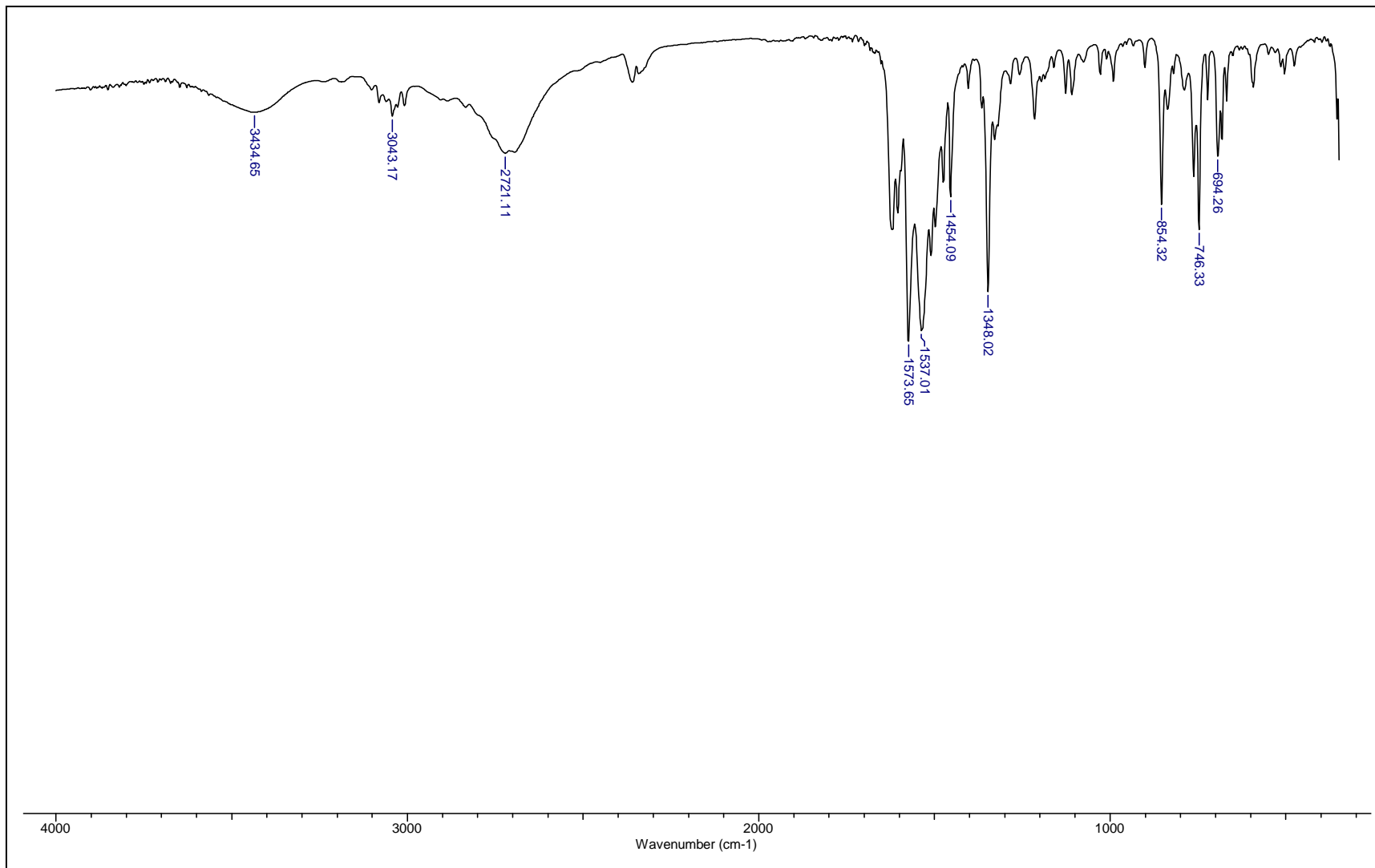
7.5 Espectro de RMN ^1H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



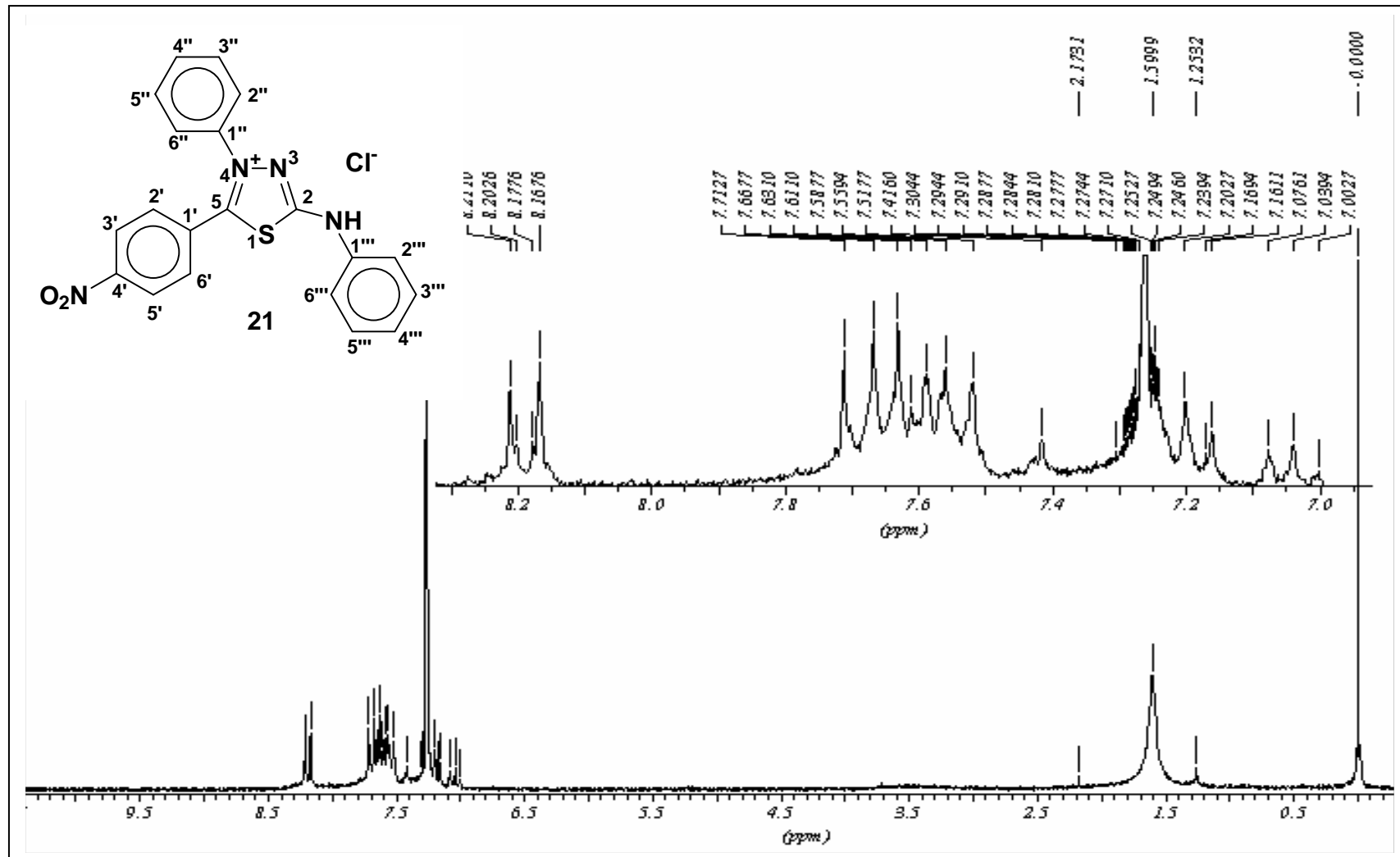
7.6 Espectro de RMN ¹³C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



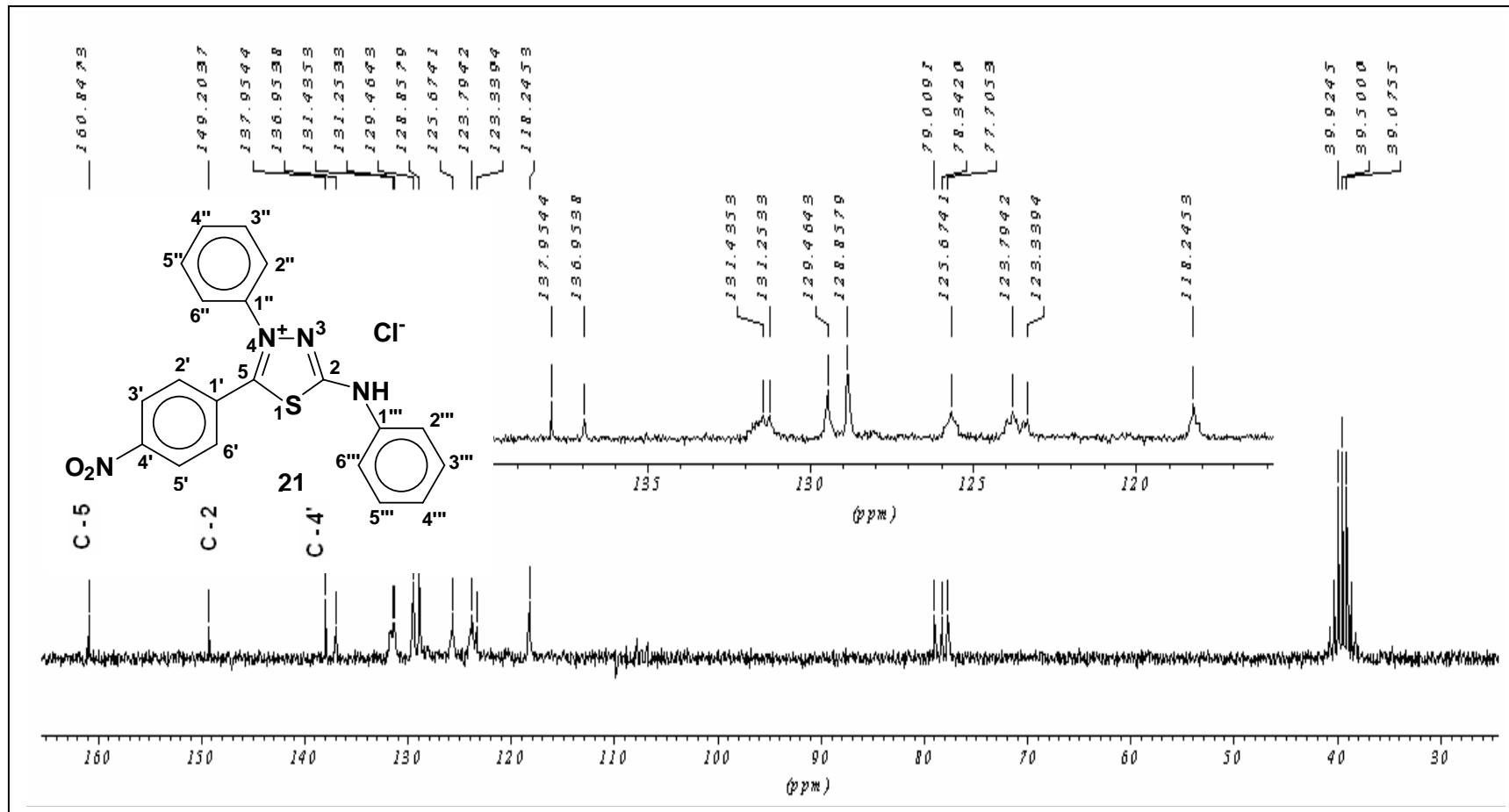
7.7 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



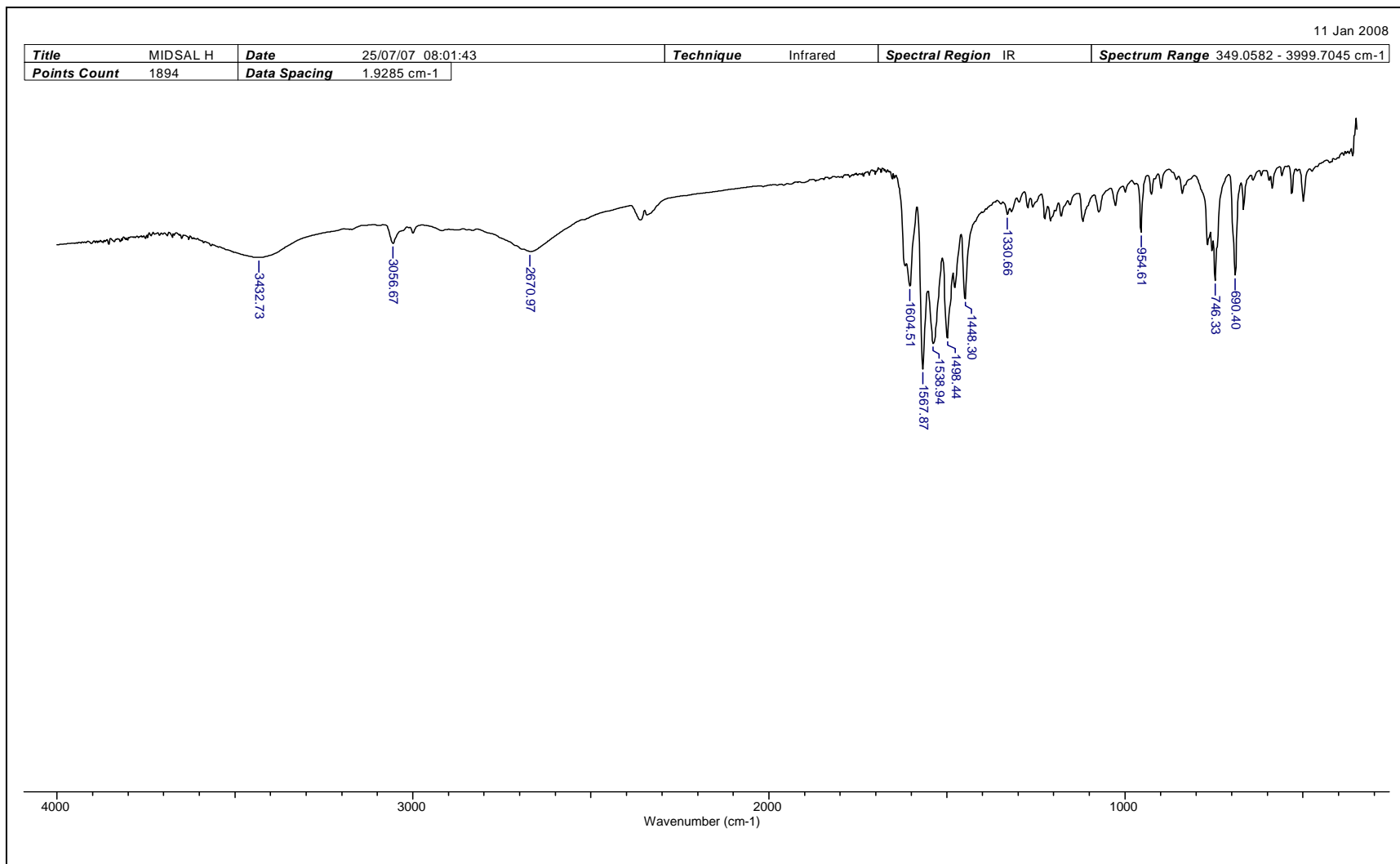
7.8 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



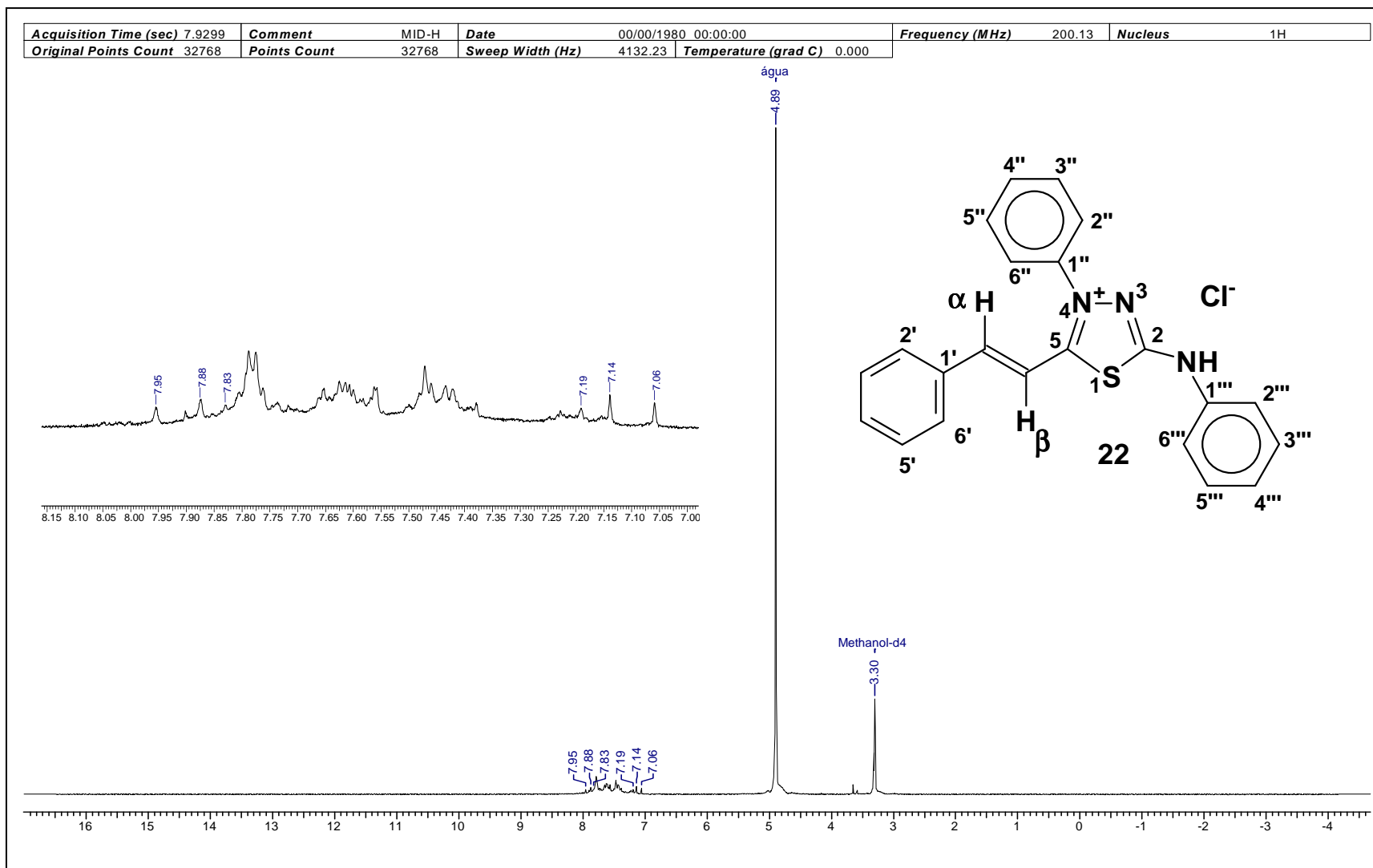
7.9 Espectro de RMN ¹³C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



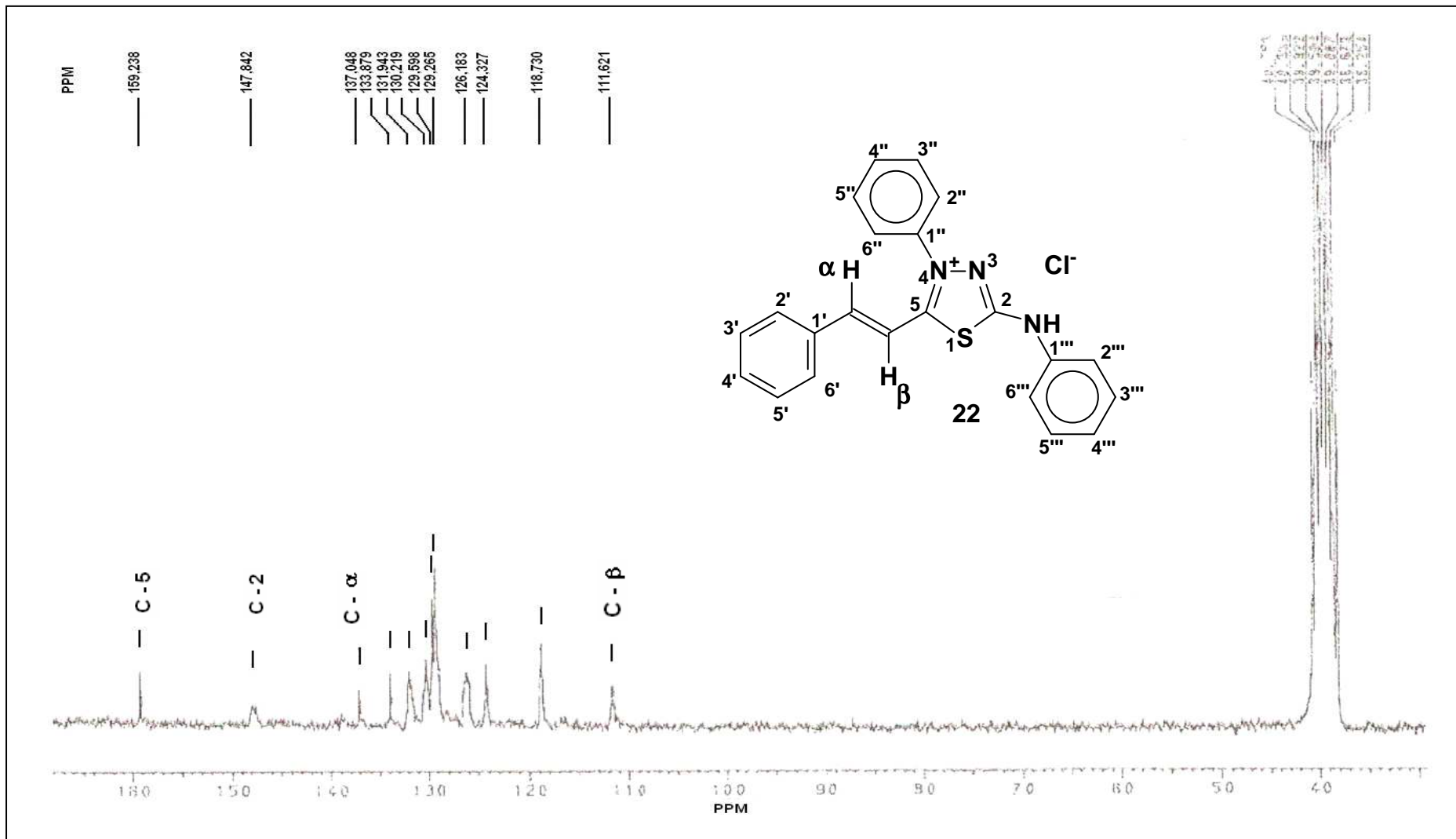
7.10 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



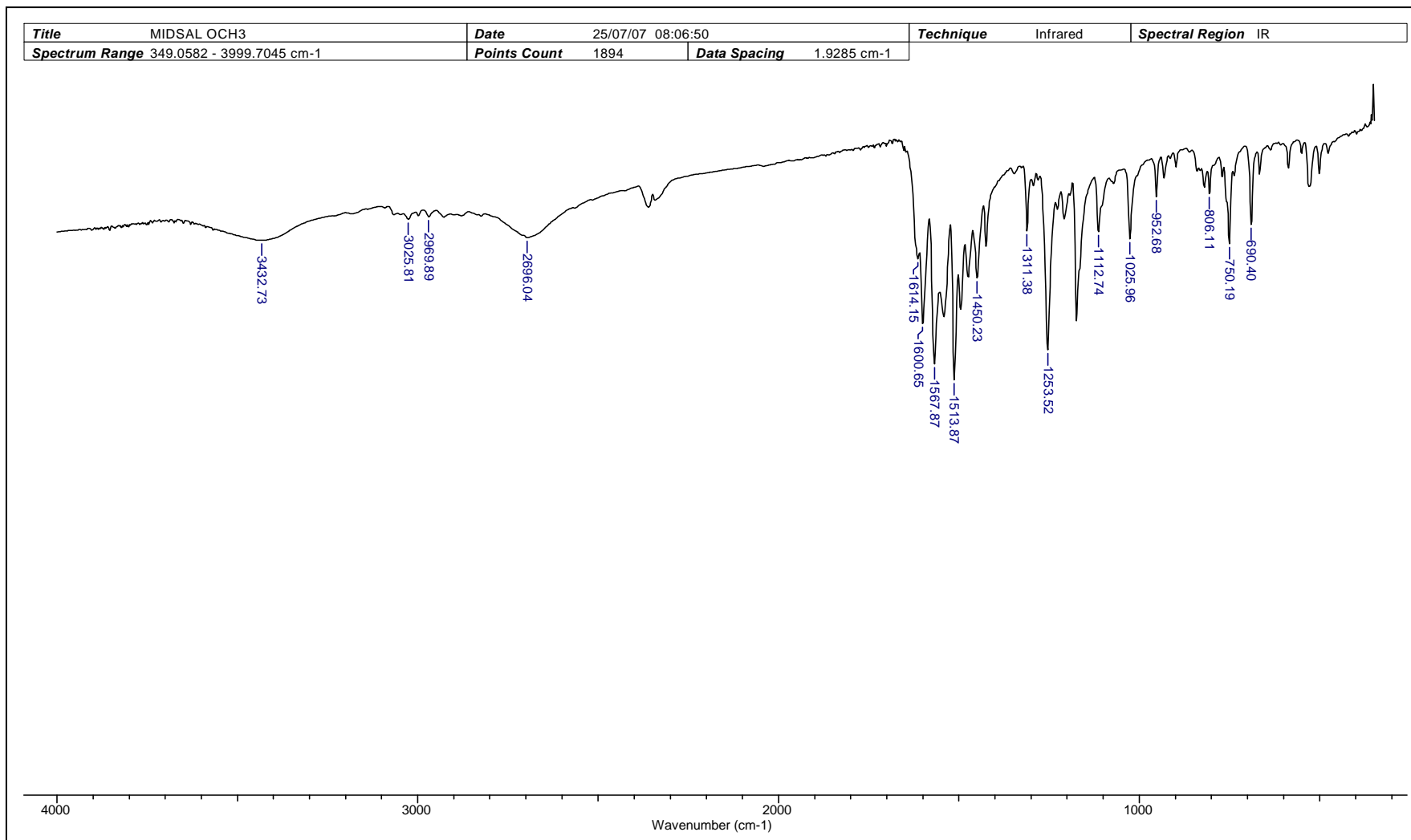
7.11 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-difenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



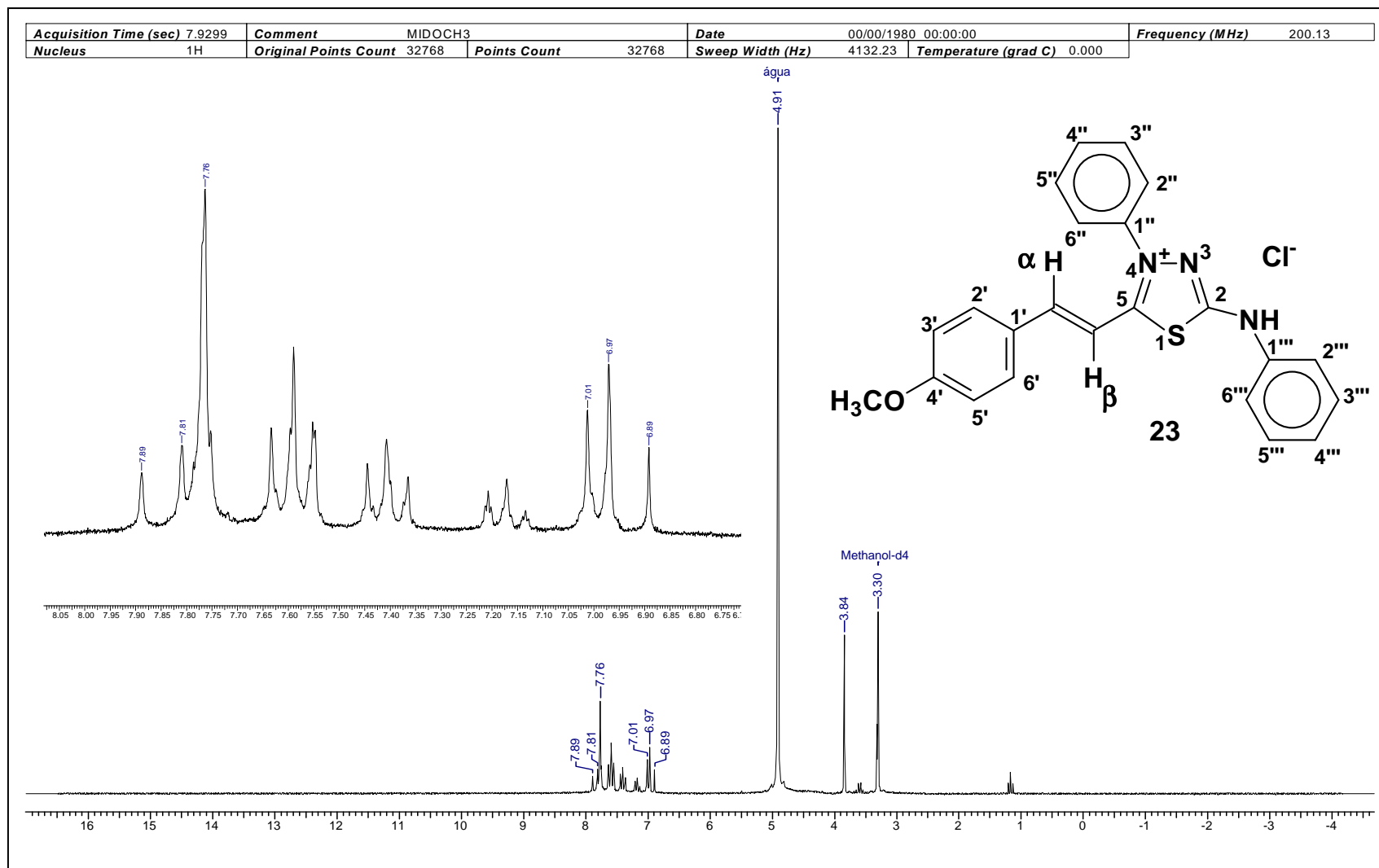
7.12 Espectro de RMN ^{13}C do cloreto de 4-difenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



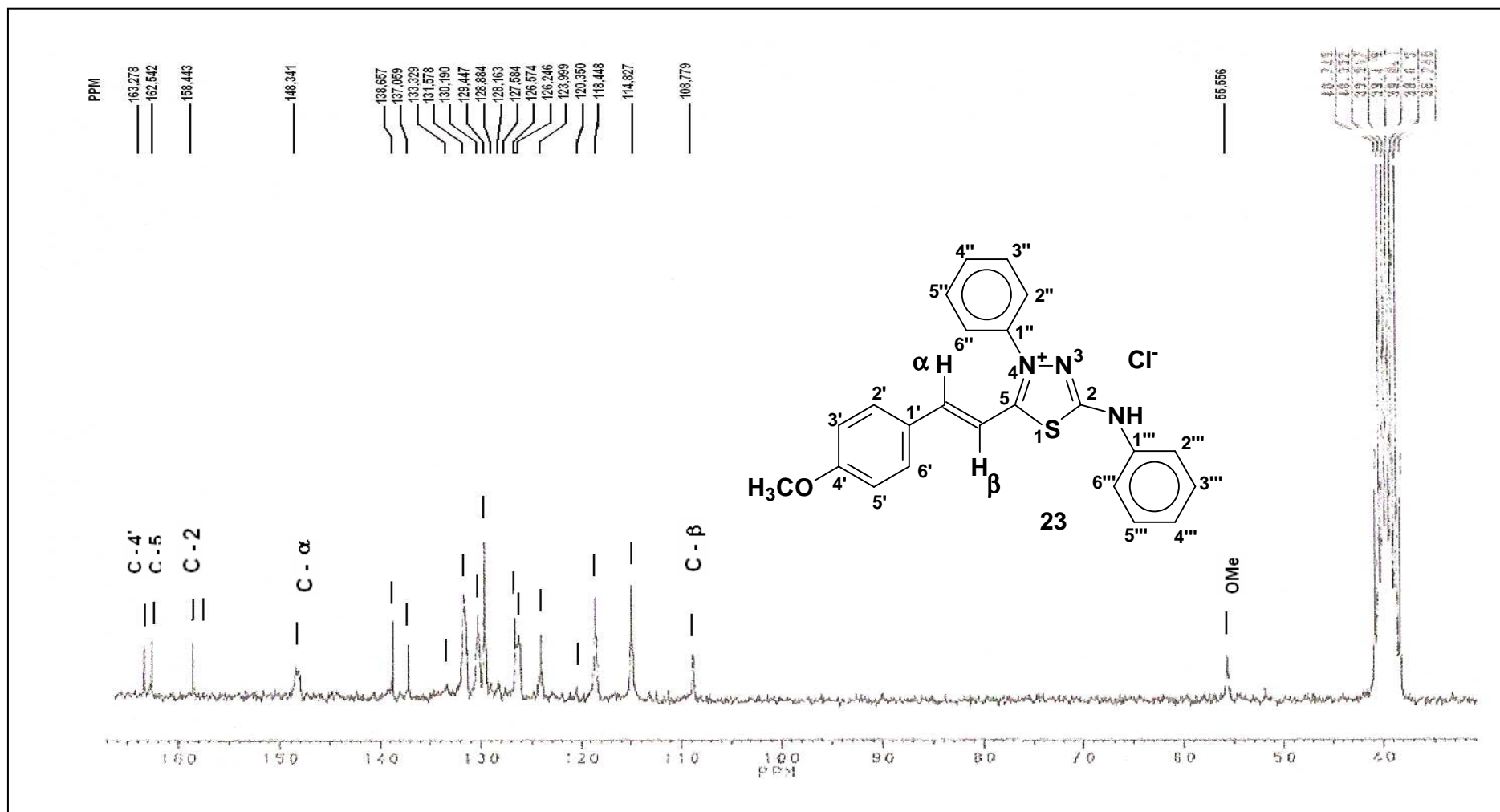
7.13 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



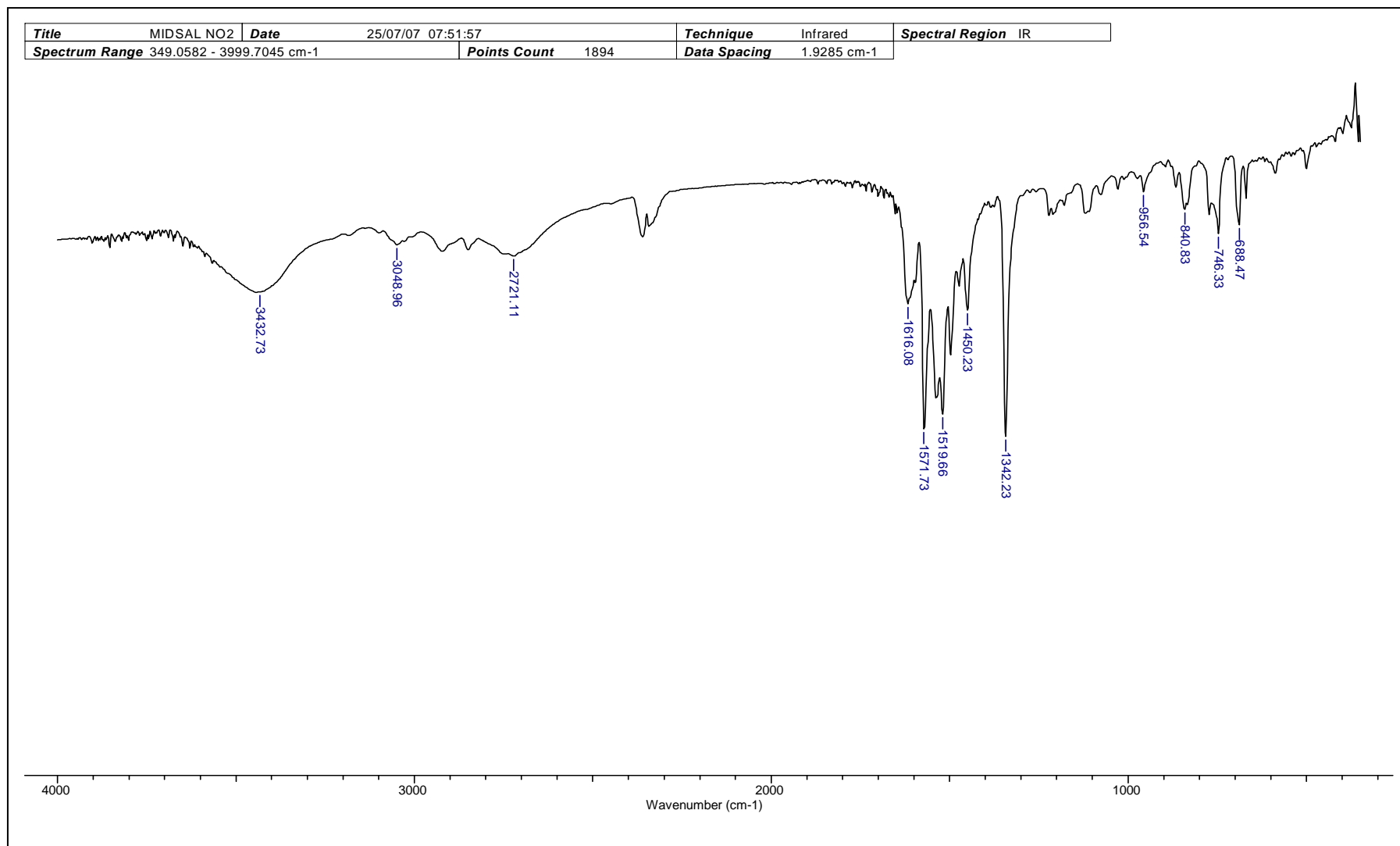
7.14 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



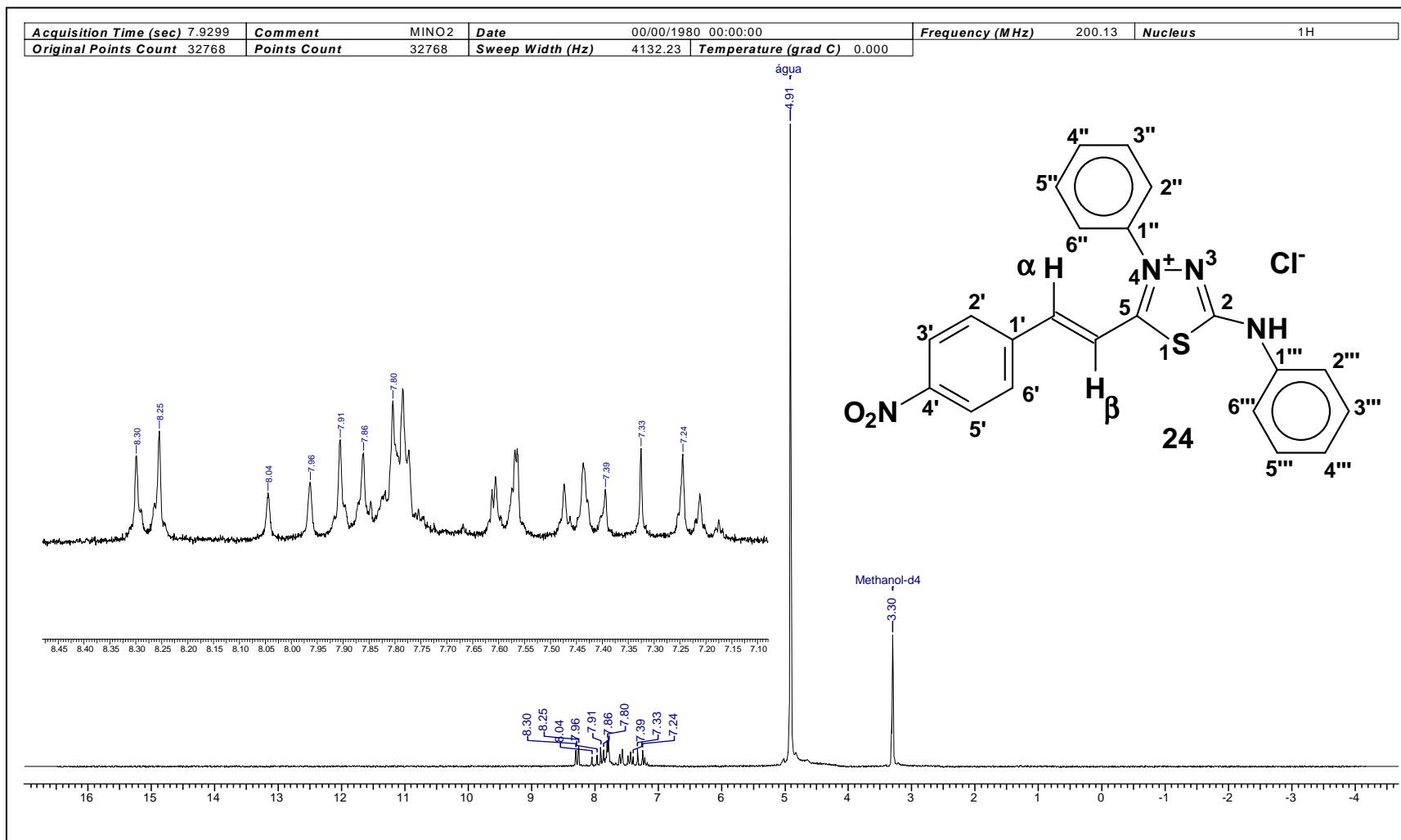
7.15

Espectro de RMN ^{13}C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

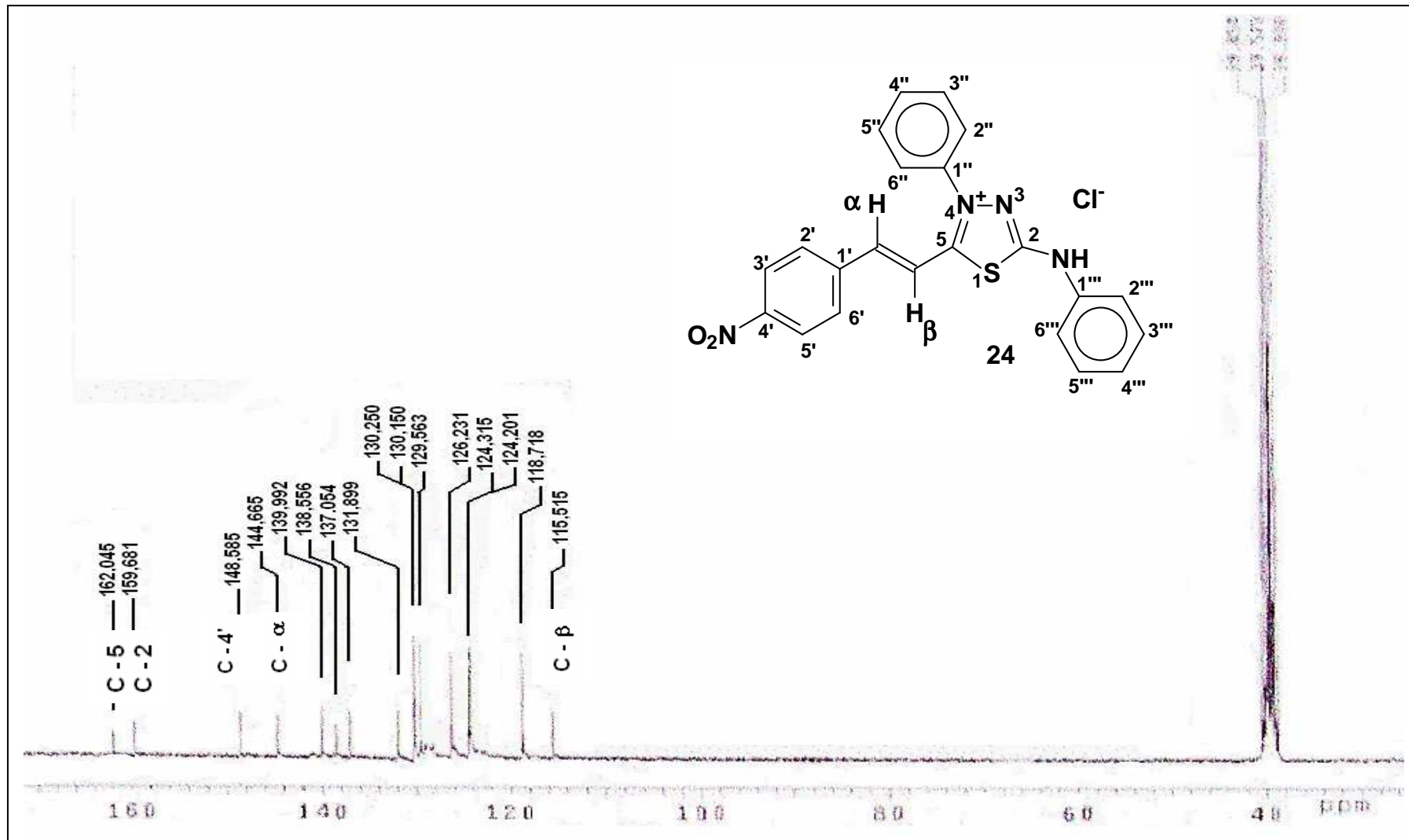
7.16 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



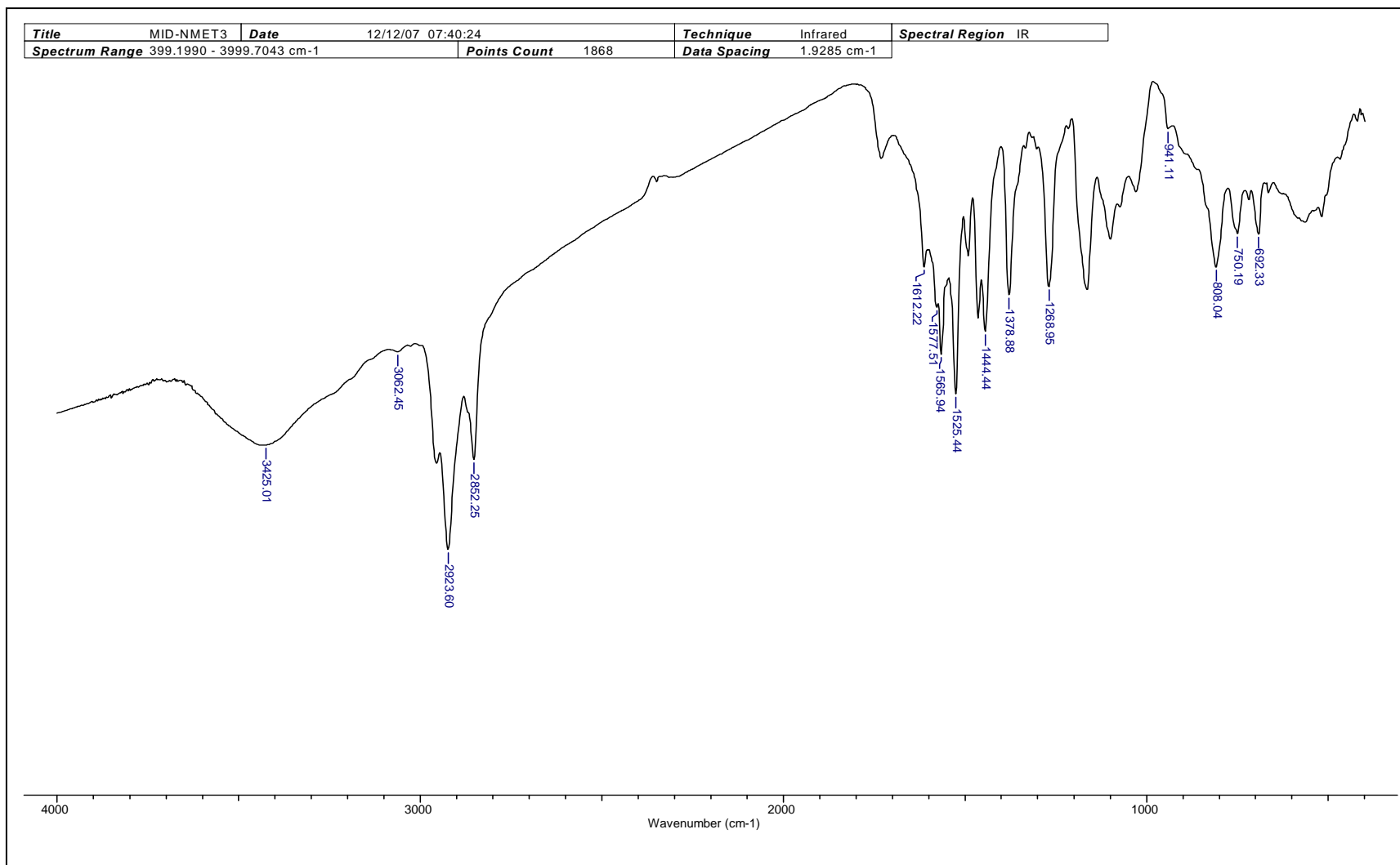
7.17 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



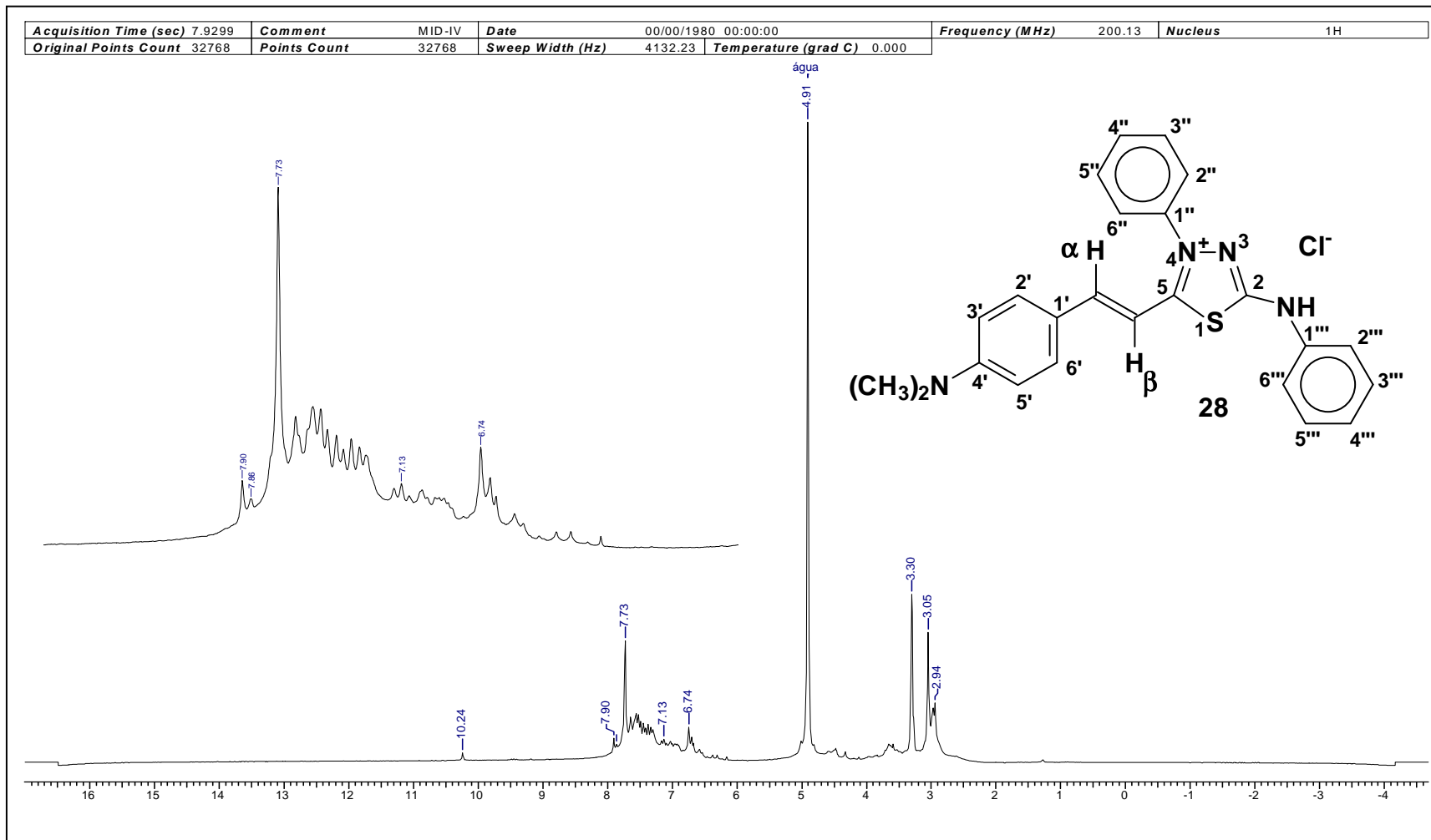
7.18 Espectro de RMN ¹³C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



7.19 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



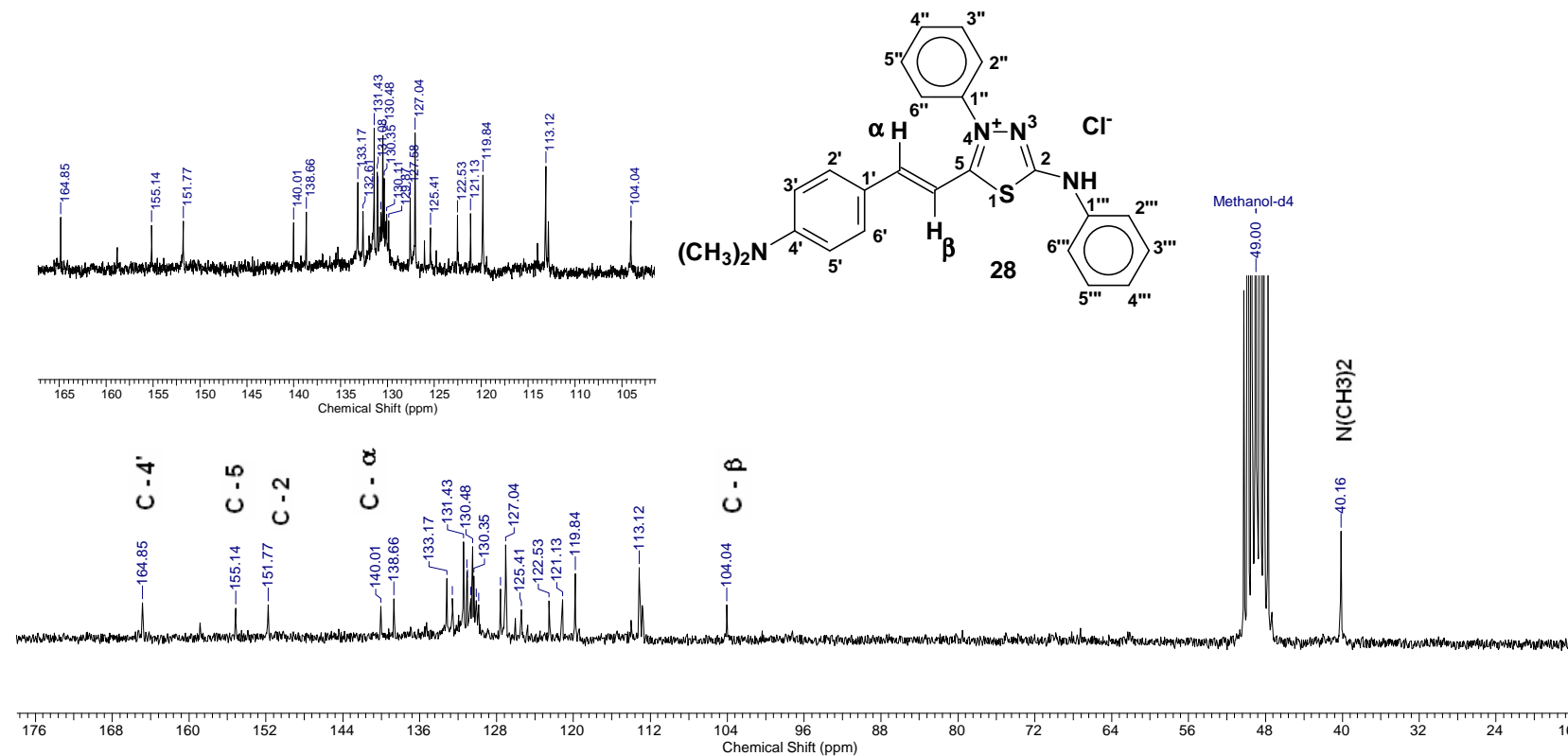
7.20 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



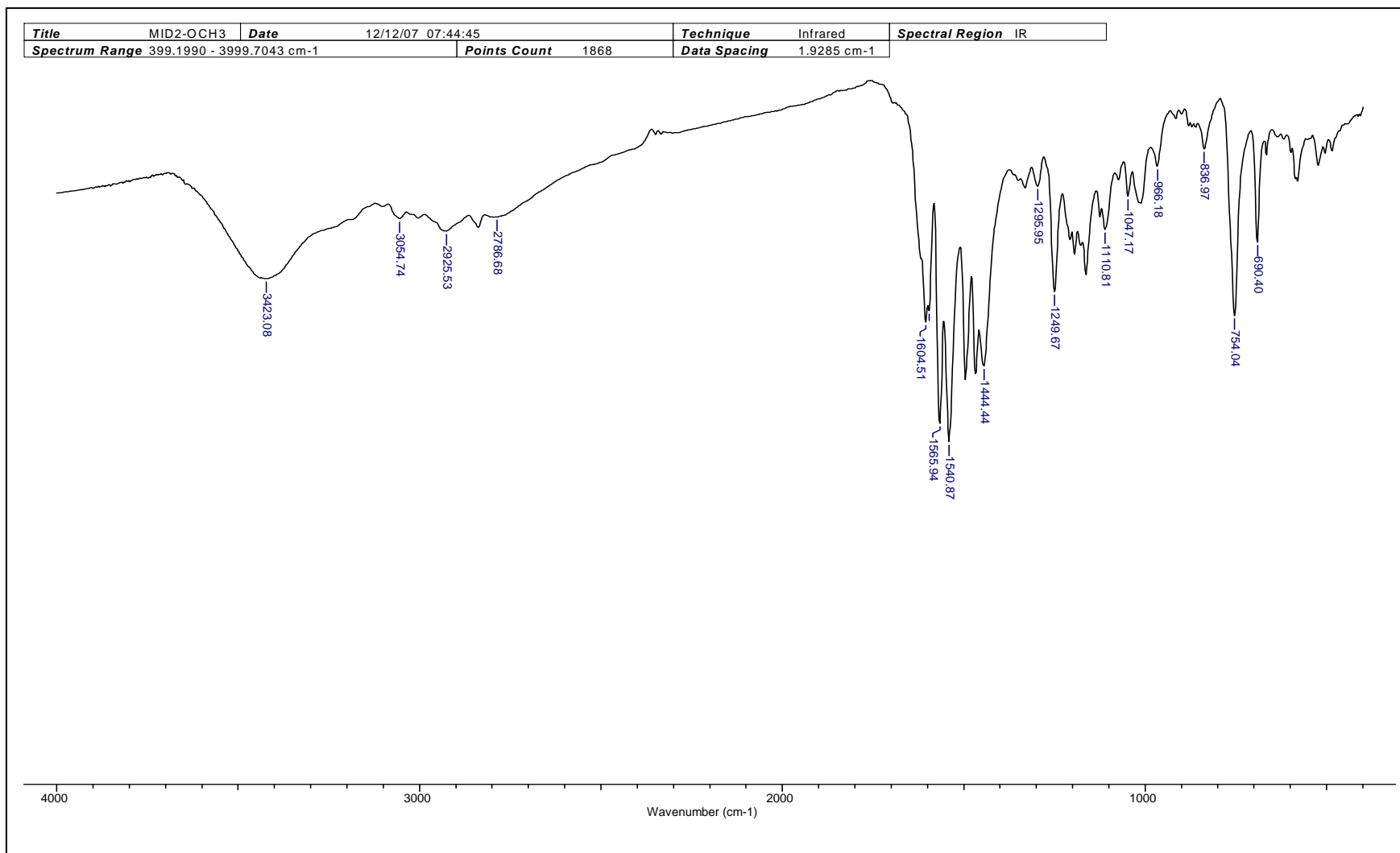
7.21 Espectro de RMN ¹³C do cloreto de 4-fenil-5-(4'-dimetilamino-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

17 Oct 2007

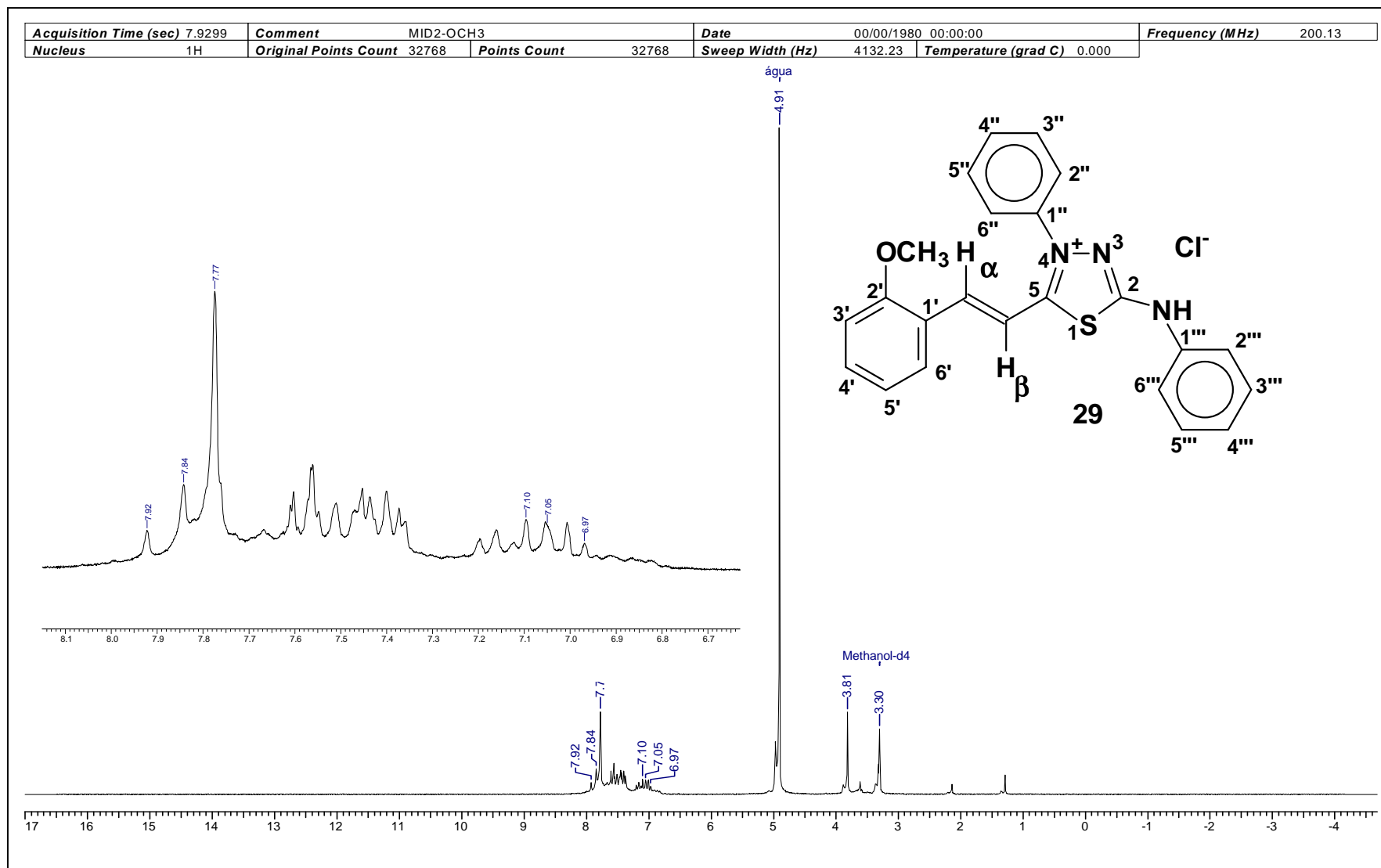
Acquisition Time (sec)	2.7263	Date	11 Oct 2007 10:40:42	Frequency (MHz)	50.32
File Name	C:\Documents and Settings\Laboratório22\Meus documentos\Camilla\Espectros RMN\MID-SAL-N(CH3)2 (C).000001r			Points Count	32768
Nucleus	¹³ C	Number of Transients	13438	Original Points Count	32768
Pulse Sequence	zgpg30	Solvent	MeOD	Sweep Width (Hz)	12019.23
				Temperature (degree C)	27.000



7.22 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

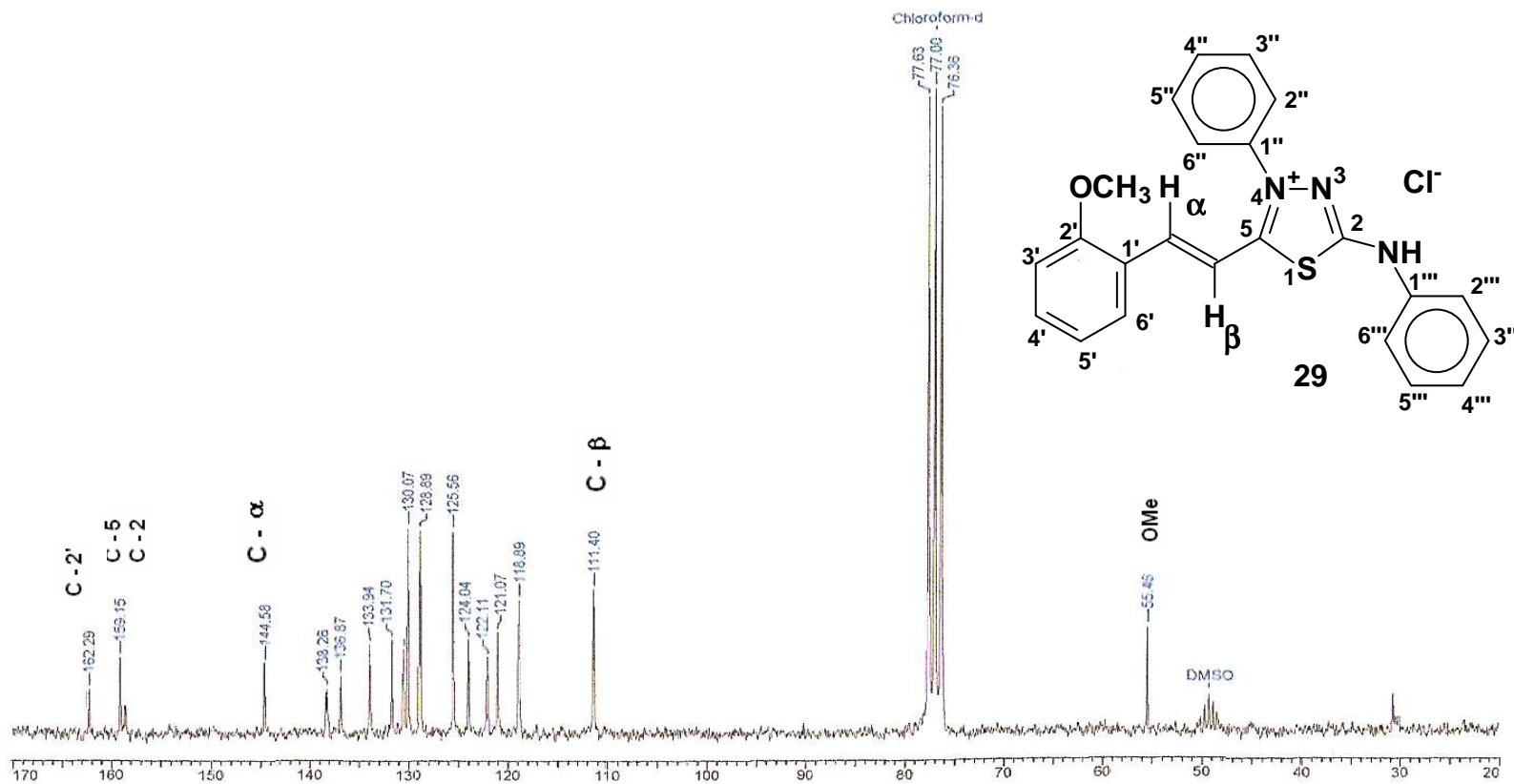


7.23 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

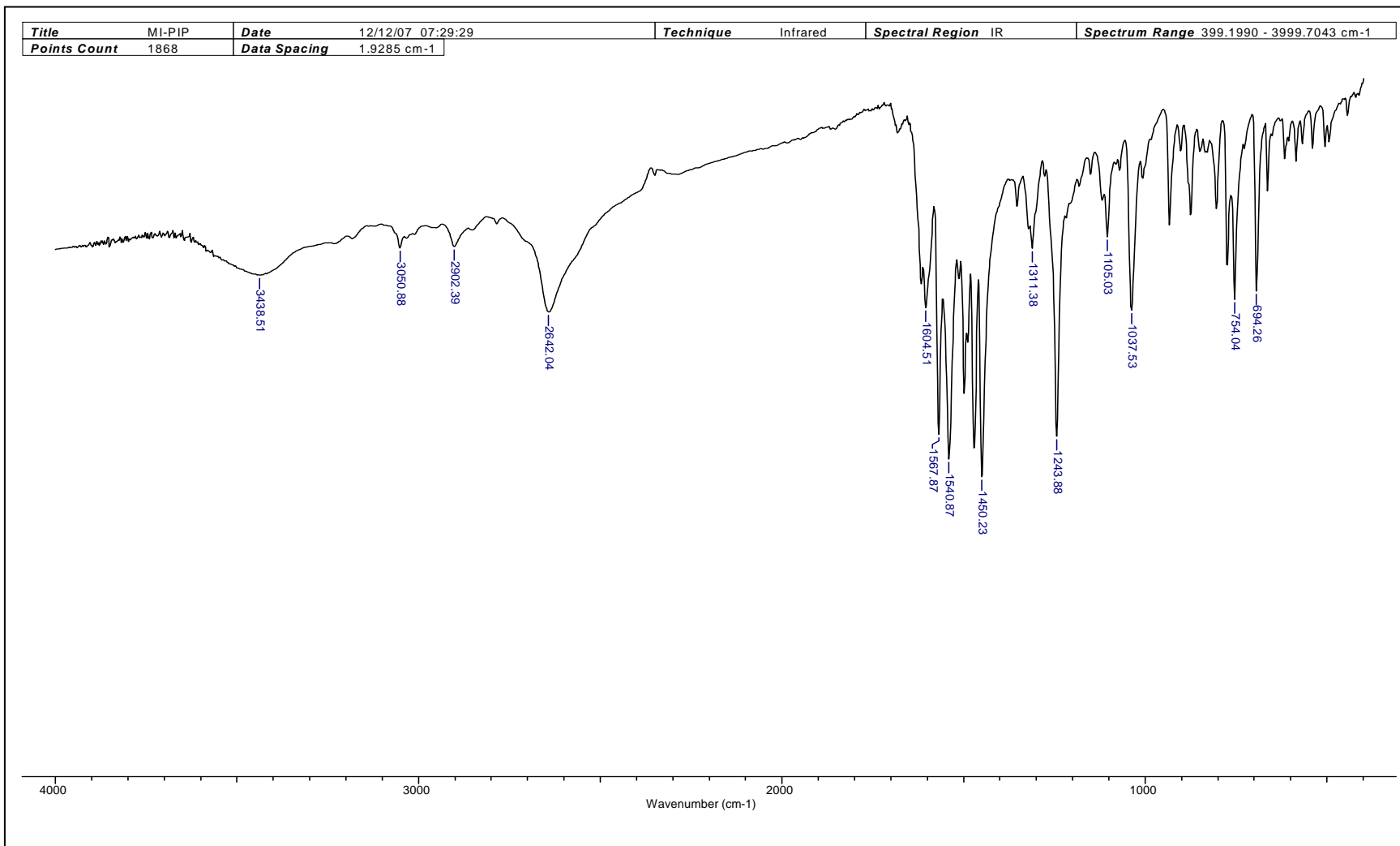


7.24 Espectro de RMN ¹³C do cloreto de 4-fenil-5-(2'-metoxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina

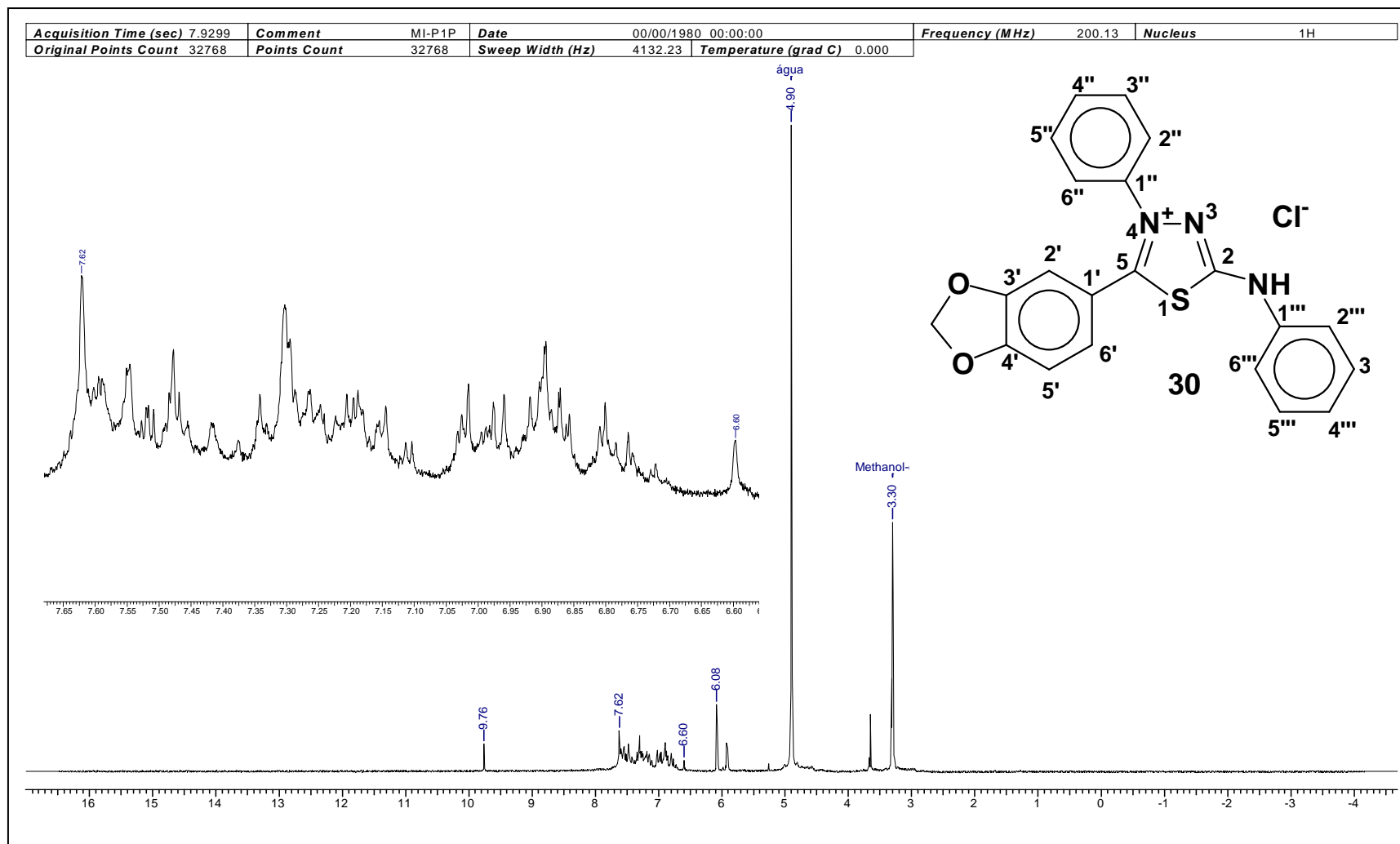
Acquisition Time (sec)	2.7263	Comment	ml-2och3	Date	00/00/1980 00:00:00	Frequency (MHz)	50.32	
Nucleus	13C	Original Points Count	32768	Points Count	32768	Sweep Width (Hz)	12019.23	
							Temperature (grad C)	0.000



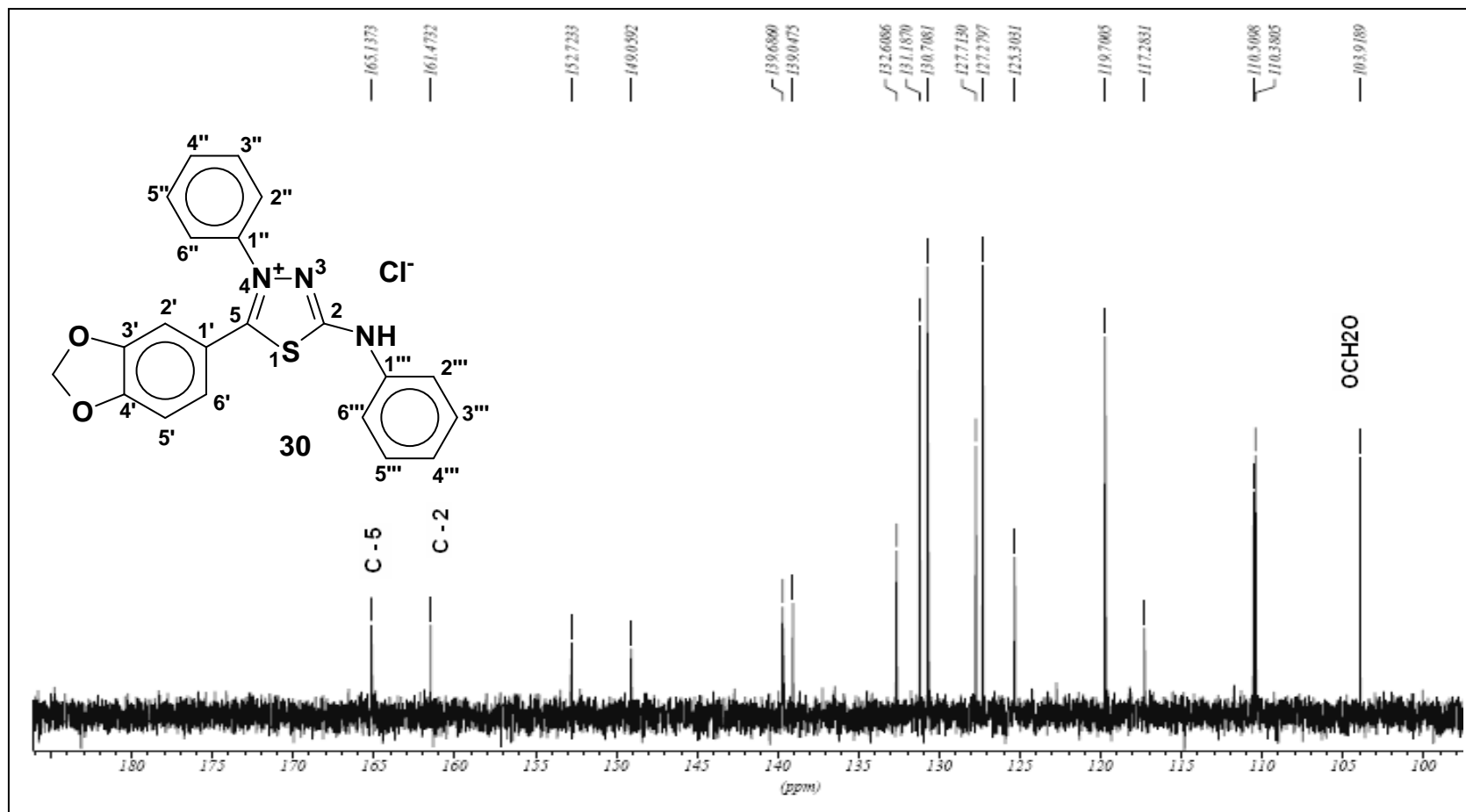
7.25 Espectro de IV do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilendioxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



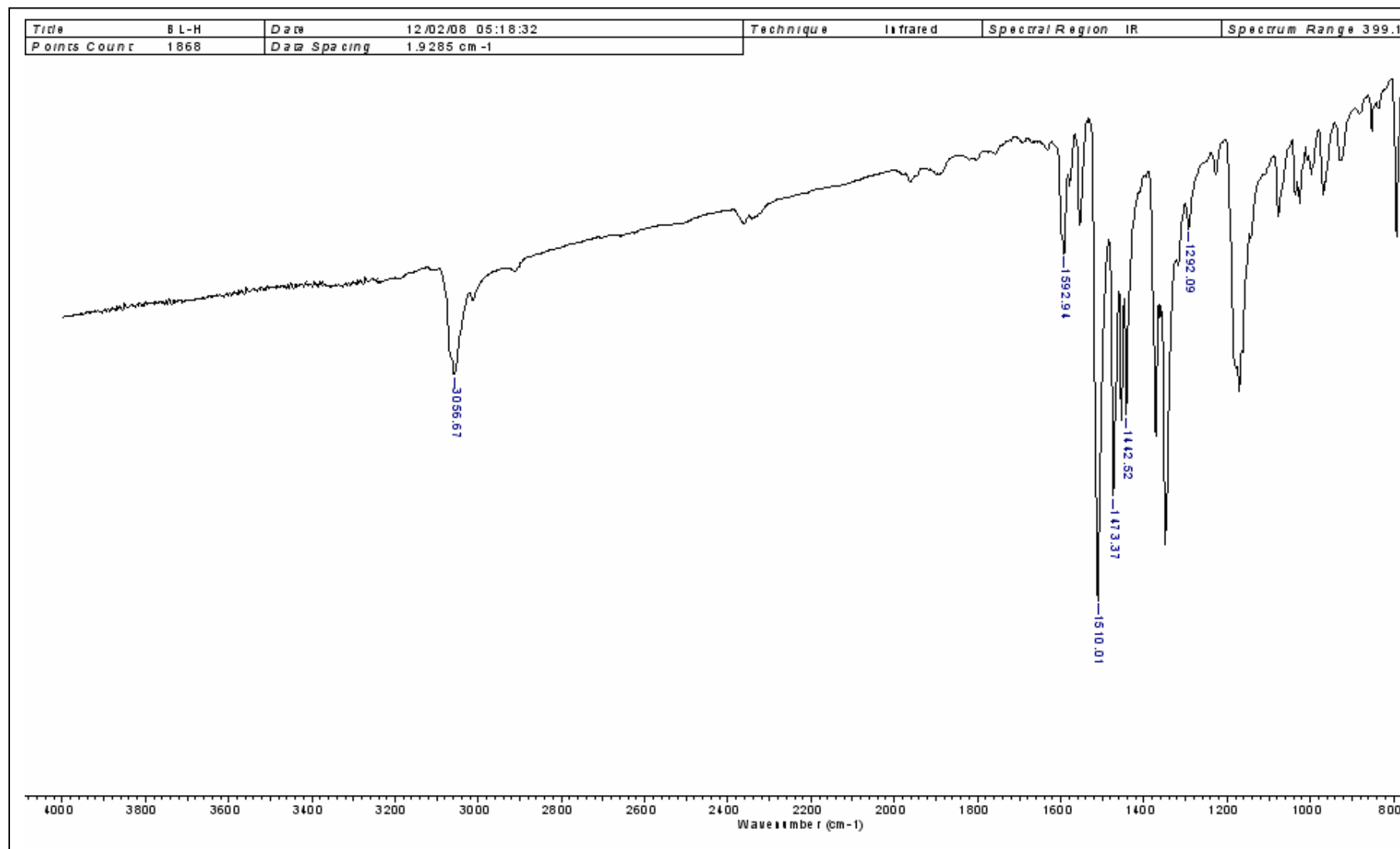
7.26 Espectro de RMN ¹H do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



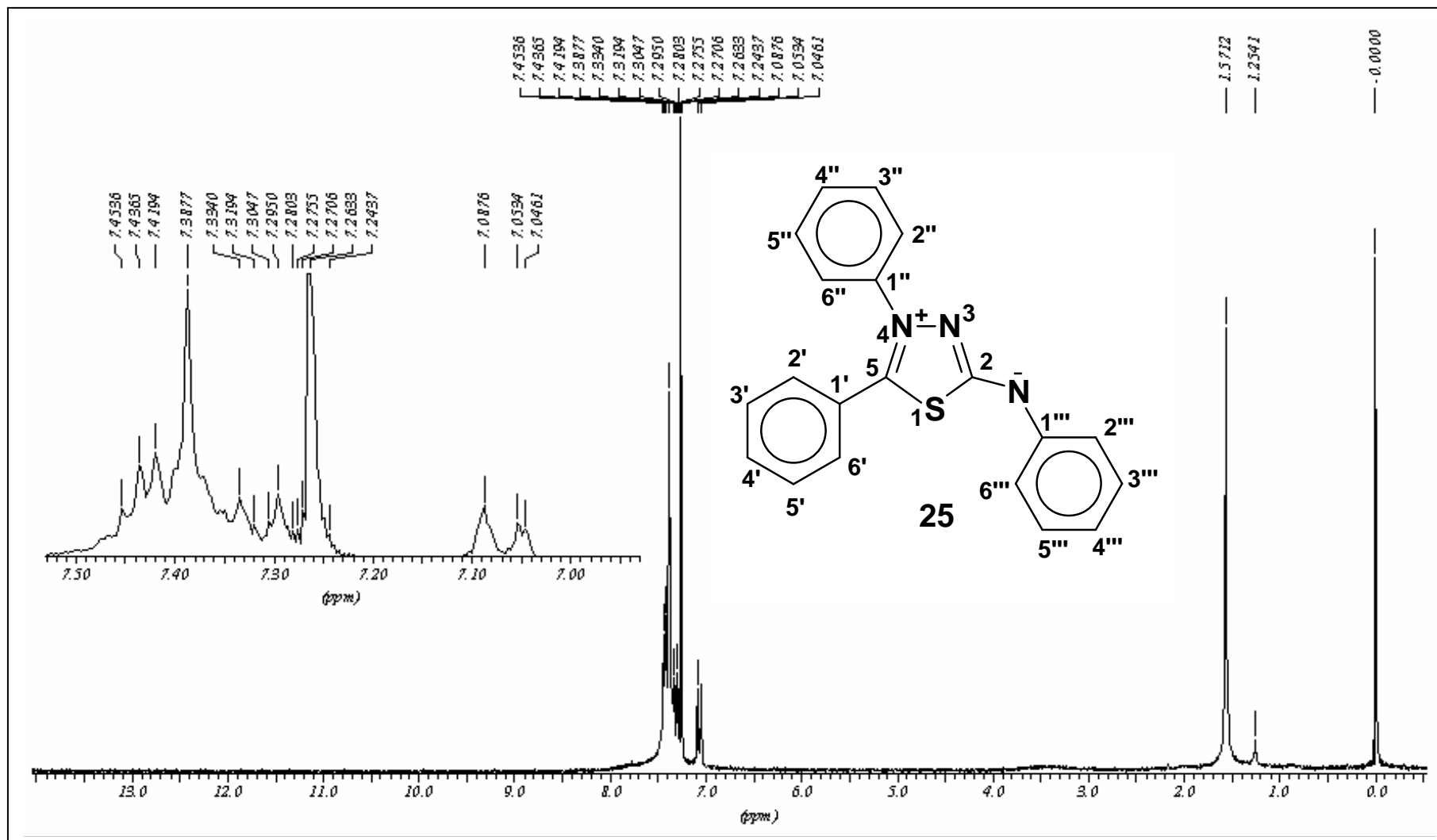
7.27 Espectro de RMN ^{13}C do cloreto de 4-fenil-5-(3',4'-metilenodioxifenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



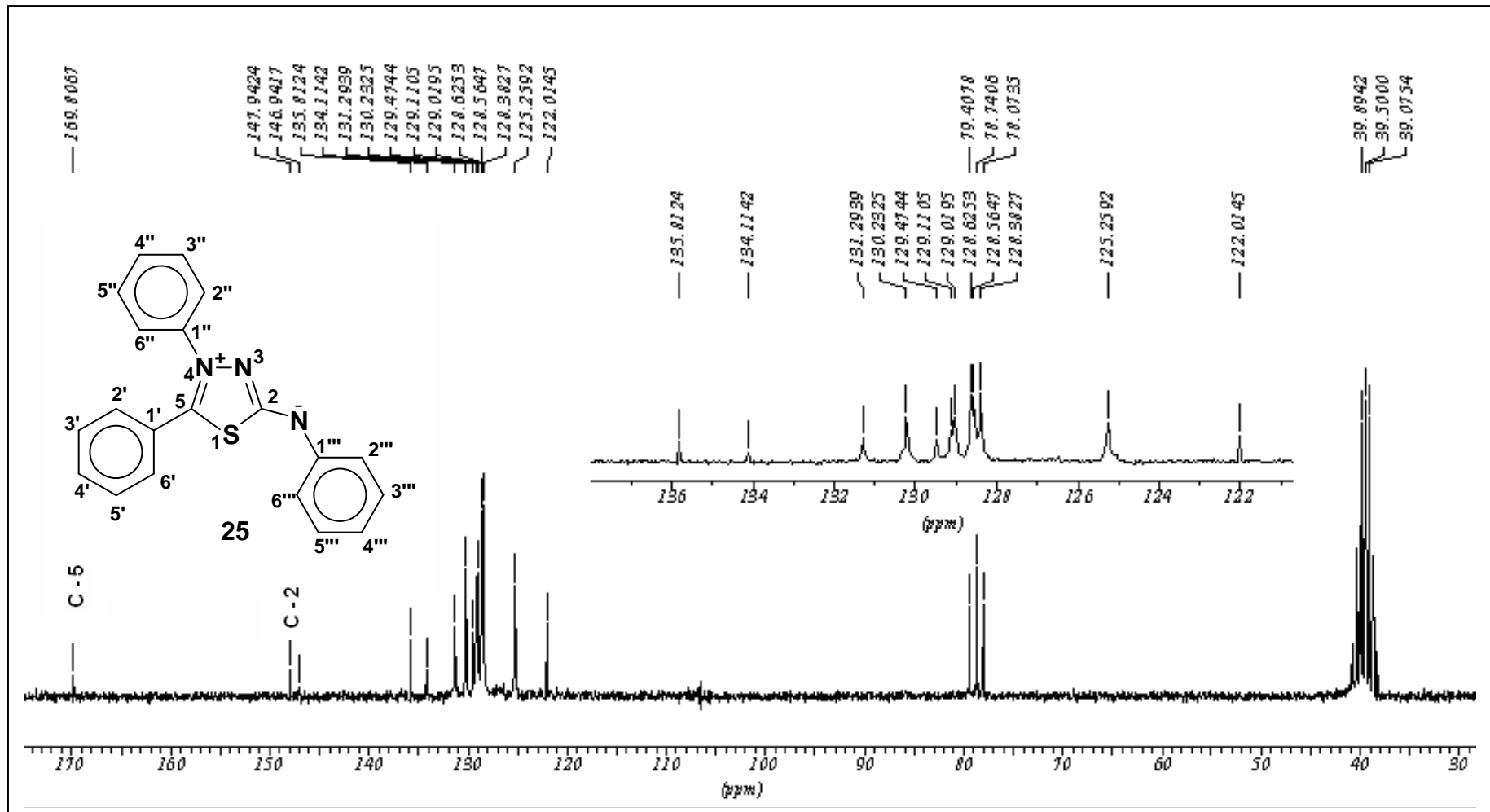
7.28 Espectro de IV do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina



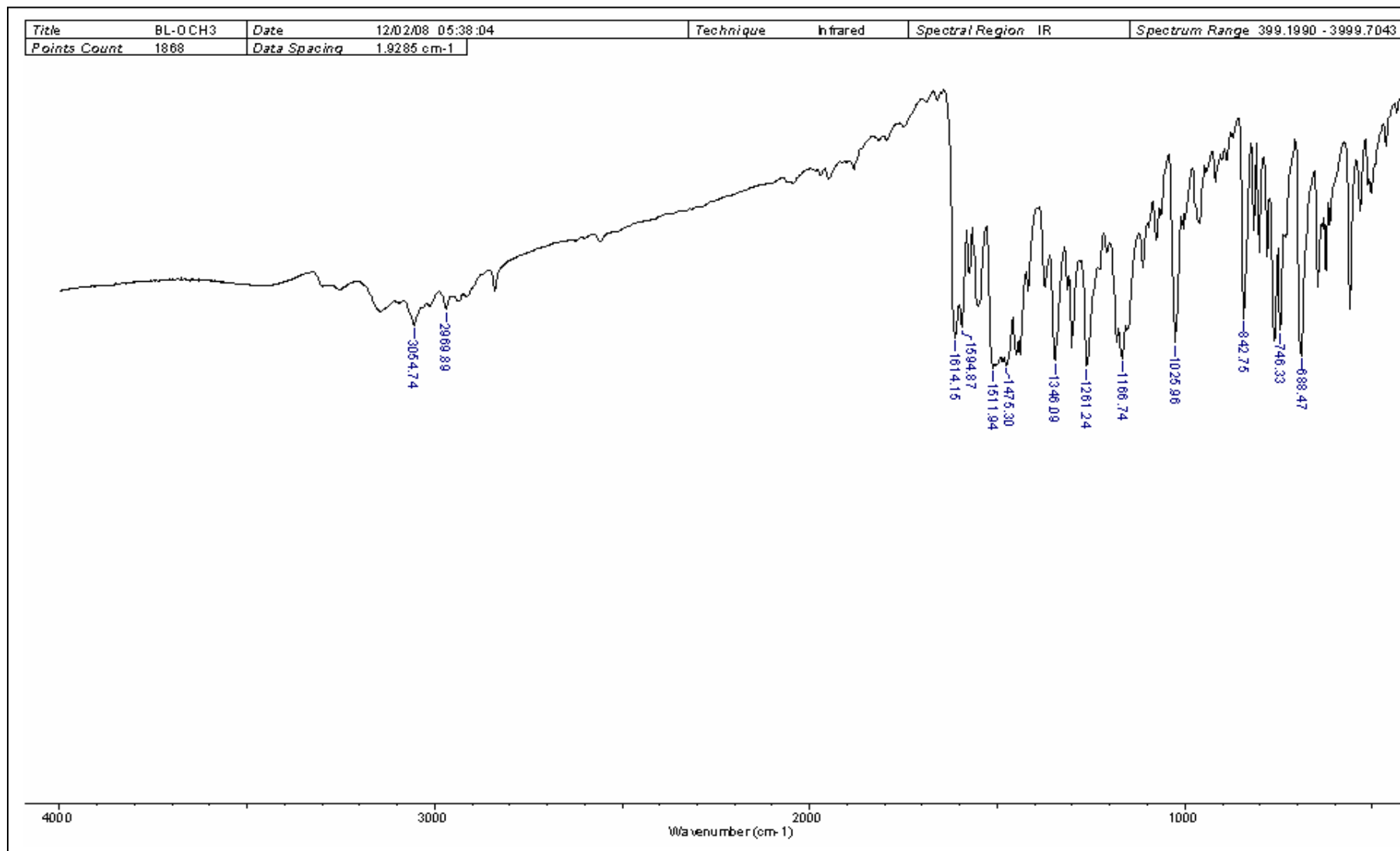
7.29 Espectro de RMN ¹H do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



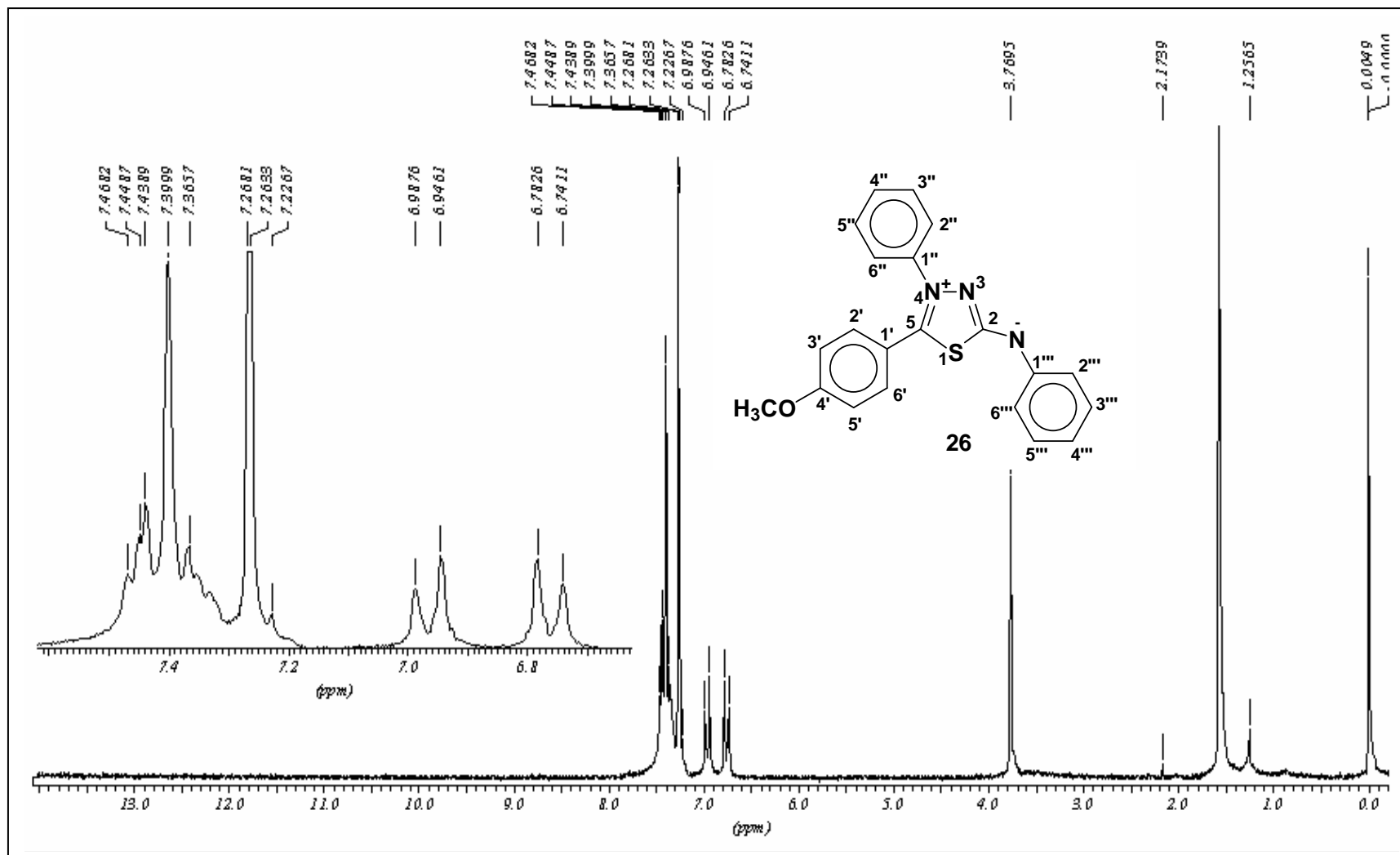
7.30 Espectro de RMN ^{13}C do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



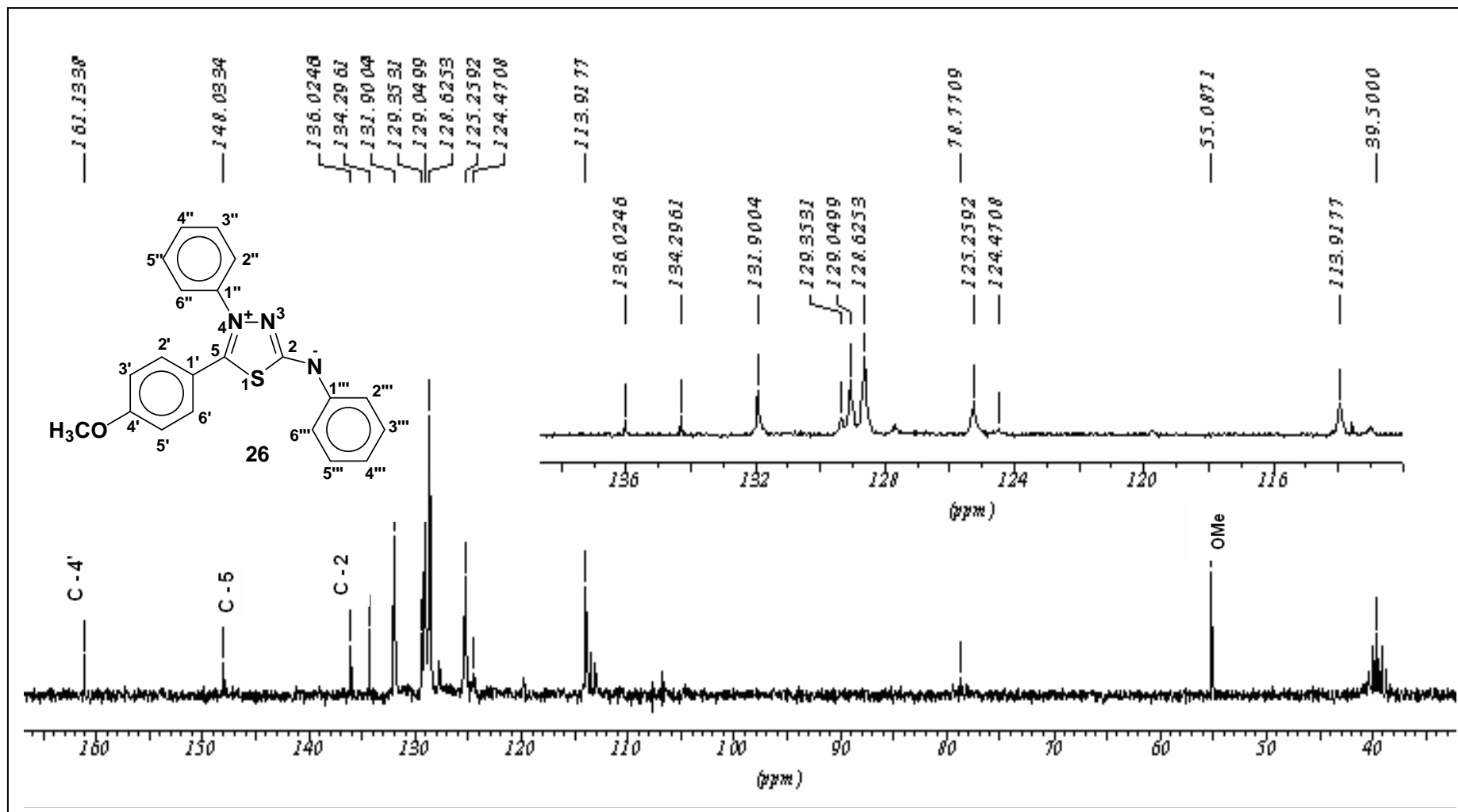
7.31 Espectro de IV do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



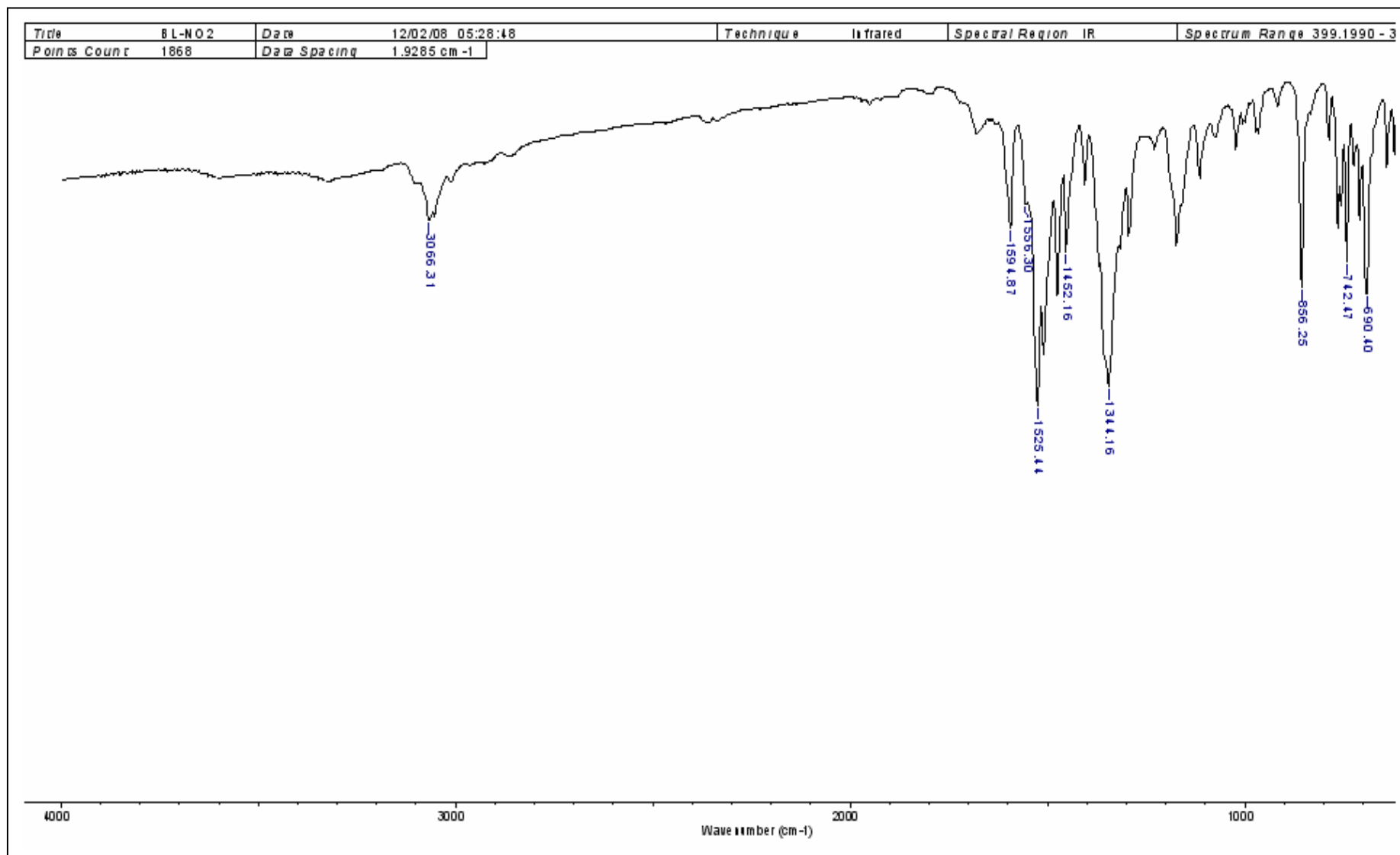
7.32 Espectro de RMN ^1H do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



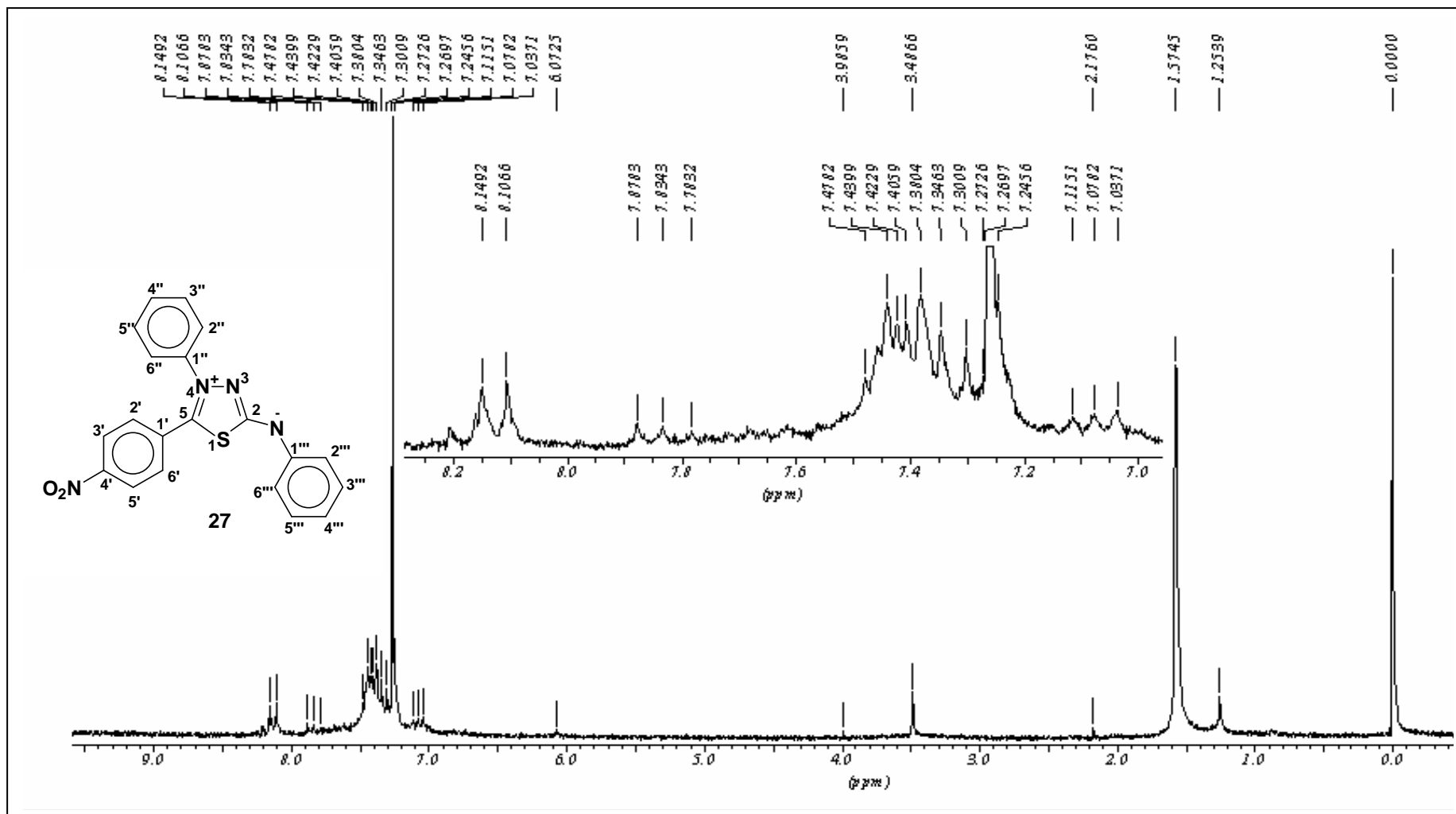
7.33 Espectro de RMN ¹³C do 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



7.34 Espectro de IV do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



7.35 Espectro de RMN ¹H do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida



7.36 Espectro de RMN ¹³C do 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida

